

MASTER

Bepaling van seleniumconcentraties in bloedsera met behulp van PIXE

Hemelaar, J.T.G.M.

Award date:
1981

[Link to publication](#)

Disclaimer

This document contains a student thesis (bachelor's or master's), as authored by a student at Eindhoven University of Technology. Student theses are made available in the TU/e repository upon obtaining the required degree. The grade received is not published on the document as presented in the repository. The required complexity or quality of research of student theses may vary by program, and the required minimum study period may vary in duration.

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Het afstudeerwerk is verricht o.l.v.
dr.ir. H.P.M. Kivits
dr.ir. J.A. van der Heide
prof.dr.ir. H.L. Hagedoorn

8180571

Oktober 1980

BEPALING VAN SELENIUMCONCENTRATIES
IN BLOEDSERA MET BEHULP VAN PIXE

J.T.G.M. Hemelaar

Samenvatting

In de onderwerpgroep Cyclotrontoepassingen van de vakgroep Deeltjesfysica wordt onderzoek gedaan met een analysemethode genaamd PIXE (Particle Induced X-ray Emission). Met deze methode kunnen materialen geanalyseerd worden op hun inhoud aan sporelementen. In dit afstudeerwerk is het gebruik van PIXE bestudeerd voor de bepaling van sporelementconcentraties in bloedserum. De analysemethode is geoptimaliseerd voor de bepaling van de seleniumconcentratie, die in de buurt van 0.12 ppm ligt. Parameters die een rol spelen bij de optimalisering zijn protonenergie, trefplaatdikte en röntgenabsorptiefilter. De reproduceerbaarheid en de gevoeligheid voor de analyses zijn bepaald. Het blijkt mogelijk te zijn seleniumconcentraties te meten met een onnauwkeurigheid van 10% met 90% betrouwbaarheid in een meettijd van circa 15 minuten. Er zijn metingen verricht aan sera van gezonde personen, van kankerpatiënten en van patiënten die het Moerman-dieet gebruiken.

INHOUDSOPGAVE

Blz.		
	HOOFDSTUK 1	INLEIDING
1	1.1	Algemene opmerkingen
2	1.2	Doelstellingen
3	1.3	Werkwijze
5	1.4	Relatie selenium en kanker
	HOOFDSTUK 2	BESCHRIJVING VAN DE METHODE EN OPTIMALISERING VAN PIXE-METINGEN
	2.1	Beschrijving van de methode
9	2.1.1	PIXE
12	2.1.2	Verwerking van de spectra
13	2.1.3	Trefplaatbereiding
14	2.2	Optimalisering van PIXE-metingen
17	2.2.1	De PWA als functie van E_p en d_p
21	2.2.2	De PWA als functie van E_p , d_p en $J_{p,max}$
23	2.2.3	De PWA als functie van E_p , d_p , J_p en d_a
	HOOFDSTUK 3	EXPERIMENTELE REALISERING
28	3.1	De opstelling
30	3.2	Dragerkeuze
32	3.3	Complicaties bij concentratiebepalingen in bloed
	HOOFDSTUK 4	TESTEN VAN DE ANALYSE-METHODE EN HET VERRICHTEN VAN IJKMETINGEN
33	4.1	Bepaling van de relatieve gevoeligheid
35	4.2	Bepaling van de (niet-)reproduceerbaarheid
36	4.3	De ijkmetingen
36	4.3.1	Ijkmetingen m.b.v. sera met bekende Se-concentratie
37	4.3.2	Ijkmetingen m.b.v. ijkvloeistoffen
39	4.3.3	Vergelijk van berekeningen met praktijk
	HOOFDSTUK 5	BEPALING VAN DE GEMIDDELDE SE-CONCENTRATIE IN SERA VAN GEZONDE PERSONEN EN KANKERPATIËNTEN
41	5.1	Seleniumconcentratie van gezonde personen en kankerpatiënten
43	5.2	Seleniumconcentratie van patiënten die het Moerman-dieet gebruiken
44	CONCLUSIES	
46	LITERATUUROPGAVE	
48	APPENDIX	DISCUSSIE VAN FOUTENBRONNEN

HOOFDSTUK 1 INLEIDING

1.1 Algemene opmerkingen

In de laatste decennia is het onderzoek naar de relatie tussen de concentratie of concentratieverhoudingen van spoorelementen in bloed en het optreden van bepaalde ziektebeelden steeds meer in de belangstelling komen te staan. Alvorens dergelijke relaties op voldoende betrouwbare wijze vastgesteld kunnen worden, dient men te beschikken over een analysemethode waarmee variaties in spoorelementconcentraties nauwkeurig te bepalen zijn. Eén van de methoden die daarvoor in aanmerking kan komen is de zogenaamde PIXE-methode (Particle Induced X-ray Emission ; Joh70, Kiv80).

PIXE is één van de onderwerpen die in de groep cyclotron-toepassingen van de vakgroep deeltjesfysica bestudeerd wordt. De methode berust op het identificeren van röntgenstraling, welke karakteristiek is voor elk element en welke door versnelde ionen opgewekt kan worden. De intensiteit van de karakteristieke röntgenstraling is een maat voor de concentratie van het element dat deze straling uitzendt. Een voordeel van PIXE is dat de in een trefplaat aanwezige elementen alle gelijktijdig en daardoor onder gelijke meetcondities gedetekteerd kunnen worden. Hierdoor zijn de concentratieverhoudingen in een trefplaat goed te bepalen.

Een PIXE-analyse bestaat uit trefplaatbereiding, bestraling-detektie en dataverwerking. Voor vloeistoffen bestaat de trefplaatbereiding uit het aanbrengen van een kleine hoeveelheid (aliquot) van de te analyseren vloeistof (sample) op een filtreerpapier of folie (drager). Aliquot en drager samen worden trefplaat genoemd. Na de PIXE-meting wordt met behulp van een computer het aantal gedetekteerde röntgenkwanten bepaald.

Met het A.V.F.-cyclotron van de T.H.E. kunnen de volgen-

de deeltjes versneld worden vanaf enkele MeV's tot de daarachter vermelde energie:

- α -deeltjes (30 MeV)
- Protonen (30 MeV)
- ^3He -deeltjes (40 MeV)
- Deutronen (15 MeV)

Voor PIXE blijkt het gunstig te zijn om protonen als exciterende deeltjes te gebruiken (Fol74a, Bar80, Vis77).

Een proton-energie tussen 1 en 7 MeV verdient de voorkeur (Fol74b).

1.2 Doelstellingen

In dit verslag wordt de toepassing beschreven van PIXE voor de bepaling van sporelementconcentraties in menselijk bloedserum. Concentratiebepalingen in serum verdienen de voorkeur boven concentratiebepalingen in bloed.

De voornaamste reden hiervoor is:

bloed bestaat uit bloedlichaampjes en serum; de bloedlichaampjes kunnen bij de analyse complicaties veroorzaken (§3.3).

De eerste doelstelling van dit afstudeerwerk luidt:

PIXE geschikt maken voor routinematige analyses van menselijk serum ten behoeve van de medische diagnostiek. In het bijzonder gaat daarbij de interesse uit naar de bepaling van de seleniumconcentratie (≈ 0.12 ppm; Iye78, Ver75).

In de literatuur zijn enkele voorbeelden te vinden die de relatie tussen de seleniumconcentratie in serum en het voorkomen van kanker beschrijven. Onderzoekingen hebben aangetoond dat de gemiddelde seleniumconcentratie van een groep personen die aan kanker lijden 15% tot 40% lager is dan de gemiddelde seleniumconcentratie van een groep gezonde personen (Sha73, McC75; zie ook §1.4). Tevens bestaan er aanwijzingen dat bepaalde soorten kanker in verband staan met

de concentratieverhouding van enkele elementen (Kas77). Omdat met PIXE alle in een trefplaat aanwezige elementen tegelijkertijd gedetekteerd worden is het een veelbelovende methode voor het bepalen van concentratieverhoudingen.

Om aan de doelstelling te voldoen worden de volgende eisen gesteld:

- 1) De relatieve gevoeligheid van de methode én de niet-reproduceerbaarheid van een aantal analyses van één sample moeten zodanig zijn dat een concentratie met een onnauwkeurigheid van hoogstens 10% te bepalen is met een betrouwbaarheid van 90%. Wij definiëren de relatieve gevoeligheid als de verhouding van de relatieve verandering van in- en uitgangsgrootheid.
- 2) Om het routinematig karakter van de analyses te kunnen verwezenlijken moet de trefplaatbereiding zo eenvoudig mogelijk en de analysetijd zo kort mogelijk zijn, onder voorbehoud dat aan de eerste eis voldaan blijft.

De eerste eis is opgesteld onder het gegeven dat de biologische spreiding, σ_{biol} , in de seleniumconcentratie van een groep personen ongeveer 16% bedraagt (Ver75, Goe76). Wanneer de PIXE-methode aan de eerste eis voldoet zal de spreiding in de gemeten seleniumconcentratie, σ_{gem} , van een groep personen hoofdzakelijk bestaan uit de bijdrage ten gevolge van de biologische spreiding ($\sigma_{\text{gem}}^2 = \sigma_{\text{biol}}^2 + \sigma_{\text{meth}}^2$).

Het tweede doel van dit afstudeerwerk is:

de gemiddelde seleniumconcentratie bepalen van een groep kankerpatienten en van een groep gezonde personen en de resultaten vergelijken met literatuurwaarden.

1.3 Werkwijze

Allereerst is een formule opgesteld (§2.1.1) voor het verband tussen de seleniumconcentratie in het onderzochte serum en het aantal gedetekteerde selenium- K_{α} -röntgenkwanten. Aan de hand van deze formule is een voor de methode belangrijke parameter, de PWA (§2.2), gemaximaliseerd. De PWA is afhankelijk van aa. proton-energie, protonenstroom en tref-

plaatdikte (hfdstk.2). Een optimaliseringsprocedure is opgezet is samenwerking met Hans van Zon (Zon80). Volgens is de experimentele realisering tot stand gekomen hetgeen inhield het wijzigen van de bestaande opstelling en het kiezen van de optimale drager (Hfdstk.3). De relatieve gevoeligheid en de niet-reproduceerbaarheid van de PIXE-methode zijn gemeten en er zijn ijkmetingen verricht (Hfdstk.4). Tenslotte zijn de bepalingen van de seleniumconcentraties bij gezonde personen en kankerpatienten verricht (Hfdstk.5). Hiertoe zijn 5 groepen gevormd.

Groep 1 : gezonde personen

Groep 2 : kankerpatienten die nog geen behandeling hebben ondergaan

Groep 3 : kankerpatienten die een behandeling ondergingen in de vorm van operatie, bestraling of toediening van cytostatica

Groep 4 : kankerpatienten die geen behandeling ondergingen maar wel het Moerman-dieet langer dan een half jaar volgden

Groep 5 : kankerpatienten die eerst een behandeling ondergingen en daarna het Moerman-dieet langer dan een half jaar volgden.

Samples van sera van personen uit groep 1, 2 en 3 konden worden gemeten dankzij de medewerking van Dr.Ir.H.L.Vader, klinisch chemicus in het St.Joseph-ziekenhuis te Eindhoven. Groep 3 is in dit afstudeerwerk opgenomen om een indruk te krijgen van een eventueel herstel van het seleniumgehalte na een der genoemde behandelingsmethoden.

Groep 4 en 5 zijn in het onderzoek betrokken i.v.m. een eventuele invloed van het Moerman-dieet op de seleniumconcentratie bij kankerpatienten. De sera van deze personen werden verstrekt door H.A.M.Schram, arts te Berlicum.

1.4 Relatie selenium en kanker

In deze paragraaf wordt in het kort weergegeven wat in de literatuur beschreven staat over de relatie tussen het element selenium en het voorkomen van kanker. Allereerst worden onderzoeken vernoemd welke uiteenzetten wat de rol van selenium is binnen het biochemisch mechanisme. Daarna worden enkele onderzoeken en experimenten vernoemd waaruit gebleken is dat de seleniumconcentratie in de bodem, in het voedsel en in het bloed van mens of dier gerelateerd is met het procentuele voorkomen van kanker (tumorincidentie).

Het element selenium werd in het jaar 1817 ontdekt door Berzilius. Tot 1957 werd selenium als giftig beschouwd. In dat jaar ontdekten Schwarz en Foltz dat een tekort aan selenium bij dieren levernecrose en spierdystrofie veroorzaakte (Sch57). Daardoor verhuisde selenium van de groep giftige elementen naar de groep essentiële sporelementen. Rotruck toonde in 1973 aan dat selenium gebonden is aan het enzym glutathionperoxidase (GSH-Px) (Rot73). Van dit enzym was toen al bekend dat de werking ervan bestaat uit het katalyseren van de reductie van peroxiden (Lit68) en het verhinderen van peroxidatie van lipiden (vetten) in cellen (Tap65). Rotruck constateerde dat het toedienen van selenium-arm voedsel aan ratten gepaard ging met aantasting van rode bloedcellen door oxidatie (Rot72). In 1977 publiceerde Perona de resultaten van een onderzoek naar de relatie tussen de seleniumconcentratie in plasma en de actieve werking van het enzym GSH-Px in rode bloedlichaampjes (Per77). Een jaar later wezen onderzoeken van Forstrom uit dat selenium op een actieve plaats van het GSH-Px gebonden zit en wel in de vorm van selenocysteïne (For78). In 1979 toonden Rea ea. de door Perona gevonden relatie aan tussen de actieve werking van het GSH-Px en de seleniumconcentratie in plasma, rode bloedlichaampjes en bloed (Rea79). Omdat selenium een rol speelt bij de bescherming van lipiden tegen peroxidatie wordt selenium een antioxidant genoemd.

Parallel aan de onderzoeken naar de rol van selenium in het metabolisme van mens en dier werden onderzoeken en experimenten verricht om te achterhalen of het optreden van kanker in verband te brengen was met de seleniumconcentratie in bodem, voedsel en bloed.

Zo vond Shamberger in 1969 een negatieve correlatie tussen het voorkomen van kanker en de hoeveelheid selenium in bloedmonsters van patienten. Verder was de seleniumconcentratie in verbouwde gewassen laag in een gebied met hoog percentage borstkanker (Sha69a). In 1970 ontdekten Shamberger en Willis dat gezonde personen in de U.S.A. van 50 tot 71 jaar een gemiddelde seleniumconcentratie in bloed hadden van 0.217 ppm. Kankerpatienten in dezelfde leeftijdsgroep hadden daarentegen een gemiddelde concentratie van 0.162 ppm in hun bloed (Sha70). Een jaar later publiceerden wederom Shamberger en Willis de resultaten van een onderzoek waarbij voor 19 verschillende steden in de U.S.A. het gemiddelde seleniumgehalte van de plaatselijke bevolking werd vergeleken met het aantal sterfgevallen aan kanker (Sha71). Weer werd de negatieve correlatie tussen de seleniumconcentratie en het aantal kankerpatienten vastgesteld. In 1973 toonden Shamberger ea. de seleniumverlaging aan bij het optreden van verschillende soorten tumoren (Sha73). De gemiddelde verlaging van de seleniumconcentratie bleek voor patienten met darmkanker 31%, met maagkanker 33% en met een tumor in de lever 42% te bedragen.

Ook andere onderzoekers hielden zich bezig met het vraagstuk of en zo ja hoe selenium in relatie stond met het voorkomen van kanker. McConnell en Broghamer bijvoorbeeld bepaalden gemiddelde seleniumconcentraties in serum van een groep kankerpatienten en van een groep gezonde personen. Van 110 kankerpatienten lag het gemiddelde seleniumgehalte 14% en van 16 patienten met maagkanker 23% lager dan de gemiddelde seleniumconcentratie van de controlegroep (McC75). Uit datzelfde onderzoek kwam ook de conclusie naar voren dat de seleniumconcentratie bij kankerpatienten in ver-

band staat met de metastasering van de tumor en de overlevingskansen van de patient (Bro76). Schrautzer e.a. zochten naar de relatie tussen het voorkomen van kanker en de samenstelling van het gebruikte voedselpakket (Sch76a). In het bijzonder werden door Schrautzer ea. 27 landen vergeleken wat betreft de relatie tussen de seleniumopname via het voedsel en het percentage sterfgevallen ten gevolge van borstkanker bij vrouwen (Sch77a). Een vermindering met een factor drie werd gevonden bij een toename van de jaarlijkse hoeveelheid selenium in de voeding van 60 naar ongeveer 100 mg. Van deze 27 landen staat Nederland vermeld als het land met het hoogste sterftecijfer aan borstkanker en de laagste seleniumopname. De negatieve correlatie tussen selenium in de voeding en de tumorincidentie geldt, zij het in iets mindere mate dan voor mammatumoren, ook voor een groot aantal andere soorten kanker (Sch77a).

Dezelfde negatieve correlatie met de tumorincidentie werd door Schrautzer en medewerkers gevonden tussen de hoeveelheid selenium in de voeding en de seleniumconcentratie in het bloed. In 1976 kwam uit een onderzoek van Shamberger naar voren dat het voorkomen van kanker ook negatief gecorreleerd is met de seleniumconcentratie in de bodem van verschillende gebieden in de U.S.A. (Sha76). Deze gebieden werden verdeeld in plaatsen met een hoog, gemiddeld en laag gehalte aan selenium. Er bleek dat in de gebieden met een hoog seleniumgehalte de sterfte aan verschillende typen van kanker, zoals maag-, darm-, long- en borstkanker, significant lager was dan in gebieden met een laag seleniumgehalte in de bodem. Hierbij werd evenwel door Shamberger opgemerkt dat de gebieden met een hoog seleniumgehalte ook de plaatsen zijn met minder luchtverontreiniging, zodat ook andere factoren eveneens een rol kunnen spelen. Deze opmerking van Shamberger geeft aan dat niet verwacht moet worden dat alléén het seleniumgehalte in bodem, voedsel of bloed bepalend zou zijn voor de kans op het krijgen van kanker. Andere spoorelementen zoals b.v. Fe, Cu en Zn kunnen de

gunstige werking van selenium beïnvloeden (Sch76b, Sch77b, Sch78a, Kas77). Bovendien spelen de vitaminen A, C en E een gunstige en de hoeveelheid meervoudig onverzadigde vetzuren een ongunstige rol in het kankerproces (Pas78).

Naast de bovengenoemde onderzoeken zijn talloze dierexperimenten verricht. In bijna alle experimenten waarbij extra selenium via drinkwater of voedsel aan ratten, muizen of andere dieren werd toegediend is de negatieve correlatie tussen seleniumconcentratie en het percentage kankergevallen aangetoond (Sha69b, Har72, Wed72, Sch74, Gri77, Jac77, Sch78b).

