

TRABAJO DE FIN DE GRADO:
BÚSQUEDA Y CARACTERIZACIÓN
DE PARTÍCULAS RADIATIVAS EN
BIOTA



María Fernández Benítez

Sevilla, 2 de septiembre de 2019

Tutores: Ignacio Vioque Romero

Javier García López

ÍNDICE

1. RESUMEN.....	1
2. INTRODUCCIÓN	2
2.1. PALOMARES. ZONA DE ESTUDIO.....	2
2.2. RADIATIVIDAD Y PARTÍCULAS RADIATIVAS.....	3
2.3. INTERACCIÓN RADIACIÓN-MATERIA	5
3. TÉCNICAS DE ESTUDIO	10
3.1. AUTORRADIOGRAFÍA.....	10
3.2. ESPECTROMETRÍA GAMMA.....	11
3.3. TOMOGRAFÍA AXIAL COMPUTARIZADA	14
3.4. MICROFLUORESCENCIA DE RAYOS X.....	16
3.5. MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE BARRIDO	19
4. MÉTODO EXPERIMENTAL.....	23
4.1. MUESTREO	23
4.2. TRABAJO DE LABORATORIO	24
5. RESULTADOS	26
6. CONCLUSIONES.....	42
7. BIBLIOGRAFÍA.....	44

1. RESUMEN

En el año 1966 tuvo lugar un accidente entre dos aviones del ejército estadounidense sobre el pueblo de Palomares, Almería. Ambos aviones chocaron y cayeron, liberando cuatro bombas nucleares que transportaba uno de ellos. Estas bombas estaban compuestas principalmente por plutonio y uranio, elementos radiactivos que fueron liberados al medio cuando las bombas impactaron contra el suelo, contaminando toda la zona. Aunque se realizaron labores de limpieza y se vallaron las zonas más contaminadas, actualmente seguimos detectando radiactividad en forma de partículas en la zona del accidente.

Estudiar posibles vías de impacto del accidente en los sistemas biológicos, usando por ejemplo como marcador las heces de conejo, es el objetivo de nuestro trabajo. Las heces, como elemento final de la cadena trófica, serán unos indicadores adecuados del posible impacto del accidente sobre los sistemas biológicos de la zona.

En concreto, nos centramos en buscar partículas radiactivas formadas por elementos provenientes de las bombas en dichas heces.

Aunque tenemos diferentes vías de llegada de las partículas radiactivas a las heces (alimentación, adhesión y cecotrofia), encontrar dichos elementos radiactivos en el interior de heces tanto de conejo como de cabra, nos permite decidir cuál es la vía principal: la alimentación de los animales, ya que la vegetación de la que se nutren las contiene (fundamentalmente adherida a la superficie). La coincidencia de los elementos encontrados en nuestras muestras con los que componían las bombas demuestra la existencia de contaminación en el medio y su impacto sobre los sistemas biológicos de la zona.

Para encontrar dichas partículas radiactivas, utilizamos técnicas avanzadas como autorradiografía, espectrometría gamma, tomografía axial computarizada, microscopía electrónica de barrido y microfluorescencia de rayos X. Gracias a estas técnicas podemos aislar una partícula radiactiva en un capilar, además de detectar la existencia de elementos radiactivos en el interior de numerosas muestras.

2. INTRODUCCIÓN

2.1. PALOMARES. ZONA DE ESTUDIO

Las muestras utilizadas en nuestro estudio han sido recogidas en Palomares, enclave situado en el municipio de Cuevas de Almanzora, en el levante almeriense.

En esta pequeña localidad, durante la Guerra Fría, exactamente el 17 de enero de 1966, tuvo lugar un accidente entre un avión-tanque, el KC-135, y un bombardero, el US B-52, ambos pertenecientes al ejército de Estados Unidos. El avión-tanque se disponía a reponer el depósito del bombardero en el aire, para que este segundo pudiera volver a tierras norteamericanas, cuando colisionaron por ir a demasiada velocidad. Se incendiaron ambos aviones y explotaron en el aire, cayendo al suelo. (1)

El B-52 transportaba 4 bombas nucleares de 1.5 Megatones de potencia cada una (75 veces la de Hiroshima) que, aunque tenían un protocolo de seguridad, este sufrió algún tipo de fallo y se estrellaron contra el suelo. Dos de ellas sufrieron explosión química pero no nuclear y las otras dos pudieron recuperarse intactas.

En la figura 1 podemos ver las trayectorias que siguieron las bombas: la bomba 1 fue encontrada en el lecho del río Almanzora, intacta; al igual que la bomba 4, que fue hallada en el mar tras 80 días de búsqueda. Las otras dos bombas no tuvieron la misma suerte y sufrieron explosión química dejando cráteres de aproximadamente 6 m de diámetro. La bomba 2 cayó cerca del cementerio y la 3 en una zona cercana a un grupo de viviendas. (2) Los lugares donde cayeron estas bombas son aquellos en los que se encuentra mayor proporción de elementos radiactivos. (En los estudios posteriores se nombraron las zonas contaminadas como veremos cuando describamos el muestreo realizado).

Cuando hablamos de explosión química nos referimos a la explosión convencional, donde el combustible fisionable se fragmenta y se liberan elementos radiactivos al medio, como plutonio y otros. Además, parte de dichos materiales experimentaron una combustión y se dispersaron aerosoles y cenizas desde el punto de caída de las bombas, lo que justifica la existencia de zonas más contaminadas cerca de estos puntos de caída donde ocurrieron las explosiones.

Los primeros meses tras el accidente se elaboró un mapa de contaminación superficial de la zona que ayudó a decidir cuáles serían las labores de limpieza. Estas consistieron en retirar toneladas de tierra y restos vegetales y transportarlos hasta Estados Unidos. Como podremos

comprobar con el estudio realizado, dichas labores de limpieza no resultaron del todo efectivas. En la actualidad se calcula que siguen quedando aproximadamente 500 g de plutonio y una cantidad de ^{241}Am que irá aumentando al ser descendiente del ^{241}Pu , como explicaremos más tarde.

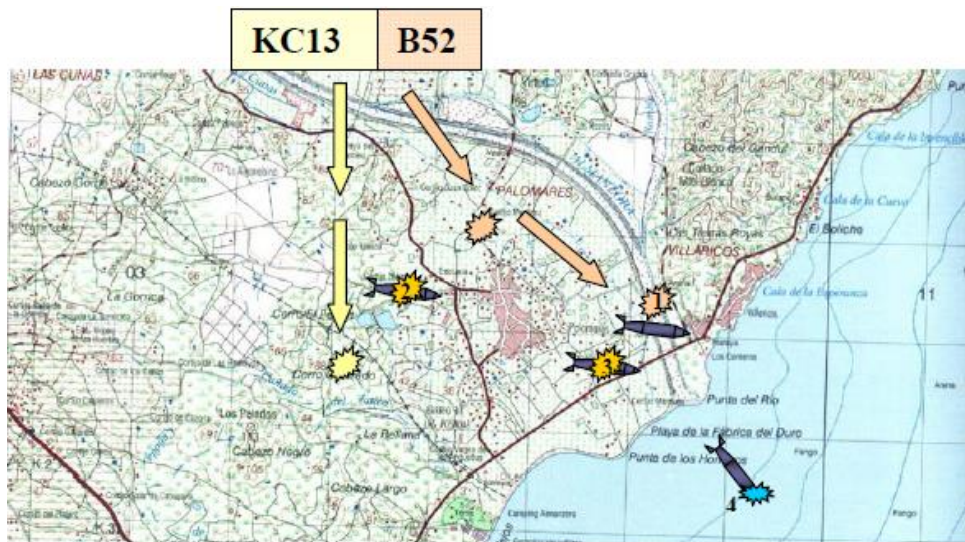


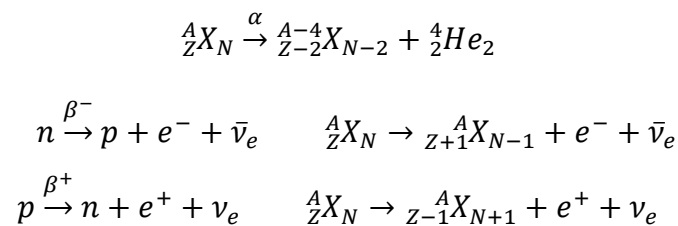
Figura 1. Mapa de Palomares en el que aparecen indicadas las zonas donde cayeron las bombas. (1)

Posteriormente, se puso en marcha el proyecto Indalo para analizar la contaminación de plutonio y uranio en las personas potencialmente expuestas y en el aire y suelo de zonas agrícolas, ya que en estas los suelos fueron removidos, provocando así la dispersión de las partículas radiactivas. (3) La continuación de estos estudios en los últimos años la ha realizado el CIEMAT (organismo responsable de la vigilancia radioecológica en Palomares). Se sigue observando contaminación de plutonio en la zona, aunque la estimación del inventario de este ha variado a lo largo de los años, ya que dichos estudios son muy complejos (complejidad debida a la distribución heterogénea del plutonio en la zona). (4)

2.2. RADIATIVIDAD Y PARTÍCULAS RADIATIVAS

La radiactividad es el proceso de emisión de energía producida en la desintegración de núcleos inestables, ya sean de origen natural (procede de un elemento existente en la naturaleza) o artificial (proviene de un isótopo creado en una reacción nuclear en el laboratorio). En nuestro estudio nos centraremos en la radiactividad artificial, un fenómeno de búsqueda del estado de

más baja energía del núcleo atómico de los isótopos que formaban parte de las bombas. Dichos fenómenos de pérdida de energía se producen por dos procesos: emisión de radiación electromagnética (llamada radiación gamma cuando se produce una transición entre dos estados energéticos del núcleo) o emisión de partículas. Estas segundas pueden ser partículas alfa, que son núcleos de helio; o partículas beta, que son electrones o positrones. (5) Las reacciones que experimentan los núcleos en cada decaimiento son:



Las bombas que cayeron sobre los suelos de Palomares estaban formadas, como hemos dicho anteriormente, por uranio y plutonio (en concreto, isótopos como ^{235}U , ^{238}Pu , ^{239}Pu , ^{240}Pu y ^{241}Pu), ambos elementos radiactivos. (6) En la figura 2 observamos el esquema de decaimiento del ^{241}Pu y vemos como el ^{241}Am es descendiente directo de este. Por ello, si encontramos dicho americio en nuestras muestras es equivalente a tener la certeza de la existencia de plutonio en las mismas. (7)

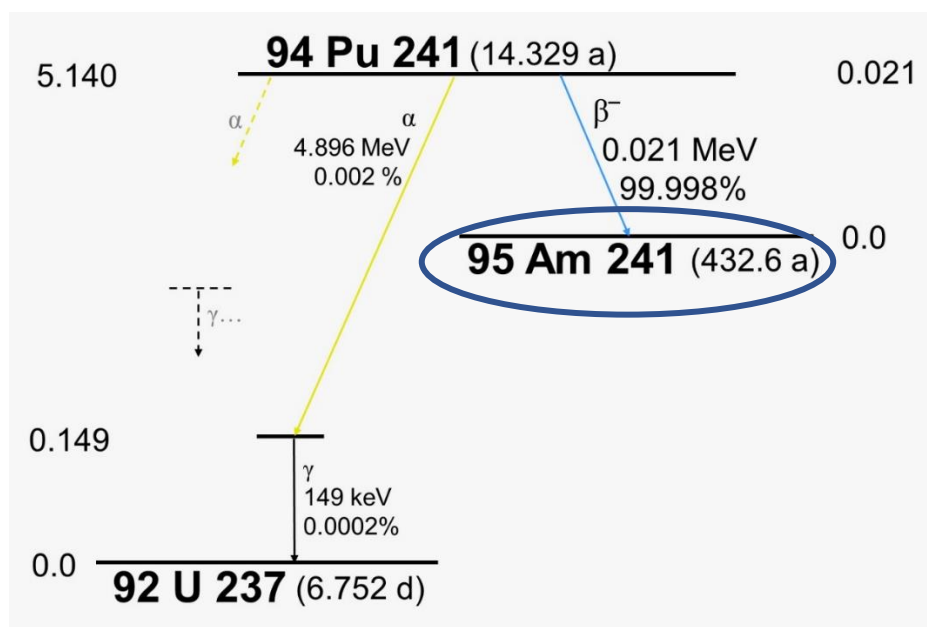


Figura 2. Esquema de niveles del ^{241}Pu . (Imagen modificada de (8))

En el medio ambiente podemos encontrar elementos radiactivos en forma iónica o en forma de aerosoles o partículas radiactivas. Estas últimas son, según la OIEA (Organismo Internacional de Energía Atómica), “agregados de átomos radiactivos (tamaño micrométrico) que dan lugar a una distribución heterogénea de radionúclidos significativamente diferente de la del fondo de la matriz”. Dichas partículas pueden formarse mediante dos procedimientos: desintegración de la masa de combustible nuclear, como ocurrió con las bombas en Palomares; o condensación de productos evaporados. Además, está demostrado que las partículas micrométricas halladas en Palomares son bastante refractarias, es decir, son muy resistentes a diferentes ataques (ácidos, calor, ...) y no cambian de estado ni se descomponen fácilmente (1). Es por esto por lo que pueden transferirse del suelo a los organismos vivos, siguiendo la cadena trófica, como demostraremos en nuestro estudio. Lo centraremos en la búsqueda de dichas partículas radiactivas en biota, en concreto, en heces de conejos recogidas en los suelos de Palomares. Escogemos estos animales ya que están en contacto frecuente con el suelo, viven en madrigueras subterráneas, no son migratorios, es decir, habitan, se alimentan y defecan en la misma zona, y es sencillo recoger sus heces. Encontrar partículas radiactivas en dichas heces sería equivalente a asegurar el impacto del accidente en los sistemas biológicos.

2.3. INTERACCIÓN RADIACIÓN-MATERIA

Es necesario realizar una introducción sobre cómo interacciona la radiación cuando penetra en la materia, ya que puede perder parte o la totalidad de su energía y dar lugar a determinados efectos que utilizamos tanto para caracterizar la materia sobre la que se incide como para detectar y medir la radiación. Además, es necesario identificar de manera correcta los productos resultantes de esta interacción porque nos proporcionan diferente información sobre la muestra.

Podemos distinguir cuatro grupos a la hora de estudiar la interacción con la materia: partículas sin carga y sin masa (fotones), partículas cargadas ligeras (electrones y positrones), partículas pesadas cargadas (partículas alfa) y partículas con masa y sin carga (neutrones).

En concreto nos centraremos en el estudio de la interacción que sufren los electrones y la radiación electromagnética cuando atraviesan la materia, ya que en las técnicas que emplearemos intervienen éstas principalmente.

Aunque no entremos en detalle, es conveniente mencionar la interacción de las partículas pesadas (partículas con masa superior a la de un electrón), ya que son procesos muy importantes

y semejantes a los que experimentan las partículas ligeras. Las partículas pesadas interactúan con los núcleos o con los electrones, siendo la probabilidad de interactuar con un electrón 10^{15} veces mayor que la de interactuar con un núcleo. Las interacciones son de tipo coulombiano, colisiones tanto elásticas como inelásticas (provocando excitaciones atómicas o ionización) y procesos menos probables como el Bremsstrahlung (radiación de frenado). (9)

Cuando estas partículas atraviesan una muestra de un material van frenándose paulatinamente cediendo parte de su energía. Al ser partículas mucho más masivas que los electrones con los que interactúan, las pérdidas de energía son muy pequeñas y las trayectorias que realizarán (hasta que se frenen) son prácticamente rectilíneas.

