

# MEDICIÓN DE LA EXPOSICIÓN SOLAR UV CON DOSÍMETROS DE ESPORAS EN RÍO GALLEGOS

B. Milicic<sup>1</sup>, E. Wolfram\*<sup>2</sup>, J. Salvador<sup>3</sup>, J. Pallotta<sup>4</sup>, R. Piacentini<sup>5</sup>, E. Quel<sup>2</sup>,  
N. Munakata<sup>6</sup>, M. Ono<sup>7</sup>

<sup>(1)</sup> Universidad Nacional de la Patagonia Austral, Río Gallegos, <sup>(2)</sup> CEILAP (CITEFA-CONICET), <sup>(3)</sup> Universidad Nacional de General San Martín, <sup>(4)</sup> Becario proyecto AUGER, <sup>(5)</sup> IFIR – CONICET, Universidad Nacional de Rosario, <sup>(6)</sup> Facultad de Ciencias, Universidad de Rikkyo, Japón, <sup>(7)</sup> Instituto Nacional para Estudios del Medioambiente, NIES, Tsukuba, Japón  
e-mail: [ewolfram@citefa.gov.ar](mailto:ewolfram@citefa.gov.ar).

En este trabajo se presentan los resultados de una experiencia piloto llevada a cabo en la ciudad de Río Gallegos, para determinar si el diseño de sensores de esporas empleados en Japón eran aptos para medir el nivel de dosis diaria UV en dicha ciudad, como resultado de las actividades al aire libre que realizaron niños de edad escolar, durante una semana en el mes de noviembre de 2005.

Palabras clave: dosímetros de esporas, exposición UV, radiación ultravioleta

In this paper the results of a test experience is presented, that took place at Río Gallegos City, in order to assess if the spore sensors design used in Japan could measure daily UV doses there, as a result of the open air activities of school children, during a week of November 2005.

Key Words: spore dosimeters, UV exposure, ultraviolet radiation

## I. INTRODUCCIÓN

La radiación solar ultravioleta es un factor ambiental natural que afecta muchas formas de vida tanto terrestre como acuática. Los efectos dañinos de la exposición a la radiación ultravioleta B (290-320 nm) están principalmente asociados con la inducción del daño en el ADN de las células. En un intento de cuantificar las dosis de radiación UV ambiente biológicamente efectivas, se han realizado esfuerzos para desarrollar sistemas dosimétricos usando materiales biológicos<sup>1</sup>. Con tal propósito, en la División de Ciencias del Salud Ambiental del NIES (National Institute for Environmental Studies) en Tsukuba, Japón conjuntamente con el Departamento de Ciencias de la Vida de la Universidad de Rikkyo, Tokio, Japón, se han desarrollado dosímetros simples, robustos y versátiles utilizando esporas sensibles al UV de una cadena mutante de *Basilus Subtilis*<sup>2,3</sup>. Las esporas en forma de bacterias son formas de vida latentes caracterizadas por supervivencia bajo condiciones extremas tanto a bajas como altas temperaturas, deshidratación, y diferentes agentes químicos y radiaciones. La resistencia a la radiación UV ha sido estudiada a través de análisis genéticos y moleculares de los mutantes *subtilis B*. produciendo esporas altamente sensibles a las radiaciones UV<sup>4,5</sup>. El dosímetro de esporas basa su funcionamiento en la extensión de la inactivación de las esporas mutantes. Varios intentos y experiencias se han realizado en el mundo para utilizar esta clase de dosímetros bajo varias condiciones<sup>7,8</sup>, entre ellos en distintas ciudades de Japón, demostrando su versatilidad y utilidad para la estimación de dosis de exposición UV. Se han realizado además intercomparaciones con dosímetros físicos<sup>3,6</sup>.

Como parte de un proyecto en el que se prevé la realización de experiencias de campo en las ciudades de

Río Gallegos y en la Base Antártica Argentina Marambio, en dicha ciudad se llevó a cabo una experiencia piloto donde se emplearon sensores de esporas para medir la exposición UV acumulada en un día, como resultado de las actividades al aire libre que realizaron niños de edad escolar, durante una semana en el mes de noviembre de 2005. La misma tuvo como objetivo conocer si el diseño de los sensores empleados en Japón eran aptos para el nivel de exposición en dicha ciudad.

En este trabajo se presentan las características de los biosensores y los resultados de la experiencia piloto.