In het eerste deel van deze paragraaf is uiteengezet dat de seleniumconcentratie in serum of bloed de actieve werking van het enzym (GSH-Px) beïnvloedt. In het tweede deel zijn voorbeelden aangehaald uit de literatuur die er ten sterkste op wijzen dat de seleniumconcentratie in bloed of serum negatief gecorreleerd is met het voorkomen van kanker. Deze twee gegevens samengevoegd doet bij Vernie de vraag rijzen of de daling van de actieve werking van het GSH-Px, of anders gezegd stijging van peroxidatie, tumorverwekkend kan werken (Ver80). Onderzoeken in die richting zouden er op wijzen dat selenium via het enzym GSH-Px een beschermende werking tegen bepaalde vormen van kanker kan bezitten (Sha72, Sha74, Wat78).

Nu is bekend dat selenium, wat chemische eigenschappen betreft, sterk overeenkomt met zwavel (Pra76). Op grond hiervan is verondersteld dat zwavelrijk voedsel ook relatief veel selenium zal bevatten. Een dieet dat onder andere zwavelrijke produkten bevat is het Moerman-dieet (Moe80). Om na te gaan of het volgen van het Moerman-dieet inderdaad een verhoging van de seleniumconcentratie in serum met zich brengt zouden een groot aantal metingen verricht moeten worden. Dit is realiseerbaar wanneer men beschikt over een snelle en nauwkeurige analysemethode. Omdat PIXE hiervoor in aanmerking kan komen wordt in dit verslag beschreven hoe deze methode geoptimaliseerd kan worden voor bepaling van seleniumconcentraties en wordt de nauwkeurigheid van de methode getest. Tenslotte is van een klein aantal gezonde personen, kankerpatiënten en Moermandieet-gebruikers de seleniumconcentratie in serum bepaald.

HOOFDSTUK 2 BESCHRIJVING VAN DE METHODE EN
OPTIMALISERING VAN PIXE-METINGEN

Inleiding

In dit hoofdstuk wordt allereerst de bestralingsopstelling gepresenteerd. Daarna wordt aandacht besteed aan de data-verwerking en de trefplaatbereiding. Tijdens de beschrijving van deze drie onderdelen van de analysemethode zal aangegeven worden welke grootheden een rol spelen bij de concentratiebepaling in het algemeen. In paragraaf 2.2 wordt een grootheid besproken (de PWA) welke van belang is bij de bepaling van concentraties in de buurt van de detektielimit. Daarna wordt beschreven hoe voor enkele grootheden waarden gevonden kunnen worden die een optimale detektie van selenium mogelijk maken

2.1 Beschrijving van de methode

2.1.1 PIXE

De PIXE-opstelling is schematisch weergegeven in fig. 2.1.

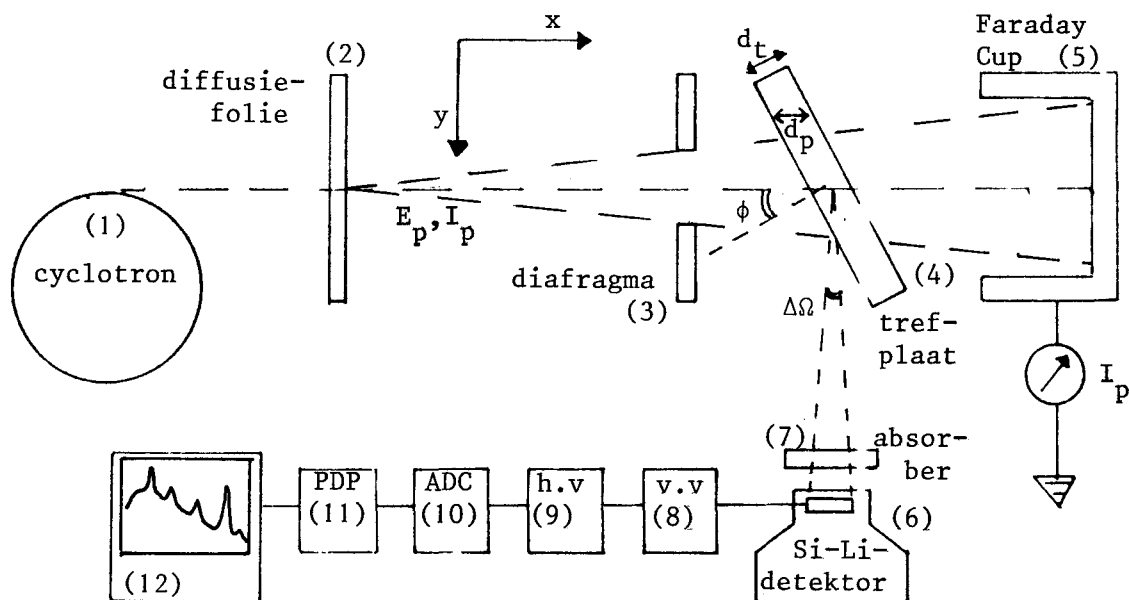


Fig.2.1 De PIXE-opstelling

Het A.V.F.-cyclotron (1) van de T.H.E. versnelt protonen tot een bepaalde energie E_p . De bundel protonen wordt door een diffusie-folie (2) uniform gemaakt, d.w.z. er ontstaat

een constante stroomdichtheid over het oppervlak van de trefplaat. De protonen-energie neemt daarbij af, afhankelijk van de dikte van het folie. Vervolgens passeert de bundel een diafragma (3) met doorsnede D en bereikt de te analyseren trefplaat (4), welke een dikte d_t bezit. De normaal van de trefplaat maakt een hoek ϕ met de protonenbundel. Tijdens de passage door de trefplaat neemt de protonen-energie ook af: $E_p = E_p(x)$, waarbij x de afstand in de trefplaat is. Het verschil tussen de energie vóór en ná de trefplaat noemen we ΔE_p . Deze energieafname is een functie van E_p , van het materiaal waaruit de trefplaat bestaat en van de afstand die de protonen door de trefplaat afleggen. Deze afgelegde weg noteren we met d_p ($d_p = d_t / \cos \phi$) en wordt in het vervolg effectieve dikte genoemd. Indien de range van de protonen groter is dan d_p wordt de protonenbundelstroom I_p gemeten in de Faraday Cup (5). Met behulp van een "Current Digitizer" kan het aantal protonen N_p , uitgedrukt in de hoeveelheid lading Q , worden gemeten dat gedurende een meettijd t_m de trefplaat is gepasseerd: $N_p = Q/e$ (e is de eenheidslading).

We beschouwen in de trefplaat een element Z met gewichtsfractie $c_{t,Z}(x)$. Het aantal atomen $n_{t,Z}(x)$ van element Z per eenheid van trefplaatmassa is dan: $n_{t,Z}(x) = c_{t,Z}(x) N_A / M_Z$ (N_A is het getal van Avogadro en M_Z is het atoomgewicht van element Z). De protonen hebben een bepaalde kans om elektronen uit bijvoorbeeld de K-schil van atomen van element Z te stoten. Het aantal K-ionisaties is afhankelijk van $n_{t,Z}(x)$ en de werkzame doorsnede voor K-ionisatie, welke een functie is van $E_p(x)$ en Z : $\sigma_{K,ion}(E_p(x), Z)$. De gaten in de K-schil worden weer opgevuld door elektronen uit L-, M-, N-, ...-schil waarbij zich de kans voordoet dat de voor het element karakteristieke röntgenstraling vrijkomt. Deze kans wordt weergegeven door de fluorescentie-opbrengst ω_K . K-röntgenstraling bestaat uit K_α - en K_β -straling. De relatieve intensiteit van de K_α -straling wordt genoteerd met Γ_{K_α} . Voor het aantal gegenereerde K_α -kwanten, $N_{K_\alpha,Z}$, kan dan geschreven worden:

$$N_{K_\alpha,Z} = \underbrace{I_p t_m}_{\underbrace{Q}_{N_p}} \frac{1}{e} \int_0^{d_p} n_{t,Z}(x) \sigma_{K,ion}(E_p(x), Z) dx \omega_{K,Z} \Gamma_{K_\alpha,Z} \quad (2.1)$$

De door de protonen uitgestoten elektronen worden in de trefplaat afgeremd en genereren hierbij remstraling. Een gedeelte van de remstraling en van de karakteristieke röntgenstraling wordt uitgezonden in de richting van de Si-Li-detektor (6) die een ruimtehoek $\Delta\Omega$ omspant. Een gedeelte van de straling wordt in de trefplaat zelf geabsorbeerd en een fractie wordt ingevangen door het röntgenabsorptiefilter (7). Deze absorber bevindt zich tussen trefplaat en detektor en dient om intense laagenergetische straling te onderdrukken. De transmissie door de trefplaat Tr_t is afhankelijk van de afgelegde weg y van de röntgenkwanten door de trefplaat ($y = x \cot\phi$) en van de massa-absorptiecoëfficiënt μ_t van het trefplaatmateriaal, welke een functie is van de energie E_r van de röntgenkwanten: $Tr_t = Tr_t(y, \mu_t(E_r))$. Zo ook is de transmissie Tr_α door de absorber afhankelijk van de dikte d_α van de absorber, van de massa-absorptiecoëfficiënt μ_α en van de energie E_r :

$Tr_\alpha = Tr_\alpha(d_\alpha, \mu_\alpha(E_r))$. Tenslotte heeft de detektor een bepaalde detektiekans $D_{eff}(E_r)$ voor de binnenkomende kwanten met energie E_r . Het aantal gedetekteerde K_α -kwanten wordt dan:

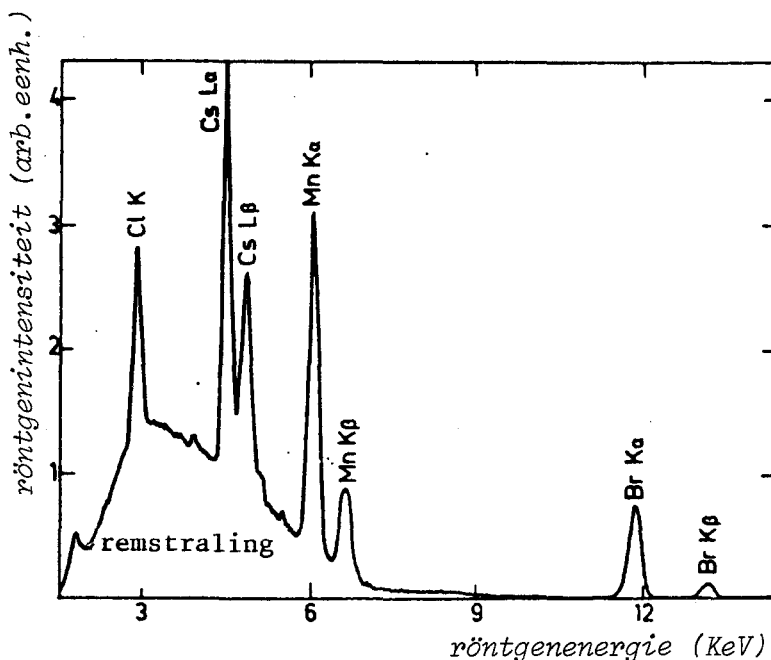
$$N_{K_\alpha, det} = N_p S \int_0^{d_p} n_{t,Z}(x) \sigma_{K, ion.}(E_p(x), Z) Tr_t(y, \mu_t(E_{K_\alpha})) dx \quad (2.2)$$

waarin $S = \omega_{K,Z} \Gamma_{K_\alpha,Z} \frac{\Delta\Omega}{4\pi} Tr_\alpha(d_\alpha, \mu_\alpha(E_{K_\alpha})) D_{eff}(E_{K_\alpha})$.

De gedetekteerde röntgenstraling veroorzaakt stroompulsen in de detektor. De hoogte van een puls komt overeen met de energie van het gedetekteerde kwant. De pulsen worden via een voorversterker (8) en hoofdversterker (9) toegevoerd aan een "Analog to Digital Converter" (A.D.C.) (10), die de pulsen naar hoogte analyseert. Met behulp van een PDP-11V03 minicomputer (11) wordt het aantal geregistreeerde pulsen per energie-interval opgeslagen. Dit geheugen kan uitgelezen worden. Op een display of plotter kan dan het spectrum van een trefplaat zichtbaar gemaakt worden (fig.2.2). Horizontaal staat uitgezet het kanaalnummer (dit komt overeen met de energie van de gedetekteerde straling) en vertikaal het aantal geregistreeerde röntgenkwanten per kanaal (ofwel per energie-interval).

Fig.2.2

Een PIXE-spectrum



2.1.2 Verwerking van de spectra

Voor kwalitatieve en kwantitatieve analyse van een trefplaat moet van een gemeten spectrum de plaats resp. plaats en oppervlak van de karakteristieke pieken bepaald worden (fig.2.2). Aangenomen wordt dat röntgenlijnen gaussvormige pieken in een spectrum opleveren. De gausskrommen zijn gesuperponeerd op een continu achtergrond-spectrum, voornamelijk veroorzaakt door remstraling van elektronen. Een computerprogramma dat bij een gemeten spectrum een aanpassing zoekt, die bestaat uit een superpositie van experimenteel bepaalde achtergrond en een aantal ingevoerde gausskrommen, is het programma PROFANAL (Vae79), ontwikkeld in onze PIXE-groep.

In dit programma wordt ingevoerd een gemeten achtergrond-spectrum, afkomstig van hetzelfde type drager als waarvan gebruik gemaakt is bij de trefplaatbereiding, het te analyseren spectrum van de trefplaat, een schalingsfaktor voor de achtergrond en beginschattingen voor de gausskrommen (hoogte, positie symmetrie-as en halfwaardebreedte). Het programma zoekt dan via een kleinste-kwadratenprocedure de best mogelijke aanpassing. Het gemeten spectrum, de aanpassing en de gevonden achtergrond kunnen vervolgens getekend worden. Tevens worden de bij die aanpassing behorende waarden

van de parameters en de piekoppervlakken getypt. Fouten die optreden in het piekverwerkingsprogramma worden behandeld in de Appendix.

2.1.3 Trefplaatbereiding

De trefplaten worden gemaakt volgens de in de groep zelf ontwikkelde methode: de centrifugaaldispersormethode (Kiv79). Voor vloeistoffen is het principe als volgt. Aan de te analyseren vloeistof (sample) wordt een bepaalde hoeveelheid propanol toegevoegd. Een drager van absorberend materiaal wordt in een diaraampje geklemd. Het raampje wordt gecentreerd op een draaibaar tafeltje bevestigd (fig. 2.3).

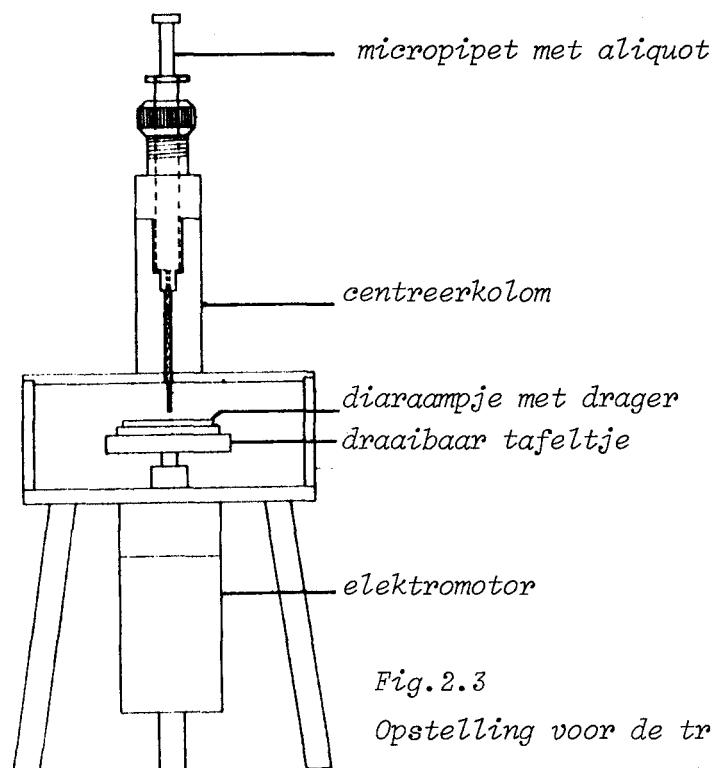


Fig.2.3

Opstelling voor de trefplaatbereiding.

Een micropipet wordt gevuld met een hoeveelheid van de te analyseren vloeistof (aliquot). De pipet met het aliquot wordt vervolgens gecentreerd boven het dragermateriaal geplaatst. De draaitafel wordt met behulp van een elektromotor op een bepaald toerental gebracht en de pipet snel leeggespoten. Deze eenvoudige wijze van trefplaatbereiding

garandeert voor wat betreft het aanbrengen van vloeistoffen op membraamfilters een hoge mate van reproduceerbaarheid, homogeniteit en uniformiteit.

Homogeen is een constante verhouding van de elementen over het volume van de trefplaat,
uniform is een constante concentratie per element over het oppervlak van de trefplaat.

De niet-reproduceerbaarheid van de trefplaatbereiding bedraagt $\approx 1.6\%$, de niet-homogeniteit $\approx 2\%$ en de niet-uniformiteit $\approx 2\%$.

De concentratie van een element $c_{s,Z}$ in een sample wordt meestal opgegeven in ppm gewichtsfractie (10^{-6} g/g). In formule 2.1 is de concentratie $c_{t,Z}(x)$ in een trefplaat ook uitgedrukt in een gewichtsfractie maar $c_{s,Z}$ en $c_{t,Z}(x)$ zijn verschillend van waarde. Voor homogene trefplaten kan $c_{t,Z}$ berekend worden met gebruikmaking van de volgende formule:

$$c_{t,Z} = c_{s,Z} \rho_s \frac{1}{1+v} \frac{V_\alpha}{O_\alpha} \frac{1}{d_t} \quad (2.3)$$

ρ_s is het soortelijk gewicht van het sample (mg/ μ l)

v is de volumefractie toegevoegde propanol

V_α is het volume van het aliquot (μ l)

O_α is het oppervlak wat het aliquot op de trefplaat in beslag neemt (cm^2)

d_t is de dikte van de trefplaat (mg/cm^2).

Nu kan met behulp van formules 2.2 en 2.3 de concentratie $c_{s,Z}$ berekend worden, uitgaande van de grootte van een piekoppervlak behorende bij een element Z. De bij de analyse optredende fouten ten gevolge van trefplaatbereiding, meting en dataverwerking komen in de Appendix aan de orde.

