

Nachweis von β^- -Strahlung mittels Flüssigszintillationszählung

INHALTSVERZEICHNIS

A: Theoretischer Teil

	Seite
1. Meßprinzip	2
2. Einfluß der Zusammensetzung der Meßproben auf die Zählrate	4
3. Löschkorrekturverfahren	5
4. Cerenkov-Strahlung	10

B: Experimenteller Teil I

5. Erstellen von β^- - Impulshöhenspektren verschiedener Isotope	11
--	----

B: Experimenteller Teil II

6. Herstellung von 10 ungelöschten Flüssigszintillationsmeßproben	12
7. Herstellung einer Kalibrationsreihe zur Korrektur der chem. Löschung	12
8. Bestimmung des Gütefaktors der Meßapparatur	13
9. Einfluß der Farblöschung auf die Messung	14
10. Einige Fragen für das Protokoll	14

1. Meßprinzip

Die Flüssigszintillationsmessung ist heute die am häufigsten verwendete Methode zur Bestimmung von β^- -aktiven Verbindungen. Insbesondere für die weichen, reinen β^- -Strahler ^3H , ^{14}C und ^{35}S ist sie die einzige Möglichkeit der Quantifizierung. Das Prinzip beruht auf der homogenen Verteilung der radioaktiven Substanz in einem Szintillations-Cocktail. Dieser besteht aus einem aromatischen Lösungsmittel, der darin enthaltenen Szintillatorsubstanz und der radioaktiv markierten Verbindung. Das β^- -Teilchen gibt seine gesamte kinetische Energie auf einer Strecke von einigen μm an die Lösungsmittelmoleküle ab, deren π -Elektronensystem dadurch angeregt wird. Einige der angeregten Moleküle übertragen die Energie auf Szintillatormoleküle. Deren π -Elektronensystem wird angeregt, worauf unter Aussendung von Licht wieder der Grundzustand erreicht wird. Auf diese Weise manifestiert sich die Anwesenheit eines einzigen β^- -Teilchens durch Kollision mit Lösungsmittelmolekülen in der Anregung vieler Szintillatormoleküle. Der eigentliche Detektor ist der Szintillations-Cocktail.

Die totale Anzahl Photonen aller angeregten Szintillatormoleküle ist charakteristisch für die β^- -Strahlung. In erster Näherung handelt es sich um eine lineare Umwandlung der kinetischen Energie der β^- -Teilchen in Photonen. Somit ist die Lichtintensität aus der Szintillation direkt proportional der ursprünglichen Energie der β^- -Teilchen. Damit erhält man ein Intensitätsspektrum, das jenem der β^- -Energie proportional ist.

1.1. Aufbau einer Flüssigszintillations-Meßapparatur

Fig. 1 zeigt vereinfacht das Prinzip und die Hauptelemente der Messanordnung. Ein emittiertes Teilchen erzeugt entlang seiner Bahn in der Meßflasche Photonen, die an den Photokathoden von zwei Photomultiplier-Röhren (PM-Rohr) Photoelektronen auslösen. Diese werden beschleunigt und erzeugen an den sogenannten Dynoden Elektronenlawinen, die an den Anoden der Röhren aus 10^5 bis 10^8 Elektronen bestehen. Die Elektronenlawinen erzeugen ihrerseits im Anodenkreis der Photomultiplier-Röhren elektrische Impulse, die einer Koinzidenzeinheit zugeführt werden. Die Koinzidenzeinheit registriert nur Impulse, die gleichzeitig von beiden PM-Röhren detektiert wurden. Diese Vorkehrung eliminiert den größten Teil der störenden Einzelimpulse, die durch thermische Elektronen aus den Photokathoden ausgelöst werden und mit der Radioaktivität in keiner Beziehung stehen. Die

Impulse werden sodann verstärkt und im Analysator nach ihrer Amplitude in verschiedenen Kanälen getrennt gezählt. Dadurch wird das ganze Spektrum gemessen, was z. B. die gleichzeitige Bestimmung von zwei Nukliden wie ^3H und ^{14}C ermöglicht.