Si ahora estudiamos el paso de los electrones por la materia observaremos que es semejante al de las partículas cargadas, como dijimos anteriormente. En este caso las trayectorias que experimentan no son rectilíneas, debido a que las colisiones con otros electrones pueden producir grandes desviaciones al no existir diferencia másica. Cuando interactúan con estos electrones producen ionizaciones y excitaciones. Por otro lado, cuando los electrones se acercan a un núcleo experimentan interacción coulombiana con este y se desvían bruscamente, emitiéndose radiación de frenado o Bremsstrahlung. En la figura 3 observamos todas las señales que se producen en la interacción electrones-materia (profundizaremos en las que nos servirán para obtener información cuando estudiemos el funcionamiento del microscopio electrónico de barrido).

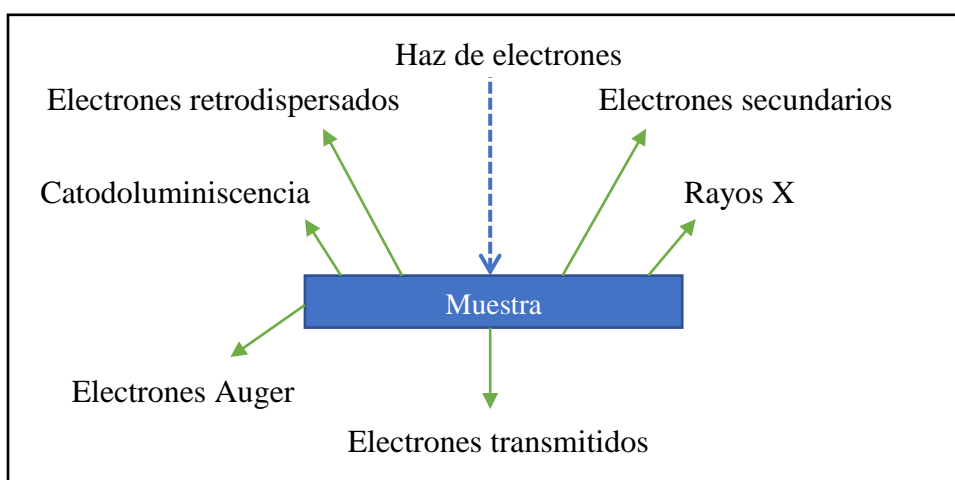


Figura 3. Diferentes señales producidas por la interacción electrones-muestra. En nuestro estudio utilizaremos electrones secundarios, retrodispersados y rayos X.

Por último, hablaremos de la interacción que experimenta la radiación electromagnética, los fotones, rayos X y gamma. Ambos son partículas sin carga eléctrica ni masa y que se diferencian en su energía, la radiación gamma es más energética que los rayos X (aunque tienen una zona en la que solapan su rango de energías); y en su origen, los rayos X proceden de transiciones entre niveles atómicos y los rayos gamma, en cambio, de transiciones entre niveles energéticos del núcleo. Los procesos que experimentan al interactuar con la materia son de absorción o de dispersión.

Las interacciones más relevantes son, el efecto Compton, el efecto fotoeléctrico y la producción de pares e^-e^+ ; aunque también se dan otros como la dispersión Rayleigh (colisión elástica con electrones), dispersión Delbruck (desviación al encontrarse en presencia del campo coulombiano creado por los núcleos), reacción fotonuclear (equivalente al efecto fotoeléctrico en el núcleo) y producción de pares nucleón-antinucleón. Que se produzca uno u otro de estos procesos depende de la energía de la radiación incidente. Como vemos en la figura 4, a energías bajas es más importante el efecto fotoeléctrico, mientras que a energías medias hay mayor probabilidad de que se produzca efecto Compton. Para que se dé la producción de pares es necesario que la energía del fotón incidente sea mayor de 1022 keV (ya que es la suma de la energía que tienen el electrón y el positrón en reposo), por eso solo se da a altas energías. (5)

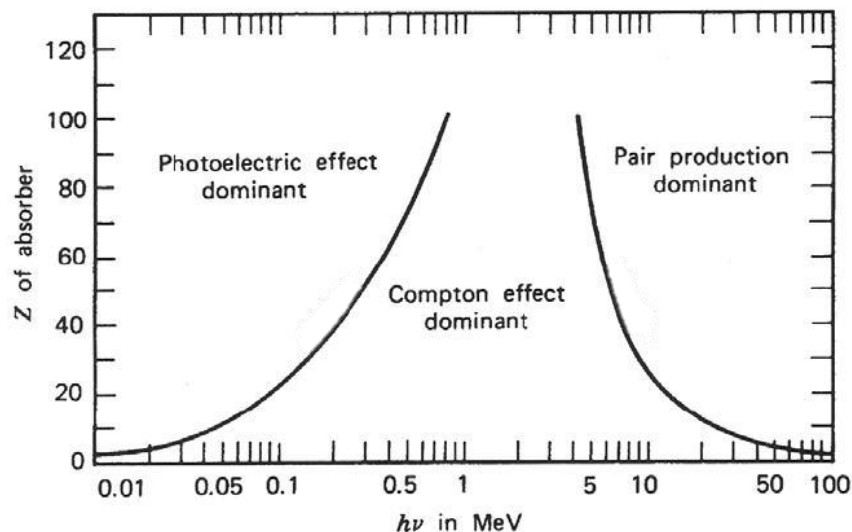


Figura 4. Representación del efecto predominante en función de la energía de la radiación. (Imagen modificada de (10))

Explicuemos detalladamente ahora cada una de las interacciones principales:

El efecto fotoeléctrico se produce cuando un fotón incidente transfiere toda su energía a un electrón que pertenece a un átomo de la materia. El fotón desaparece y el electrón escapa del átomo ya que adquiere energía cinética suficiente para abandonarlo.

La energía final con la que sale el electrón, E_f , es la diferencia entre la energía del fotón incidente, $E_\gamma = h\nu$ (donde ν es la frecuencia); y la energía de ligadura del electrón al átomo, E_b .

$$E_f = E_\gamma - E_b$$

Por otro lado, el efecto Compton es una colisión inelástica entre el fotón incidente y un electrón del átomo (figura 5). El primero le cede al segundo parte de su energía arrancándolo del átomo (siempre que la energía transferida sea suficiente). En este caso, el fotón no desaparece, solo se dispersa con una nueva dirección.

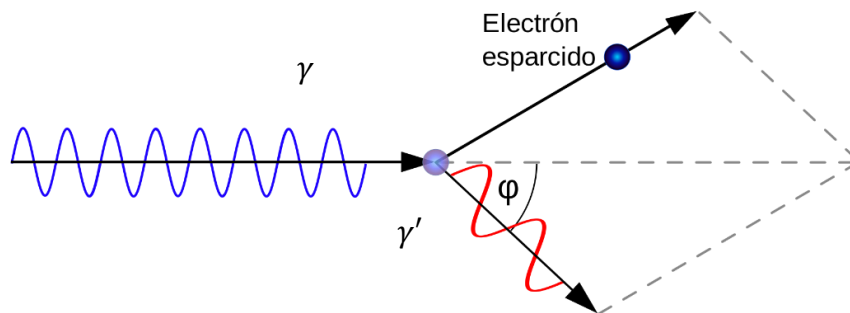


Figura 5. Representación del efecto Compton. (Imagen modificada de (11))

La ecuación que rige este proceso es:

$$\gamma' - \gamma = \frac{h}{m_e c} (1 - \cos\varphi)$$

Donde los elementos de la ecuación vienen representados en la figura 5, h es la constante de Planck, m_e la masa del electrón y c la velocidad de la luz.

La diferencia principal entre estos procesos es, aparte de la desaparición o no del fotón incidente, que en el efecto fotoeléctrico el electrón pertenece a una de las capas internas, es decir, está muy ligado; mientras que en el caso del efecto Compton, el electrón pertenece a una de las capas externas. Por eso, en el caso del efecto fotoeléctrico observamos los rayos X característicos del elemento en cuestión y en el efecto Compton no (entraremos en detalle cuando hablemos de la microfluorescencia de rayos X).

Por último, la producción de pares consiste en la desaparición de un fotón cuando este se acerca a un núcleo, creándose una pareja electrón-positrón. La energía mínima para que esto ocurra, como vimos anteriormente, es el doble de la correspondiente a la masa del electrón en reposo, 1022 keV, necesaria para crear la pareja. Si el fotón posee una energía superior a esta, la diferencia se transformará en energía cinética del electrón y el positrón.

No podemos acabar sin hablar del proceso de atenuación que experimentan las radiaciones electromagnéticas a su paso por la materia, ya que esto será importante en las diferentes técnicas que utilizaremos a lo largo de nuestro estudio. Cuando un haz de fotones (ya sean rayos X o gamma) inciden sobre una muestra de un determinado material y espesor x , interactúan con esta mediante alguno de los procedimientos explicados anteriormente. Hemos visto que los procesos pueden ser de absorción, algunos fotones se absorben en el material interactuando por ejemplo por efecto fotoeléctrico; o de dispersión, los fotones pueden cambiar su trayectoria en dirección contraria a la de incidencia. Por tanto, el haz que recibirá un detector colocado detrás de la muestra tendrá una intensidad menor que el haz incidente, porque no todos los fotones emitidos llegan finalmente. Esta atenuación sigue una ley exponencial:

$$I(x) = I(0)e^{-\mu x}$$

Donde $I(x)$ es la intensidad del haz final, $I(0)$ la del haz inicial, μ el coeficiente de atenuación lineal y x el espesor del material.

3. TÉCNICAS DE ESTUDIO

Es importante explicar en detalle las técnicas utilizadas a lo largo de nuestro estudio en las que intervienen los procesos de interacción radiación-materia estudiados anteriormente.

3.1. AUTORRADIOGRAFÍA

La técnica de la autorradiografía nos proporciona información sobre la existencia o no de radiactividad en una muestra gracias al rastro que deja ésta en una placa fotográfica.

Colocamos la muestra a oscuras en la placa durante un periodo de tiempo mínimo de una semana, ya que con la actividad de nuestras muestras es tiempo suficiente para que esta quede registrada. Tras retirar la placa podemos conocer si existen elementos radiactivos en la muestra gracias al escáner láser Fujifilm FLA-5100 (figura 6), situado en el laboratorio de Análisis de Imagen del edificio Celestino Mutis de la Universidad de Sevilla. (12)

La placa que utilizamos es la Fujifilm BAS-TR 2040 (figura 6), placa de almacenamiento de fósforo y fluorobromuro de bario con una pequeña cantidad de europio (materiales fluorescentes, emiten luz al ser irradiados o estimulados por una reacción química). Cuando la radiación emitida por la muestra llega a la placa excita los iones de europio. Estos liberan un electrón que pasa a la banda de conducción del cristal quedando atrapado en esta.



Figura 6. De izquierda a derecha. Escáner láser Fujifilm FLA-5100. Placa BAS-TR 2040.

Para revelar la placa se la somete a una estimulación por láser bajo la cual esta emite luz de manera proporcional a la cantidad de radiactividad de la muestra (utilizamos el programa Image Reader FLA-5000). Al incidir luz con una frecuencia más baja que la radiación incidente los

electrones excitados presentes en la banda de conducción regresan a su estado primitivo, emitiéndose luz de manera proporcional al número de electrones excitados originalmente. Esta luz es captada por un fotomultiplicador que la transforma en señales eléctricas. Podremos ver así una imagen digital en escala de grises, donde apreciamos diferentes intensidades en función de la radiación recibida. Gracias al programa Multi Gauge podemos medir distancias sobre la imagen digital para luego saber en qué parte de nuestra muestra se encuentra la partícula o partículas radiactivas.

3.2. ESPECTROMETRÍA GAMMA

Los átomos que forman parte de nuestras partículas radiactivas son, como hemos visto antes, plutonio y uranio en proporciones desconocidas, ya que son los elementos que formaban parte de las bombas que cayeron. En concreto, el ^{241}Am es descendiente directo del ^{241}Pu que decae mediante emisión beta como vimos en la figura 3. (13) El ^{241}Am al que decae es inestable, (emite alfas) y su descendiente decaerá a su estado fundamental o a uno de menor energía emitiendo radiación electromagnética (en este caso como se trata de una desexcitación nuclear se encontrará en el rango energético de la radiación gamma). En concreto, el fotón liberado tiene una energía de 59.5 keV, como observamos en el diagrama de la figura 7. (14) Esperaremos, entonces, encontrar en nuestro espectro un pico para este valor de energía y tener una indicación de si en una muestra contamos o no con partículas radiactivas.

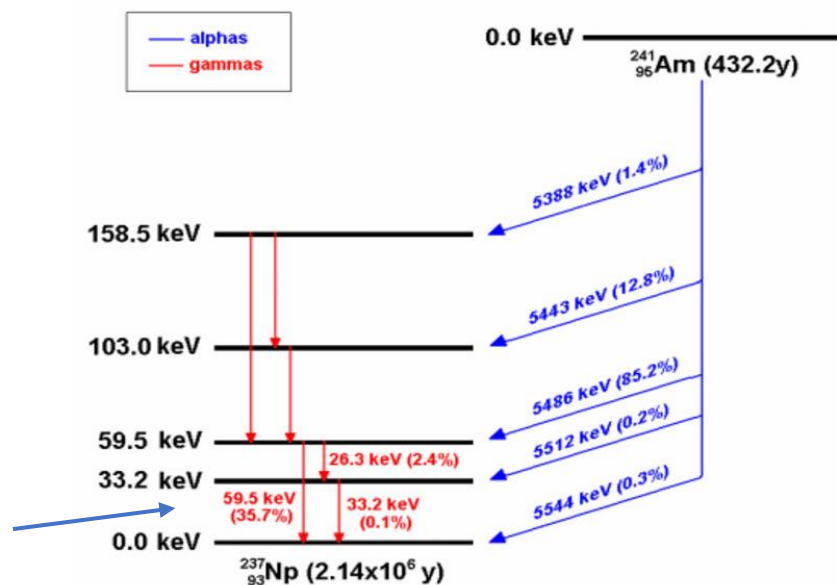


Figura 7. Esquema de niveles del ^{241}Am donde vemos la emisión de 59.5 keV (señalada con una flecha azul) que detectamos. (Imagen modificada de (15))

En nuestro software, al ser un multicanal (podemos detectar fotones en un rango de energía) es necesario realizar la calibración en energía, es decir, relacionar el canal en el que registramos cuentas con la energía que llevan dichas cuentas. Esta calibración estaba realizada en el detector del laboratorio, por tanto, este ya nos mostraba directamente el valor de la energía.

Para ver cómo se forma el espectro tenemos que conocer en profundidad cómo funciona nuestro detector. El detector que utilizamos pertenece a los conocidos como detectores de semiconductor, en concreto, es un detector de germanio también denominado LEGe (detector planar de Germanio de bajas energías con alta eficiencia) y se encuentra en el laboratorio de Física Nuclear y Partículas de la Facultad de Física en la Universidad de Sevilla.

Los detectores de semiconductor están formados por tres zonas, una zona de dopado tipo n, otra de tipo p y entre ellas una zona sin dopado, conocida como zona de depleción, que aumenta al polarizar en inversa nuestro detector. Cuando la radiación gamma llega a dicha zona de depleción produce pares electrón-hueco. Estos electrones son recogidos, creando pulsos de corriente que pasarán a la electrónica, hasta llegar finalmente al multicanal, que los clasifica en función de su energía. (16) El software utilizado para visualizar los espectros es Gamma Acquisition & Analysis.