2.2 Optimalisering van PIXE-metingen

De grootheden welke een rol spelen bij de concentratiebepaling staan in formule 2.2 en 2.3. De volgende stap is voor de onafhankelijke grootheden E_p , d_p , I_p , d_α , $n_{t,Z}$, $\Delta\Omega$ en ϕ die waarden te vinden waarbij de fout in de concentratiebepaling beneden een gewenste waarde daalt in een zo kort mogelijke analysetijd. Naast fouten veroorzaakt bij trefplaatbereiding, meting en dataverwerking treedt nog de

statistische telfout op in het aantal gedetekteerde K_α -röntgenkwanten, $N_{K_\alpha, det}$. Deze statistische fout, uitgedrukt als één standaarddeviatie σ_{st} , is gelijk aan $\sqrt{N_{K_\alpha, det}}$. Zo ook is de fout in het aantal remstralingskwanten onder een piek, over een breedte van tweemaal de halfwaardebreedte van de piek, gelijk aan $\sqrt{N_{rem}}$. Voor significante detektie van concentraties in de buurt van de detektielimiet wordt nu als eis gesteld dat een piek met inhoud $N_{K_\alpha, det}$ significant van de fluctuaties in de achtergrond te onderscheiden moet zijn. Wij hanteren als criterium: $N_{K_\alpha, det} > 3\sqrt{N_{rem}}$. Optimale meetcondities worden dán bereikt wanneer verhouding van de piekinhoud en de wortel van de achtergrond onder de piek maximaal is bij een vaste meettijd.

$$\underline{\text{Piek-Wortel-Achtergrond}} = \text{PWA} = \frac{N_{K_\alpha, det}}{\sqrt{N_{rem}}}$$

(Zie ook de Appendix).

Voor het piekoppervlak, $N_{K_\alpha, det}$, is al een uitdrukking gevonden in §2.1. Een soortgelijke formule kan opgesteld worden voor het aantal remstralingskwanten onder een piek, waarbij aangenomen is dat remstraling isotroop uitgezonden wordt.

$$N_{rem} = N_p R \int_0^p n_t \frac{d\sigma_r}{dE_r}(E_p(x), E_r) \Delta E_r(Z) Tr_t(y, \mu_t(E_r)) dx \quad (2.4)$$

$$\text{waarin } R = Tr_a(d_\alpha, \mu_\alpha(E_r)) \frac{\Delta\Omega}{4\pi} D_{eff}(E_r)$$

n_t is het aantal trefplaatatomen per gram trefplaat
 $\frac{d\sigma_r}{dE_r}(E_p(x), E_r)$ is de differentiële werkzame doorsnede voor
 produktie van remstralingskwanten met energie E_r
 $\Delta E_r(Z)$ is het energieinterval ter grootte van tweemaal
 de halfwaardebreedte van de K_α -piek van element Z

De PWA van een element Z is dan gelijk aan:

$$PWA = K \sqrt{J_p} \sqrt{Tr_a(d_a)} \frac{\int_0^{d_p} n_{t,Z}(x) \sigma_{K,ion.}(E_p(x)) Tr_t(y, \mu_t) dx}{\left(\int_0^{d_p} n_t \frac{d\sigma_r}{dE_r}(E_p(x)) \Delta E_r Tr_t(y, \mu_t) dx \right)^{\frac{1}{2}}} \quad (2.5)$$

waarin $K = \Gamma_{K\alpha, Z} \omega_{K, Z} \sqrt{O_b \frac{\Delta\Omega}{4\pi} D_{eff} t_m/e}$.

$J_p = I_p/O_b$ (J_p is de bundelstroombichtheid op de trefplaat; bundelstroombichtheid zelf is $J_p/\cos\phi$; O_b is het bestraald oppervlak)

$$E_{K\alpha} = E_r$$

Nu volgt de eigenlijke optimaliseringsprocedure. De hierbij te optimaliseren parameters zijn E_p , d_p , J_p , d_a , O_b , $\Delta\Omega$, ϕ en $n_{t,Se}(x)$. Tijdens de procedure moeten twee randvoorwaarden in acht genomen worden.

Randvoorwaarde_1

De temperatuur van de trefplaat moet beneden een bepaalde temperatuur blijven: $T_t < T_{max}$. De temperatuurstijging komt tot stand doordat de protonen tijdens hun passage door de trefplaat energie verliezen. De energieafname van de protonen is reeds aangegeven met $\Delta E_p(E_p, d_p)$ (§2.1.1). Het in de trefplaat gedissipeerd vermogen per oppervlakteëenheid W , bij een energieverlies van ΔE_p en een stroomdichtheid J_p op de trefplaat, is dan gelijk aan:

$$W(\Delta E_p, J_p) = \Delta E_p(E_p, d_p) J_p \quad (2.6)$$

Bij verwaarlozing van warmtegeleiding wordt de temperatuur van de trefplaat berekend volgens:

$$W(E_p, J_p) = 2 \sigma \epsilon (T_t^4 - T_o^4) \quad (2.7)$$

waarin ϵ is de emissiviteit van het trefplaatoppervlak
 σ is de konstante van Boltzmann ($5.67 \cdot 10^{-8} \text{ W/m}^2\text{K}^4$)
 T_o is de omgevingstemperatuur (300 K)

Voor een Selectron trefplaat blijkt experimenteel het maximaal toelaatbaar gedissipeerd vermogen per oppervlakteëenheid $\approx 0.23 \text{ Watt/cm}^2$ te zijn. Dit komt overeen met een berekende maximaal toelaatbare temperatuur van $\approx 420 \text{ K}$ ($\epsilon=0.8$).

Randvoorwaarde 2

Voor de aan de hoofdversterker en A.D.C. toegevoerde pulse-rate (aantal pulsen per seconde) bestaat een optimum. Enerzijds willen we de door de A.D.C. geregistreeerde telsnelheid zo hoog mogelijk hebben, anderzijds brengt een té hoge telsnelheid pile-up (sommatie van afzonderlijke pulsen) met zich mee, waardoor de karakteristieke röntgenkwanten niet met een herkenbare energie in het spectrum terecht komen. Bovendien veroorzaakt een te hoge telsnelheid telrendementsverlaging in de A.D.C. waardoor een deel van de röntgenkwanten überhaupt niet in het spectrum terecht komt. Het optimum voor de geregistreeerde telsnelheid in de A.D.C. bedraagt voor ons systeem circa $5000 \text{ counts s}^{-1}$ (Zon80).

In de volgende paragraaf zal de PWA berekend worden als functie van E_p en d_p . Daarna wordt de stroomdichtheid J_p op de trefplaat erbij betrokken en tenslotte zal de invloed van d_a behandeld worden.

2.2.1 De PWA als functie van E_p en d_p

In deze paragraaf wordt nagegaan hoe variatie van E_p en d_p de PWA beïnvloedt. Nu wordt in eerste instantie vanuit de volgende vijf uitgangspunten gestart.

Uitgangspunt 1: de stroomdichtheid J_p is konstant en zó laag dat

- het gedissipeerd vermogen per oppervlakte-eenheid lager blijft dan het maximaal toelaatbaar gedissipeerd vermogen W_{max} en
- de geregistreeerde telsnelheid in de A.D.C. lager is dan de optimale telsnelheid.

Dit betekent dat randvoorwaarden 1 en 2 nu niet van belang zijn.

Uitgangspunt 2: er is geen absorber tussen trefplaat en detector; $d_a = 0$ dus $Tr_a = 1$.

Opm: in §2.2.3 zal blijken dat wél een absorber nodig is.

Uitgangspunt 3: het bestraald oppervlak O_b , de ruimtehoek $\Delta\Omega$ en de hoek ϕ hebben een vaste waarde (zie §3.1).

De optimaliseringsprocedure zal voor het element selenium uitgevoerd worden, waarbij de trefplaat bestaat uit een koolwaterstof verbinding.

Uitgangspunt 4: de transmissie van Se-K_α-röntgenstraling (11.2 KeV) door de trefplaat stellen we gelijk aan één (ofwel we verwaarlozen de zelfabsorptie). Dit is gerechtvaardigd wanneer de afstand y in de trefplaat kleiner blijft dan 20 mg/cm² (zie fig.2.1).

Uitgangspunt 5: het concentratieverloop $n_{t,Se}(x)$ van selenium in de trefplaat is konstant: $n_{t,Se}(x) = n_{t,Se}$.

Onder deze uitgangspunten reduceert form.2.5 tot:

$$PWA = K \sqrt{J_p} n_{t,Se} \frac{\int_0^{d_p} \sigma_{K,ion.}(E_p(x)) dx}{\left[\int_0^{d_p} n_t \frac{d\sigma_r}{dE_r}(E_p(x)) \Delta E_r dx \right]^{\frac{1}{2}}} \quad (2.8)$$

waarin de breuk van form.2.8 verder aangeduid zal worden met PWAT, omdat dit het trefplaatafhankelijke deel van de PWA is. Voor bepaling van de PWAT moet bekend zijn:

- 1) de protonenergie $E_p(x)$ als functie van de door de protonen afgelegde weg x in de trefplaat. Hiervoor is gebruik gemaakt van de relatie van Zaidins (Zai74). Het energieverloop van protonen in Selectron (C₃₂H₄₄O₂₃; Edi78) is weergegeven in kromme 1 van fig.2.4. Uit deze kromme kan ook de energieafname $\Delta E_p(E_p, d_p)$ afgelezen worden behorend bij een bepaalde beginenergie E_p en effectieve dikte d_p . (b.v. $E_p = 3 \text{ MeV}$ en $d_p = 6 \text{ mg/cm}^2$ dan $\Delta E_p = 0.72 \text{ MeV}$).
- 2) De werkzame doorsnede voor K-ionisatie $\sigma_{K,ion}(E_p(x))$ als functie van de protonenergie. Deze relatie is beschreven door Akselsson (Aks74). Kromme twee van fig.2.4 stelt voor de werkzame doorsnede van selenium in arbitraire eenheden als functie van de afstand x in de trefplaat.
- 3) De achtergrond onder tweemaal de halfwaardebreedte van de selenium K_α-piek, N_{rem} , als functie van de protonenergie. Dit verband is te bepalen aan de hand van detektielimiet-curves, berekend door Folkmann (Fol74b). Deze curves werden door Folkmann berekend voor een dunne koolstof tref-

plaat (0.1 mg/cm^2) met als criterium: $N_{K\alpha, Se} = N_{rem}$ i.p.v. $N_{K\alpha, Se} = 3\sqrt{N_{rem}}$. De achtergrond bij verschillende protonenergieën kan nu als volgt bepaald worden: als c_E^* die concentratie is die aanleiding geeft tot een piekinhoud die juist aan het criterium van Folkmann voldoet bij $E_p = E \text{ MeV}$ dan geldt

$$N_{K\alpha, Se}(E) = g c_E^* \sigma_{K, ion}(E) = N_{rem}(E)$$

waarin g een evenredigheidsfactor is.

De waarde van $\sigma_{K, ion}(E)$ wordt gegeven door Akselsson en de waarden van c_E^* zijn te halen uit de berekeningen van Folkmann. In kromme 3 van fig.2.4 is in arbitraire eenheden de bijdrage dN_{rem}/dx tot de achtergrond onder de selenium $K\alpha$ -piek weergegeven als functie van de afstand x in de trefplaat.

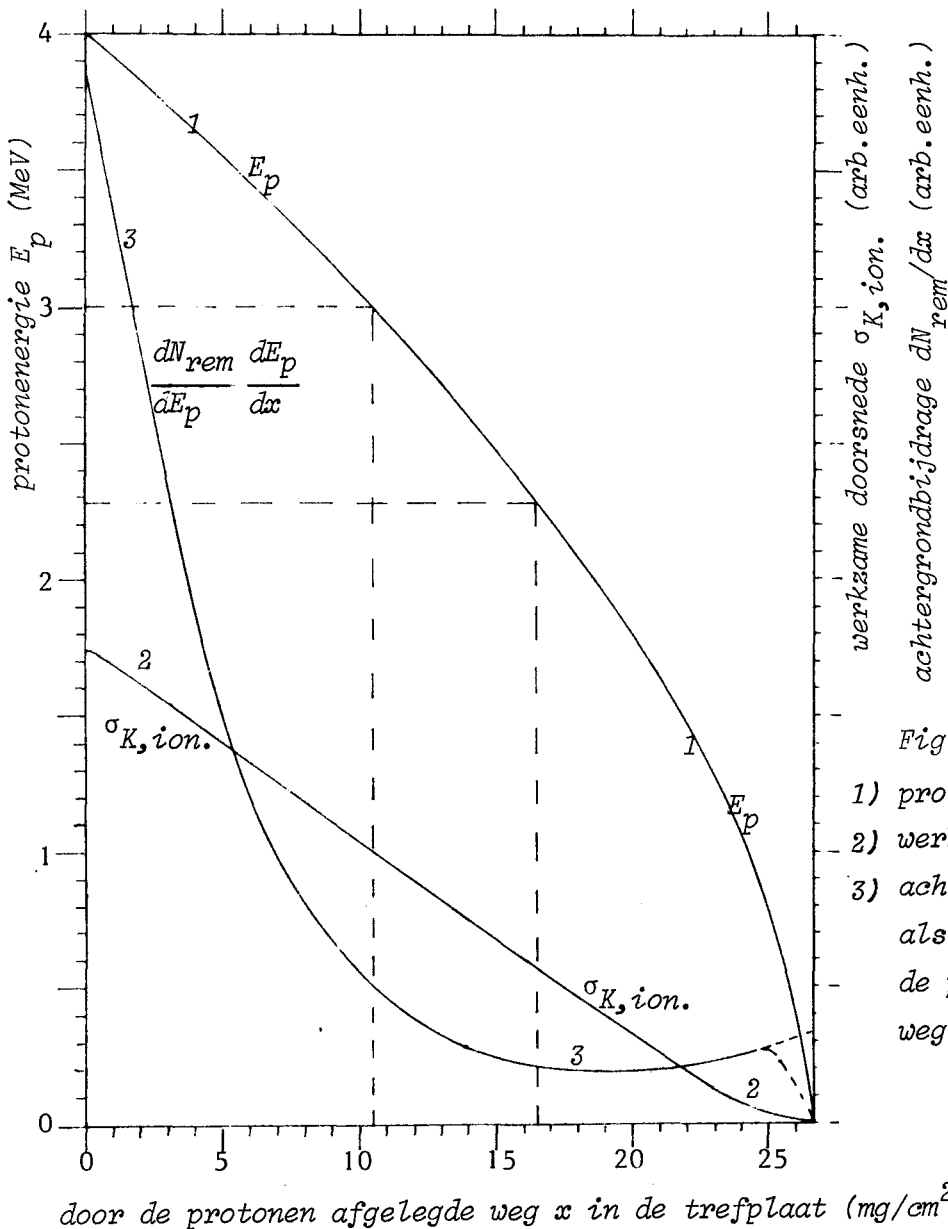


Fig.2.4

- 1) protonenergie,
- 2) werkzame doorsnede en
- 3) achtergrondbijdrage als functie van de door de protonen afgelegde weg x in de trefplaat

Aan de hand van de krommen in fig.2.4 kan de PWAT van selenium berekend worden voor verschillende beginenergieën en voor verschillende waarden van de effectieve dikte d_p . De zo te verkrijgen PWAT staat in arbitraire eenheden uitgezet in fig.2.5. Nogmaals wordt opgemerkt dat deze waarden onafhankelijk van de randvoorwaarden berekend zijn. De maximale PWAT wordt dan bereikt bij een beginenergie van 3.5 MeV en een effectieve dikte van 17 mg/cm^2 . In de volgende paragraaf zal de eerste randvoorwaarde in het optimaliseringsprogramma verwerkt worden.

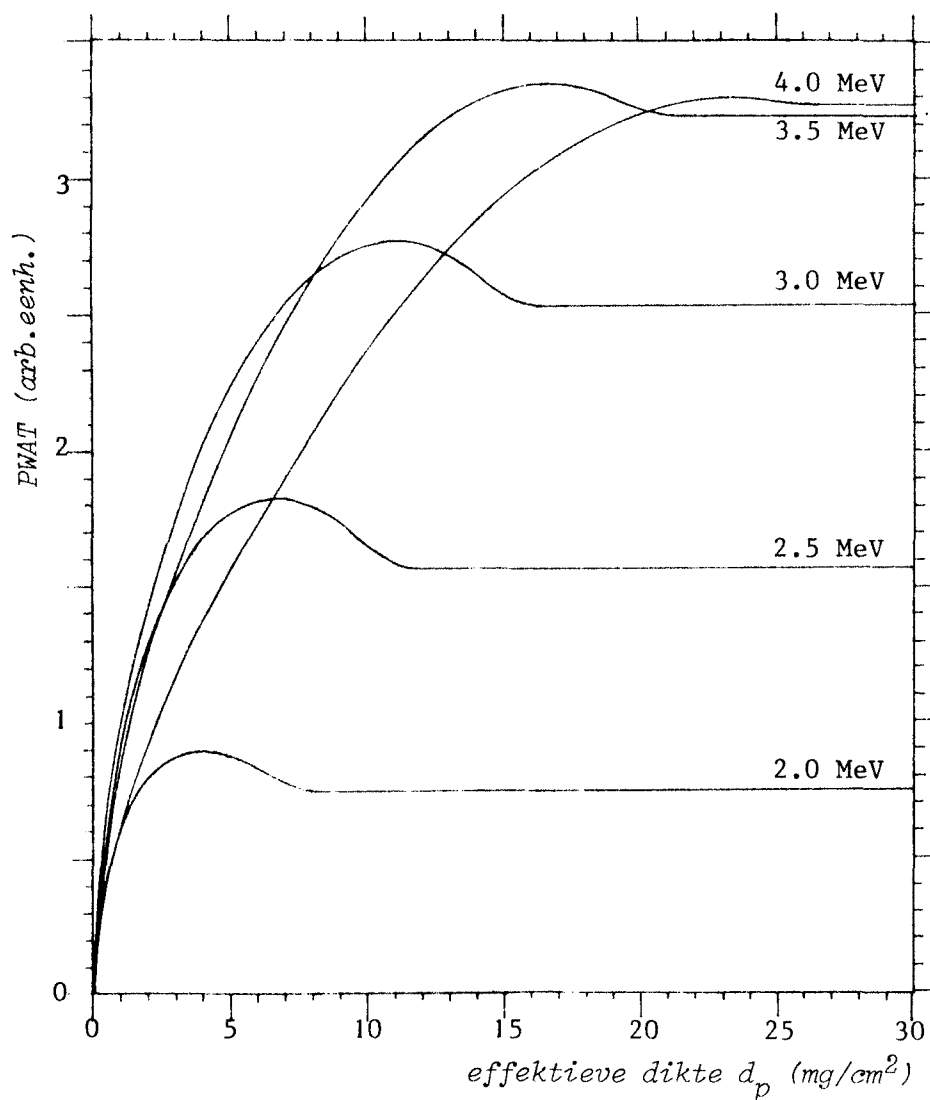


Fig.2.5 De PWAT als functie van protonbeginenergie E_p en effectieve dikte d_p

2.2.2 De PWA als functie van E_p , d_p en $J_{p,max}$

Omdat de temperatuur van de trefplaat lager moet blijven dan T_{max} , verwerken we randvoorwaarde 1 in de optimaliseringsprocedure en wordt bekeken hoe de PWA door de stroomdichtheid op de trefplaat wordt beïnvloed. Randvoorwaarde 2 wordt nog niet in beschouwing genomen; aangenomen wordt dat de elektronische apparatuur hoge telsnelheden kan verwerken. Om de invloed van de stroomdichtheid te weten te komen moet de PWAT vermenigvuldigd worden met $\sqrt{J_p}$. We schrijven PWA nu als:

$$PWA = K n_{t,Se} \sqrt{J_p} PWAT(E_p, d_p) \quad (2.9)$$

waarin K dezelfde faktor is als in form.2.5.