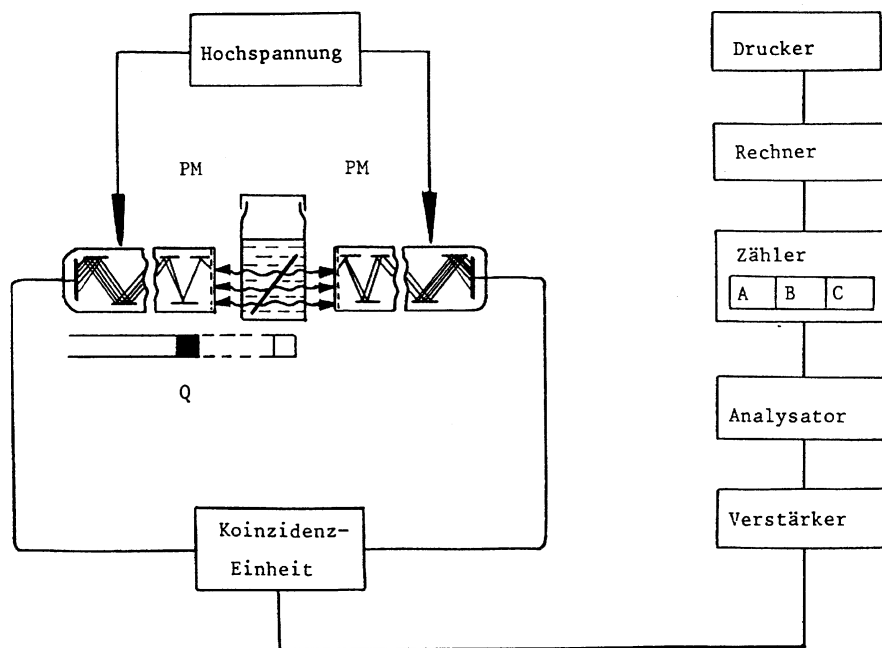


Fig. 1: Schematischer Aufbau einer Flüssigszintillations-Meßapparatur

1.2. Szintillations-Cocktails

Die in der Arbeitsgruppe Radiochemie lange Zeit verwendete Standard-Szintillationslösung bestand aus einer Lösung von 7 g Butyl-PBD (Fig. 2) pro Liter Toluol, die etwa 3 % der β^- -Energie der Primärstrahlung in Fluoreszenzlicht mit einem Emissionsmaximum bei 370 nm konvertiert. Mitentscheidend über die Brauchbarkeit einer Szintillatorsubstanz ist die geringe Überlappung von Emissions- und Absorptionsspektrum (Fig. 3). Der Szintillator würde sonst einen Teil des Fluoreszenzlichtes wieder absorbieren.

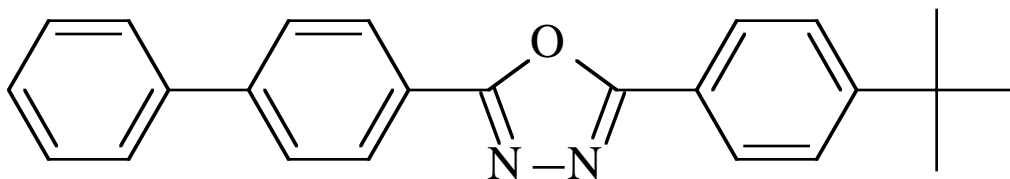


Fig.2: Struktur von Butyl-PBD

2-(4-tert-Butylphenyl)-5(4-biphenyl 1)-1,3,4-oxadiazol

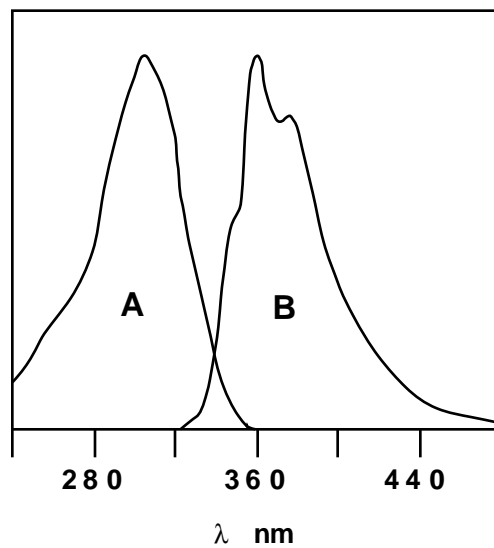


Fig.3: Absorptionsspektrum (A) und Emissionsspektrum (B) von Butyl-PBD

Mit dem beschriebenen Szintillations-Cocktail lassen sich nur Proben erfassen, die sich in Toluol lösen, also ausschließlich organische Verbindungen. Bei wässrigen Proben würde sich ein Zweiphasen-Gemisch bilden. Aus diesem Grund wird seit einigen Jahren der breiter anwendbare Cocktail "Pico Aqua" verwendet.