En el caso del germanio la energía necesaria para crear pares electrón-hueco es de 2,8 eV, por tanto, con radiaciones gamma del orden del MeV tenemos energía suficiente para crear numerosos pares, lo que nos proporciona una mejor resolución y sensibilidad (a diferencia de otros tipos de detectores cuyos pulsos son más débiles, como por ejemplo los de Silicio, ya que la energía necesaria es de aproximadamente 3,6 eV). Además, el tiempo de respuesta es muy alto porque los portadores de carga tienen una elevada movilidad.

El espectro producido por una fuente puntual y solo un emisor gamma en un detector de germanio es el que apreciamos en la figura 8. En él podemos ver dos de los efectos principales de la interacción radiación-materia que sufren los fotones gamma: el efecto fotoeléctrico, observamos un pico (fotopico), y el efecto Compton, que produce un continuo. Además, también aparecen un pico de retrodispersión, cuando los fotones rebotan en el material que rodea al detector; y dispersión múltiple, resultado de la consecución de varios efectos Compton seguidos. En nuestro trabajo solo nos interesaremos por el fotopico del americio porque únicamente utilizaremos esta técnica para discriminar la existencia o no de americio en una muestra (en función de si aparece o no dicho pico).

Para que nuestro detector funcione correctamente es importante que esté enfriado y blindado (figura 9). Por un lado, el frío es necesario para que no se produzcan pares electrón-hueco por agitación térmica y lo conseguimos mediante un sistema de refrigeración con nitrógeno líquido. Por otro lado, con el blindaje protegemos al detector de la radiación de fondo que se encuentra en el laboratorio, evitando así, que nuestra medida esté falseada. En concreto el detector utilizado tiene un recubrimiento de plomo de 10 cm de espesor. (17)

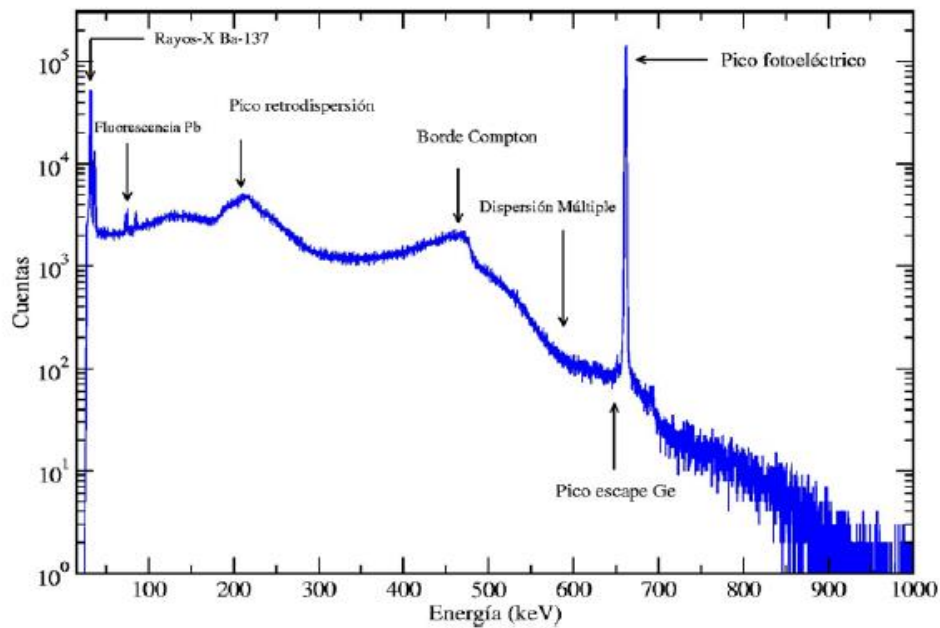


Figura 8. Espectro de una muestra puntual de ^{137}Cs por espectrometría gamma. (1)



Figura 9. En la imagen de la izquierda observamos el detector con el tanque de nitrógeno. En la imagen de la derecha observamos el blindaje de plomo y la ventana de Berilio del detector.

Además de poder detectar la existencia o no de americio en nuestra muestra, y por tanto de plutonio, podemos calcular la actividad de manera aproximada, número de desexcitaciones por segundo, mediante la expresión:

$$A = \frac{N}{t \cdot \varepsilon \cdot I}$$

Donde N es el número de cuentas netas detectadas en el fotopico, es decir, el número de cuentas total detectadas menos el fondo, que en nuestro software aparece indicado como área (el número total de cuentas aparece como integral). En la expresión también aparece ε , la eficiencia del fotopico, que hemos supuesto de un 10% en todas las medidas. La eficiencia depende tanto a) de las características del detector y de la muestra como b) de la posición en la que colocamos dicha muestra (eficiencia geométrica). Respecto a la primera dependencia no podemos reproducir nuestras muestras para poder calcularla; la suponemos de un 10% al ser la eficiencia hallada para una fuente puntual de ^{241}Am , y, respecto a la segunda, todas son colocadas con la misma geometría; podemos suponer la misma eficiencia para todas. Nos basta conocer la actividad de forma aproximada, por lo que no nos hemos ocupado de estimar la eficiencia con mayor precisión. Además, t es el tiempo de detección que nos viene indicado en el software; e I la intensidad de la desexcitación, que podemos observarla en el diagrama de decaimiento. La actividad se mide en Becquerelios (Bq); aunque durante nuestro trabajo utilizaremos también la tasa de recuento expresada en cuentas por segundo (cps), dividiendo el área, número neto de cuentas detectadas, entre el tiempo de medida.

3.3. TOMOGRAFÍA AXIAL COMPUTARIZADA

La tomografía axial computarizada (TAC) o únicamente tomografía computarizada como es denominada en la actualidad, es una técnica no destructiva que utiliza rayos X para estudiar la composición y morfología de la muestra, de manera similar a una radiografía en tres dimensiones.

El aparato está compuesto por un tubo de rayos X, un soporte rotatorio donde colocamos la muestra y el detector. Los rayos X interactúan con nuestra muestra por cualquiera de los procedimientos que hemos visto anteriormente; principalmente efecto fotoeléctrico y Compton, ya que las energías de los fotones incidentes no son suficientes para que se produzcan pares. La muestra atenúa en mayor o menor medida la radiación incidente en función de la densidad de los elementos que la componen, como ocurre con una radiografía al uso. Las zonas con mayor

densidad atenuarán más la radiación, al contrario que aquellas con densidad menor, que serán más transparentes a esta. (18)

El funcionamiento del tubo de rayos X es sencillo (figura 10). Está formado por un ánodo y un cátodo que produce electrones por efecto termoiónico al ser calentado. Estos son acelerados por una diferencia de potencial existente entre dicho cátodo y el ánodo. En este último se frenan por efecto Bremsstrahlung, emitiéndose fotones cuya energía se encuentra en el rango energético de los rayos X. Los fotones se dirigen hacia la muestra y, como hemos explicado anteriormente, interactúan con esta, atenuándose en función de la densidad del material con el que se encuentren a su paso.

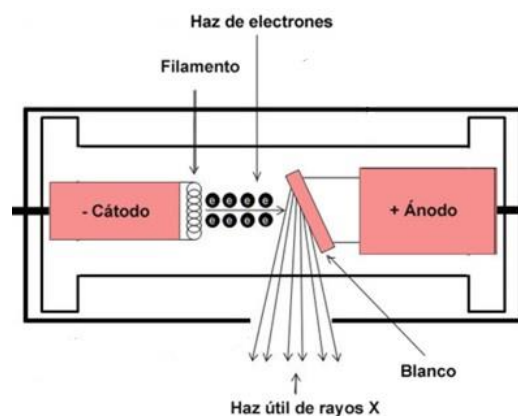


Figura 10. Esquema del funcionamiento de un tubo de rayos X. (Imagen modificada de (19))

En nuestro caso, el equipo utilizado se encuentra situado en el laboratorio del servicio de rayos X del CITIUS y se trata del modelo Y. COUGAR SMT de la marca YXLON (figura 11). Posee un detector bidimensional de estado sólido y un tubo multifoco con las opciones nanofocus, microfocus y alta potencia, que utilizaremos en función del tipo de muestra a estudiar; en nuestro caso utilizaremos el microfocus. El blanco en el que se produce el efecto Bremsstrahlung es de wolframio y podemos trabajar en un rango de voltajes e intensidades hasta 160 kV y 140 μ A (las condiciones en nuestros experimentos serán impuestas por un técnico del laboratorio en función de las características de la muestra). El software que utilizamos tiene la capacidad de estudiar las diferencias entre el haz incidente en el detector y el emitido, para así calcular el coeficiente de atenuación (depende directamente de la densidad); y puede elaborar un mapa de la muestra en escala de grises, de tal manera que, en tonos más

claros aparecerán las zonas con mayor densidad, mientras que los más oscuros corresponden a zonas menos densas. (20) Esta técnica nos es útil ya que las partículas radiactivas que buscamos poseen una alta densidad.

El procedimiento que hemos explicado nos permite tomar una imagen de la muestra en 2D, por tanto, si lo repetimos sucesivas veces mientras la vamos girando obtenemos una serie de imágenes en diferentes planos que utiliza el software VGStudio MAX 2.2.3 para elaborar la reconstrucción en 3D. El número de imágenes que tomamos podemos modificarlo, en nuestro caso realizaremos 1024 tomas para cada muestra.



Figura 11. En la imagen de la izquierda observamos el equipo al completo. En la imagen de la derecha, el tubo de rayos X abajo, el soporte rotatorio con la muestra y el detector plano en la parte superior.

3.4. MICROFLUORESCENCIA DE RAYOS X

Antes de entrar a explicar la técnica en cuestión, debemos comprender la procedencia de los rayos X característicos.

Cuando incidimos en un átomo con partículas pesadas, electrones o radiación, el átomo se excita. Es decir, un electrón de una capa interior adquiere la energía suficiente para escapar del átomo dejando una vacante, la cual es rellenada por otro electrón de una capa superior. Cuando se produce esta caída se libera un fotón cuya energía corresponde a la diferencia energética entre los niveles donde se encuentran el electrón y la vacante. El orden de esta energía es del keV, estamos en el rango de los rayos X, y los denominamos rayos X característicos porque la separación entre los niveles es propia de cada elemento. (5)

Como los electrones solo pueden situarse en determinados niveles, cumpliendo las reglas de la mecánica cuántica y el Principio de Pauli, los saltos también están restringidos.

Para poder diferenciar los rayos X característicos los nombramos con dos letras, una letra latina y una letra griega. La primera letra corresponde a la capa donde se encuentra la vacante, (K,L,M,...) y la segunda al número de capas que tiene que saltar el electrón para completar el hueco; alfa si solo es una capa, beta cuando son dos, gamma en el caso de que sean tres,... (1)

Si comparamos la energía de los distintos rayos característicos observamos que es mayor a medida que aumenta el número de capas que se saltan, esto es, los rayos $X\alpha$ son menos energéticos que los rayos $X\beta$. Por otro lado, a medida que el número atómico del átomo es mayor la energía de la radiación también aumenta, porque los electrones internos están más ligados al haber más protones en el núcleo. Todo esto podemos apreciarlo en la figura 12.

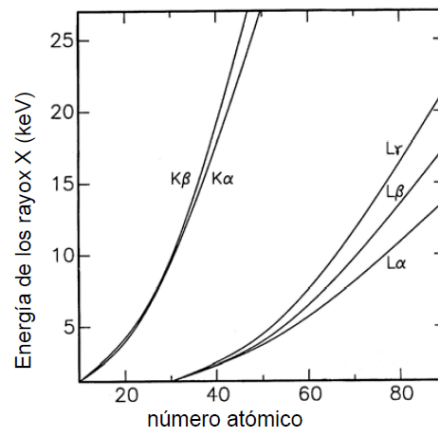


Figura 12. Relación entre la energía de los rayos X característicos y el número atómico. (1)

Cuando un átomo es excitado, además de producirse rayos X característicos, tenemos un fenómeno competitivo, los electrones Auger. Estos se producen cuando la energía liberada en la excitación se le comunica directamente a un electrón de una capa exterior que escapa, al que denominamos electrón Auger.

Conociendo ya la procedencia de los rayos X característicos podemos estudiar cómo funciona la técnica de microfluorescencia de rayos X (FRX). Al igual que la técnica anterior, es no destructiva y nos sirve para identificar la composición de nuestra muestra de manera semicuantitativa, mediante la detección de los rayos X característicos de los elementos que la componen tras excitarlos con radiación. Dicha radiación es más penetrante que los electrones o las partículas pesadas permitiéndonos así obtener información de los elementos que componen

la partícula al completo y no solo de su superficie. Además, se denomina microfluorescencia porque emplea una óptica capilar para enfocar los rayos en una parte de la muestra y lograr una resolución de decenas de micras.

En nuestro caso el equipo utilizado ha sido el Eagle III de EDAX que se encuentra en el Servicio de rayos X en el CITIUS (figura 13). Los elementos fundamentales que lo componen son: el tubo de rayos X, el soporte donde colocamos la muestra y el detector. También posee un monocapilar y una cámara CCD (21). El tubo de rayos X tiene una estructura similar al utilizado en el TAC, solo que en este caso el ánodo es de rodio. Unido a este tubo tenemos el monocapilar de 300 μm que, como hemos explicado anteriormente, nos ayuda a enfocar el haz de radiación. Cuando dicho haz llega a la muestra interacciona mediante efecto fotoeléctrico o Compton (no tiene energía suficiente para producir pares) originándose rayos X característicos de los elementos que la componen (solo cuando se produce efecto fotoeléctrico porque arranca electrones de capas internas, mientras que el Compton lo hace de capas exteriores). Estos llegan al detector, que en nuestro caso es un detector de semiconductor, en concreto, de silicio dopado con litio; cuyo funcionamiento es idéntico al detector de germanio que utilizamos en espectrometría gamma, basado en la producción de pares electrón-hueco en la zona de depleción. En este caso también nos encontramos con un analizador multicanal que estaba ya calibrado en el laboratorio.



Figura 13. Equipo Eagle III en el CITIUS.

Tenemos que destacar que, el soporte donde colocamos la muestra está monitorizado en las direcciones XYZ, pudiendo así desplazarla para poder medir cualquier punto de esta de la manera más precisa posible (figura 14) (22). Además, como dijimos anteriormente, contamos con una cámara CCD que nos permite realizar aumentos de 10x y 100x, con la que colocaremos

la muestra de la manera más correcta y tomaremos imágenes de esta que nos serán de gran utilidad para el reconocimiento de nuestras partículas.

El software utilizado nos proporciona una imagen captada por la cámara en la que aparece indicada la zona a la que dirigimos el haz, el espectro de rayos X y una tabla con los porcentajes atómicos y de peso de los elementos o compuestos sencillos que forman la muestra. Las condiciones utilizadas en cada caso son impuestas por el personal del laboratorio, buscando las más adecuadas para cada muestra.