We willen nu PWA maximaliseren onder de randvoorwaarde:

$$W_{max} = \Delta E(E_p, d_p) J_{p,max} \quad (\text{zie blz.16}) \quad (2.10)$$

Substitutie van 2.10 in 2.9 levert:

$$PWA = K n_{t,Se} \sqrt{W_{max}} \frac{1}{\sqrt{\Delta E(E_p, d_p)}} PWAT(E_p, d_p) \quad (2.11)$$

De PWA is nu alleen een functie van E_p en d_p .

Waarden van de PWAT zijn reeds weergegeven in fig.2.5 terwijl $1/\sqrt{\Delta E(E_p, d_p)}$ te bepalen is door ΔE af te lezen in fig.2.4 of door ΔE te berekenen met behulp van de formule van Zaidins (Zai74).

In fig.2.6 is de PWA in arbitraire eenheden weergegeven als functie van d_p voor diverse beginenergieën E_p . Opgemerkt kan worden dat de maximale PWA bereikt wordt bij een beginenergie van ≈ 3 MeV en lage waarden van de effectieve dikte d_p . Zonder rekening te houden met temperatuurbegrenzing werd het maximum bereikt bij 3.5 MeV en 17 mg/cm^2 (zie fig.2.5). Uit fig.2.6 is ook te zien dat de PWA weinig varieert bij variatie van E_p en d_p . Wordt echter een lage d_p -waarde gekozen, dan zal daar een hoge stroomdichtheid op de trefplaat tegenover moeten staan. Dit kan leiden tot te ernstige stralingsbeschadiging van de trefplaat. Daarom is het raadzaam een wat dikkere trefplaat te gebruiken. Bijkomende voordelen zijn dan: 1) er kan een grotere hoeveelheid van het te analyseren sample onderzocht worden; een grotere hoeveelheid kan representatiever zijn voor de samenstelling van het sample

- 2) het cyclotron hoeft geen uitzonderlijk hoge stromen te leveren
- 3) de achtergrondbijdrage van de omgeving (vacuumkamer en diffusiefolies) is relatief lager (zie §3.1)
- 4) de trefplaat is steviger.

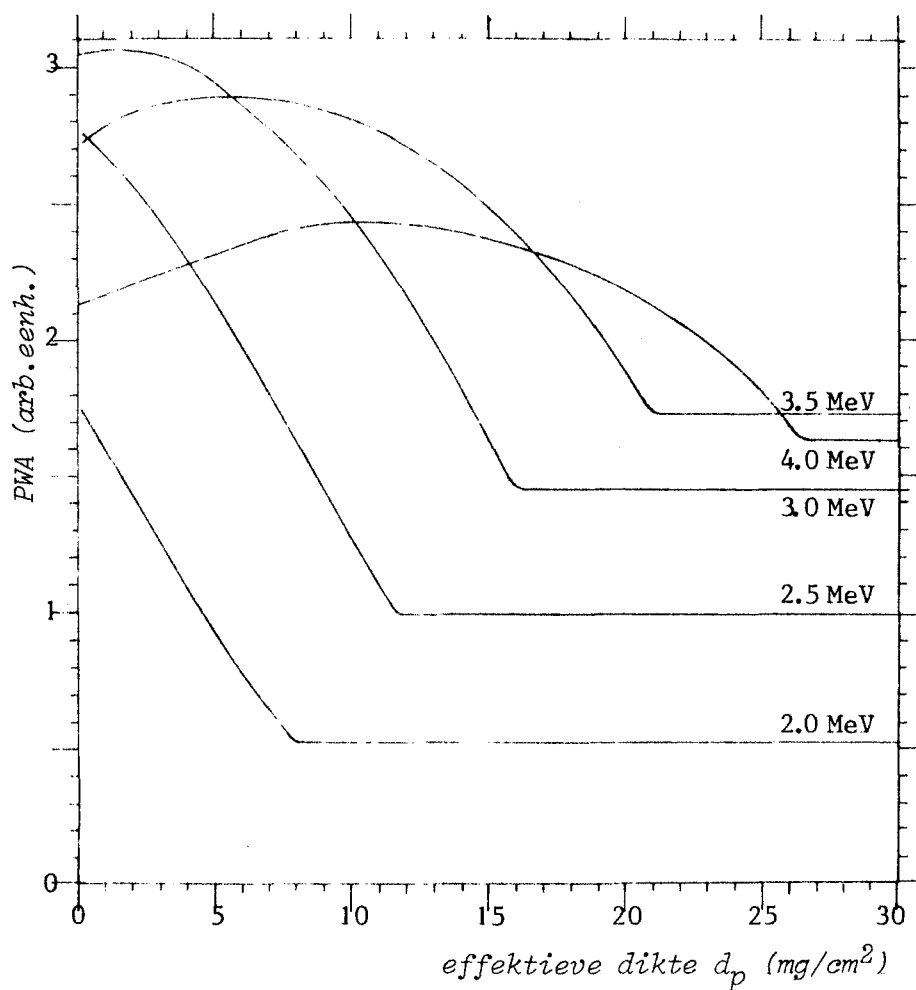


Fig.2.6 De PWA als functie van de effectieve dikte d_p voor verschillende protonbeginenergieën E_p bij maximaal toelaatbare stroomdichtheden $J_{p,max}$

2.2.3 De PWA als functie van E_p , d_p , J_p en d_a

In tegenstelling tot de aanname in de vorige paragraaf laten we nu in eerste instantie randvoorwaarde 1 buiten beschouwing en wordt randvoorwaarde 2 in de optimaliseringsprocedure verwerkt. Dit betekent dat er geen rekening gehouden wordt met temperatuurbegrenzing maar dat wel voldaan moet worden aan de eis dat de geregistreeerde telsnelheid van het totale spectrum circa 5000 counts s^{-1} bedraagt. De telsnelheid N kan beïnvloed worden door een röntgenabsorptiefilter met dikte d_a tussen trefplaat en detector. De laagenergetische röntgenkwanten (voornamelijk remstraling) worden dan voor een aanzienlijk deel geabsorbeerd. De transmissie van de Se- K_α -röntgenkwanten, $Tr_\alpha(d_a)$, is nu niet meer gelijk aan één maar wordt gegeven door:

$$Tr_\alpha(d_a) = e^{-\mu_\alpha d_a}$$

waarin μ_α de massa-absorptiecoëfficiënt voor 11.2 KeV is. Vanzelfsprekend is nu ook uitgangspunt 2 (blz.17) komen te vervallen. De PWA kan dan geschreven worden als:

$$PWA = K n_{t,Se} \sqrt{J_p} \sqrt{e^{-\mu_\alpha d_a}} PWAT(E_p, d_p) \quad (2.12)$$

Omdat in fig.2.6 geconstateerd is dat voor de bepaling van selenium een protonenergie van ≈ 3 MeV het gunstigst is en omdat de waarde van PWA weinig varieert met E_p , beperken we ons tijdens de verdere optimalisering tot $E_p = 3$ MeV. De PWA wordt nu gemaximaliseerd onder de randvoorwaarde:

$$N = J_p f(d_a) n(d_p) = 5000 \text{ counts } s^{-1} \quad (2.13)$$

waarin $n(d_p)$ de telsnelheid is per eenheid van stroomdichtheid op de trefplaat bij een d_a van 0.11 mm aluminium en $f(d_a)$ een vermenigvuldigheidsfactor is voor de telsnelheid van het hele spectrum t.o.v. de situatie met een d_a van 0.11 mm Al.

Voor een röntgen-energiegebied van 4 tot 15 KeV bleek experimenteel dat, binnen de meetnauwkeurigheid, deze vermenigvuldigheidsfactor onafhankelijk was voor waarden van d_p tussen 0.2 en 11 mg/cm^2 . In fig.2.7 staat $f(d_a)$ uitgezet als functie van de absorberdikte d_a (kromme 1). Kromme 2 geeft de transmissie van Se- K_α -kwanten door de absorber weer.

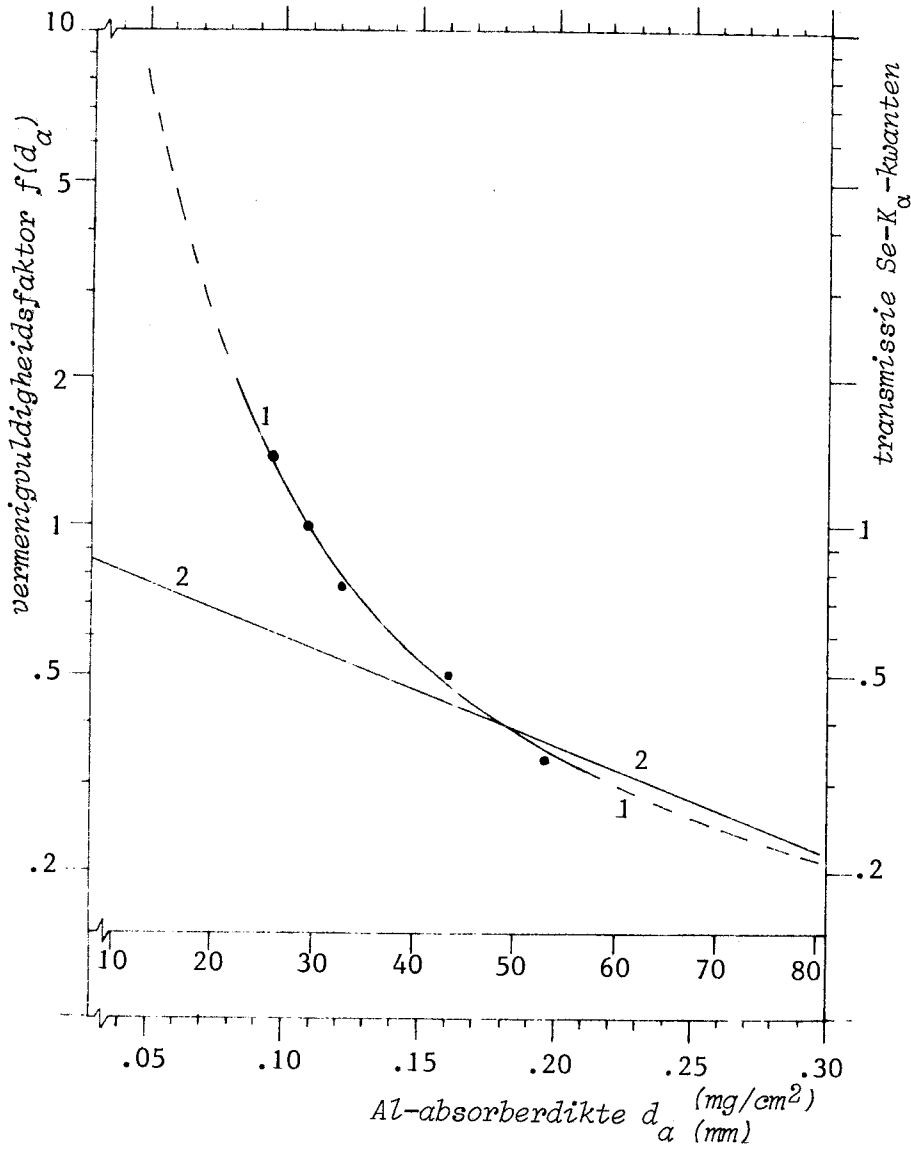


Fig.2.7
Vermenigvuldigheidsfactor $f(d_a)$ (1) en transmissie van Se- K_α -kwanten (2) als functie van de absorptiedikte d_a

In fig.2.8 is $n(d_p)$ weergegeven zoals die gemeten is in een opstelling, geschetst op blz.29, met een Al-absorber van 0.11 mm.

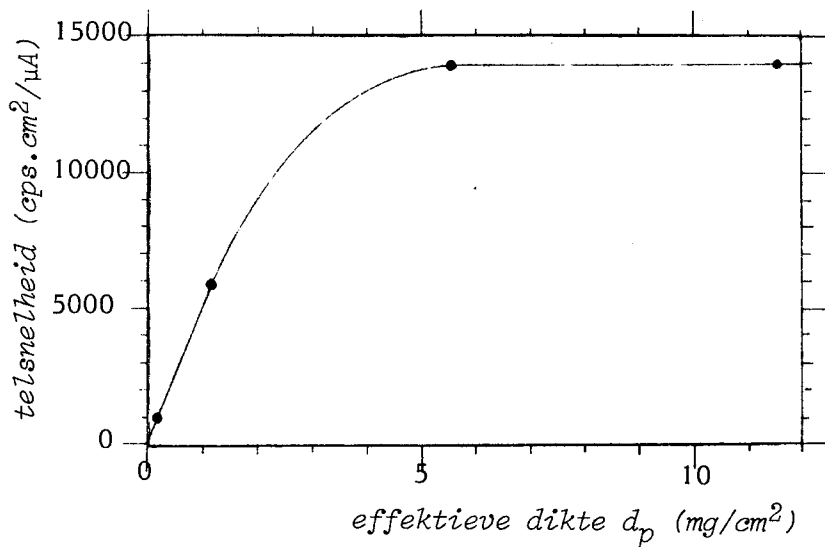


Fig.2.8
Telsnelheid per eenheid van stroomdichtheid als functie van de effectieve dikte d_p bij $d_a = 0.11$ mm Al

Substitie van 2.13 in 2.12 levert:

$$PWA = K n_{t,Se} \sqrt{N} \frac{1}{\sqrt{n(d_p)}} \frac{\sqrt{e^{-\mu_a d_a}}}{\sqrt{f(d_a)}} PWAT(3MeV, d_p) \quad (2.14)$$

De PWA kan nu berekend worden met behulp van fig.2.5, fig.2.7 en fig.2.8. In arbitraire eenheden staat de PWA uitgezet in fig.2.9 als functie van d_a met d_p als parameter. Uit deze figuur blijkt dat de maximale PWA bereikt wordt bij $d_p \approx 10 \text{ mg/cm}^2$ en $d_a \approx 0.24 \text{ mm Al}$.

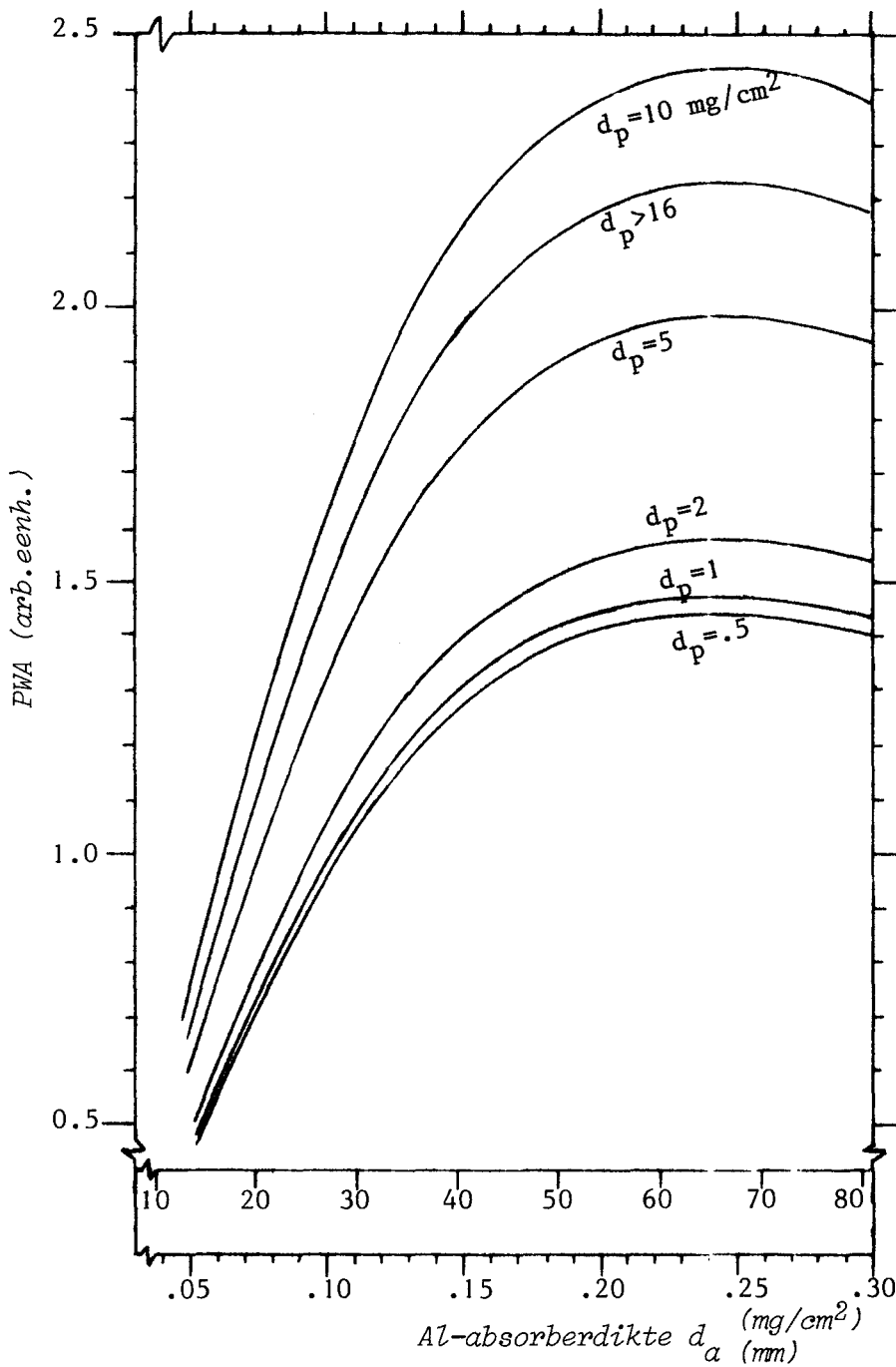


Fig.2.9

PWA als functie van absorberdikte d_a voor verschillende waarden van de effectieve dikte d_p in de situatie dat de optimale telsnelheid ($5000 \text{ counts s}^{-1}$) wordt bereikt

Bij gebruik van een bepaalde d_p-d_a combinatie kan met behulp van form.2.13 de J_p berekend worden die nodig is om 5000 counts s^{-1} te bereiken. Deze J_p -waarden staan in fig.2.10 als functie van d_a met d_p als parameter.