2. Einfluß der Zusammensetzung der Meßproben auf die Zählrate

Der beschriebene Ablauf des Szintillationsprozesses kann auf vielfältige Weise gestört werden. Hochmolekulare Verbindungen wie Proteine sind oft nicht homogen löslich im Szintillator-Cocktail. Nicht alle Moleküle sind in der Lage, Anregungsenergie ohne Verlust zu transportieren. Die Probe selbst oder die Moleküle von Hilfslösungsmitteln können die Energie übernehmen und ohne Aussendung von Photonen in Wärme verwandeln. Man spricht man von chemischer Löschung (engl. "quenching"). Gefärbte Proben führen zur teilweisen Absorption von bereits gebildeten Photonen (Farblöschung.) Beide Erscheinungen führen zu einer Verminderung der Anzahl Photonen sowie zu einer Verfälschung des Spektrums.

2.1. Chemische Löschung

Die chemische Löschung wird durch Verbindungen mit polaren Gruppen (Halogene, -OH, -CHO, -NH₂ usw.) verursacht, die in der radioaktiven Substanz selbst, oder im verwendeten Hilfslösungsmittel enthalten sind. Die polaren Gruppen nehmen die Anregungsenergie vom aromatischen Lösungsmittelmolekül auf, geben sie aber nicht vollständig an das Szintillatormolekül weiter. Ein Teil der

Anregungsenergie wird zur Erzeugung von Molekülschwingungen verbraucht. Die Auswirkung der chemischen Löschung auf das Impulshöhenspektrum einer ^3H -markierten Verbindung ist in Fig. 4 dargestellt.

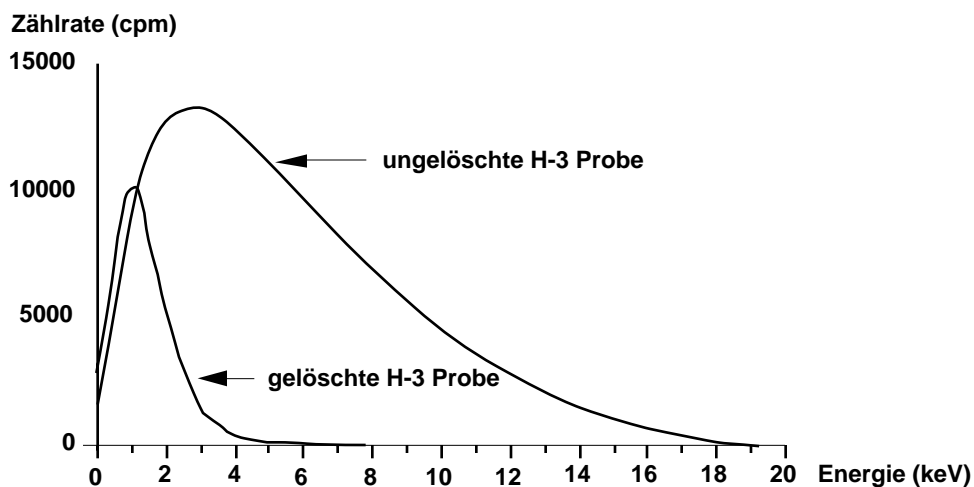


Fig. 4: Impulshöhenspektrum einer ungelöschten und gelöschten ^3H -Probe

Fig. 4 zeigt deutlich, wie das Maximum des Impulshöhenspektrums einer gelöschten ^3H -Probe zu kleineren Energien verschoben wird. Der Effekt nimmt zwar mit steigender Löschagenzkonzentration zu, ist aber unabhängig vom Typ des Quenchmoleküls und daher für die Quantisierung eines Radionuklides korrigierbar.