## II. MÉTODOS

### Descripción de los biosensores

Los sensores están constituidos por un par de dosímetros de esporas y dos cintas blancas a las cuales la radiación UV las va tornando en color azul. Se agregan, además, filtros para reducir la intensidad de la radiación incidente.

### Dosímetro de esporas

Están constituidos por esporas de una cadena mutante sensible a la radiación UV de *Basilus Sutilis*, su preparación se encuentra detallada en las Referencias 3 y 7. Una vez expuestos, reciben un tratamiento descrito en la Referencia 2 y se cuenta el número de esporas sobrevivientes de las muestras expuestas (N) y las de control (N<sub>0</sub>), obteniéndose la dosis de inactivación (ID) a partir del siguiente cálculo:

$$ID = - \ln (N/N_0) \quad (1)$$

La inactivación es estrictamente exponencial bajo regímenes de exposición controlados, y las constantes de la razón de inactivación espectral

(espectro de acción de inactivación), han sido determinadas en detalle dentro del rango UV<sup>6</sup>.

Para obtener la información de los biosensores, se realiza el recuento de esporas supervivientes, obteniéndose el ID, se descartan aquellos que presentan daños físicos, están saturados, es decir que toda las esporas murieron, o subexpuestos, en la cual no hay esporas muertas. A los valores obtenidos del conteo se los denomina SID, los cuales son corregidos por el factor de atenuación debido al filtro de polietileno azul, denominando a estos valores como Obs SID

### Cintas coloreables por UV

Estos detectores se consiguen comercialmente (UVRI-LBL BLUE, Tomoegawa Seichi Co., Shizuoka). Los valores de diferencia de color  $\Delta E$  aumentan en función de la exposición UV, donde la radiación de menor longitud de onda es la que produce mayor coloración. La diferencia de coloración para longitudes de onda de 254 nm y 400 nm es 20 veces, mientras que la de inactivación de esporas corresponde a  $10^7$  veces<sup>3</sup>. Este sensor puede servir como un indicador de la exposición que puede ser correlacionado con las esporas.

### Filtros de absorción espectral

Para utilizar ambos tipos de detectores para monitorear la dosis diaria, la dosis efectiva debe

reducirse, para lo cual se emplea polietileno azul, el cual absorbe de manera uniforme todo el rango de radiación UV<sup>7</sup>. Se emplearon distintos espesores: 0,04 mm, 0,07 mm y 0,1 mm. Experiencias de campo demostraron que el espesor de 0,04 mm reduce 2,08 veces la radiación solar, el de 0,07 mm, 14,0 veces y el 0,1 mm, 57,7 veces. Estos son los valores que se emplean al calcular el ID.

Para su lectura, se observa con un colorímetro la cinta en las tres regiones: dos debajo de filtros negros de distinto espesor y uno debajo del blanco, y se obtiene la diferencia entre el resultado obtenido para el color de la cinta que se encuentra debajo del blanco y del negro que corresponda, denominándolo dL. Se realiza una regresión exponencial entre los dL y los SID que no han sido descartados. Aplicando la expresión obtenida de esta regresión a los dL, se calculan los valores estimados de los SID, a los que se denomina Est SID.

En la Figura 1 se observa una fotografía del biosensor, el cual consiste en un cartón plegado, en cuya hoja interior se colocan los detectores y en la superior se encuentran las rendijas para permitir el paso de la radiación, cubiertas con el polietileno azul y filtros negros. El sensor se coloca en un sobre de plástico transparente para su protección.

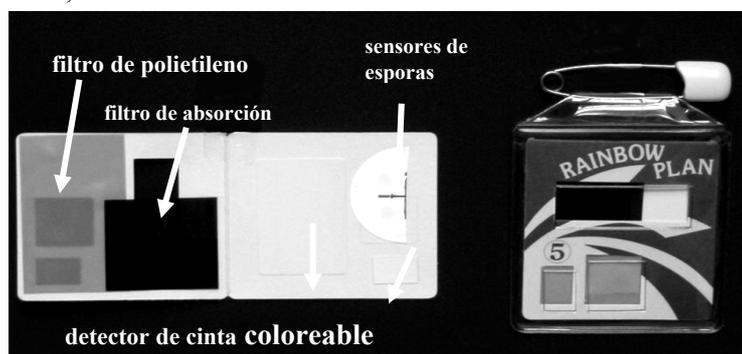


Figura 1: Fotografías del biosensor, abierto y en su funda.