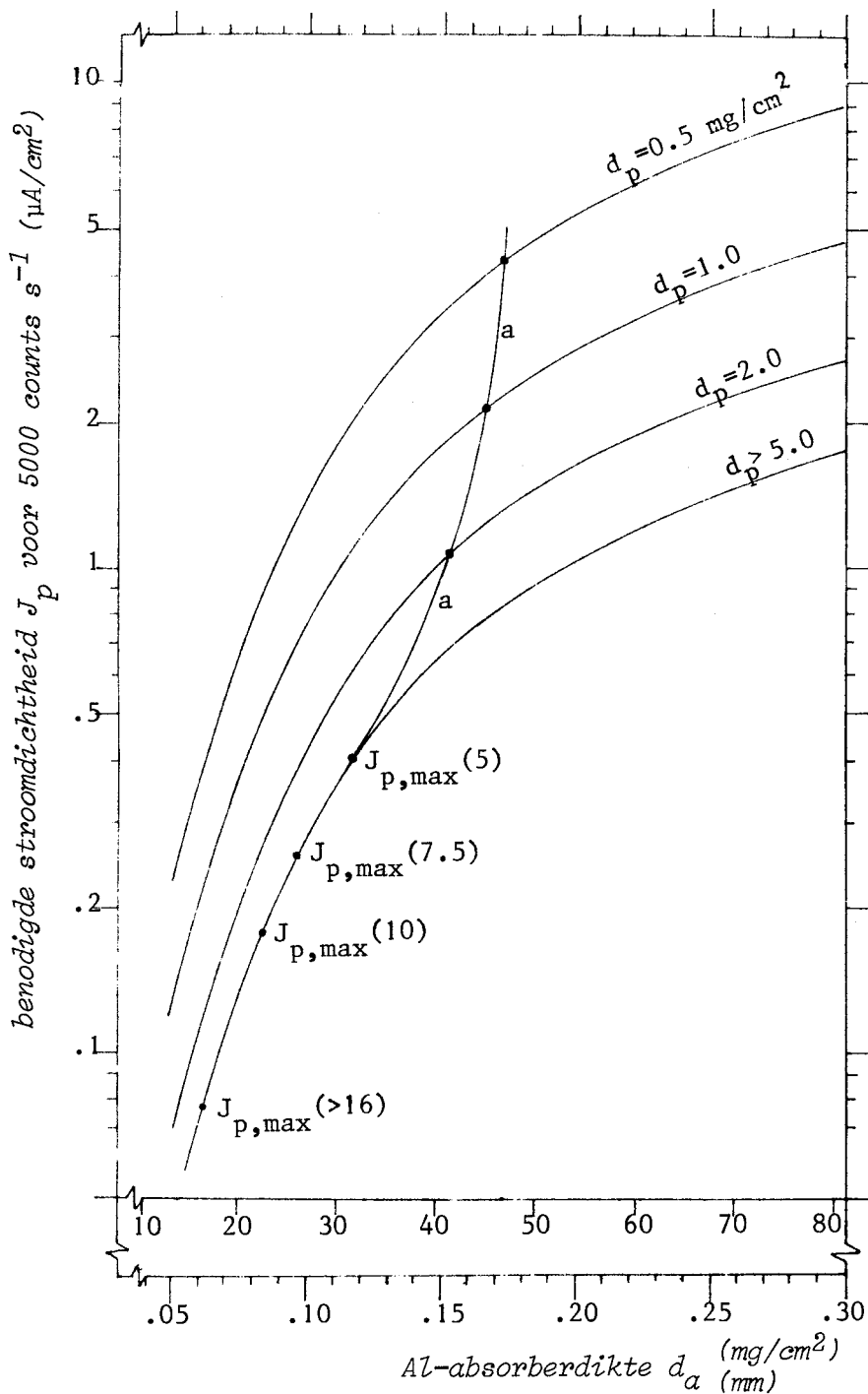


Fig.2.10

Stroomdichtheid om 5000 counts s^{-1} te verkrijgen als functie van de absorberdikte d_a voor verschillende waarden van de effectieve dikte d_p . Kromme a is een meetkundige plaats voor de maximaal toelaatbare stroomdichtheid als functie van d_p .

Nu wordt bovendien randvoorwaarde 1 weer in beschouwing genomen om te controleren of de stroomdichtheden niet de maximaal toelaatbare overschrijden. De $J_{p,max}$ -waarden als functie van d_p zijn berekend met form.2.10 en zijn weergegeven door kromme a in fig.2.10.

Wanneer nu voor een bepaalde d_p -waarde J_p lager is dan $J_{p,max}$ bij gebruik van de optimale absorberdikte d_a , dan wordt die d_a -waarde behouden. In fig.2.10 is te zien dat voor elke d_p -waarde de stroomdichtheid bij 0.24 mm Al te hoog is. Daarom moet de $J_{p,max}$ -waarde gekozen worden en de daarbij benodigde absorber om 5000 counts s^{-1} te bereiken. In fig.2.9 kan dan de PWA afgelezen worden. Als functie van d_p staat de op deze wijze verkregen PWA uitgezet in fig.2.11 in arbitraire eenheden. Voor 3 MeV wordt de maximale PWA bereikt bij $\approx 4 \text{ mg/cm}^2$. Bij gebruik van d_p -waarden tussen 1 en 10 mg/cm^2 bedraagt de PWA minimaal 90% van de maximale waarde. Het optimum geldt echter onder de gegeven geometrie waarin de telsnelheidsmetingen verricht zijn (fig.2.8). Daarom zal bij een andere hoek ϕ , een ander bestraald oppervlak O_b en een andere ruimtehoek $\Delta\Omega$ in principe een ander optimum gevonden worden.

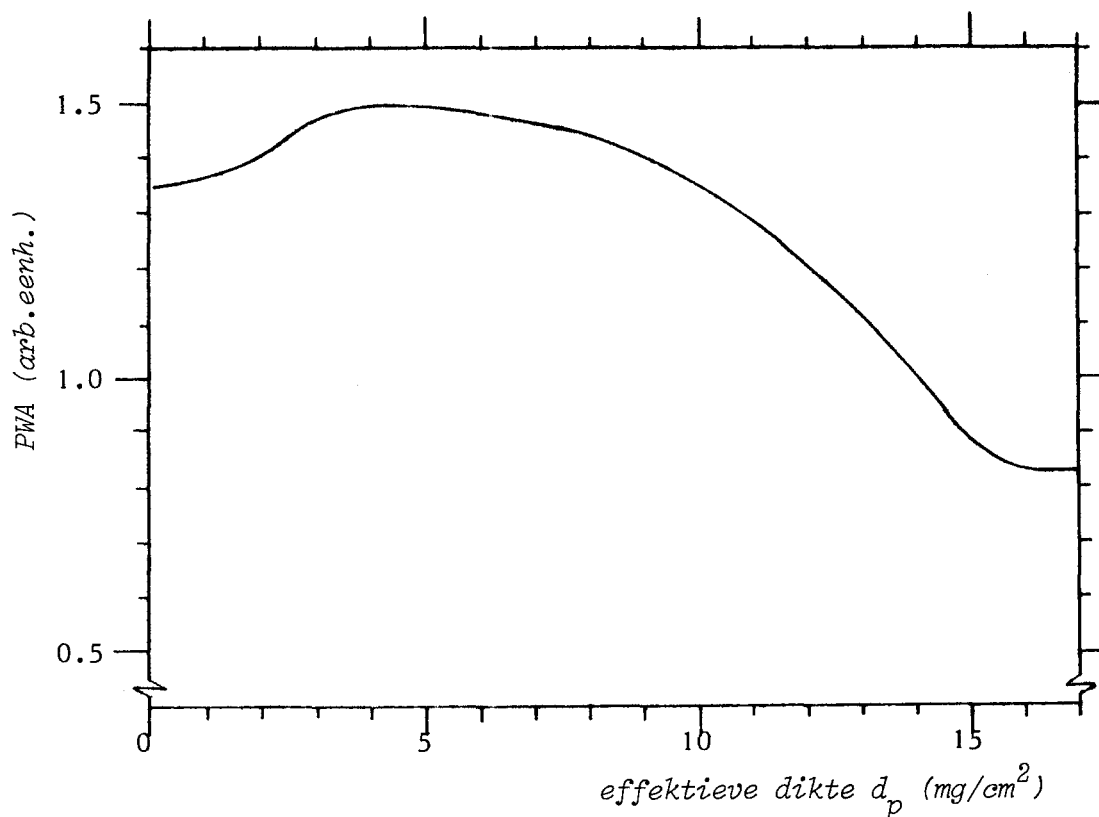


Fig.2.11 PWA als functie van de effektieve dikte d_p in de situatie dat én de maximaal toelaatbare stroomdichtheid $J_{p,max}$ wordt gebruikt én de optimale telsnelheid wordt bereikt

HOOFDSTUK 3 EXPERIMENTELE REALISERING

Inleiding

In dit hoofdstuk zal de wijziging van de bestaande opstelling besproken worden, welke uitgevoerd is om optimale geometrie te bereiken voor detectie van de röntgenkwanten. Daarna wordt besproken welke drager gekozen is voor de seleniumbepalingen in serum. Tenslotte worden in §3.3 enkele complicaties besproken die zich voordoen bij seleniumbepalingen in bloed.

3.1 De opstelling

De maximaal te bereiken waarden van de ruimtehoek $\Delta\Omega$ en het bestraald oppervlak O_b worden begrensd door de hoek ϕ en de afmetingen van de gebruikte diaraampjes (zie fig.3.1). De hoek ϕ wordt bepaald door de geometrie van de diawisselaar en bedraagt 30° . De oude opstelling is geschetst in fig.3.1.

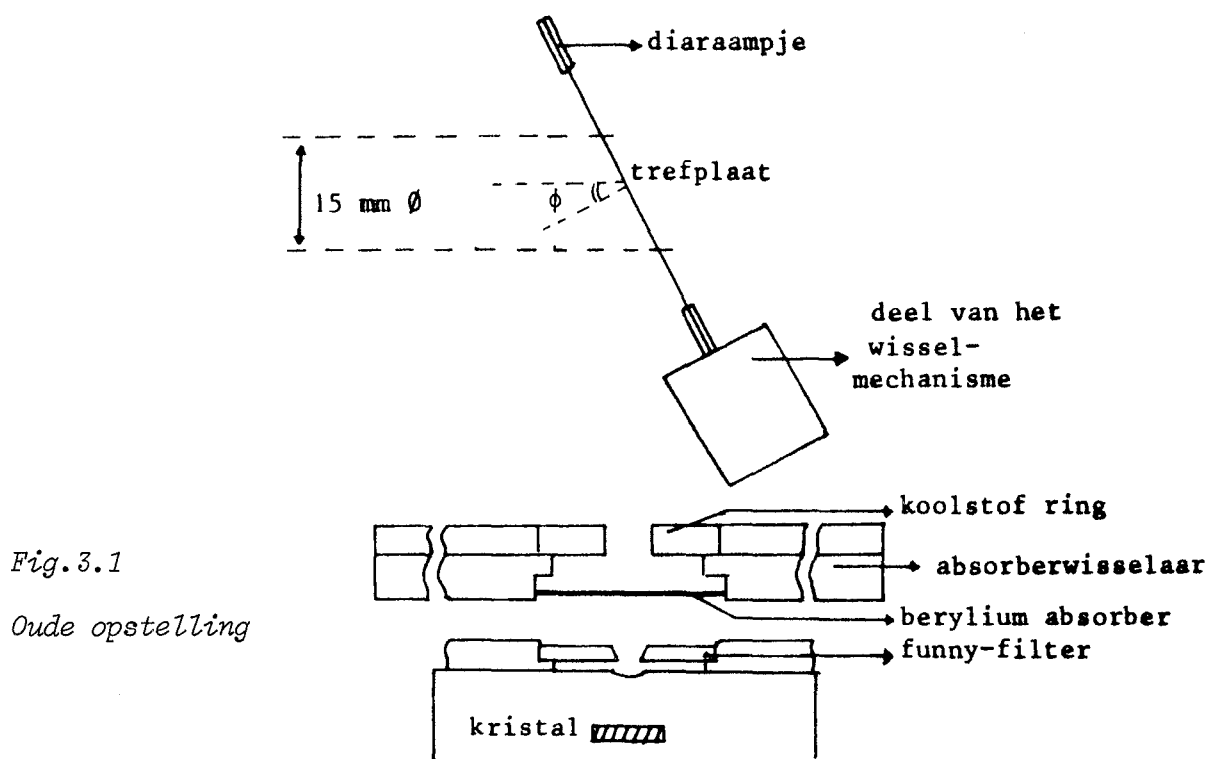


Fig.3.1

Oude opstelling

Omdat voor de optimale detectie van één element (in dit geval selenium) slechts één absorberdikte nodig is, zijn allereerst absorberwisselaar en funny-filter verwijderd. Verder is er een nieuw frame voor het diaraampje gemaakt. Hierdoor was het mogelijk de afstand detector - centrum trefplaat een faktor

twee te verkleinen (van 72 naar 36 mm.). De diaraampjes werden uitgestansd tot 36 mm \emptyset waardoor de maximaal instelbare bundeldiameter van 25 mm \emptyset gebruikt kon worden. Deze bedroeg eerst 15 mm \emptyset . De nieuwe opstelling is geschetst in fig.3.2.

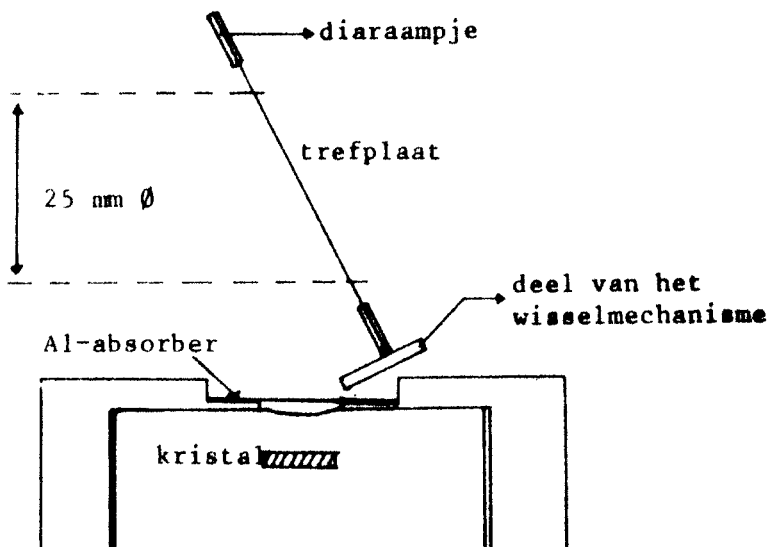


Fig.3.2

Nieuwe opstelling

In fig.3.3 is het spectrum weergegeven, afkomstig van de opstelling zonder trefplaat en gemeten onder de condities welke gelden voor optimale detektie van selenium. De gedetekteerde straling bestaat vooral uit Compton-verstrooide γ -straling, afkomstig van diffusie-folie en vakuumpkamer.

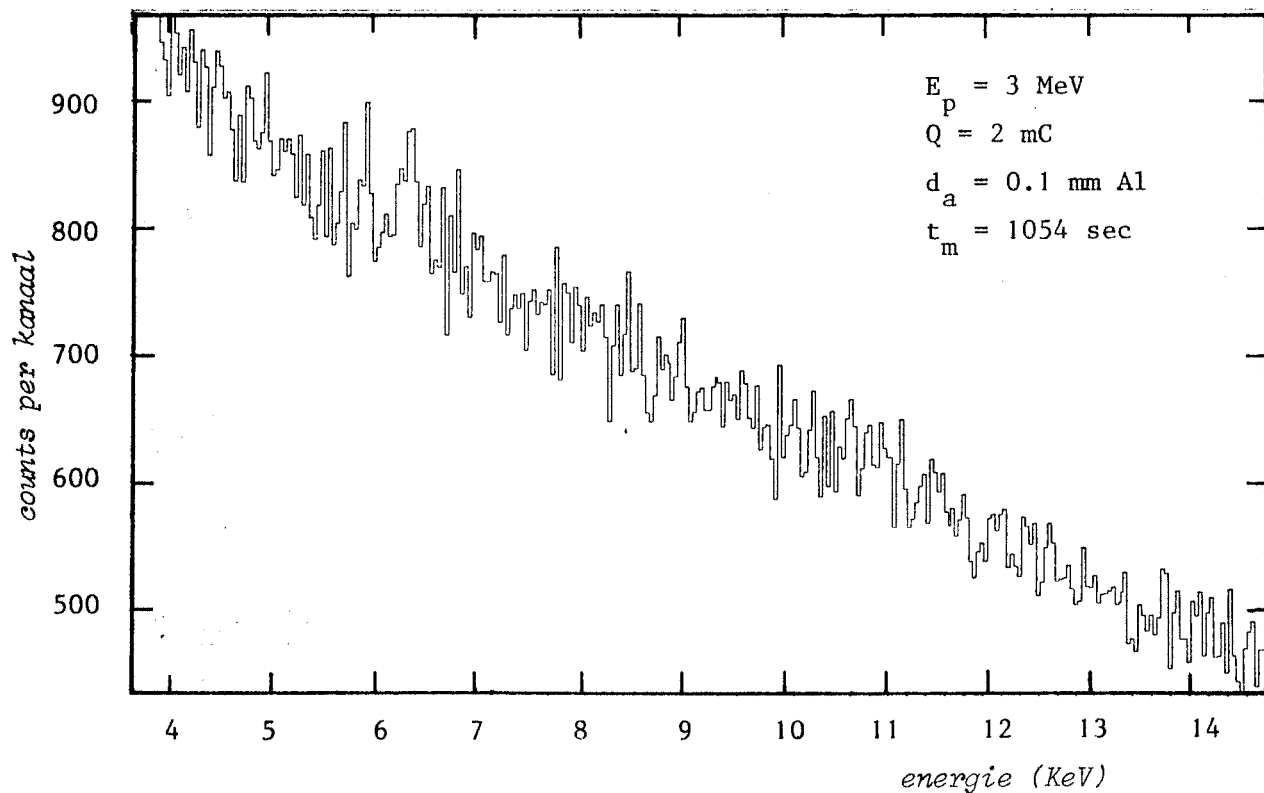


Fig.3.3 Spectrum van de opstelling zonder trefplaat

3.2 Dragerkeuze

Uit de optimaliseringsprocedure is naar voren gekomen dat bij gebruik van een effectieve dikte tussen 1 en 10 mg/cm² minstens 90% van de maximale PWA bereikt kan worden (fig.2.11). Dit komt overeen met een trefplaatdikte d_t tussen 0.87 en 8.7 mg/cm², wanneer ϕ gelijk is aan 30°. Bij de keuze van de trefplaat speelt ook de hoeveelheid op te brengen serum een rol. Tijdens de optimaliseringsprocedure is ervan uitgegaan dat elke soort trefplaat evenveel selenium, dus evenveel serum, per eenheid van massadichtheid bezat. We hebben geconstateerd dat dit niet het geval hoeft te zijn. Daarom is gezocht naar de trefplaat die het meeste serum per eenheid van massadichtheid kan bevatten.