2.2. Farblöschung

Gefärbte Verbindungen absorbieren einen Teil des Lichtes, das vom Szintillator emittiert wird. Somit erreicht nur ein Teil der ursprünglichen Lichtquanten die Photokathode der PM-Röhre, was eine Abnahme der Meßausbeute zur Folge hat. Zudem ist die Löschung wellenlängen-abhängig, was zu einer Veränderung des Spektrums führt. Da das Butyl-PBD-Szintillatormolekül Fluoreszenzlicht mit einem Emissionsmaximum bei 370 nm aussendet, ist der Farblöschungseffekt für diesen Szintillator bei den Substanzen am größten, die bei 370 nm ihr Absorptionsmaximum haben (vgl. Fig. 3). Bei Analysen von gelb oder grün gefärbten Szintillationslösungen muß eine Farblöschungskorrektur durchgeführt werden.

3. Löschkorrekturverfahren

Die Zählrohrausbeute und damit die Impulsrate hängen bei der Flüssigszintillationsmessung stark von der Konzentration an löschenden Substanzen in der Probe ab.

Da es schwierig ist, die Konzentrationen bei der Messung immer wieder genau zu reproduzieren, hat man Methoden entwickelt, mit deren Hilfe man auch Proben unterschiedlicher Löschung miteinander vergleichen kann. Die wichtigsten Löschkorrekturverfahren werden hier kurz vorgestellt.

3.1. Methode des internen Standards

Die Methode des internen Standards wird am häufigsten bei der Farblöschkorrektur angewendet, weil sie ohne großen Aufwand durchgeführt werden kann. Unter einem internen Standard versteht man eine Probe mit bekannter Zählrate, die sich im Szintillations-Cocktail schnell löst und keine Löschung verursacht. Es handelt sich hierbei um ^3H - oder ^{14}C - markierte Verbindungen, wie z. B. n-Hexadecan. Man mißt zuerst die Probe mit unbekannter Löschung, dann den internen Standard im ungelöschten Szintillations-Cocktail und zuletzt die Probe unter Zugabe dieses Standards. Die Korrektur der Löschung ergibt sich dann nach:

$$I_P^0 = \frac{I_P \cdot I_S^0}{I_{P+S} - I_P}$$

I_P^0 Impulsrate der Probe, löschungskorrigiert

I_P Impulsrate der Probe

I_S^0 Impulsrate des ungelöschten internen Standards

I_{P+S} Impulsrate von Probe und Standard

3.2. Methode des Kanalverhältnisses (B/A)

Die Zweikanalmethode ist ein recht gutes Verfahren, um die chemische Löschung einfach markierter Radiotracer zu korrigieren. Im Kanal A werden alle Impulse gezählt, die von der Probe gelöscht oder ungelöscht geliefert werden. Der Kanal B wird mittels einer Diskriminatorschwelle elektronisch so eingestellt, daß nur Impulse ab einer bestimmten Größe gezählt werden. In Fig. 5 ist dieses Verfahren graphisch dargestellt.

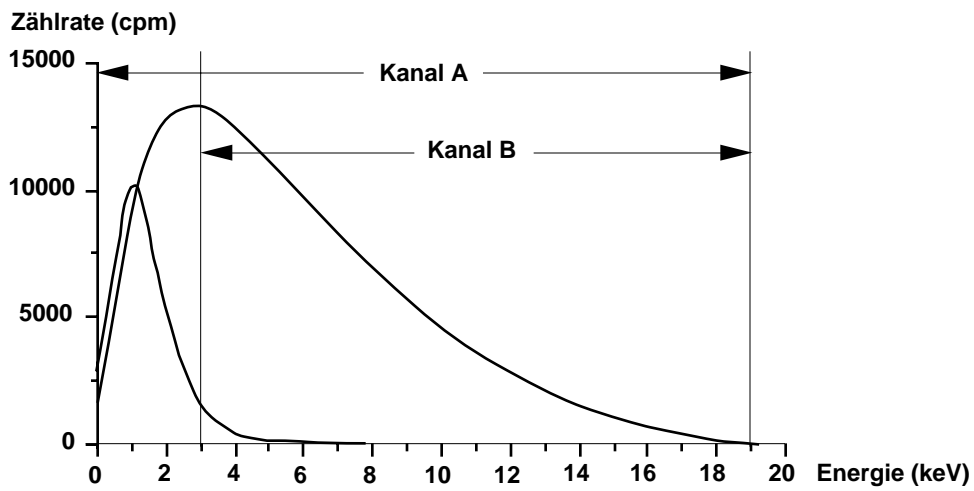


Fig. 5: Graphische Darstellung der Zweikanal-Löschkorrekturmethode

Mit zunehmender Löschung einer Probe sinkt die Impulsrate im Kanal B, während die Impulsrate im Kanal A ein Maß für die Meßausbeute bezogen auf eine ungelöschte Probe ist. Das Kanalverhältnis B/A ist nun ein Maß für die Löschung einer Probe.