### Registro de las actividades realizadas al aire libre

Cada uno de los detectores correspondientes a una semana son de un color diferente. En el kit se adjunta una libreta que posee una página por día, impresa del mismo color que el detector que se debería emplear ese día, donde se encuentran las horas del día, divididas cada 15 minutos. En ellas se deben consignar cuándo y durante cuánto tiempo se está al aire libre.

Empleando los registros de los detectores UV de estaciones meteorológicas se estima un valor de exposición UV a partir de la expresión:

$$\text{Exposición UV} = \sum (t_{\text{fuera } i} \text{ UV}_i) \quad (2)$$

donde  $t_{\text{fuera } i}$  corresponde al período de tiempo que el niño se encuentra al aire libre, cada vez que sale y  $\text{UV}_i$  es el valor medio de la irradiancia correspondiente a dicho período de tiempo. Con este valor se obtiene el

porcentaje de la exposición a la que estuvo expuesto realmente de la total para ese día.

### Experiencia piloto

Se decidió llevar a cabo la experiencia piloto con niños de 5° año EGB, los cuales podrían registrar solos sus actividades en la libreta y tomarían la experiencia con responsabilidad. Se disponía de 20 kits de sensores para ser empleados.

Para poder acceder a los colegios para seleccionar los niños para la experiencia piloto hubo una larga negociación para conseguir los permisos del Consejo de Educación y del Departamento de Salud Pública, dependiente del Ministerio de Asuntos Sociales de la provincia. Las familias debían firmar un consentimiento para que sus hijos pudieran participar de la experiencia.

Para conocer el grado de participación de las familias ante un proyecto de este tipo y su grado de compromiso durante la experiencia, se invitó a 20 familias escogidas por los directivos de una escuela entre los alumnos de 5° año EGB que presentaban entusiasmo respecto de temas relacionados con la ciencia. De estas 20 familias, doce aceptaron participar en la experiencia piloto.

Se entregaron los kits, junto con las instrucciones de lo que debían realizar: los colocarían sobre la parte superior de la manga de la prenda que usaran al salir al aire libre (ver Figura 2). Para probar qué tipo de sensores son los adecuados para la radiación incidente en Río Gallegos, se entregaron juegos de sensores que poseían diferentes filtros de absorción



Figura 2: Alumna portando el biosensor en su brazo

Simultáneamente con las mediciones realizadas con los alumnos, se expusieron los biosensores apareados a los diferentes radiómetros UV en superficie que posee el laboratorio emplazado en Río Gallegos como parte de la campaña SOLAR. Los mismos permiten evaluar continuamente la irradiancia eritémica (irradiancia solar UV pesada con la sensibilidad de la piel <sup>9,10</sup>), la radiación UVA global, y 5 canales que cubren el UVB y el UVA con un radiómetro de banda estrecha GUV 541 Bios. Ins., todos ellos parte del conjunto de sensores pasivos incluidos en la campaña SOLAR <sup>11</sup> (ver Figura 3)

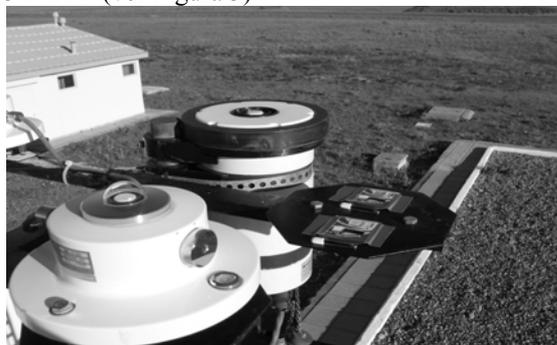


Figura 3: Biosensores colocados conjuntamente con los radiómetros ultravioleta de la campaña SOLAR

Los biosensores fueron enviados a Japón, en donde se obtuvieron los resultados de la dosis de inactivación ID de los dosímetros de esporas (Obs SID) y de cinta sensible a UV (Est SID). Con estos resultados se los correlacionó los que se encontraban junto a los detectores de la campaña SOLAR y, con esa curva, se obtuvieron los valores de exposición de los detectores empleados por los alumnos.