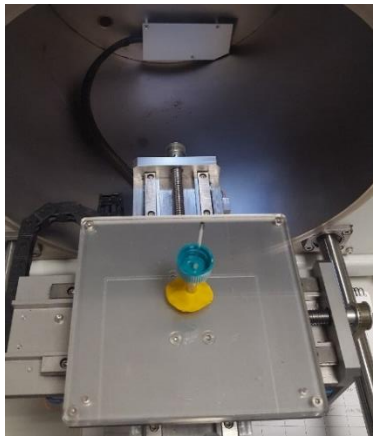


Figura 14. Soporte monitorizado donde colocamos la muestra.

3.5. MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE BARRIDO

La microscopía electrónica de barrido (MEB) es una técnica no destructiva que nos permite conocer tanto la morfología como la composición de la muestra. El funcionamiento básico de esta técnica es la interacción de un haz de electrones con la muestra y la detección de algunos de los productos de dicha interacción.

Dentro de todas las señales que se producen en la interacción de los electrones con la materia (figura 4) solo vamos a estudiar en profundidad aquellas que utilizamos en nuestro trabajo.

En primer lugar, hablaremos de los electrones retrodispersados. Cuando los electrones del haz incidente interactúan con los núcleos y los electrones de los átomos de la muestra se producen colisiones. Si el choque es con un núcleo (elástico) cambia su dirección, pero no varía apenas su energía, en cambio, si choca con otro electrón (inelástico) pierde una cantidad significativa de energía. Puede ocurrir que el electrón incidente tras sufrir numerosas colisiones salga “reflejado” y escape de la muestra, lo denominamos entonces retrodispersado (5). Por esto, la detección de dichos electrones la realizamos cerca del eje de incidencia.

Siendo rigurosos no podríamos asegurar que estos pertenezcan al haz de electrones incidentes porque al producirse colisiones no podemos distinguir cuál es el incidente y cuál el de la muestra, aunque por convenio lo hagamos así.

Los electrones retrodispersados nos ofrecen información sobre la composición de la muestra, ya que la intensidad de la señal de los electrones retrodispersados depende del número atómico, Z . El coeficiente de retrodispersión varía en función de este número, a mayor Z mayor coeficiente; aunque para Z altos el coeficiente varía muy poco y, por tanto, diferenciar elementos muy pesados como el uranio y el plutonio es complicado; pero sí podemos distinguirlos de elementos ligeros como el carbono. La imagen que observamos emplea una escala de grises para ilustrar lo que acabamos de explicar, colores más claros para las zonas con Z mayor y oscuros para aquellas con Z menor.

El segundo producto de la interacción que utilizamos en nuestro estudio son los electrones secundarios. Estos se producen cuando un electrón del haz incidente excita uno de los electrones de la muestra y este adquiere energía suficiente para salir. Es muy complicado diferenciar entre estos y los retrodispersados, por tanto, establecemos un convenio en base a su energía, ya que sabemos que los secundarios son menos energéticos. Colocamos el umbral de energía en 50eV, es decir, si la energía del electrón es inferior a este umbral lo consideraremos un electrón secundario, en cambio, si el valor de la energía del electrón es superior al umbral nos encontramos con un electrón retrodispersado. (23)

En este caso no nos ofrecen información acerca de la composición de la muestra porque el coeficiente de electrones secundarios no depende del número atómico. Este varía en función del ángulo de incidencia, por tanto, nos indica la topografía de la muestra.

Los últimos productos de la interacción que nos proporcionan información son los rayos X. Los electrones del haz incidente excitan los electrones de la muestra, estos escapan y dejan vacantes que son completadas con electrones de capas superiores, liberándose rayos X característicos de cada elemento, como explicamos cuando hablamos de la microfluorescencia de rayos X. La diferencia principal con la FRX es la forma de excitar los átomos, en fluorescencia utilizamos radiación mientras que aquí lo hacemos con electrones.

Estos rayos X característicos nos complementan la información proporcionada por los electrones retrodispersados. Los electrones nos dan un mapa en escala de grises en función del número atómico y, los rayos X, el espectro con picos en las energías correspondientes a los

elementos que componen la muestra. Igual que nos ocurría en el caso de la microfluorescencia pueden existir electrones Auger, fenómeno competitivo con los rayos X característicos.

Combinando estas tres señales podemos obtener, como hemos indicado al principio, información no solo de la composición de la muestra sino también de su morfología. Evidentemente la resolución de cada una de ellas es diferente. En la figura 15 podemos observar las regiones del volumen de interacción de cada una, a partir de las cuales podemos apreciar las diferencias en las resoluciones; a mayor volumen de interacción, peor resolución. (Aparecen otras señales que no nos aportan información en nuestro caso.)

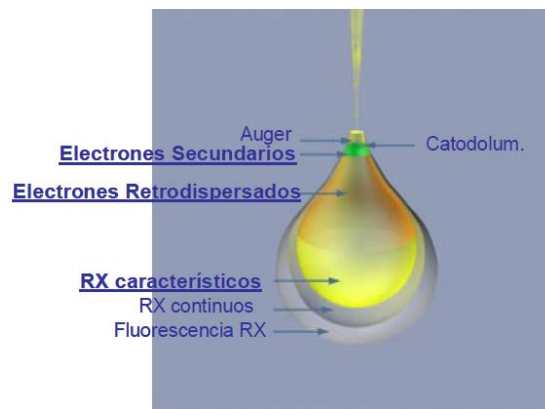


Figura 15. Regiones del volumen de interacción para cada una de las señales producidas en la interacción electrones-materia. (1)

Conociendo ya todas las señales que nos aportan información es necesario saber cuáles son los elementos principales que forman nuestro microscopio. La parte fundamental es la columna de electrones, dispositivo encargado de la creación del haz, como su propio nombre indica. Está compuesto por un cañón de electrones que los produce gracias a un filamento; un sistema de lentes para focalizar y reducir el haz, y un sistema de barrido que, mediante un conjunto de bobinas, permite desplazar el haz sobre la muestra. (24) Además, tiene que contar con tres detectores diferentes (con su correspondiente electrónica para transformar las señales recibidas en impulsos eléctricos) para recoger los tres productos de la interacción que hemos explicado: electrones retrodispersados, electrones secundarios y rayos X característicos. También contiene un sistema de refrigeración para que no se produzcan señales por efecto termoiónico y una cámara de vacío para evitar que la señal de los electrones se pierda antes de llegar al detector (como hemos estudiado en el punto 2.3., los electrones van frenándose cediendo energía al atravesar la materia).

Además, la muestra requiere una preparación especial, tiene que estar colocada sobre una superficie conductora para que el haz de electrones pueda atravesarla y tiene que estar bien fijada para que al hacer el vacío no se desplace ningún elemento de esta.

En nuestro caso, el microscopio electrónico que utilizamos se encuentra situado en el servicio de microscopia del CITIUS y se trata de un JEOL 6460LV (figura 16). En este microscopio en concreto, el filamento del cañón de electrones es de tungsteno, el soporte donde colocamos la muestra puede moverse en 5 ejes y el sistema de refrigeración es mediante un dedo frío. Si hablamos de los tres detectores que posee es importante diferenciarlos porque pertenecen a categorías diferentes. El utilizado para detectar electrones secundarios es un centellador con la configuración Everhart-Thornley; para los electrones retrodispersados se trata de un detector de semiconductor con la misma configuración, Everhart-Thornley; y el detector de rayos X por dispersión de energías es un detector de semiconductor, en concreto de silicio dopado con litio (1). Este último, además, nos permite realizar mappings de nuestra muestra, una representación cualitativa de los elementos que la forman. Se colorean imágenes de la muestra asociando a cada color un rango de energías pequeño, correspondiente a los rayos X característicos de un determinado elemento, según la intensidad de la radiación recogida en cada punto.

El software que utiliza el detector para obtener la imagen es el JEOL Scanning Electron Microscope y, para realizar la espectrometría de rayos X y el mapping, el INCA.



Figura 16. A la izquierda, imagen del MEB al completo con el sistema de refrigeración. A la derecha, el interior del MEB donde vemos el cañón de electrones.

4. MÉTODO EXPERIMENTAL

El objetivo principal de nuestro estudio ha sido demostrar el impacto del accidente nuclear en los sistemas biológicos de la zona, utilizando como marcador las heces de conejo. Por tanto, nos hemos centrado en la búsqueda, localización y caracterización de partículas radiactivas en dichas heces de conejo, recogidas en los suelos de Palomares. En principio podríamos suponer que las partículas radiactivas encontradas en las heces pueden tener tres vías de llegada: la primera de ellas, la alimentación de estos animales, que las hayan ingerido al estar presentes en la vegetación de la que se alimentan; la segunda, que hayan sido adheridas a la superficie de las heces tras excretarlas, ya que son animales que habitan en madrigueras subterráneas, en continuo contacto con el suelo contaminado; y, la última, es una combinación de las anteriores. Los conejos practican la cecotrofia (25), es decir, vuelven a comerse sus propias heces para aprovechar los nutrientes que en una primera digestión no son absorbidos. Si nos encontramos en la segunda situación, en la que las partículas han quedado adheridas a la superficie tras la excreción, y estas heces vuelven a ser ingeridas, hallaremos partículas radiactivas en las segundas heces. Al final de nuestro estudio podremos dar información sobre cuál es el motivo de la presencia de partículas radiactivas en las heces.

Para encontrar dichas partículas, hemos realizado en primer lugar un muestreo en la zona y posteriormente, ya en Sevilla, trabajo de laboratorio empleando las técnicas explicadas anteriormente.

4.1. MUESTREO

Para comenzar nuestros experimentos fue necesario contar con un gran número de muestras, por lo que realizamos una expedición a Palomares. Necesitábamos una gran cantidad no sólo por la dificultad que se nos podía presentar a la hora de encontrar heces con actividad radiactiva, sino también para que nuestro estudio fuera realmente representativo.

El mapa de Palomares se encuentra dividido en zonas numeradas según su cercanía al lugar donde impactó alguna de las bombas, como observamos en la figura 17. Recogimos muestras en tres puntos, junto a las zonas 2, 2bis y 6, fuera de la zona de acceso restringido (figura 18).

Cabe destacar que en la zona 2 no solo recogimos heces de conejo, sino que, además, también encontramos otras con una forma ligeramente diferente y más grandes, que posteriormente identificamos como heces de cabra.

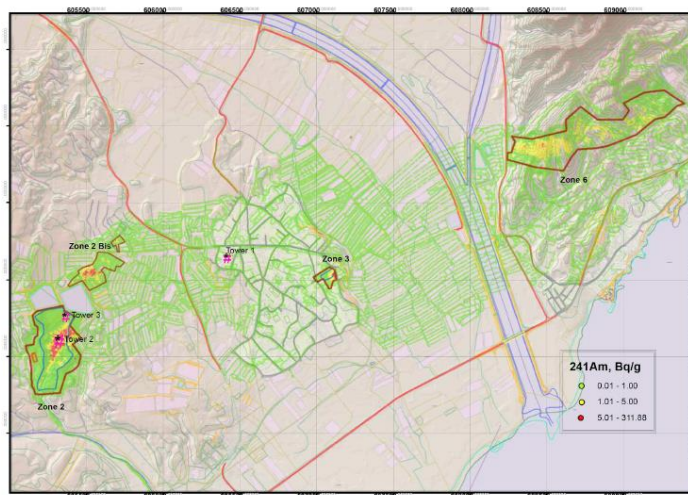


Figura 17. Mapa de Palomares con las zonas marcadas y nombradas donde hemos recogido muestras. (26)



Figura 18. Imágenes de la expedición a Palomares.

4.2. TRABAJO DE LABORATORIO

En este apartado nos centraremos en explicar el procedimiento general seguido con las muestras que recogimos. En el siguiente apartado profundizaremos y contaremos en detalle el estudio que hemos realizado para cada una de las muestras en concreto.

En primer lugar, como las bolsas con las heces contenían restos de suelo y pequeñas ramas, las pasamos por un tamiz y las separamos en cajas Petri. Una vez limpias, medimos por espectrometría gamma todas las cajas Petri para ver si detectamos el fotopico correspondiente al ^{241}Am o no, y, por tanto, saber si alguna de las heces de la caja podía contener una o más partículas radiactivas.

Aquellas cajas Petri en las que observamos el pico de americio que antes hemos explicado las preparamos para autorradiografía. Esta técnica nos permite escoger la hez en concreto dónde se encuentra la partícula, una vez identificada. En el apartado anterior hemos comentado que esta técnica requería de, al menos, una semana para que quedara registrada la actividad en la placa, ya que trabajamos con actividades bajas. Al tratarse de una técnica que necesita tanto tiempo elaboramos un proceso alternativo para agilizar los experimentos. Algunas de las cajas Petri en las que detectamos la presencia de americio fueron sometidas a un procedimiento repetido de división binaria y espectrometría gamma, seleccionando la partición en la que registrábamos actividad, hasta conseguir aislar una sola hez, obteniendo así lo mismo que por autorradiografía.

Una vez que tenemos la hez localizada le realizamos un TAC para intentar encontrar la partícula o las partículas más densas, en el caso de que hubiera más de una, dentro o en la superficie de la hez. Estas partículas con una densidad alta podrían corresponder a partículas compuestas por uranio y plutonio, lo que conocemos como partículas radiactivas.

Los siguientes pasos van encaminados a caracterizar y aislar de las partículas vistas en el TAC aquellas que, efectivamente, contengan uranio y plutonio, partículas radiactivas. Para ello, si se encuentra en la superficie, la podemos observar con el microscopio electrónico de barrido (la distinguimos fácilmente ya que el plutonio y el uranio tienen $Z=94$ y $Z=92$ respectivamente) y separarla en un capilar, ayudados de una lupa muy potente; para después realizarle microfluorescencia de rayos X y confirmar su composición. En cambio, si la partícula se encuentra en el interior, tenemos que ir dividiendo la hez y comprobando por espectrometría gamma en qué porción se encuentra; de manera semejante al proceso que hemos utilizado para separarla, hasta conseguir dejarla en la superficie y poder realizar el procedimiento anterior. En algún caso hemos tenido que recurrir a triturar la hez porque no conseguíamos ver la partícula en el microscopio.

5. RESULTADOS

En este apartado iremos detallando el proceso experimental seguido con cada una de las muestras y los resultados obtenidos. Hemos podido hallar cuatro partículas (tres en heces de conejo y otra en una hez de cabra), como mostramos en la siguiente tabla (tabla 1); en la que aparecen las técnicas empleadas y su tasa de recuento.

Tabla 1. Resumen de las muestras.

Muestra	Técnicas empleadas	Tasa de recuento (cps)
HC-19-1	Autorradiografía, espectrometría gamma y TAC	0.016
EC-Z6	Espectrometría gamma, MEB y FRX	0.35
C1T	Espectrometría gamma, TAC y MEB	0.56
CA1T	Espectrometría gamma, TAC y MEB	0.45

HC-19-1

Esta hez la aislamos de una bolsa gracias a la técnica de la autorradiografía. Como vemos en la figura 19, al revelar la placa fotográfica observamos un punto más oscuro que nos indica la presencia de actividad radiactiva en el punto correspondiente de la bolsa. El software nos permite medir dónde se encuentra dicho punto y, gracias a la ayuda de un pie de rey, podemos medir las mismas distancias sobre la bolsa para identificar a qué hez corresponde (HC-19-1).