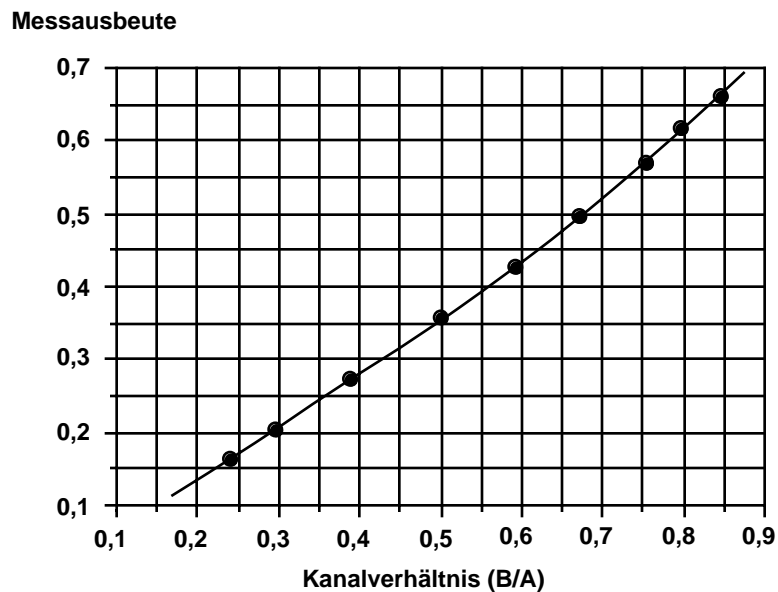


Fig. 6: Löschkorrekturkurve für ^3H nach der Zweikanalmethode

Stellt man Proben gleicher Aktivität mit unterschiedlicher Löschkonzentration her, ergibt sich eine nahezu lineare Abhängigkeit zwischen Meßausbeute und Kanalverhältnis B/A (Fig. 6). Da die Löschung unabhängig von der Impulsrate ist, kann eine zuverlässige Korrektur erfolgen.

3.3. Methode des Flächenschwerpunkts (SIS)

Ein weiteres Maß für die Löschung einer Probe ist die Änderung des Flächenschwerpunkts im Impulshöhenspektrum einer Probe (Fig. 7). Der Flächenschwerpunkt bezogen auf die Dimensionen des Spektrums wird als dimensionslose Grösse (SIS = Spectral Index of the Sample) ausgedrückt.

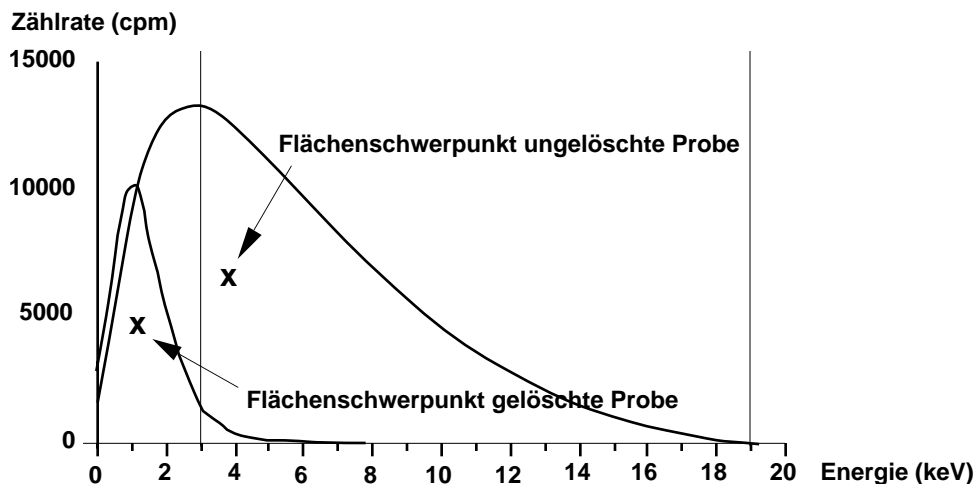


Fig. 7: Graphische Darstellung der Flächenschwerpunktsmethode

Stellt man Proben gleicher Aktivität mit unterschiedlicher Löschagenzkonzentration her, ergibt sich eine Abhängigkeit zwischen Meßausbeute und Flächenschwerpunkt SIS (Fig. 8). Da die Löschung unabhängig von der Impulsrate ist, kann eine zuverlässige Korrektur erfolgen.