Het op een drager aangebrachte serum is, nadat het opgedroogd is, een wezenlijk deel van de trefplaat. Ongeveer 90% van het opgebrachte serum bestaat uit water en is na verloop van tijd verdampt. De bijdrage van het gedroogde serum tot de trefplaatdikte noemen we d_s . De optimale drager is dan die drager waarbij $d_s/(d_d+d_s)$ maximaal is (d_d is de dikte van de drager). In tabel 3.1 staat voor een aantal dragers $d_s/(d_d+d_s)$ en d_d vermeld, ($d_t=d_s+d_d$).

Tabel 3.1 Gewichtsfractie gedroogd serum op een trefplaat

Type drager	poriegrootte (μm)	d_s/d_t	d_d (mg/cm ²)
<i>Selectron</i>			
1 OE 67	0.45	0.12	5-6
2 RC 59	0.6	0.21	3.2
3 RC 60	1.0	0.16	4.2
4 AE 95	1.2	0.26	4.9
5 AE 97	3.0	0.22	3.9
6 AE 98	5.0	0.18	3.2
7 AE100	12.0	0.16	3.6
<i>Millipore</i>			
8 ?	0.3	0.20	6.0
9 ?	2.0	0.23	3.6
10 ?	5.0	0.25	4.8

Op grond van de gegevens in Tabel 3.1 werd besloten verder te experimenteren met dragers nummer 4, 5, 9 en 10. Naast het op te nemen volume serum zijn ook van belang de mate van verontreiniging en de bijdrage tot de telsnelheid van de dragers. Helaas bleken alle type dragers verontreinigd te zijn met ijzer, koper, zink, broom en strontium. Een spectrum van een Selectron drager (AE95) is weergegeven in fig.3.4.

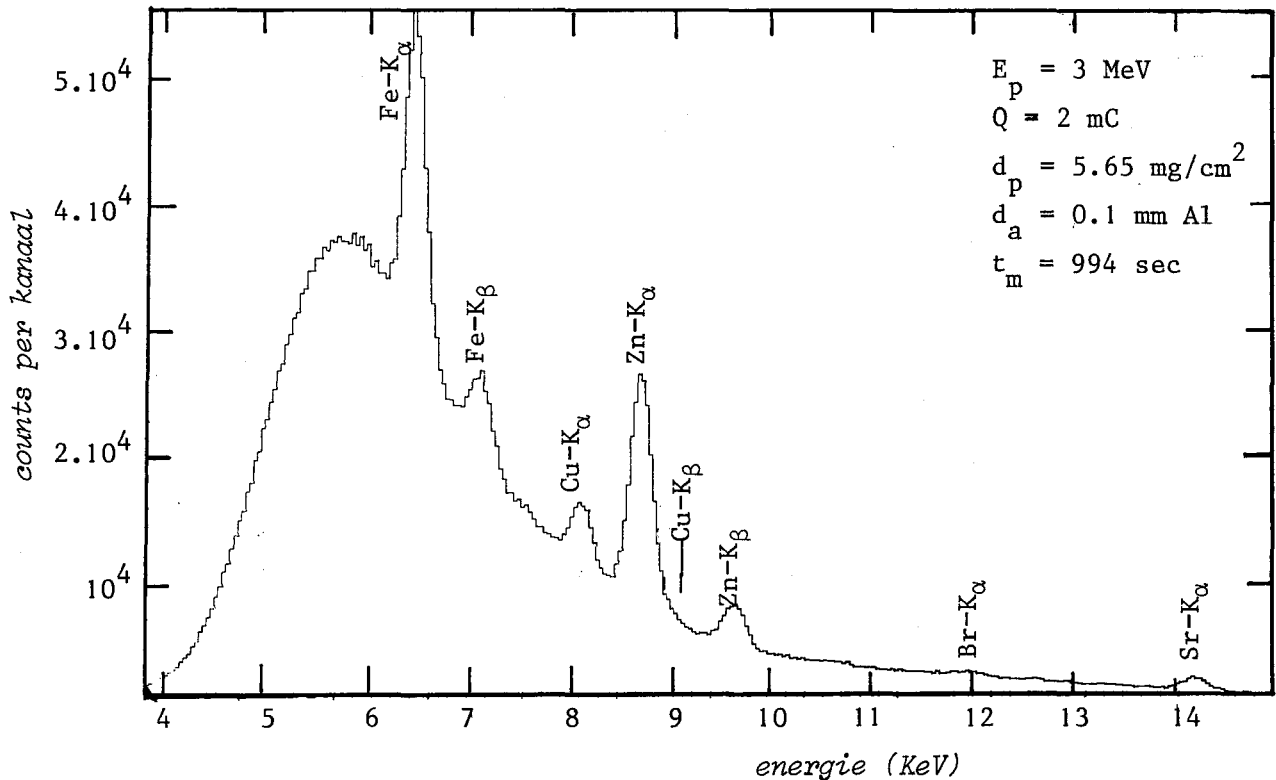


Fig.3.4 Spectrum van een Selectron AE95 drager

Op grond van de opgenomen hoeveelheid serum, de mate van verontreiniging en de telsnelheidsbijdrage van de dragers werd besloten om Selectron AE95 verder als drager voor de bepaling van de seleniumconcentratie te gebruiken.

De verontreiniging in dragers van het type Selectron AE95 bleken niet konstant te zijn. In hoofdstuk 4 komen we nog terug op de ordegrrootte van de verontreiniging.

3.3 Complicaties bij concentratiebepaling in bloed

Bloed bevat naast serum o.a. ook rode bloedlichaampjes. Deze veroorzaken allereerst bij de trefplaatbereiding een complicatie omdat voor het verkrijgen van reproduceerbare en homogene trefplaten het noodzakelijk is de bloedlichaampjes te vernietigen (Lin79). Bovendien bevatten de rode bloedlichaampjes veel ijzer, waardoor de ijzerconcentratie in bloed ≈ 450 ppm bedraagt (Iye78). Door deze hoeveelheid ijzer bestaat ongeveer de helft van een bloedspectrum uit Fe-K-straling wanneer gemeten wordt onder de condities voor optimale seleniumdetektie (fig.3.5). De stroomdichtheid moet t.o.v. de situatie in fig.3.4 alleen hierom al verlaagd worden om niet boven een telsnelheid van $5000 \text{ counts s}^{-1}$ te komen. Een tweede nadeel van de hoge Fe-K-röntgenstraling is de pile-up vorming in het spectrum: de $2x\text{Fe-K}_\alpha$ -piek komt juist in de buurt van de Se-K_α -piek terecht, waardoor het moeilijk is de achtergrond onder deze piek te bepalen. De pulssommatie kan voorkomen worden door 1) de stroomdichtheid nog verder te verlagen 2) een dikkere röntgenabsorptiefilter te gebruiken of 3) gebruik te maken van een selectief filter. Alle ingrepen zijn echter nadelig voor de PWA van selenium.

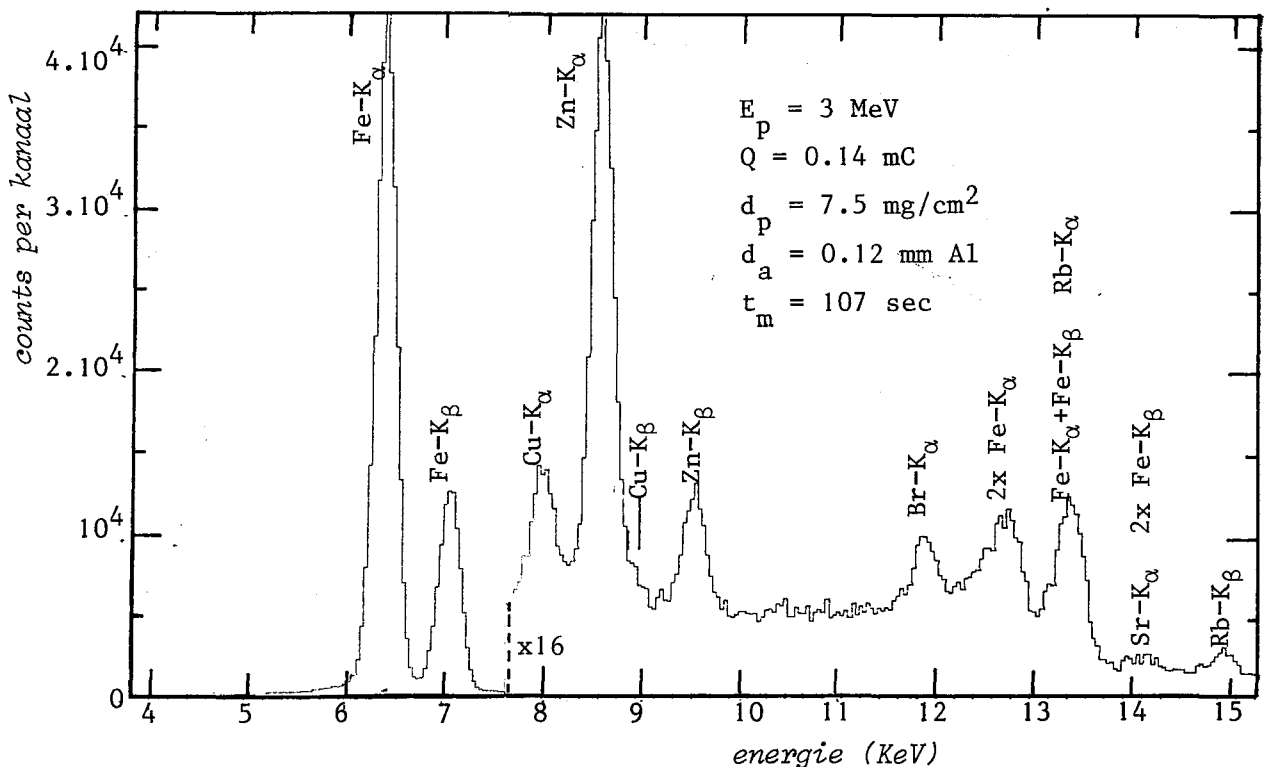


Fig3.5 Spectrum van bloed op Selectron AE95 drager

HOOFDSTUK 4 TESTEN VAN DE ANALYSEMETHODE EN
HET VERRICHTEN VAN IJKMETINGEN

Inleiding

In hoofdstuk 1 zijn een tweetal eisen opgesteld waaraan de analyse-methode moet voldoen, willen de doelstellingen haalbaar zijn. Aan de tweede eis is voldaan door middel van de in hoofdstuk 2 beschreven optimaliseringsprocedure. In dit hoofdstuk wordt nagegaan of ook de eerste eis verwezenlijkt kan worden. Daartoe moet experimenteel blijken of de intensiteit van de Se-K_α-röntgenstraling recht evenredig is met de Se-concentratie in een sample (§4.1). Verder wordt de (niet-)reproduceerbaarheid van PIXE-metingen bepaald (§4.2). Tenslotte worden ijkmetingen verricht teneinde absolute concentraties in een sample vast te kunnen stellen (§4.3).

4.1 Bepaling van de relatieve gevoeligheid

De relatieve gevoeligheid wordt gedefinieerd als:

$$\frac{\Delta N_{K\alpha} / N_{K\alpha}}{\Delta c_t / c_t} \quad \begin{array}{l} N_{K\alpha} \text{ is het } K\alpha\text{-piekoppervlak van een element} \\ c_t \text{ is de concentratie van een element in} \\ \text{de trefplaat} \end{array}$$

Voor de bepaling van de relatieve gevoeligheid zijn een aantal trefplaten gemaakt met daarop verschillende bekende concentraties van verscheidene elementen. Deze trefplaten zijn met PIXE geanalyseerd en het aantal gedetekteerde K_α-röntgenkwanten van de elementen is bepaald. In fig.4.1 is het K_α-piekoppervlak van Se en Fe uitgezet tegen de concentratie op dubbel-logaritmisch papier. Hieruit blijkt, althans voor Se, dat de relatieve gevoeligheid gelijk is aan één. Over een gebied van drie decaden is de K_α-intensiteit lineair met de concentratie. Voor Fe wordt de niet-lineairiteit veroorzaakt door de verontreiniging op de drager.

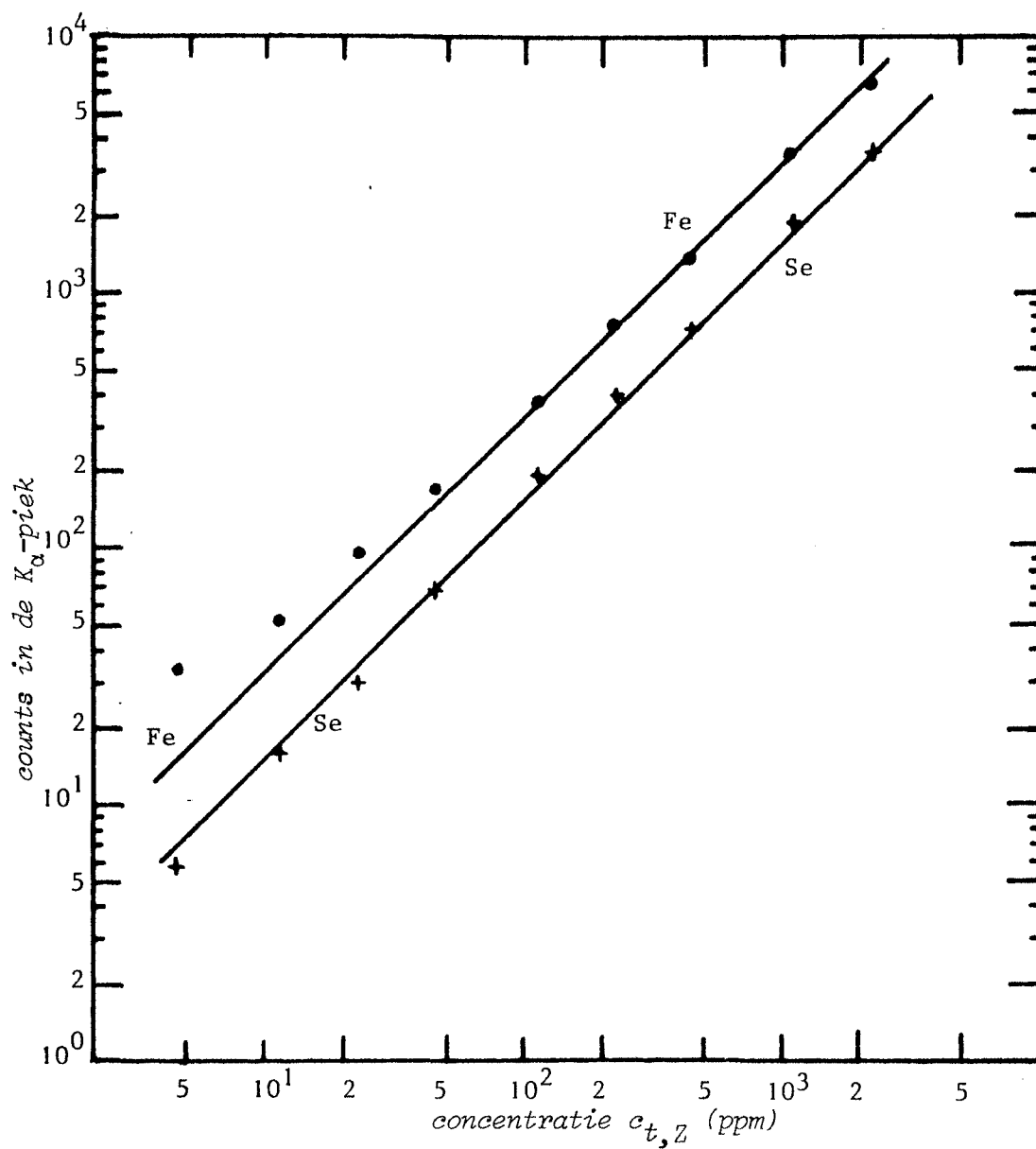


Fig.4.1 K_{α} -piekoppervlak als functie van de concentratie c_t in de trefplaat.

4.2 Bepaling van de (niet-)reproduceerbaarheid

Om de niet-reproduceerbaarheid te bepalen is het volgende experiment uitgevoerd. In twee glazen flesjes is 1 ml van hetzelfde serum gespoten. Aan beide flesjes werd 200 μ l propanol toegevoegd, waarna de flesjes m.b.v. een Whirley-mixer werden geschud. Daarna werd uit elk flesje vijfmaal een aliquot van 200 μ l opgezogen en op vijf Selectron AE95 dragers gespoten bij een toerental van \approx 16000 r.p.m. Deze trefplaten werden onder gelijke omstandigheden geanalyseerd in de PIXE-opstelling (fig.3.2). Het Se- K_{α} -piekoppervlak werd m.b.v. het computerprogramma PROFANAL bepaald. De resultaten zijn samengevat in Tabel 4.1.

Tabel 4.1 *Reproduceerbaarheidsmetingen*

<i>Flesje 1</i>		<i>Flesje 2</i>		
<i>Code</i>	<i>Se-K_{α}-counts</i>	<i>Code</i>	<i>Se-K_{α}-counts</i>	
R01	4960	R06	5000	
R02	4620	R07	4530	$E_p = 3 \text{ MeV}$
R03	5330	R08	4870	$Q = 2 \text{ mC } \pm 1\%$
R04	4480	R09	4900	$d_{\alpha} = 0.1 \text{ mm Al}$
R05	4840	R10	4700	$t_m = 1000 \text{ sec.}$
<i>gemid.</i>	4846		4800	
<i>stan.dev.</i>	329 (7%)		186 (4%)	

Omdat het gemiddelde van de twee series nagenoeg gelijk is mogen de resultaten als één serie beschouwd worden. Het gemiddelde van de tien metingen is dan 4823 counts en de standaarddeviatie bedraagt dan \approx 5.3%.

De resultaten van §4.1 en §4.2 betekenen dat bij de bepaling van een onbekende Se-concentratie aan de hand van één meting de onnauwkeurigheid minder dan 10% bedraagt met een betrouwbaarheid van 90% ($1.65 \sigma_{\text{meth.}}$). Hiermee is ook aan eis 1 voldaan en de benodigde meettijd is acceptabel.

Foutenbronnen die aanleiding geven tot de niet-reproduceerbaarheid kunnen de volgende zijn.

- De Se-concentratie in de verschillende aliquots van 200 μ l is niet gelijk geweest.
- De dikte van de dragers kan variëren waardoor de opgenomen hoeveelheid serum per cm^2 niet gelijk is voor alle dragers.
- De meting van de hoeveelheid lading heeft een bepaalde fout.
- De protonenergie hoeft niet exact constant te zijn
- In de procedure voor de bepaling van het piekoppervlak kunnen fouten aanwezig zijn.
- De statistische telfout.

In de Appendix wordt een afschatting gemaakt van de grootte van enkele foutenbronnen.