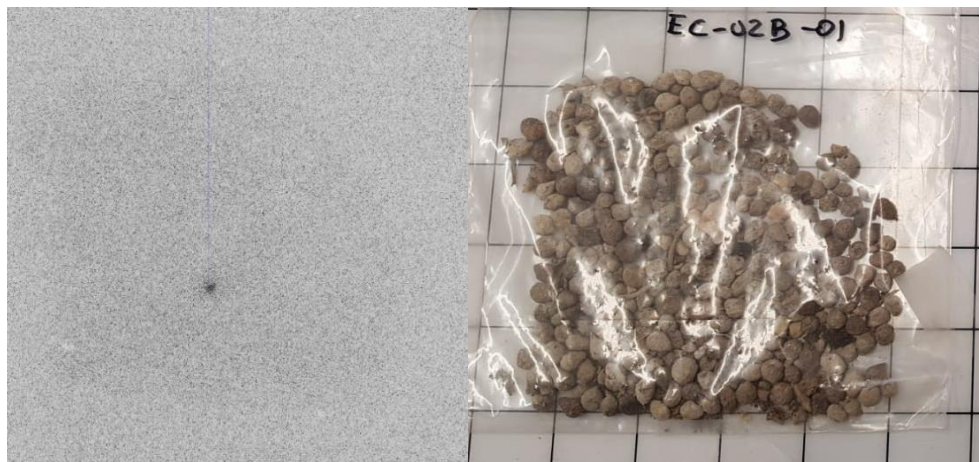


Figura 19. Resultados de la autorradiografía de EC-02B-01 (bolsa completa) y comparación con la bolsa real.

Al medir la hez por espectrometría gamma nos aparecía un pico para la energía correspondiente a la desexcitación del americio (59,5 keV), que es lo que esperábamos encontrar (figura 20). El área era de 1280 cuentas en 81004.25 segundos, es decir, 0.016 cps. Podemos calcular la actividad de manera aproximada, como explicamos en el apartado 3.2., obteniendo un valor de 0.44 Bq.

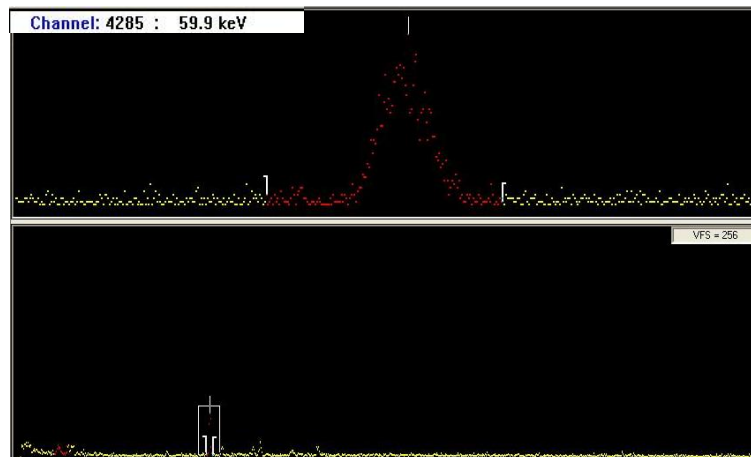


Figura 20. Imagen del espectro gamma obtenido para HC-19-1. La imagen superior es una ampliación del pico de americio, señalado con un rectángulo blanco en el espectro inferior.

Tras esto, le realizamos un TAC para observar la partícula contenida en ella y obtuvimos las imágenes que observamos en la figura 21. Para poder hacerle el TAC la colocamos en un tornillo rotatorio introducida en una punta de pipeta de plástico, transparente a los rayos X, que no nos la oculta (Figura 22). Como vemos, el software nos proporciona tres imágenes en dos dimensiones de cada uno de los planos (XY, YZ y XZ), y la reconstrucción 3D (figura 21), para que nos sea más fácil identificar la posición de la partícula que nos interesa. También nos permite realizar medidas en cada uno de los planos y modificar el contraste en estos.

Como dijimos cuando hablamos de la tomografía axial computarizada, los puntos que aparecen más claros son aquellos correspondientes a zonas con una densidad mayor. Al observarse varios de un tono brillante fuimos variando el nivel de contraste, de tal manera que, las zonas con densidad menor (más oscuras) van desapareciendo de la imagen; y solo se mantienen aquellas más densas (más claras). Así es como conseguimos elegir cuáles de todas las zonas con una densidad mayor podrían corresponderse a partículas radiactivas, subiendo el nivel del contraste.

Realizando este procedimiento sobre el TAC de HC-19-1 observamos que solo uno de los puntos que aparecían de color blanco permanecía al aumentar el nivel de contraste, por tanto, ya teníamos localizada una partícula radiactiva en el interior.

Decidimos intentar aislarla, pero no nos fue posible. Aun así, podemos asegurar su existencia en el interior de la hez, gracias al TAC; y su composición, gracias a la espectrometría gamma.

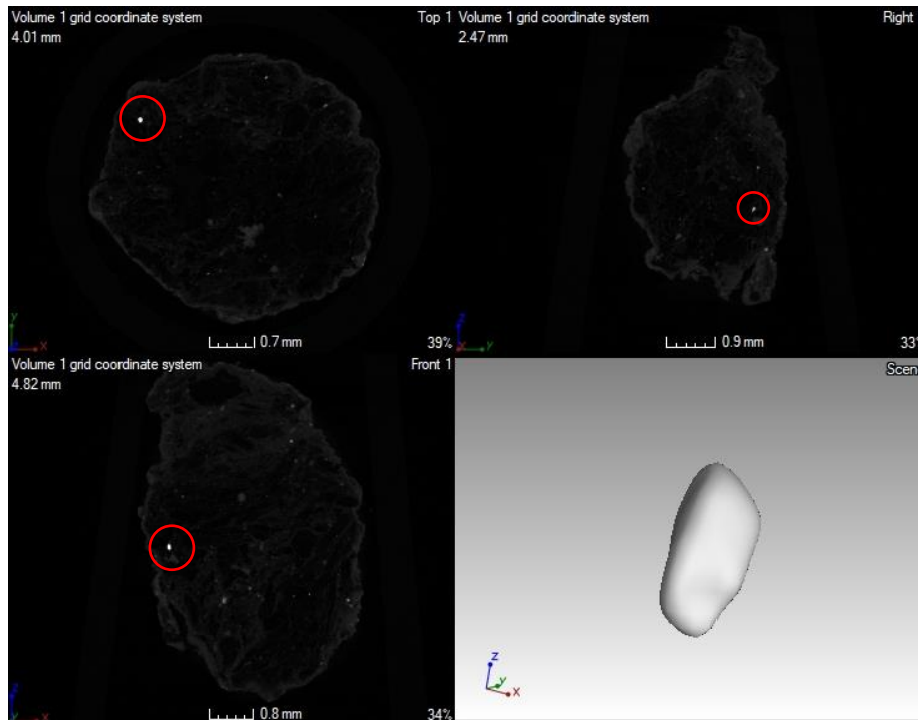


Figura 21. Resultados del TAC de HC-19-1. Arriba a la izquierda el plano XY, a su derecha el plano YZ, abajo a la izquierda el XZ y, por último, abajo a la derecha, la reconstrucción de la partícula ampliada en 3D. Marcamos con un círculo rojo la partícula en todos los planos.



Figura 22. Sistema con el que colocamos la partícula en el TAC para que pueda rotar.

EC-Z6

Se trata de una hez que se encontraba fragmentada. Fuimos colocando cada uno de estos fragmentos en el detector de radiación gamma hasta conseguir localizar aquel que contenía la

o las partículas radiactivas, en definitiva, aquel donde observamos el pico correspondiente a la emisión gamma del americio. Dicho fragmento produjo una tasa de recuento de 0.35 cps.

Posteriormente, colocamos el fragmento en el soporte del microscopio electrónico de barrido (figura 23) y, detectando electrones retrodispersados, encontramos rápidamente una partícula con puntos más brillantes que el resto de la muestra (figura 24). Además, el software nos permite medir distancias para poder localizarla posteriormente en la cinta de carbono de una manera más sencilla (medimos la distancia a los bordes de la cinta como observamos en la figura 24).

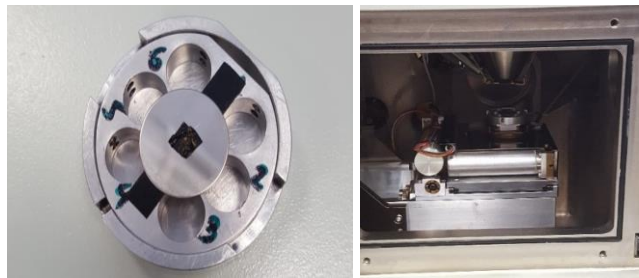


Figura 23. A la izquierda fragmentos de la muestra colocados en el soporte conductor. A la derecha el soporte colocado en la cámara del microscopio.

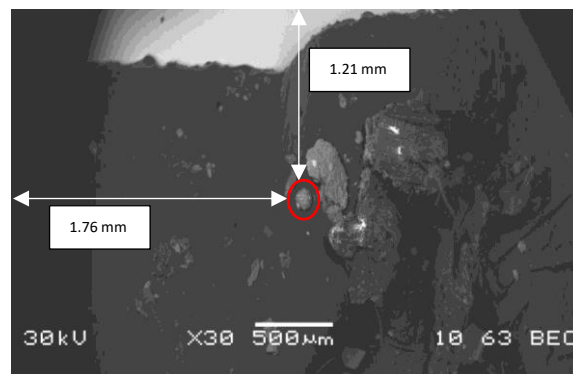


Figura 24. Imagen de parte de los fragmentos (figura 23 izq.) obtenida con electrones retrodispersados en el MEB. Señalada en rojo tenemos la partícula en la que observamos puntos más brillantes que nos indican la presencia de elementos con Z mayor. El software nos permite medir distancias para poder localizarla posteriormente.

Como explicamos en el apartado 3.5., en este microscopio podemos detectar dos tipos de electrones, los retrodispersados, que nos aportan información sobre la composición; y los secundarios, que nos indican la morfología de la muestra. En la figura 25 observamos imágenes obtenidas para ambos tipos de señales de la partícula al completo y de dos zonas dentro de esta

formadas por elementos más densos. También podemos medirla, 143 μm de alto y 103 μm de ancho, y observar que es de forma aproximadamente elíptica con pequeñas irregularidades.

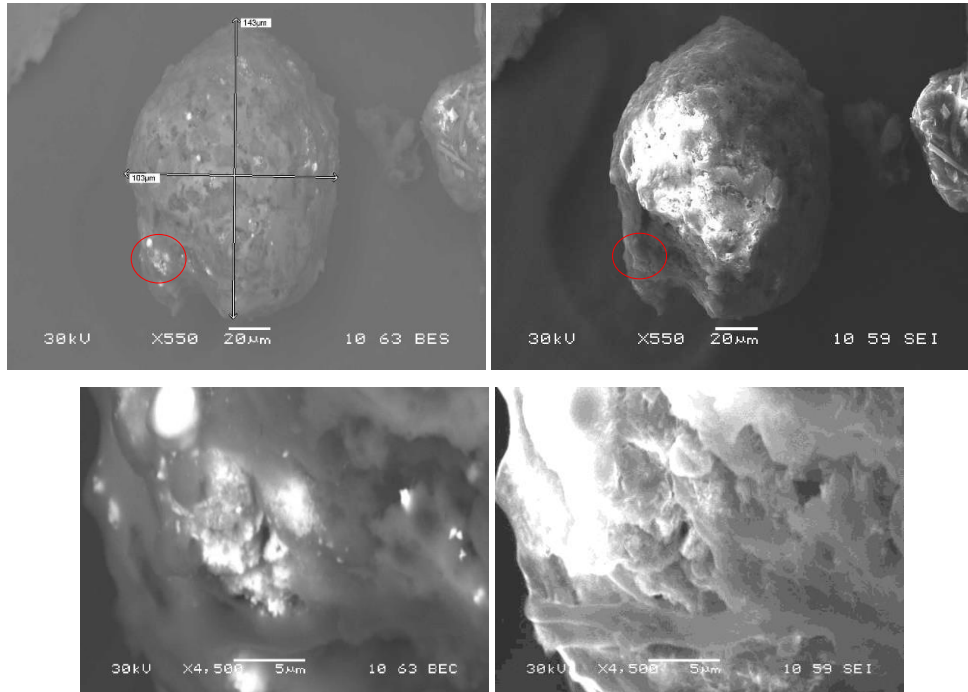


Figura 25. En la esquina superior izquierda la partícula al completo para electrones retrodispersados con medidas, a su derecha para electrones secundarios. En ambas imágenes superiores tenemos señalado con un círculo rojo la zona que ampliamos posteriormente. Abajo a la izquierda ampliación de dicha zona con elementos más densos para retrodispersados y a su derecha para secundarios.

Además, sabemos que el MEB nos permite estudiar los rayos X característicos de puntos de la muestra (figura 26) para conocer su composición y comprobar que aquellas zonas que nos aparecen con número atómico mayor, más claras, corresponden realmente a zonas con uranio y plutonio distribuidos de forma heterogénea; y que las partes más oscuras corresponden a elementos con número atómico menor.

La última información que nos proporciona el MEB es un mapping de los elementos que componen la muestra, determinando algunos de los mayoritarios (oxígeno, calcio, silicio o aluminio) y confirmando la presencia de uranio y plutonio en los puntos más blancos (correspondientes a zonas con número atómico mayor), como observamos en la figura 27.

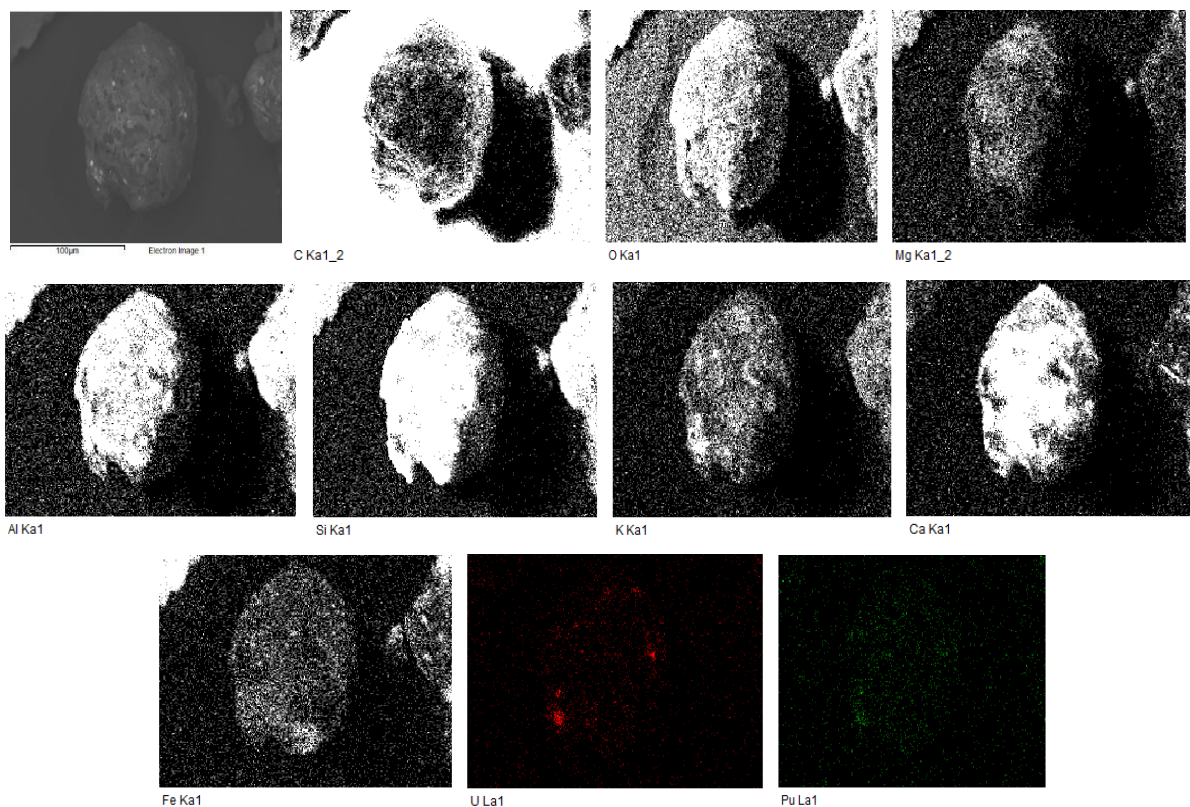


Figura 27. Mapping para EC-Z6. El uranio y el plutonio aparecen de rojo y verde respectivamente.