### III RESULTADOS OBTENIDOS

De los 98 sensores utilizados, sólo 48 pudieron ser leídos, el resto estaban sobre expuestos o subexpuestos y uno estaba roto. En las figuras 4 y 5 se presentan las curvas de calibración de Obs SID y Est SID de los detectores que se encontraban junto a los radiómetros UV.

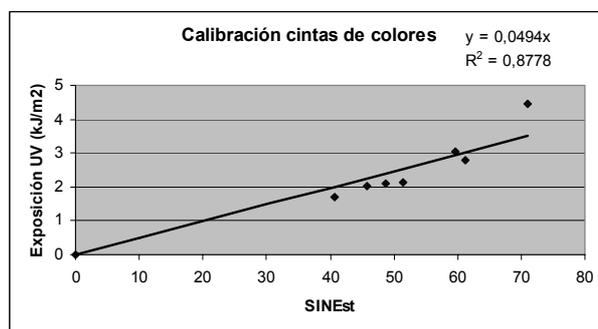


Figura 4: Curva de calibración de los biosensores.

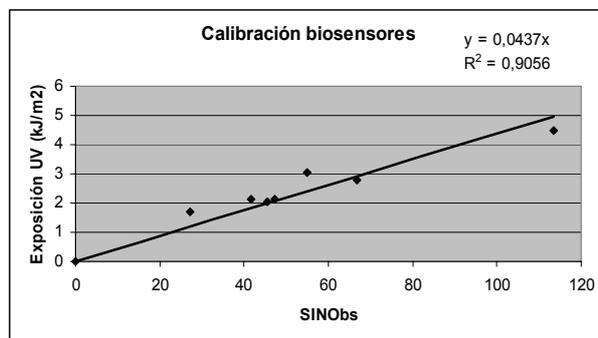


Figura 5: Curva de calibración de los detectores coloreables

Se observa un mejor ajuste con la función lineal, en ambos casos. Por lo tanto, se tomaron estas funciones para la correlación de los valores SID obtenidos en los detectores empleados por los niños, y así poder calcular los valores de la exposición UV acumulada en el día por cada uno de los niños. En la Figura 6 se observa la exposición calculada a partir de los biosensores y en la Figura 7, a partir de las cintas coloreables. Se observa una mejor correlación en estos últimos detectores.

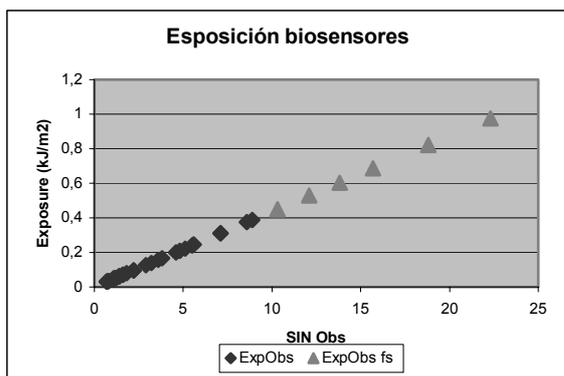


Figura 6: Cálculo de exposición UV para los biosensores empleados por los niños. Rombos negros: datos tomados durante la semana. Triang. Grises: datos tomados durante el fin de semana.

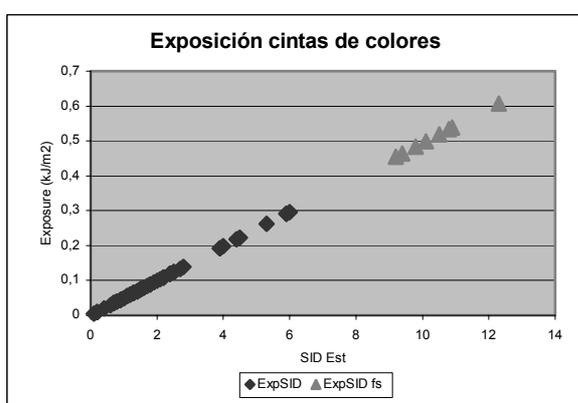


Figura 7: Cálculo de la exposición UV a partir de las cintas coloreadas empleadas por los niños. Rombos negros: datos tomados durante la semana. Triang. Grises: a datos tomados durante el fin de semana.