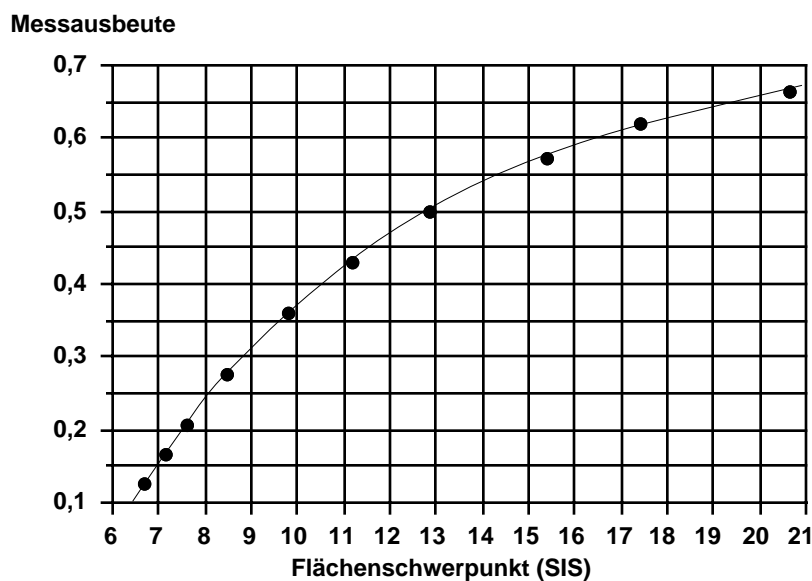


Fig. 8: Löschkorrekturkurve für ^3H nach der Methode des Flächenschwerpunktes

3.4. Methode des externen Standards (tSIE)

Die Methode des externen Standards beruht auf der Verwendung einer äußeren γ -Quelle (Q in Fig. 1), die zur Bestimmung der Löschung durch eine mechanische Vorrichtung dicht unter die Meßflasche gebracht wird, und sonst in eine entfernte Lage hinter eine Bleiabschirmung zurückgezogen wird. Als externen Standard benutzt man einen langlebigen γ -Strahler, wie z. B. ^{133}Ba (Halbwertszeit 10,5 Jahre), dessen γ -Quanten durch Wechselwirkung mit den Lösungsmittelmolekülen Comptonelektronen in der Szintillationslösung erzeugen (siehe P20 "Compton-effekt"). Die Comptonelektronen unterliegen den gleichen Löschbedingungen wie die der β^- -Teilchen. Fig. 9 zeigt am Beispiel einer ungelöschten und gelöschten Nulleffektsprobe, wie das Comptonspektrum sich durch den Einfluß eines Löschmoleküls verändert. Ähnlich wie bei einer gelöschten β^- - Probe verschiebt sich der Endpunkt des Spektrums nach links, also zu niedrigeren Energien (vgl. Fig. 4). Dies wird durch eine dimensionslose Größe tSIE (tSIE = transformed Spectral Index of the External standard) ausgedrückt. Der tSIE-Wert ist abhängig von der Löschagenzkonzentration und kann somit als Maß für die Löschung benutzt werden. Der tSIE-Wert einer ungelöschten Probe ($E_{\text{max}} \sim 250 \text{ keV}$) beträgt etwa 1000, während eine stark gelöschte Probe einen tSIE-Wert von 100 hat.