Nuestro objetivo ahora es conseguir visualizar la partícula con la mayor resolución y precisión posible. Para ello, es necesario acercarnos con el tubo de rayos X del TAC pero permitiendo la rotación del tornillo (necesaria para la reconstrucción en 3D); por lo que, tras tener localizada la partícula gracias al MEB, pudimos aislarla en un fino capilar de vidrio con ayuda de una lupa muy potente (figura 28), y realizarle el TAC (figura 29).

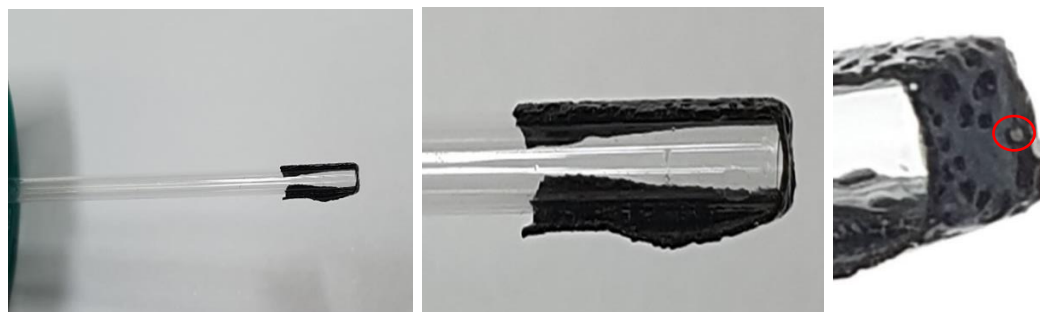


Figura 28. Sucesión de imágenes del capilar. En la imagen de la derecha podemos ver la partícula pegada en este, señalada en rojo.

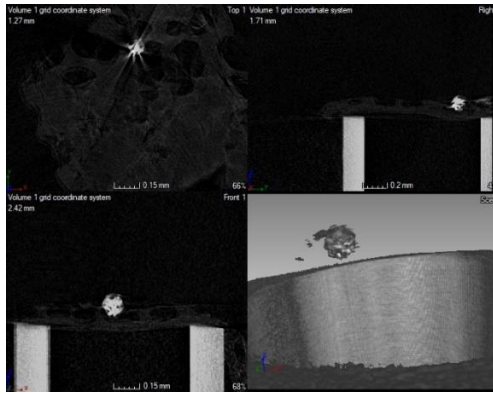


Figura 29. TAC de la partícula aislada en el capilar.

El microscopio electrónico de barrido no nos permite cuantificar las muestras que contienen uranio y plutonio ya que no se encuentran almacenados en su base de datos, por lo que decidimos emplear microfluorescencia de rayos X. Cabe destacar que pudimos utilizar esta técnica gracias a que la partícula se encontraba aislada en el capilar, permitiéndonos así, acercarnos tanto con el detector como con el tubo de rayos X, de tal manera que, los rayos X característicos que lleguen al detector sean de la partícula en cuestión. Además, la microfluorescencia nos permite, como explicamos en el punto 3.4, obtener el porcentaje en masa de los elementos que la componen donde especialmente nos interesan el uranio y el plutonio (figura 30 y 31).

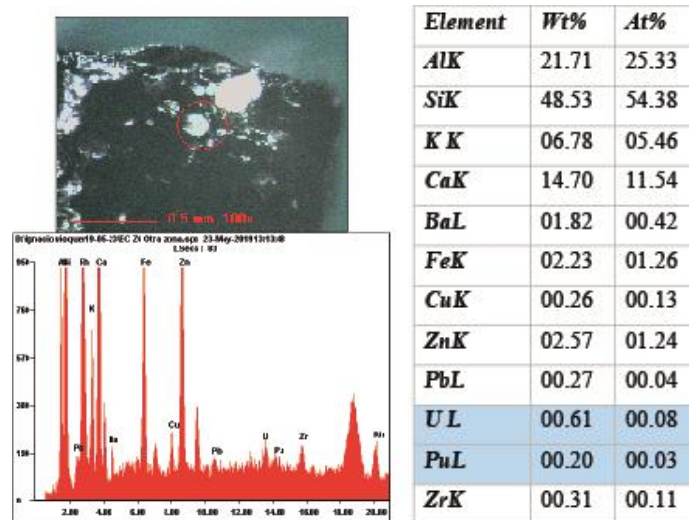


Figura 30. Resultados de FRX. Imagen con el punto de incidencia, espectro de rayos X y tabla con la proporción en masa (W) y número atómico (A) de algunos de los elementos que la componen, entre ellos, uranio y plutonio.

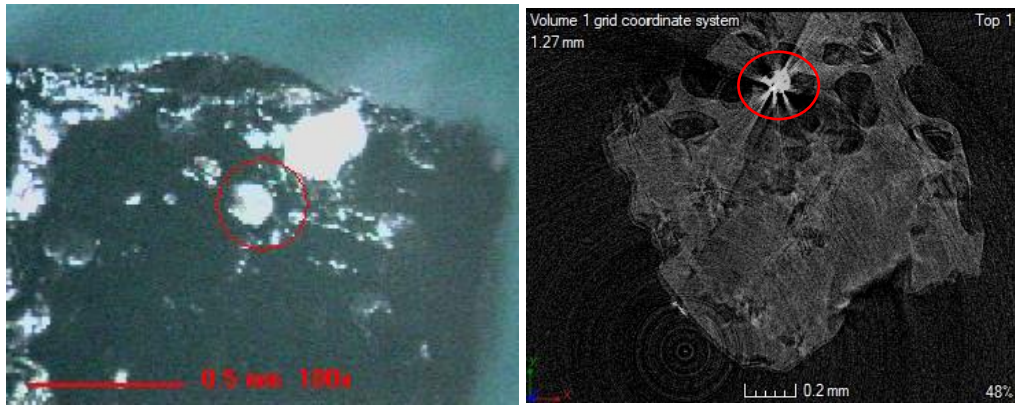


Figura 31. Comparación entre la imagen obtenida por FRX (izquierda) y TAC (derecha) donde observamos la partícula en el capilar.

C1

En este caso se trata de una hez que aislamos utilizando el proceso de bipartición, ya que la actividad con la que contaba la muestra original era elevada y este proceso es mucho más rápido y eficiente que la autorradiografía en estos casos. Como explicamos en el apartado 4, fuimos dividiendo la muestra original y seleccionando, para volver a dividir, aquella partición en la que detectábamos la presencia de americio (gracias a la detección del pico de 59.5 keV). Este proceso lo hemos representado de forma esquemática en la figura 32.

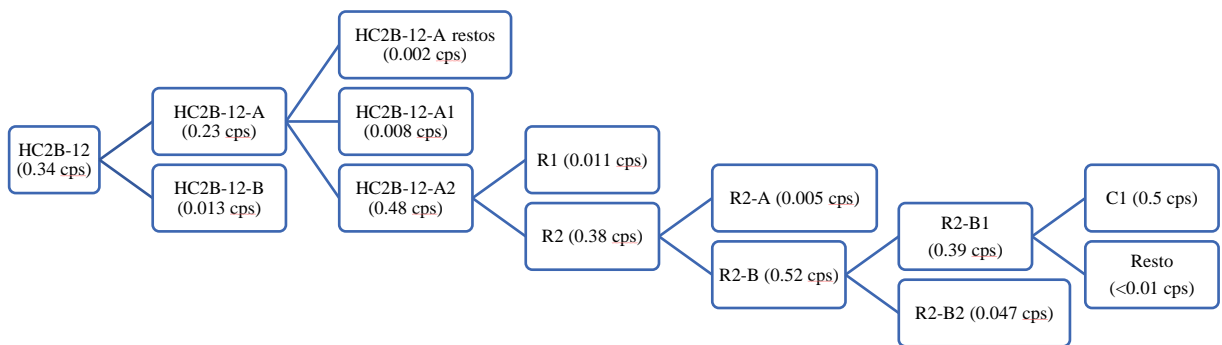


Figura 32. Esquema que representa el proceso de partición. La cantidad en cps que aparece corresponde a la emisión de ^{241}Am de 59.5 keV.

Seguindo nuestro procedimiento general, le realizamos un TAC en el que hallamos 4 partículas con densidad mayor (más claras), como observamos en la figura 33.

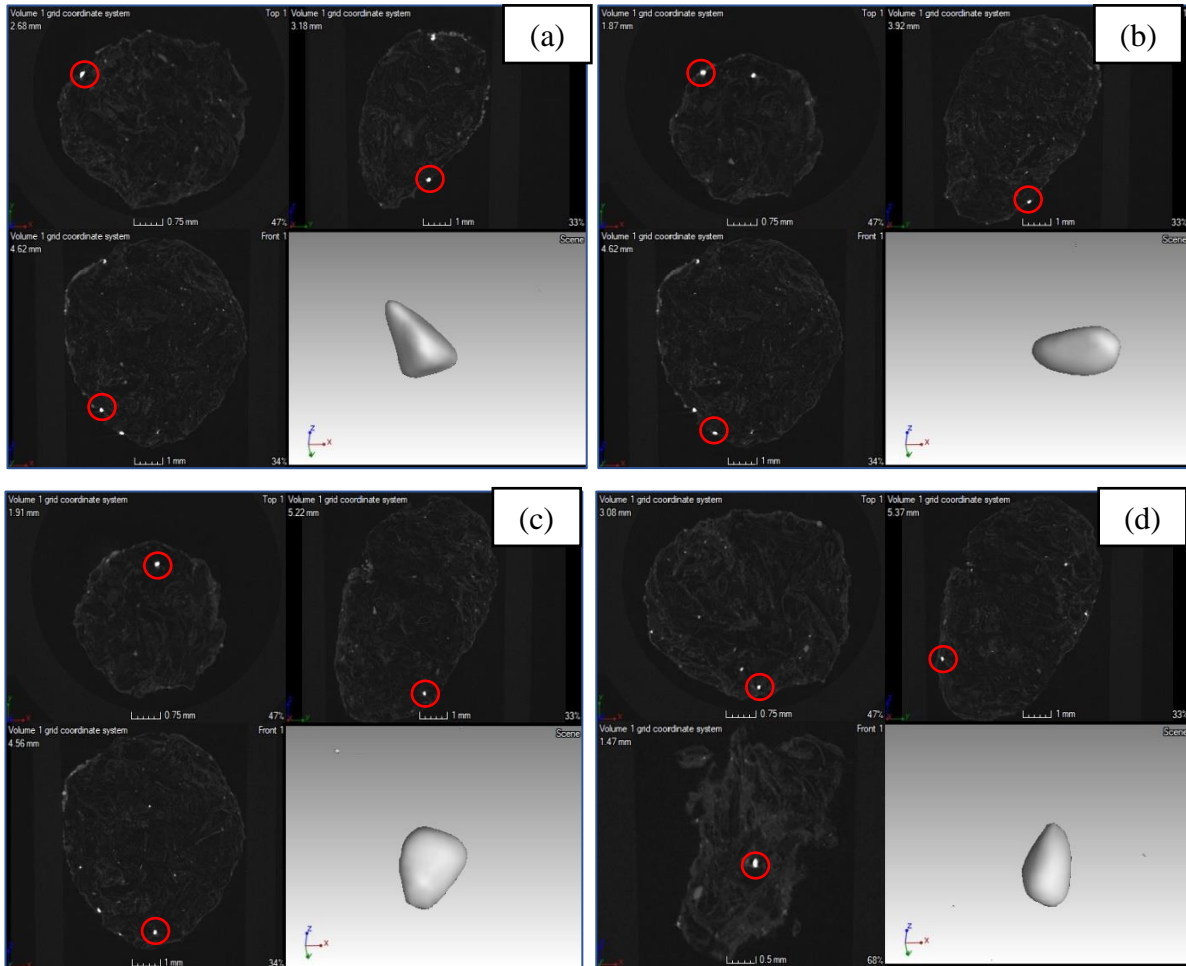


Figura 33. TAC de C1. Una imagen para cada partícula localizada (cada una con los tres planos y la reconstrucción 3D de la partícula ampliada), marcadas con un círculo rojo en cada plano: (a), (b), (c) y (d).

De las 4 partículas más densas observadas, dos se encontraban en la superficie ((a) y (b)) e intentamos localizarlas con el MEB pero nos fue imposible. Por tanto, decidimos fragmentarla repetidas veces; de manera semejante al proceso realizado para aislar la hez, hasta conseguir el fragmento con actividad lo suficientemente pequeño como para poder visualizar las partículas que contiene en el MEB (C1T).

CIT

Se trata del resultado final de nuestro proceso de partición; es el fragmento de C1 en el que medimos un fotopico de 0.56 cps para la energía de 59.5 keV. A continuación, le realizamos un TAC para comprobar que seguían encontrándose partículas más densas (más claras) en él (figura 34).