A partir de las figuras 6 y 7 se observa que los biosensores son más sensibles a la exposición que las cintas que cambian de color con la radiación UV, debido a que para el mismo tiempo de exposición de ambos, el cálculo de la exposición UV a partir de los biosensores es un 33% mayor. Se puede diferenciar la radiación que reciben los niños durante la semana, cuando pasan poco tiempo al aire libre, la cual no supera los 300 J/m<sup>2</sup> y la de los fines de semana, en donde los valores se duplican. El tiempo que los alumnos pasan al aire libre es tomado de las libretas donde lo consignan.

#### IV. CONCLUSIONES

A partir de esta experiencia piloto se ha comprobado que es posible emplear los biosensores en Río Gallegos para calcular la exposición UV. Se ha podido conocer el mejor espesor de los filtros empleados en los biosensores, de manera que en este momento se están fabricando en Japón los sensores con el filtro adecuado para poder llevar a cabo la experiencia.

Debido a que se puede considerar que al tomar niños que asisten a la escuela en el mismo grado la muestra es homogénea, es posible emplear un muestreo

por conglomerados aleatorios. Para ello es necesario conocer el número de alumnos de 5° año EGB de escuelas públicas de toda la ciudad que asisten al colegio en el mismo turno. Se situarán las escuelas en el plano de la ciudad y se la dividirá en parcelas iguales. Se seleccionarán aleatoriamente una escuela de cada parcela y se procederá a tomar la cantidad de niños necesaria en cada escuela. Como se observó que el número de padres que aceptan que sus hijos participen es la mitad de los solicitados y que el número de detectores que sirven para el conteo es aproximadamente la mitad de los empleados, es necesario solicitar la participación en el proyecto a un número cuatro veces mayor de padres que lo requerido.

Esta experiencia piloto ha servido para planificar la campaña que tendrá lugar en la primavera del próximo año.

#### Referencias

- Rettberg, P., G. Horneck, C. Baumstark-Khan and G. Amanatidis, Eds. (1999) Biological UV dosimetry, a tool for assessing the impact of UV radiation on health and ecosystems, Air Pollution Research Report 71, European Commission, Luxembourg.
- Munakata, N. (1981) Killing and mutagenic action of sunlight upon *Bacillus subtilis* spores: a dosimetric system. *Mutat. Res.* 82, 263-268.
- Munakata, N., F. Morohoshi, K. Hieda, K. Suzuki, Y. Furusawa, H. Shimura and T. Ito (1996) Experimental correspondence between spore dosimetry and spectral photometry of solar ultraviolet radiation. *Photochem. Photobiol.* 63, 74-78.
- Nicholson, W. L., N. Munakata, G. Horneck, H. J. Melosh and P. Setlow (2000) Resistance of *Bacillus* endospores to extreme terrestrial and extraterrestrial environments. *Microbiol. Molec. Biol. Rev.* 64, 548-572.
- Munakata, N. and C. S. Rupert (1974) Dark repair of DNA containing spore photoproduct in *Bacillus subtilis*. *Molec. Gen. Genet.* 130, 239-250.
- Munakata, N., S. Kazadzis, A. F. Bais, K. Hieda, G. Ronto P. Rettberg and G. Horneck (2000) Comparisons of spore dosimetry and spectral photometry of solar-UV radiation at four sites in Japan and Europe. *Photochem. Photobiol.* 72, 739-745.
- Munakata, N., M. Ono and S. Watanabe (1998) Monitoring of solar-UV exposure among schoolchildren in five Japanese cities using spore dosimeter and UV-coloring label. *Jpn. J. Cancer Res.* 89, 235-245.
- Munakata, N., K. Makita, D. Bolse D. Gillotay and G. Horneck (2000) Spore dosimetry of solar UV radiation: Applications to monitoring of daily irradiance and personal exposure. *Adv. Space Res.* 26, 1995-2003.
- Setlow, R. B. (1974) The wavelength in sunlight effective in producing skin cancer: a theoretical analysis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 71, 3363-3366.
- McKinley, A. F. and B. L. Diffey (1987) A reference action spectrum for ultraviolet induced erythema in human skin. *CIE Res. Note* 6, 17-22.
- Wolfram E. A., J. Salvador, L. Otero, A. Pazmiño, J. Porteneuve, S. Godin-Beeckmann, H. Nakane, E. Quel. SOLAR Campaign: stratospheric ozone lidar of Argentina. *Proceeding SPIE Vol. 5887*, p.251-256, Lidar Remote Sensing for Environmental Monitoring VI San Diego, Upendra N. Singh; Ed. (August 2005)