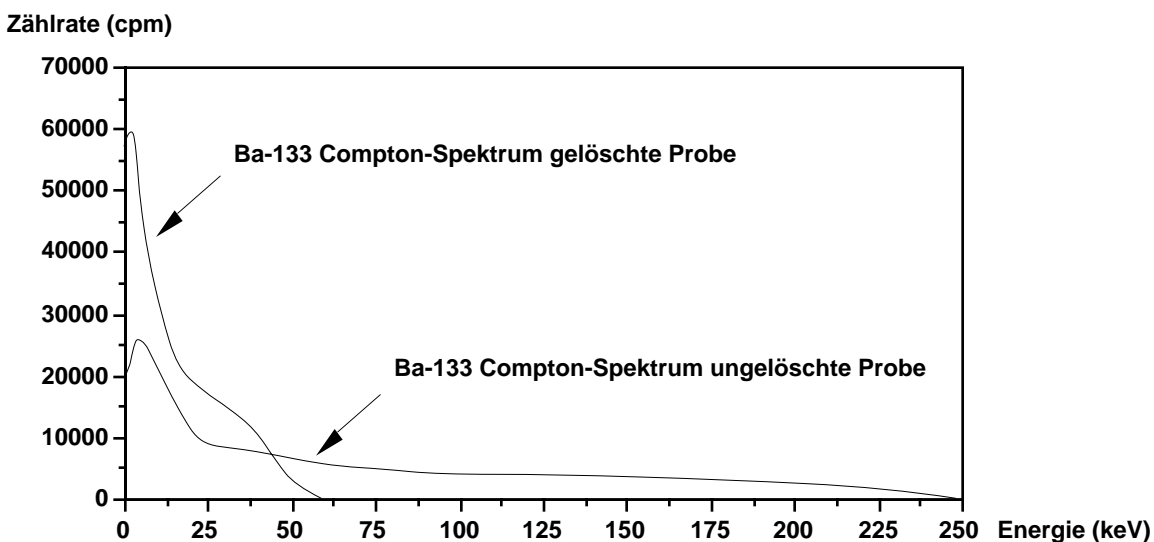


Fig. 9: Compton Spektren des externen Standards (^{133}Ba -Quelle)

Stellt man Proben gleicher Aktivität mit unterschiedlicher Löschagenzkonzentration her, ergibt sich eine Abhängigkeit zwischen Meßausbeute und tSIE-Wert (Fig. 10). Da die Löschung unabhängig von der Impulsrate ist, kann eine zuverlässige Korrektur erfolgen. Moderne, computergestützte Flüssigszintillationsgeräte, wie sie auch im Radiochemie-Service für routinemäßige Messungen eingesetzt werden,

korrigieren die chemische Löschung anhand dieses Verfahrens.

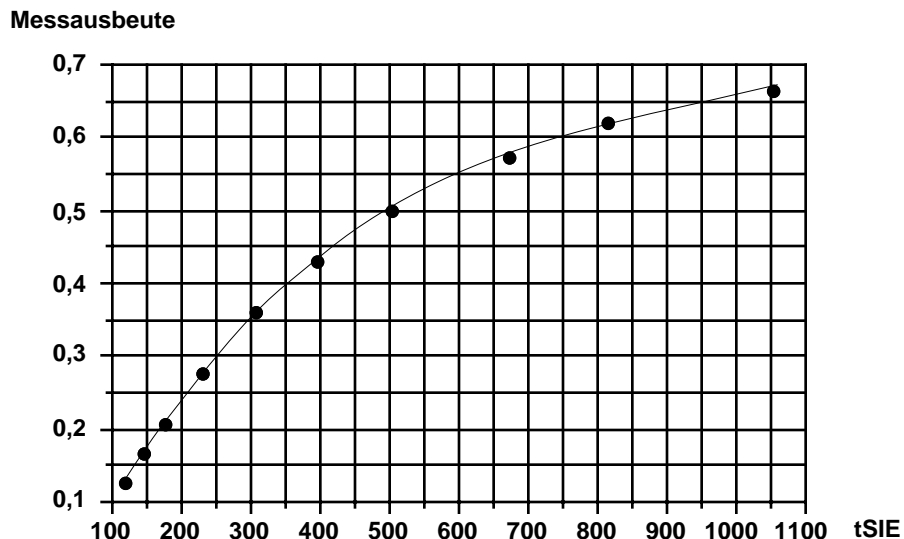


Fig. 10: Graphische Darstellung der Methode des externen Standards

4. Cerenkov-Strahlung

Eine besondere Art von Lichtstrahlung, die nicht auf einen Szintillationseffekt zurückzuführen ist, kennt man unter dem Namen Cerenkov-Strahlung (1934). Sie entsteht, wenn sich β^- -Teilchen höherer Energie ($E > 1$ MeV) durch Materie mit einer Geschwindigkeit bewegen, die größer ist als die Lichtgeschwindigkeit in diesem Material.