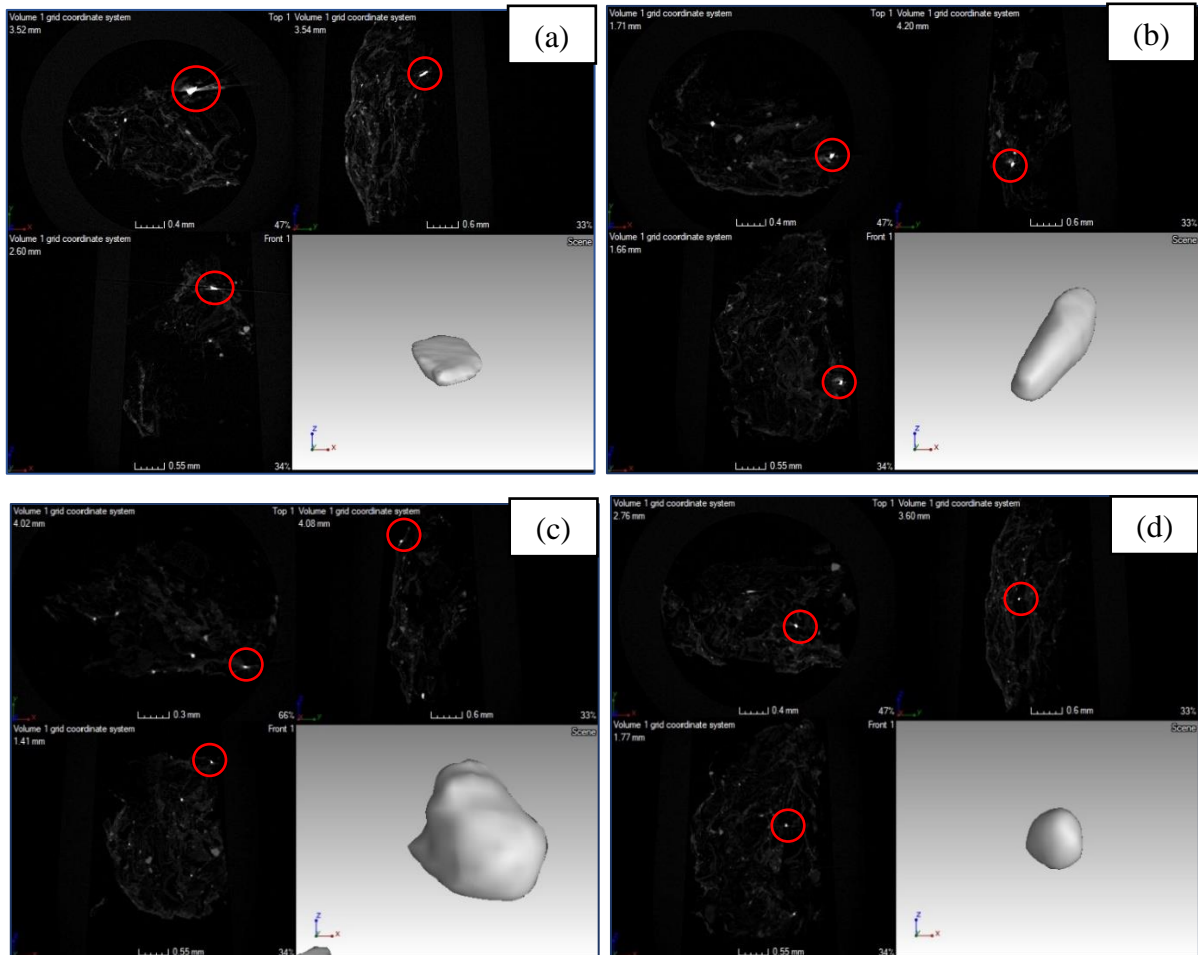


Figura 34. TAC de CIT. Una imagen para cada partícula localizada (cada una con los tres planos y la reconstrucción 3D de la partícula ampliada), marcadas con un círculo rojo en cada plano: (a), (b), (c) y (d).

Después de este, empleamos el microscopio electrónico de barrido; observando en su superficie una de las partículas que encontramos en el TAC y midiéndola, como vemos en la figura 35. Además, obtuvimos el espectro de rayos X para uno de los puntos con mayor número atómico, confirmando la presencia de uranio y plutonio en estas zonas más claras (figura 36) y el mapping, donde observamos que los elementos mayoritarios son el potasio, el calcio y el

aluminio (figura 37). Comparando las dimensiones y morfología de la partícula observada en el MEB (figura 35) con las cuatro partículas localizadas mediante el TAC (figura 34), podemos aventurar que la partícula radiactiva es la partícula (c) del TAC.

Por último, en el TAC, tomamos una tomografía en 2D para diferentes contrastes (figura 38) comprobando así la presencia de la partícula de manera inequívoca. Nos aparece otra partícula aparentemente de la misma densidad, pero al ser una partícula mayor, concluimos que está compuesta de elementos menos densos; aunque su gran tamaño haga que atenúe la radiación de manera semejante, y aparezca por tanto, del mismo tono.

Finalmente, decidimos no aislarla en un capilar ya que estaba anclada a la superficie de la hez y podía ser complicado pues corríamos el riesgo de fragmentarla o perderla.

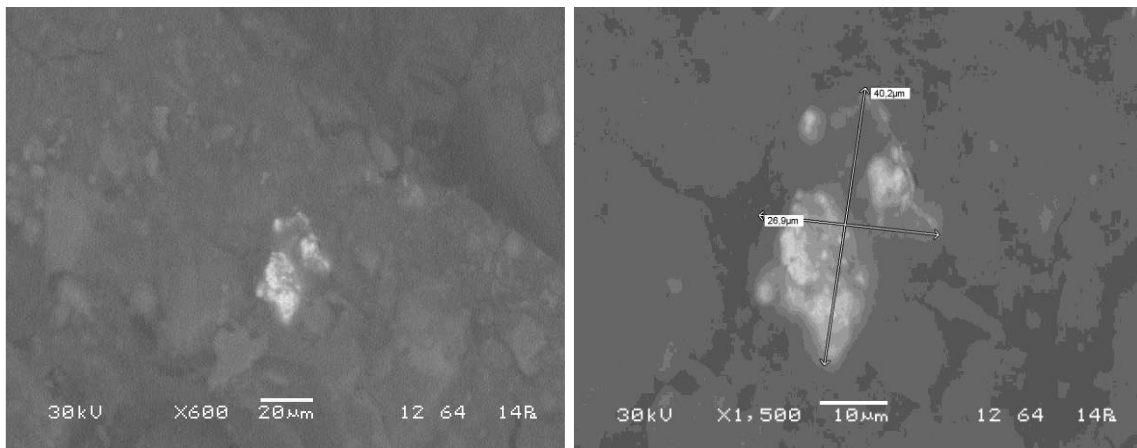


Figura 35. Imágenes del MEB para electrones retrodispersados de CIT. A la derecha la imagen ampliada y con cotas.

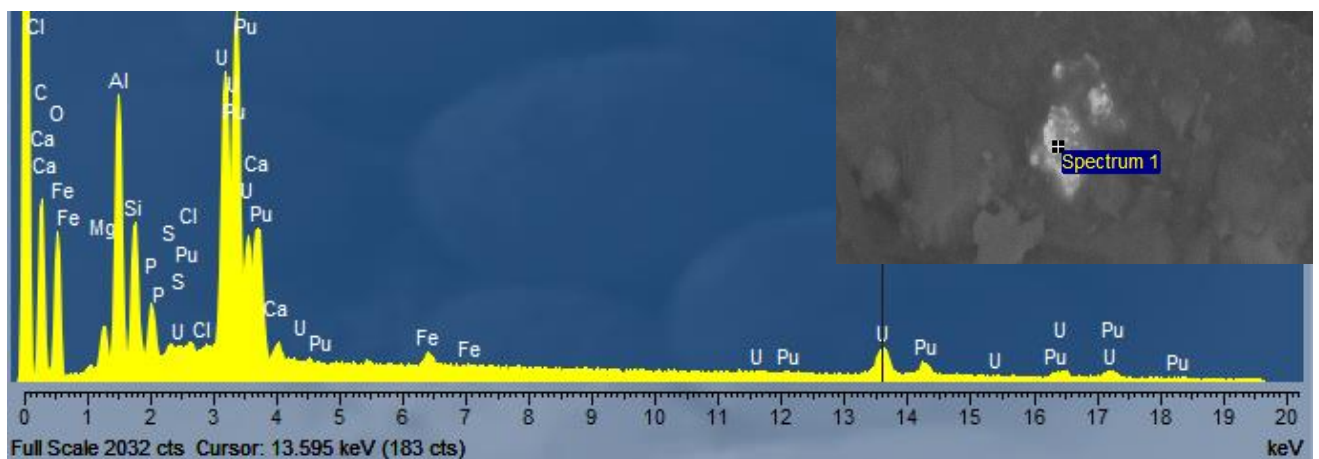


Figura 36.. Espectro de rayos X para uno de los puntos con uranio y plutonio.

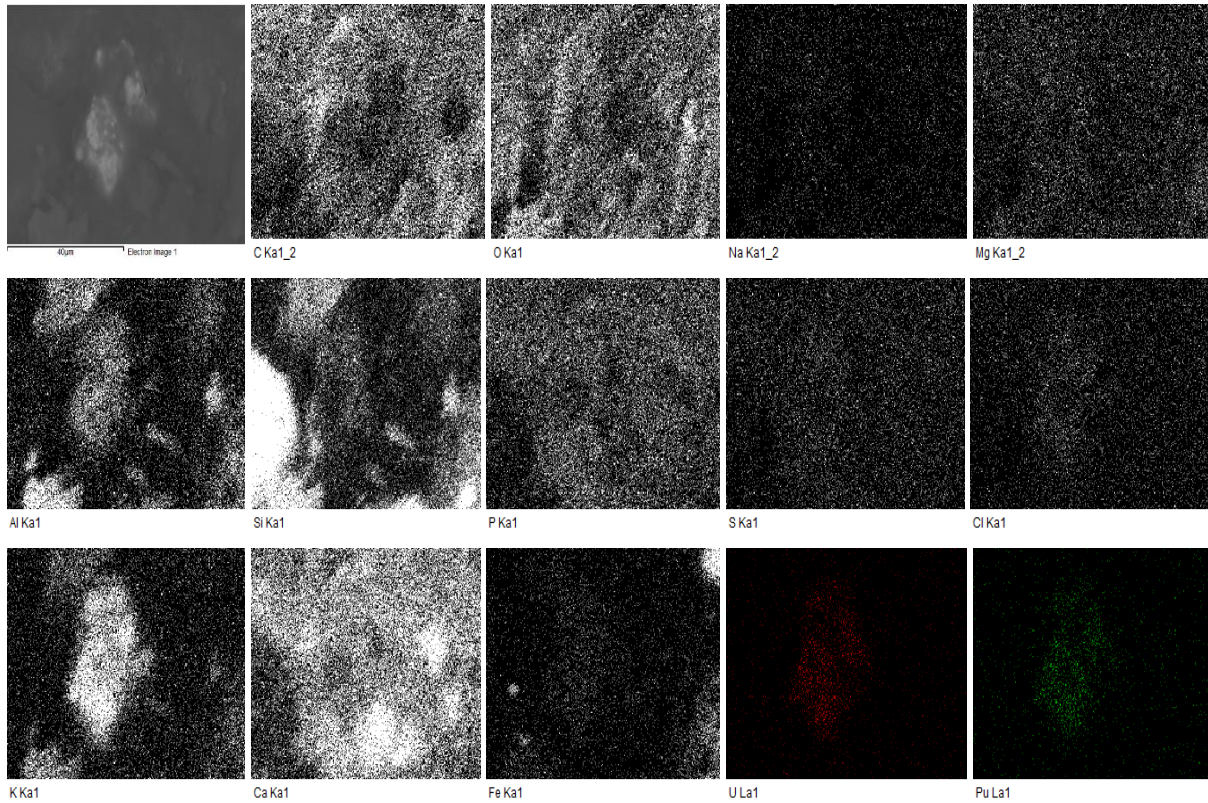


Figura 37. Mapping de CIT. El uranio y el plutonio aparecen en rojo y verde respectivamente.

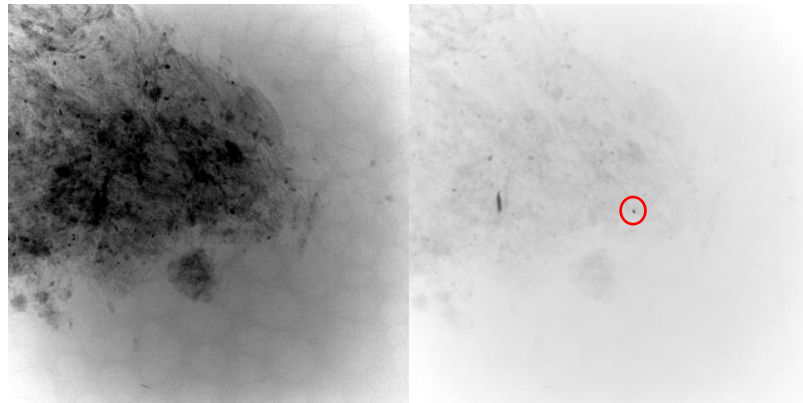


Figura 38. Imágenes del TAC para distintos niveles de contraste en negativo. En la imagen de la derecha observamos nuestra partícula en la punta (señalada en la imagen).

CA1

Nuestra última muestra es una hez de cabra aislada mediante el proceso de bipartición. Cuando colocamos esta hez en el detector para realizarle espectrometría gamma observamos

un fotopico en 59.5 keV de 36 cuentas en 144 s, 0.25 cps. La colocamos en una pipeta de plástico transparente y le realizamos un TAC, observando tres partículas con una densidad superior al resto de la hez (figura 39). Intentamos localizar una de ellas en el microscopio electrónico de barrido, ya que se encontraba en la superficie; pero el gran tamaño de la hez y la fina capa de materia orgánica que la cubría dificultaban la llegada del haz de electrones y no se formaba el espectro de rayos X. Por tanto, decidimos cortarla para reducir su tamaño, como apreciamos en la figura 40. Al cortarla medimos los fragmentos por espectrometría gamma hasta obtener uno lo suficientemente pequeño y que contuviera toda la actividad antes vista, al que denominamos CA1T.

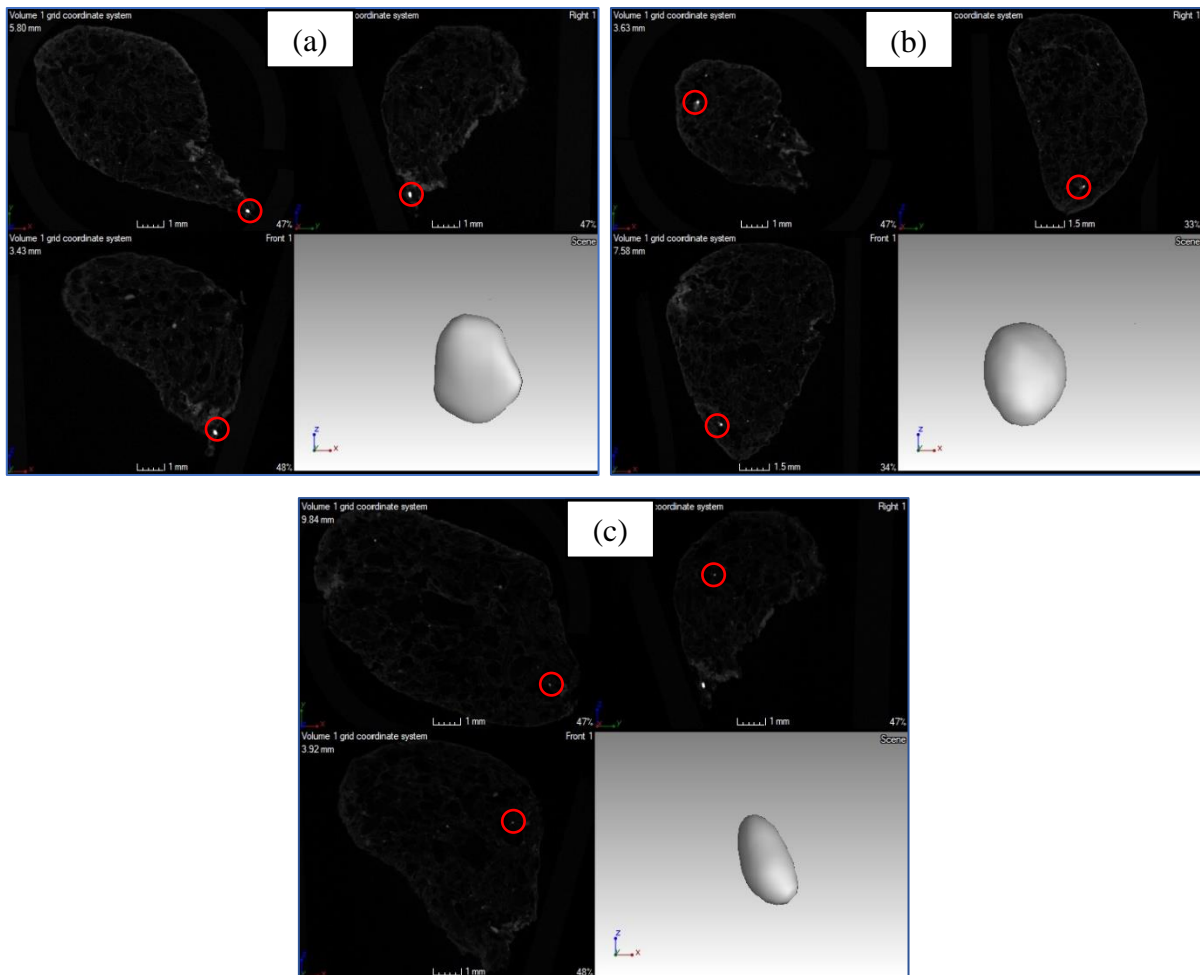


Figura 39. TAC de la CA1. Una imagen para cada partícula localizada (cada una con los tres planos y la reconstrucción 3D de la partícula ampliada), marcadas con un círculo rojo en cada plano: (a), (b) y (c).