4.3 De ijkmetingen

Voor de ijkmetingen waren beschikbaar:

- 1) sera met een bekende Se-concentratie (§4.3.1)
- 2) vloeistoffen met verscheidene elementen en verschillende bekende concentraties (§4.3.2)

Aan de hand van de resultaten van §4.3.2 kan een schatting gemaakt worden over de mate van verontreiniging in de gebruikte dragers. In §4.3.3 worden berekeningen op grond van de theorie, beschreven in §2.1, vergeleken met meetresultaten.

4.3.1 Ijkmetingen m.b.v. sera met bekende Se-concentratie

De sera voor deze ijkmetingen werden ter beschikking gesteld door het Interuniversitair Reactor Instituut (I.R.I.) te Delft onder bemiddeling van Prof.Dr.Ir. J.J.M. de Goey.

De Se-concentratie werd aldaar bepaald door middel van Neutronen Activerings Analyse (N.A.A.).

Voor analyse met PIXE werden op dezelfde wijze trefplaten bereid als beschreven in §4.2. Van een serum werd 1 ml in een glazen flesje gespoten. Hieraan is 200 μ l propanol toegevoegd. Vervolgens is met een aliquot van 200 μ l uit deze oplossing en een Selectron AE95 drager een trefplaat bereid. De trefplaten werden gedurende 20 minuten met een protonenstroom van circa 1.8 μ A beschoten. In Tabel 4.2 staat het

met PIXE gemeten aantal counts in de Se-K α -piek, genormeerd op de hoeveelheid lading en de door het I.R.I. opgegeven Se-concentratie.

Tabel 4.2 IJkmetingen m.b.v. sera

Se-concentratie ppm (N.A.A.)	Se-K α -counts per μC per ppm (PIXE)	$E_p = 3 \text{ MeV}$ $d_\alpha = 0.1 \text{ mm Al}$ $d_p = 7.5 \text{ mg/cm}^2$
0.094	19.7	
0.095	21.2 ; 26.0	1 ppm in serum ($c_{s,Se}$)
0.096	26.4 ; 24.1	komt overeen met
0.103	21.3 ; 28.2 ; 21.2	2.6 ppm in de trefplaat ($c_{t,Se}$)
0.107	19.2 ; 17.6 ; 18.2	(form. 2.3)
0.109	19.3	
0.124	24.5 ; 18.6	
0.126	19.5 ; 19.8	

Uit deze metingen volgt dat voor onze opstelling het gemiddeld aantal counts per μC per ppm 21.5 bedraagt. Met een betrouwbaarheid van 90% ligt het aantal counts/ μC .ppm tussen 20.1 en 23.0 .

4.3.2 IJkmetingen m.b.v. vloeistoffen met bekende concentraties

Met behulp van de metingen, beschreven in §4.1, is ook het aantal gedetekteerde K α -kwanten per μC per ppm te bepalen voor de acht elementen Mn, Fe, Co, Cu, Zn, Se, Rb en Sr (Tabel 4.3).

Tabel 4.3 IJkmetingen m.b.v. vloeistoffen

element	counts/ μC .ppm	element	counts/ μC .ppm	$E_p = 3 \text{ MeV}$ $d_\alpha = 0.1 \text{ mm Al}$ $d_p = 5.65 \text{ mg/cm}^2$
Mn	1.00 \pm 0.14	Zn	2.37 \pm 0.06	
Fe	3.05 \pm 0.08	Se	1.58 \pm 0.06	
Co	2.34 \pm 0.17	Rb	1.52 \pm 0.06	
Cu	2.58 \pm 0.25	Sr	0.80 \pm 0.04	

Voor wat betreft het element selenium kunnen de resultaten van §4.3.1 en deze paragraaf vergeleken worden, nadat gecorrigeerd is voor de verschillende ruimtehoek en trefplaatdikte.

Het verschil in ruimtehoek komt doordat de metingen van deze paragraaf verricht zijn op een tijdstip dat de detektor die gewoonlijk in gebruik is in reparatie was. Uit vergelijking van metingen aan hetzelfde type drager kon vastgesteld worden dat de ruimtehoek een faktor 4.1 minder bedroeg dan in de oorspronkelijke situatie.

Een tweede correctiefactor moet ingevoerd worden voor het verschil in effectieve dikte. Serumtrefplaten hebben een effectieve dikte van circa 7.5 mg/cm^2 terwijl de trefplaten van deze paragraaf een effectieve dikte bezaten van ongeveer 5.6 mg/cm^2 . Door dit verschil treedt er een verschil op in het gemiddelde van de werkzame doorsnede. Deze bedraagt voor serumtrefplaten ongeveer een faktor 1.2 méér dan voor de trefplaten met de ijkvloeistoffen. Rekenen we een concentratie van 1 ppm in serum om naar de Se-concentratie op de serumtrefplaat (form.2.3) en brengen we de twee correctiefactoren in rekening dan blijken de resultaten van Tabel 4.2 en Tabel 4.3 binnen elkaars onnauwkeurigheid te vallen. (Gecorrigeerde waarde van Tabel 4.2: $1.68 \text{ counts}/\mu\text{C.ppm}$; stand.dev. : 0.07).

Aan de hand van de resultaten uit Tabel 4.3 en metingen aan Selectron AE95 dragers is de concentratie verontreiniging van dit type drager bepaald (Tabel 4.4).

Tabel 4.4 Verontreiniging van Selectron AE95

<i>element</i>	<i>verontreiniging (ppm)</i>
<i>Fe</i>	6.5 ± 0.5
<i>Cu</i>	1.2 ± 0.3
<i>Zn</i>	5.5 ± 0.5
<i>Br</i>	0.5 ± 0.2
<i>Sr</i>	1.0 ± 0.1

Omdat de verontreiniging niet konstant is voor meerdere dragers van dit type (variatiës van circa 10%) en omdat de concentratie van Fe, Cu en Zn in een serumtrefplaat in de orde ligt van 2.5 ppm is het niet mogelijk deze drie elementen nauwkeurig te analyseren met deze drager.

4.3.3 Vergelijking van berekeningen en praktijk

De ijkmetingen van §4.3.2 zijn te gebruiken om na te gaan of het met de theorie berekend aantal K_{α} -röntgenkwanten van element Z per μC per ppm overeen komt met het in de praktijk gemeten aantal. Daartoe moeten een aantal factoren van form.2.2 bekend zijn. In onderstaande tabel staan voor acht elementen deze factoren gerangschikt, zoals die in de literatuur te vinden zijn of uit literatuurwaarden kunnen worden berekend.

Tabel 4.5 Numerieke waarden van factoren in form.2.2

Element	Mn	Fe	Co	Cu	Zn	Se	Rb	Sr	ref.
$\Gamma_{K_{\alpha}}/\Gamma_{K_{\beta}}$	7.410	7.410	7.410	7.330	7.250	6.370	5.680	5.560	NDT72
$Tr_{\alpha}(E_{K_{\alpha}})$	0.039	0.078	0.131	0.268	0.344	0.600	0.740	0.770	
$Tr_{\alpha}(E_{K_{\beta}})$	0.086	0.146	0.218	0.378	0.456	0.690	0.800	0.820	
$Tr_t(E_{K_{\alpha}})$	0.915	0.925	0.935	0.955	0.968	0.985	0.995	0.995	
$Tr_t(E_{K_{\beta}})$	0.930	0.937	0.950	0.970	0.975	0.990	0.995	0.995	
$D_{eff}(E_{K_{\alpha}})$	0.950	0.960	0.970	0.980	0.985	1.000	1.000	1.000	Kin80
$D_{eff}(E_{K_{\beta}})$	0.960	0.970	0.980	0.990	1.000	1.000	1.000	1.000	
$N_{K_{\alpha}}/N_{K_{\beta}}$	3.27	3.87	4.34	5.06	5.35	5.51	5.25	5.22	
$\int_0^{d_p} \sigma_{K,ion} Tr_t dx$	3.010	2.260	1.700	0.977	0.749	0.258	0.121	0.095	Aks74 Zai74
$\omega_{K,Z}$	0.314	0.347	0.381	0.445	0.479	0.596	0.669	0.691	Bcm72
$N_A/M_Z \cdot 10^{-16}$	1.096	1.078	1.022	0.948	0.921	0.763	0.705	0.687	
$N_{K_{\alpha}}/\mu\text{C.ppm}$	1.11	1.83	2.44	3.13	3.23	2.00	1.18	0.962	

$$E_p = 3 \text{ MeV} ; d_p = 5.6 \text{ mg/cm}^2 ; N_p = 6.25 \cdot 10^{12} \text{ protonen per } \mu\text{C}$$

$$\Delta\Omega = 5.25 \cdot 10^{-4} \cdot 4\pi \text{ sr. (gemeten); } d_{\alpha} = 0.1 \text{ mm AL.}$$

Het produkt van $\Gamma_{K_{\alpha}}/\Gamma_{K_{\beta}}$, Tr_{α} , Tr_t en D_{eff} kan vergeleken worden met de gemeten K_{α} - K_{β} -verhouding van de elementen. In fig.4.2 staan de K_{α} - K_{β} -piekoppervlakverhoudingen volgens berekening en experiment uitgezet voor de acht elementen.

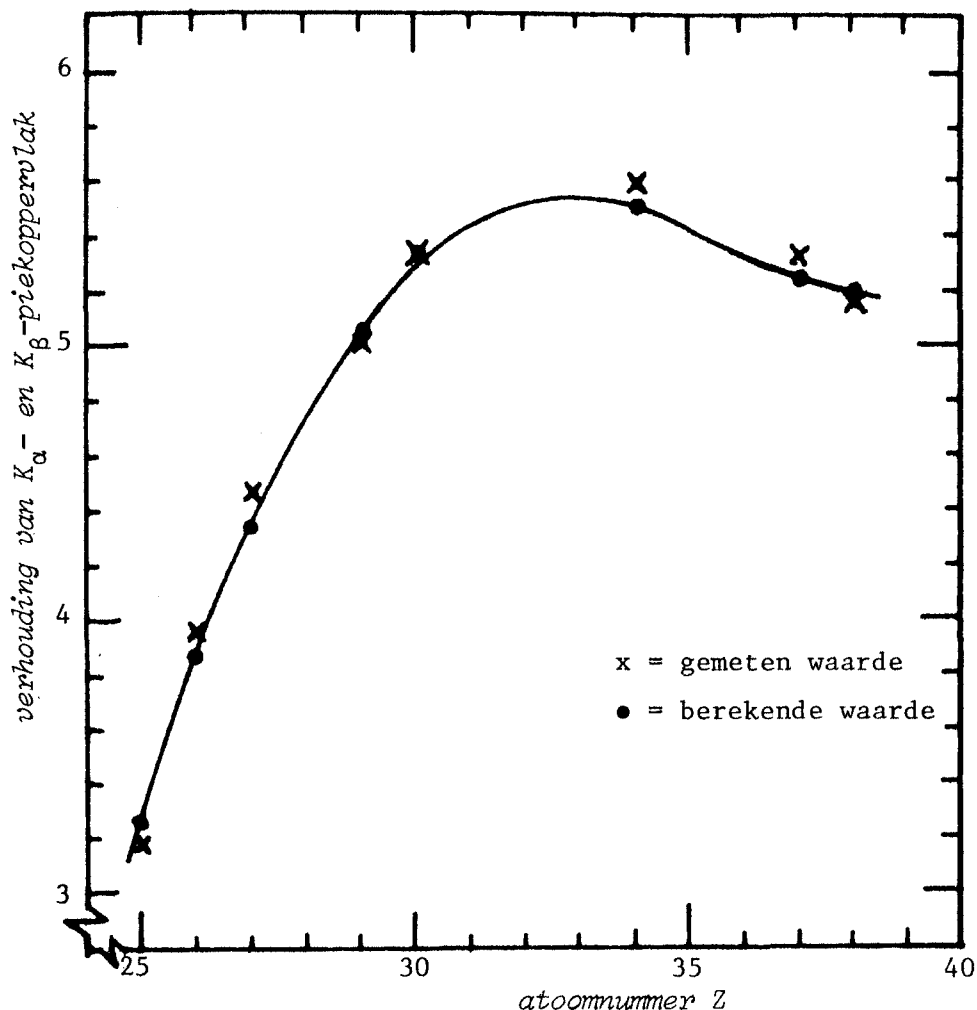


Fig.4.2 De berekende (•) en gemeten (x) verhouding van de K_α- en K_β-piekoppervlak als functie van het atoomnummer Z. De experimentele condities staan vermeld in Tabel 4.5.

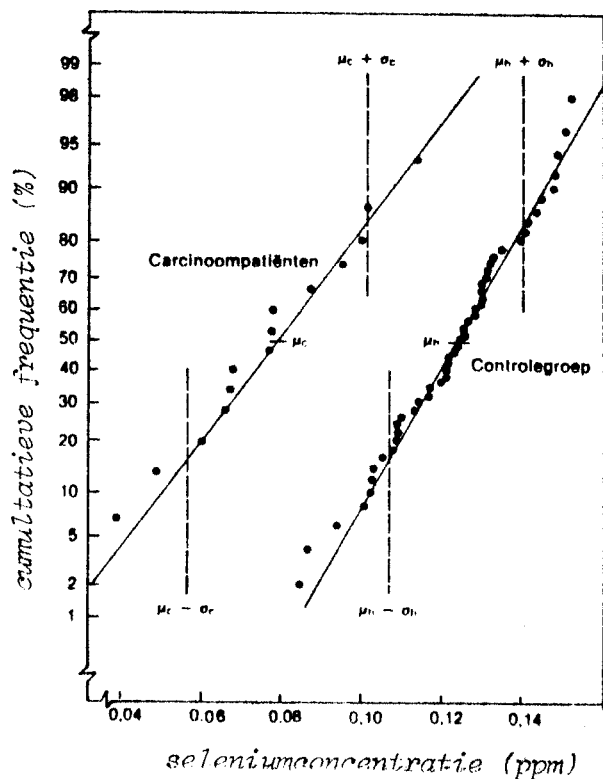
Worden de berekende waarden $N_{K_{\alpha}} / \mu C \cdot ppm$ vergeleken met de gemeten waarden van Tabel 4.3 dan kan opgemerkt worden dat er geen duidelijke systematische fout aanwezig is. De fout in de berekende waarde wordt geschat op circa 15% en kan voor het grootste deel toegeschreven worden aan de onnauwkeurigheid in de werkzame doorsnede, de transmissie door de absorber, de detektor-efficiency en fluorescentie-opbrengst.

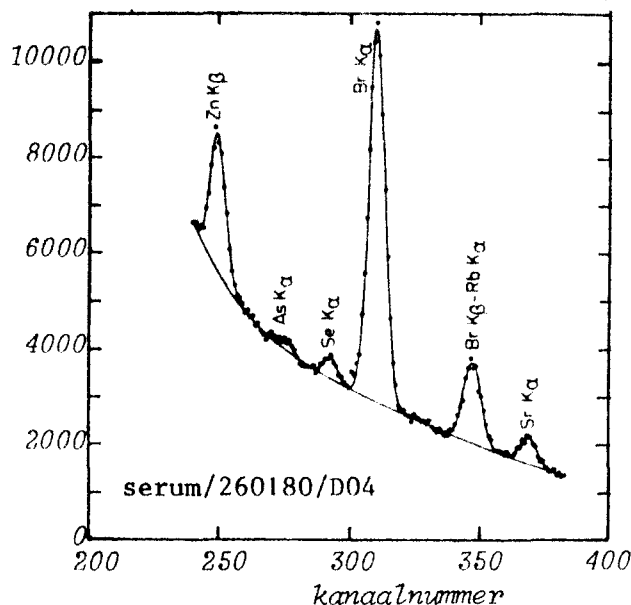
HOOFDSTUK 5 BEPALING VAN DE GEMIDDELDE SELENIUMCONCENTRATIE
IN SERA VAN GEZONDE PERSONEN EN KANKERPATIËNTEN

5.1 Seleniumconcentratie van gezonde personen en kankerpatiënten

Nu de optimale meetcondities bekend zijn, een keuze voor de drager gemaakt is, de analysemethode getest is en de ijkmetingen verricht zijn kan met het tweede doel van dit afstudeerwerk gestart worden: de bepaling van de gemiddelde seleniumconcentratie van een groep gezonde personen en die van een groep kankerpatiënten. Over deze sera kon worden beschikt dankzij Dr.Ir. H.L. Vader, medewerker van het St-Josephziekenhuis te Eindhoven. Van een vijftigtal gezonde personen (donoren) en van vijftien kankerpatiënten welke nog geen behandeling hadden ondergaan is de seleniumconcentratie van het serum gemeten. De resultaten van deze metingen zijn in fig.5.1 weergegeven in een waarschijnlijkheidsgrafiek. Vertikaal staat het percentage personen uit dat een seleniumconcentratie had welke kleiner of gelijk is aan de waarde op de horizontale as. De rechten stellen voor de cumulatieve gausskrommen met een gemiddelde en standaarddeviatie zoals die uit de resultaten is berekend.

Fig.5.1
De cumulatieve frequentie van seleniumconcentraties in serum afkomstig van kankerpatiënten (c) en van gezonde personen (h). De gemiddelde waarde voor de seleniumconcentratie van beide groepen en de bijbehorende standaarddeviatie worden gegeven door μ_c en μ_h , respectievelijk door σ_c en σ_h .





In nevenstaand figuur is een gedeelte van het spectrum van een trefplaat met serum afgebeeld. Experimentele condities: $E_p = 3\text{MeV}$; $Q = 1.1\text{ mC}$; $d_p = 7.5\text{ mg/cm}^2$; $d_a = 0.1\text{ mm Al}$ en $t_m = 924\text{ sec}$. De punten zijn meetpunten. De lijnen zijn de achtergrond en de totale aanpassing, bepaald met het programma PROFANAL. Het arseen is een verontreiniging van het glazen flesje.

In Tabel 5.1 zijn de in de literatuur vermelde gegevens met betrekking tot de seleniumconcentratie van gezonde personen en kankerpatiënten en de resultaten van dit onderzoek samengevat.

Tabel 5.1 Overzicht literatuurgegevens en resultaten (concentraties in ppm)

bron	μ_h	σ_h	n	$x_{min} - x_{max}$	μ_c	σ_c	n	$x_{min} - x_{max}$	$\frac{\mu_c - \mu_h}{\mu_h}$
Ver75	0.130	0.021	36	0.088-0.185	--	--	--	---	--
McC75	0.148	0.007	18	---	0.127	0.003	110	---	-0.14
Sha73	0.229	--	--	---	0.148	--	--	---	-0.35
onderzoek	0.124	0.017	50	0.084-0.153	0.080	0.022	15	0.038-0.115	-0.35

In bovenstaande tabel is te zien dat onze gemeten absolute waarde van de gemiddelde seleniumconcentratie van de gezonde groep goed overeenstemt met de waarde van Versieck. Het verschil met de waarde gevonden door McConnell en Shamberger is waarschijnlijk te wijten aan het geografisch verschil (Europa t.o.v. Amerika). Opvallend is wél dat de procentuele daling van μ_c t.o.v. μ_h zoals die uit dit onderzoek naar voren is gekomen gelijk is aan de waarde gevonden door Shamberger. Ook kan opgemerkt worden dat de spreiding in de concentraties van een groep t.g.v. de fout in de analyse verwaarloosbaar is t.o.v. de biologische spreiding ($\sigma_{gem} = 14\%$; $\sigma_{meth} = 5.3\%$; $\sigma_{biol} = 13\%$).