Figura 40. Proceso de fragmentación de CA1 hasta obtener CAIT, a la derecha.

CAIT

Esta pequeña porción de nuestra hez presentaba una tasa de recuento de 0.45 cps. Para poder visualizar la partícula radiactiva que contenía en el MEB, la trituramos sobre una cinta de carbono (figura 41). Aún así, no conseguíamos localizarla, por lo que le realizamos una radiografía con el TAC para comprobar que continuaba en el interior (figura 42). Efectivamente en esta seguíamos observando esos puntos más densos, corroborando que se encontraba dentro. Realizamos dos imágenes en diferentes contrastes para así poder seleccionar cuál de los puntos más brillantes era la partícula que buscábamos. Encontramos varios puntos más claros, correspondientes, en principio, a partículas con densidad alta. Dos de ellas tienen un tamaño superior; aún siendo menos densas atenúan la radiación en la misma medida que una partícula con densidad mayor y de menor tamaño. Podemos asegurar entonces, que alguna de las otras partículas es la que contiene elementos radiactivos, incluso podrían estar presentes en todas. Aunque decidimos no aislar la partícula o partículas sí podemos asegurar su existencia, cubierta de materia orgánica como observamos en la figura 41 (ya que no la vemos en el MEB); y la presencia de americio y, por tanto, también de plutonio en esta (gracias a la espectrometría gamma).

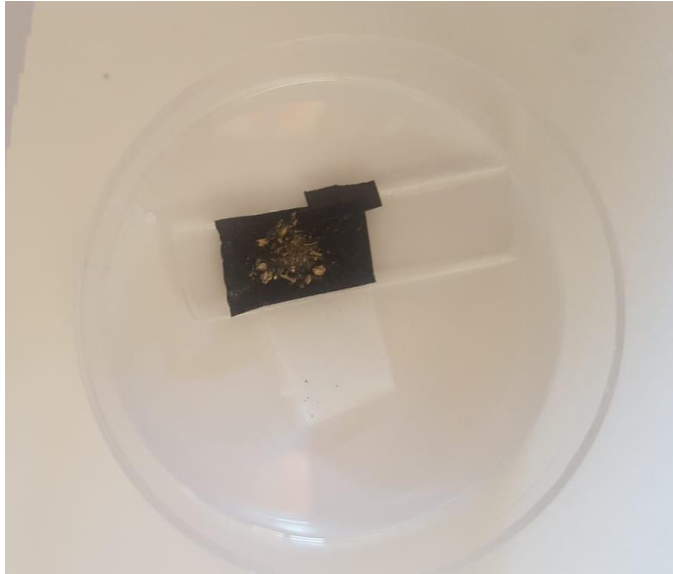


Figura 41. Imagen de CAIT triturada sobre la cinta de carbono.

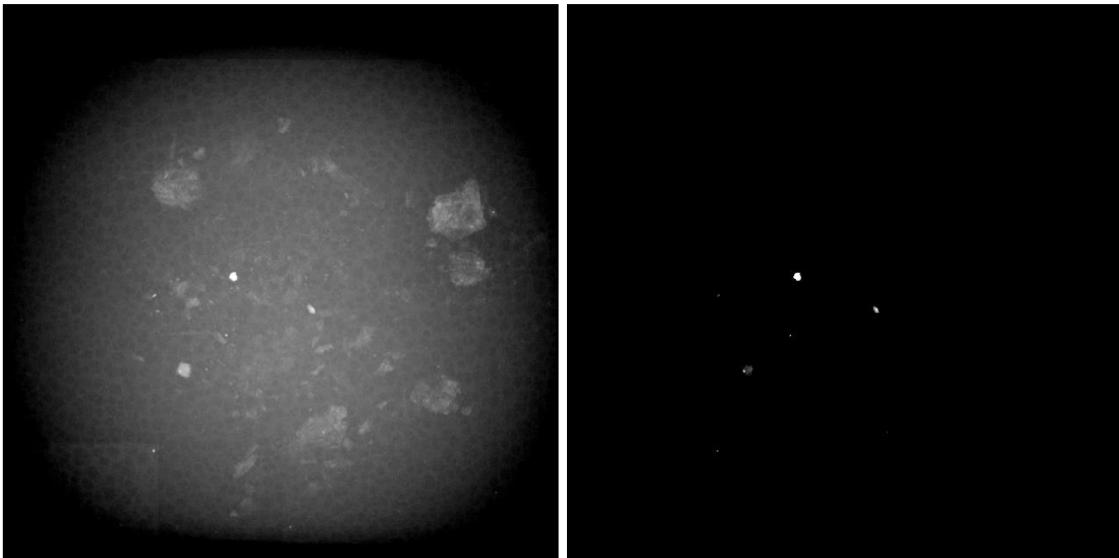


Figura 42. Imágenes del TAC de CAIT para diferentes contrastes donde observamos las partículas más densas.

6. CONCLUSIONES

El objetivo de nuestro trabajo es estudiar el impacto del accidente nuclear de Palomares (1966) en los sistemas biológicos. Para ello, utilizamos como marcadores heces de conejo y nos centramos en buscar y caracterizar partículas radiactivas en estas. El hecho de que la composición de dichas partículas radiactivas coincidiera con la de las bombas liberadas en el accidente nos confirmaría el impacto directo de este.

En primer lugar, nos hemos centrado en localizar estas partículas y, en segundo lugar, en estudiar su composición. Para localizarlas hemos utilizado técnicas como la autorradiografía y el TAC, la primera, detectando la radiación liberada por la muestra y, la segunda, estudiando la diferencia entre las densidades (las partículas radiactivas están formadas por elementos más densos como plutonio, uranio y americio). Para identificarlas hemos empleado la microfluorescencia de rayos X, excitando la muestra y detectando sus rayos X característicos. Cabe destacar la utilización de dos técnicas que nos permiten tanto la localización como la identificación de su composición: la espectrometría gamma y el microscopio electrónico de barrido, aunque la primera lo haga de forma mucho más somera (solo nos identifica un elemento y si se encuentra o no, pero no la posición exacta de la partícula).

Gracias a la espectrometría gamma detectamos la presencia de ^{241}Am , localizando el fotopico correspondiente a una de sus emisiones (figura 9). La existencia de dicho ^{241}Am nos confirma la presencia de ^{241}Pu (compuesto fundamental de las bombas) ya que procede de este, como vimos en la figura 3. Por otro lado, gracias al microscopio electrónico de barrido, además de localizar la partícula gracias a los electrones retrodispersados y observar su morfología con los electrones secundarios, podemos excitar los átomos de esta y así detectar los rayos X característicos, estudiando gracias a ellos la composición de las partículas radiactivas; viendo que se trata principalmente de uranio y plutonio, elementos que formaban parte de las bombas.

Con la ayuda de estas técnicas hemos conseguido finalmente aislar una partícula radiactiva en un capilar procedente del interior de una hez de conejo, observar directamente una segunda partícula radiactiva en la superficie de otra hez (también de conejo) y, detectar la presencia de partículas radiactivas en el interior de una hez de conejo y una hez de cabra.

Los elementos de los que están compuestas las partículas radiactivas encontradas coincidían con aquellos pertenecientes a la composición de las bombas liberadas, por lo que nuestro

estudio nos demuestra que el accidente nuclear ocurrido, no solamente dejó los suelos de la zona contaminados, sino que también ha tenido impacto directo en los sistemas biológicos.

Que nos aparezcan elementos radiactivos provenientes de las bombas no solo en heces de conejo sino también en una hez de cabra, es una confirmación más del impacto ya comentado sobre los sistemas biológicos de la zona. Podemos aventurarnos a asegurar que si analizáramos restos orgánicos de otros seres vivos también hallaríamos restos radiactivos del accidente.

Cabe destacar que algunas de las partículas radiactivas que hemos observado se encontraban en el interior de las heces de cabra y conejo. Esto es importante, ya que nos confirma la vía de llegada de dichas partículas radiactivas. Los animales, conejos y cabras, ingirieron las partículas, las digirieron y expulsaron; es decir, la vegetación de la que se alimentan las contiene; no se han adherido a la superficie de las heces desde el suelo después de la excreción. Esto último podría darse únicamente en el caso de los conejos (debido a que estos practican la cecotrofia) aunque de manera muy poco probable, ya que ingieren las heces directamente desde el ano, reduciendo la posibilidad de contacto de estas con el suelo, evitando que pueda producirse la adherencia. Además, si este fuera el único motivo de la presencia de partículas en las heces, solo las encontraríamos en heces de conejo (las cabras no practican la cecotrofia). Sin embargo, esto no ocurre, también las hallamos en el interior de heces de cabra, por lo que podemos asegurar que el principal camino de llegada de las partículas radiactivas a las heces es la vegetación de la que se alimentan los animales, vegetación contaminada por elementos procedentes de las bombas nucleares (aunque también puedan darse, de manera poco probable, los otros casos que explicamos en el punto 4), confirmándose así el impacto del accidente de Palomares sobre los sistemas biológicos de la zona.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. *Caracterización de partículas calientes mediante técnicas analíticas avanzadas*. **Jiménez-Ramos, M. D. C.** s.l. : Universidad de Sevilla, 2013.
2. *Secreto de estado, medio ambiente y salud. El caso “Palomares”*. **Alcaraz, M. D. M.** 2016, IUS ET SCIENTIA, 3(1), págs. 172-182.
3. *Cincuenta años desde el accidente nuclear de Palomares (Almería). Repercusiones médicas*. **Layne-Bretones, F., y Lozano-Padilla, C.** 2017, Revista Clínica Española (Edición en inglés) , págs. 263-266.
4. *Characterization of radioactive particles from the Palomares accident*. . **Aragon, A., Espinosa, A., De la Cruz, B., & Fernandez, J. A.** 2008, Journal of environmental radioactivity, 99(7), págs. 1061-1067.
5. *Radiation Detection and Measurement*. **Knoll, G. F.** New York : John Wiley & Sons. Inc., 2000.
6. *On the presence of enriched amounts of ^{235}U in hot particles from the terrestrial area affected by the Palomares accident (Spain)*. **Jiménez-Ramos, M. C., Barros, H., García-Tenorio, R., García-Leon, M., Vioque, I., & Manjon, G.** 2007, Environmental Pollution, 145(2), págs. 391-394.
7. *Presence of plutonium contamination in soils from Palomares (Spain)*. **Jiménez-Ramos, M. C., García-Tenorio, R., Vioque, I., Manjón, G., & García-León, M.** 2006, Environmental pollution, 142(3), págs. 487-492.
8. https://www.nucleonica.com/Application/ReducedDecaySchemes/Pu241_TXT.htm. [En línea]
9. *Curso de supervisores de instalaciones radiactivas*. CSN. 2013.
10. http://nuclear.fis.ucm.es/webgrupo/labo/archivos/guiones_virtual/pet/produccion_pares.html. [En línea]
11. https://es.wikipedia.org/wiki/Archivo:Compton_scattering-es.svg. [En línea]
12. *Fluorescent Image Analyzer FLA-5000 Operation Guide*. Science System Industrial Materials Dept. Fuji Photo Film Co. Ltd. October de 2001.

13. *Characterisation of hot particles remaining in soils from Palomares (Spain) using a nuclear microprobe.* . **López, J. G., Jiménez-Ramos, M. C., García-León, M., & García-Tenorio, R.** 2007, Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms, 260(1), págs. 343-348.
14. *Determinación de plutonio y americio mediante centelleo líquido bifásico.* **Lara Robustillo, E.** 2017, (Doctoral dissertation, Universidad Complutense de Madrid).
15. https://www.researchgate.net/figure/The-Decay-Scheme-of-Am-241_fig1_331332981. [En línea]
16. *Caracterización de detectores de fotones mediante el método de Montecarlo y aplicación a la medida de emisores de positrones de interés en medicina nuclear.* **Medina, V. P.** 2010, Universidad Complutense de Madrid, Servicio de Publicaciones.
17. *Deteminación del cociente isotópico $^{240}\text{Pu}/^{239}\text{Pu}$ en partículas calientes.* **Jiménez Ramos, M. D. C., Chamizo Calvo, E., García-Tenorio García-Balmaseda, R., & García León, M.** 2011, In 2º congreso conjunto de las Sociedades Españolas de Física Médica y de Protección Radiológica (XVIII Congreso Nacional SEFM/XIII Congreso Nacional de SEPR): Sevilla del 10 al 13 de Mayo de 2011.
18. *Tomografía computarizada por rayos X: fundamentos y actualidad.* **Ramírez Giraldo, J. C., Arboleda Clavijo, C., & McCollough, C. H.** 2008, Revista Ingeniería Biomédica, 2(4), págs. 54-66.
19. <https://radiologiaestomalogica.blogspot.com/2017/08/tubo-de-rayos-x.html>. [En línea]
20. *Y.Cougar Series Compact and versatile X-ray solutions.* **International, YXLON.**
21. *Comparison of laser ablation-inductively coupled plasma-mass spectrometry and micro-X-ray fluorescence spectrometry for elemental imaging in Daphnia magna.* **Gholap, D. S., Izmer, A., De Samber, B., van Elteren, J. T., Šelih, V. S., Evens, R., ... & Vincze, L.** 1, s.l. : Analytica chimica acta, 2010, Analytica chimica acta, 664(1), Vol. 664, págs. 19-26. p. 19-26.
22. *The use of a multi-method approach to identify the pigments in the 12th century manuscript Liber Floridus.* **Deneckere, A., De Reu, M., Martens, M. P. J., De Coene, K.,**

Vekemans, B., Vincze, L., ... & Moens, L. 2011, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 80(1), págs. 125-132.

23. Microscopía electrónica de barrido en la caracterización de materiales. Ipohorski, M., & Bozzano, P. 2013, *Ciencia e Investigación*, 63(3), págs. 43-53.

24. Principios básicos del microscopio electrónico de barrido. Renau-Piqueras, J., & Faura, M. 1994.

25. La importancia de la cecotrofia en el conejo. Romero, C. 2008, *Boletín de cunicultura lagomorpha*, (156), págs. 53-56.

26. Radiological evaluation of the transuranic remaining contamination in Palomares (Spain): A historical review. Sancho, C., & García-Tenorio, R. 2019, *Journal of environmental radioactivity*, 203, págs. 55-70.