Een derde groep personen waarvan de seleniumconcentratie is bepaald bestond uit patiënten waarvan ná operatie het serum onderzocht is. De resultaten hiervan staan in Tabel 5.2 (blz43).

5.2 Seleniumconcentratie van patiënten die het Moerman-dieet gebruiken

Sera van patiënten die het Moerman-dieet gebruiken werden beschikbaar gesteld door H.A.M. Schram, arts te Berlicum. Hierbij werden twee groepen gevormd welke we groep 4 en 5 zullen noemen.

Groep 4 : Sera van patiënten die langer dan een half jaar het Moerman-dieet gebruiken en van te voren geen behandeling hadden ondergaan

Groep 5 : Sera van patiënten die een behandeling ondergingen in de vorm van bestraling en/of operatie en/of toediening van cytostatica (celdelingremmende stoffen) en daarna het Moermandieet volgden.

De resultaten van de metingen van groep 4 en 5 staan in Tabel 5.2.

Tabel 5.2 *Samenvatting resultaten seleniummetingen (conc. in ppm)*

	<i>gemidd.</i>	<i>stand.dev.</i>	<i>aantal</i>	$x_{min} - x_{max}$
<i>Groep 1</i>	0.124	14%	50	0.084-0.153
<i>Groep 2</i>	0.080	27%	15	0.038-0.115
<i>Groep 3</i>	0.103	20%	13	0.058-0.125
<i>Groep 4</i>	0.098	30%	9	0.057-0.141
<i>Groep 5</i>	0.116	20%	18	0.077-0.160

Opvallend is dat het gemiddelde seleniumgehalte van de vijfde groep slechts 6.5% lager ligt dan dat van de gezonde groep. Op grond van de resultaten tot nu toe kan geen uitspraak gedaan worden over de oorzaak van het feit dat het gemiddelde van groep 5 neigt naar het gemiddelde van de gezonde groep (is het te danken aan de behandeling, aan het volgen van het dieet of juist aan de combinatie van beide?). Dat het tot aanbeveling strekt dit nader te onderzoeken behoeft geen betoog.

Ook zou het interessant zijn om van afzonderlijke personen de seleniumconcentratie over een bepaalde periode te volgen. Wanneer daarbij over "zuivere" dragers beschikt kan worden, kan verder één van de voordelen van PIXE ten volle worden benut n.l. het simultaan detekteren van meerdere elementen. Hierdoor kan het gedrag van de concentratie van ijzer, koper en zink en het gedrag van de onderlinge concentratieverhoudingen óók in het onderzoek betrokken worden.

CONCLUSIES

Routinematige analyses van menselijke sera op de concentratie aan spoorelementen t.b.v. de medische diagnostiek kunnen met PIXE verricht worden, omdat:

- 1) de meetfout van deze analysemethode ($\approx 5.3\%$) laag genoeg is t.o.v. de biologische spreiding ($\approx 13\%$) (§4.2 en §5.1),
- 2) de trefplaatbereiding eenvoudig en snel is (≈ 1 min.; §2.1.3),
- 3) de meettijd van ongeveer 15 min. voor bepaling van concentraties van ≈ 0.1 ppm acceptabel genoemd mag worden.

De fout die optreedt bij bepaling van lage concentraties bestaat grotendeels uit de statistische telfout. Deze fout is omgekeerd evenredig met de meettijd. De reciproke van deze fout wordt in dit verslag met Piek-Wortel-Achtergrond-verhouding (PWA) aangeduid. Het is belangrijk bij bepaling van lage concentraties de meetcondities zó te kiezen dat de PWA maximaal is, om te bereiken dat in een zo kort mogelijke meettijd de statistische telfout beneden een gewenste waarde daalt.

De waarde van de maximale PWA, zoals die gevonden is in dit verslag voor het element selenium, is een randmaximum, veroorzaakt door temperatuurbegrenzing van de trefplaat en telsnelheid bij de gebruikte geometrie. Het absolute maximum is een faktor 1.6 hoger dan dit randmaximum en zou bereikt kunnen worden indien trefplaten beschikbaar zijn die een hogere temperatuur konden weerstaan en/of indien de telsnelheid verhoogd kon worden (groter bestraald oppervlak en/of grotere ruimtehoek).

Voor selenium is het maximum van de PWA betrekkelijk ongevoelig voor variatie van de door de protonen afgelegde weg d_p in de trefplaat ($1 < d_p < 10$ mg/cm²), mits de röntgenabsorptiefilter aangepast wordt (fig.2.9 t/m 2.11).

Uit het piekoppervlak van een K_{α} -lijn in een PIXE-spectrum kan de concentratie van het desbetreffend element berekend worden, wanneer men geen ijkmetingen ter beschikking zou hebben. De fout in de op deze wijze bepaalde concentratie bedraagt dan $\approx 15\%$ (§4.3.3). Met behulp van ijkmetingen is de fout in de concentratiebepaling 3 tot 14%, afhankelijk van het gedetekteerde element (Tabel 4.3).

De in dit onderzoek gevonden gemiddelde seleniumconcentratie in sera van een groep gezonde personen (0.124 ± 0.017 ppm) komt goed overeen met de door Versieck gevonden waarde (0.130 ± 0.021 ppm).

De gemeten procentuele daling van het gemiddelde seleniumgehalte bij een groep kankerpatiënten t.o.v. de gemiddelde concentratie van een gezonde groep (-35%) is gelijk aan de waarde, gevonden door Shamberger (Tabel 5.1).

De overeenstemming van de met PIXE gemeten waarden en de literatuurwaarden met betrekking tot seleniumconcentraties toont het nut van deze methode aan. Tijdens dit werk is echter gebleken dat in de gebruikte dragermaterialen de concentratie verontreiniging van ijzer, koper en zink ver boven de detectielimiet ligt. Daardoor is het niet mogelijk met deze dragers het gedrag van de concentratie en concentratieverhoudingen van deze elementen in het onderzoek te betrekken. Het zoeken naar zuiverdere dragermaterialen zou daarom de eerst volgende stap in het onderzoek moeten zijn.

LITERATUUROPGAVE

- Aks74 Akselsson, R., Johansson, T.B., Z. Physik 266 (1974) 245.
- Bam72 Bambynek, W., et al., Rev. Mod. Phys. 44 (1972) 716.
- Bar80 Barfoot, K.M., proefschrift, CBNM Geel/België, 1980.
- Bro76 Broghamer, W.L., et al., Cancer 37 (1976) 1384.
- Edi78 Eding, H., Bosch, P.L.M., Afdeling Scheikunde T.H.E., private comm. (1978)
- Fol74a Folkmann, F., et al., N.I.M. 119 (1974) 117.
- Fol74b Folkmann, F., et al., N.I.M. 116 (1974) 487.
- For78 Forstrom, J.W., et al., Biochemistry 17 (1978) 2639.
- Goe76 Goeij, J.J.M., et al., IRI-rapport 133-76-10, 1976.
- Gri77 Griffin, A.C., Jacobs, M.M., Cancer Lett. 3 (1977) 177.
- Har72 Harr, J.R., et al., Clin. Tox. 5 (1972) 187.
- Iye78 Iyengar, G.V., et al., The elemental composition of human tissues and body fluids, Verlag Chemie, Weinheim New York, 1978.
- Jac77 Jacobs, M.M., et al., Cancer Lett. 2 (1977) 133.
- Joh70 Johansson, T.B., et al., N.I.M. 84 (1970) 141.
- Kas77 Kasperek, K., Zink, ein essentielles Spurenelement, K.F.A. Jülich G.m.b.H., FRG (1977).
- Kiv79 Kivits, H.P.M., Rooy, F.A.J. de, Wijnhoven, G.P.J., N.I.M. 164 (1979) 225.
- Kiv80 Kivits, H.P.M., proefschrift, Techn. Hogeschool Eindhoven, 1980.
- Lin79 Linden, R. van der, Moonen, P., stageverslag VDF-NK79/55 (1979).
- Lit68 Little, C., O'Brien, P.J., Biochem. Biophys. Res. Commun. 31 (1968) 145.
- McC75 McConnel, K.P., et al., J. Nutr. 105 (1975) 1026.
- Moe80 Moerman, C., private communication, (1980).
- NDT72 Nuclear Data Tables, Vol. 14, number 91 (1972).
- Pas78 Passwater, R.A., Cancer and its nutritional therapies (1978).
- Per77 Perona, G., et al., Scand. J. Haematol 19 (1977) 116.
- Pra76 Prasad, A.S., Oberleas, D., Trace Elements in Human Health and Disease, Volume 1,2 Academic Press (1976).
- Rea79 Rea, H.M., et al., Br. J. Nutr. 42 (1979) 201.
- Rot72 Rotruck, J.T., et al., J. Nutr. 102 (1972) 689.
- Rot73 Rotruck, J.T., et al., Science 179 (1973) 588.
- Sch57 Schwarz, K., Foltz, C.M., J. Amer. Chem. Soc. 79 (1957) 3292.
- Sch74 Schrautzer, G.N., Annals Clin. Lab. Science 4 (1974) 441.
- Sch76a Schrautzer, G.N., Medic. Hypoth. 2 (1976) 39.

- Sch76b Schrautzer, G.N., et al., *Bioinorg. Chem.* 6 (1976) 265.
- Sch77a Schrautzer, G.N., et al., *Bioinorg. Chem.* 7 (1977) 23.
- Sch77b Schrautzer, G.N., et al., *Bioinorg. Chem.* 7 (1977) 35.
- Sch78a Schrautzer, G.N., et al., *Bioinorg. Chem.* 9 (1978) 245.
- Sch78b Schrautzer, G.N., et al., *Bioinorg. Chem.* 8 (1978) 387.
- Sha69a Shamberger, R.J., Frost, D.V., *Canad. Med. Ass. J.* 100 (1969) 682.
- Sha69b Shamberger, R.J., *Biochem. J.* 111 (1969) 375.
- Sha70 Shamberger, R.J., Willis, C.E., *J. Nat. Cancer Inst.* 44 (1970) 931.
- Sha71 Shamberger, R.J., Willis, C.E., *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* 2 (1971) 211.
- Sha72 Shamberger, R.J., *J. Nat. Cancer Inst.* 48 (1972) 1491.
- Sha73 Shamberger, R.J., et al., *J. Nat. Cancer Inst.* 50 (1973) 863.
- Sha74 Shamberger, R.J., et al., *J. Nat. Cancer Inst.* 53 (1974) 1771.
- Sha76 Shamberger, R.J., et al., *Arch. Environ. Health* 31 (1976) 231.
- Tap65 Tappel, A.L., *Fed. Proc.* 24 (1965) 73.
- Vae79 Vaessen, P., intern rapport VDF-NK79/45, (1979).
- Ver75 Versieck, J., proefschrift, Rijksuniversiteit Gent/België, 1975.
- Ver80 Vernie, L.N., *Tijdschrift Kanker* 4,2, (1980) 1.
- Vis77 Vis, R.D., et al., *N.I.M.* 142 (1977) 159.
- Wat78 Wattenberg, L.W., *J. Nat. Cancer Inst.* 60 (1978) 11.
- Wed72 Wedderburn, J.F., *N. Z. Vet. J.* 20 (1972) 56.
- Zai74 Zaidins, C.S., *N.I.M.* 120 (1974) 125.
- Zon80 Zon, J.B.A.D. van, afstudeerverslag VDF-NK80/16.

APPENDIX DISCUSSIE VAN FOUTENBRONNEN

In deze appendix wordt de belangrijkheid van een aantal foutenbronnen bij PIXE-analyses in het kort besproken. De mogelijk optredende fouten worden in drie groepen verdeeld:

- 1) fouten bij trefplaatbereiding
- 2) fouten bij meting (bestraling-detektie)
- 3) fouten bij dataverwerking (piekoppervlakbepaling).

1) Fouten bij trefplaatbereiding

Bij de trefplaatbereiding wordt een bepaalde concentratie $c_{s,Z}$ in een sample "omgezet" naar een concentratie $c_{t,Z}$ in de trefplaat. In formule:

$$c_{t,Z} = c_{s,Z} \frac{\rho_s}{Hv} \frac{V_a}{O_a} \frac{1}{d_t} \quad (\text{zie ook blz.14}).$$

Bij vervaardiging van meerdere trefplaten uit één sample zal een zekere spreiding optreden in $c_{t,Z}$ t.g.v. variaties in micropipet-volume en in de concentratie in de aliquots ($c_{s,Z}$). Aangenomen wordt dat het vloeistof-absorberend vermogen per eenheid van massadichtheid ($V_a/O_a d_t$) voor meerdere dragers van hetzelfde type konstant is. Variaties in $c_{s,Z}$ zijn niet bekend. De fout in het volume van de micropipet, welke gebruikt is om 200 μ l propanol toe te voegen aan 1 ml serum, bedraagt 1%. Tengevolge van deze fout ontstaat er een fout in $c_{t,Z}$ van $\approx 0.2\%$.

2) Fouten bij de meting

De meting bestaat uit het detekteren van een aantal K_α -röntgenkwanten van element Z:

$$N_{K_\alpha, \text{det}} = N_p S c_{t,Z} N_A/MZ \int_0^d \sigma_{K, \text{ion.}}(E_p(x)) \text{Tr}_t(y, \mu_t(Z)) dx \quad (\text{zie ook blz.11}).$$

De absorptie van Se- K_α -röntgenkwanten door de trefplaat mag voor de gebruikte trefplaten en de gebruikte opstelling verwaarloosd worden. Voor metingen van meerdere trefplaten, waarvan ervan uitgegaan is dat deze bereid zijn met hetzelfde type drager en hetzelfde sample, is er variatie in:

$c_{t,Z}$ (zie 1)	; variatie $\approx 0.2\%$
d_p , de effectieve dikte	; variatie $\approx 3.6\%$
E_p , de beginenergie	; variatie $\approx 0.3\%$
N_p , het aantal protonen	; variatie $\approx 1.0\%$

De variatie van E_p heeft een verwaarloosbare invloed op de integraal. De fout in $N_{K_\alpha, \text{det}}$ t.g.v. de fout in d_p bedraagt circa 2.3% bij $E_p = 3\text{MeV}$ en $d_p = 7.5\text{mg/cm}^2$. De statistische tellfout in $N_{K_\alpha, \text{det}}$ is, bij afwezigheid van achtergrond, gelijk aan $\sqrt{N_{K_\alpha, \text{det}}} = \Delta N_{\text{st}}$. In het geval van de seleniumbepalingen bedroeg $N_{K_\alpha, \text{det}}$ ongeveer 5000 counts zodat ΔN_{st} ongeveer 1.4% is. De totale fout in $N_{K_\alpha, \text{det}}$ wordt dan $\approx 2.9\%$ ofwel $2\Delta N_{\text{st}}$.

3) Fout bij dataverwerking

Met behulp van het programma PROFANAL is het aantal gedetecteerde K_α -kwanten van een element bepaald. Het principe van het programma berust op het aanpassen van een superpositie van achtergrond (remstraling) en een aantal gausskrommen (K_α -pieken) aan de meetpunten. Een door het programma berekend piekoppervlak $N_{K_\alpha, b}$ is dan gelijk aan:

$$N_{K_\alpha, b} = (N_{\text{rem}} + N_{K_\alpha})_{\text{det}} - N_{\text{rem}, b}$$

waarin $N_{\text{rem}, b}$ de berekende achtergrond is.

De fout in $N_{K_\alpha, b}$ is dan gelijk aan:

$$\frac{\Delta N_{K_\alpha, b}}{N_{K_\alpha, b}} = \left[\frac{\Delta N_{\text{rem}, d}^2}{N_{K_\alpha, b}^2} + \frac{\Delta N_{K_\alpha, d}^2}{N_{K_\alpha, b}^2} + \frac{\Delta N_{\text{rem}, b}^2}{N_{K_\alpha, b}^2} \right]^{\frac{1}{2}} \quad (\text{A.1})$$

$$\Delta N_{\text{rem}, d}^2 = N_{\text{rem}, d}$$

$$\Delta N_{K_\alpha, d}^2 = 4\Delta N_{\text{st}}^2 = 4N_{K_\alpha, d} \quad (\text{zie 2})$$

$$\Delta N_{\text{rem}, b}^2 = gN_{\text{rem}, d} \quad \text{waarin } g \text{ afhangt van het programma en van het aantal beschikbare meetpunten dat tot de achtergrond behoort.}$$

We veronderstellen nu $g \ll 1$ en $N_{K_\alpha, d} \approx N_{K_\alpha, b}$ en $N_{\text{rem}, d} \approx N_{\text{rem}, b}$. De totale fout in het K_α -piekoppervlak wordt dan:

$$\frac{\Delta N_{K_\alpha, b}}{N_{K_\alpha, b}} = \left[\frac{N_{\text{rem}, b}}{N_{K_\alpha, b}^2} + \frac{4N_{K_\alpha, b}}{N_{K_\alpha, b}^2} \right]^{\frac{1}{2}} \quad (\text{A.2})$$

Indien de concentratie in de buurt van de detektielimiet ligt zal $4N_{K_\alpha, b} \ll N_{rem, b}$ zijn, zodat form.A.2 overgaat in

$$\frac{\Delta N_{K_\alpha, b}}{N_{K_\alpha, b}} = \frac{\sqrt{N_{rem, b}}}{N_{K_\alpha, b}} \quad (A.3)$$

Willen we de fout, beschreven door form.A.3, zo klein mogelijk maken in een vaste meettijd dan moet $N_{K_\alpha} / \sqrt{N_{rem}}$ zo groot mogelijk zijn, ofwel de Piek-Wortel-Achtergrond-verhouding (PWA) moet maximaal gemaakt worden.

In het geval van de reproduceerbaarheidsmetingen van §4.2 bedroeg $N_{rem, b} \approx 70.000$ en $N_{K_\alpha, b} \approx 5000$ zodat de fout volgens form.A.2 6% bedraagt. Deze fout stelt voor de niet-reproduceerbaarheid van het K_α -piekoppervlak bij meting van meerdere trefplaten. Experimenteel werd voor de niet-reproduceerbaarheid 5.3% gevonden (zie §4.2).

Dankwoord

Omdat het vernoemen van namen alleen maar het risico met zich meebrengt er enkele te vergeten, wil ik tot iedereen die zich ervan bewust is bijgedragen te hebben tot de totstandkoming van mijn afstudeerwerk en afstudeerverslag en die zich door het stimuleren tijdens mijn studie en het tonen van interesse terecht aangesproken voelen bij het lezen van de laatste twee woorden van deze bladzijde langs deze weg zeggen:

hartelijk bedankt.