$$v \geq \frac{c}{n}$$

c ist die Lichtgeschwindigkeit im Vakuum und n der Brechungsindex der Substanz. Die Cerenkov-Strahlung ist intensiv blau. Das β^- -Teilchen ist vergleichbar mit einer Schallquelle, die sich schneller als mit Schallgeschwindigkeit bewegt und einen "Machschen Kegel" hinter sich herzieht. Für den Öffnungswinkel α des Kegels gilt:

$$\sin \alpha = \frac{c}{n \cdot v}$$

Die Messung des Winkels α mit Hilfe eines Cerenkov-Zählers erlaubt somit eine Bestimmung der Geschwindigkeit und damit auch der Energie der Elektronen. Das Cerenkov-Licht läßt sich in einer Flüssigszintillations-Meßapparatur ohne Verwendung eines Szintillations-Cocktails messen. Für ^3H -, ^{14}C - und ^{35}S -markierte Verbindungen ist dies jedoch nicht möglich, da die β^- -Energien zu klein sind.

^3H ($E_{\beta\text{max}} = 18,6 \text{ KeV}$), ^{14}C ($E_{\beta\text{max}} = 156 \text{ KeV}$) und ^{35}S ($E_{\beta\text{max}} = 167 \text{ KeV}$)

Für ^{32}P -Verbindungen ($E_{\beta\text{max}} = 1,7 \text{ MeV}$) läßt sich dagegen mit einer Messausbeute von 55 % das Cerenkov-Licht sehr gut nachweisen.

B: Experimenteller Teil I

5. Erstellen von β^- - Impulshöhenspektren verschiedener Isotope

Es sollen Impulshöhenspektren von ^3H ($E_{\beta\text{max}} = 18,6 \text{ KeV}$), ^{14}C ($E_{\beta\text{max}} = 156 \text{ KeV}$) und ^{35}S ($E_{\beta\text{max}} = 167 \text{ KeV}$) aufgenommen werden. Es steht eine Flüssigszintillations-Meßapparatur von Canberra-Packard (Tri-Carb 2000CA) zur Verfügung.

5.1. Einfluß eines Löschagenzes auf das ^3H -, ^{14}C - und das ^{35}S -Spektrum

Zur ^3H -, ^{14}C - und ^{35}S -Probe werden mittels einer Oxfordpipette 50 μl Benzaldehyd gegeben und die Spektren erneut aufgenommen.

5.2. Bestimmung der Meßausbeuten

Die Zählrate im Kanal A ist das Integral unter der Kurve. Das Integral für die ungelöschte ^3H -, ^{14}C - und ^{35}S -Probe wird gleich 100 % gesetzt, für die gelöschten Proben jeweils berechnet.

B: Experimenteller Teil II

6. Herstellung von 10 ungelöschten Flüssigszintillationsmeßproben

Durch sorgfältiges Pipettieren von 0,5 ml Stammlösung mittels einer Gilson-Pipette werden 10 gleiche Flüssigszintillationsmeßproben hergestellt (eine ^3H -, ^{14}C - oder ^{35}S -Stammlösung wird vom Assistent zur Verfügung gestellt). Danach werden die Szintillationsküvetten mit 15 ml Szintillatorlösung (Toluol mit 7 g/l Butyl-PBD) versetzt.

6.1. Prüfung der Meßproben auf Gleichheit

Die 10 Szintillationsproben sollten etwa innerhalb des Standardfehlers einer Einzelmessung ($2\sqrt{N}$) die gleiche Zählrate erreichen.

7. Herstellung einer Kalibrationsreihe zur Korrektur der chemischen Löschung

Zu den 10 gleichen Szintillationsmeßproben werden nun jeweils die folgenden Mengen Aceton als Löschreagenz gegeben:

Vial Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
μl	0	50	100	150	200	300	400	600	800	1000

7.1. Einstellung des Kanals B

Die maximal gelöschte Flüssigszintillationsküvette (Nr.10) wird nun gemessen. Die Energieschwelle von Kanal B (in keV) wird so eingestellt, daß die Impulsrate im Kanal B 15 % - 20 % der Impulsrate des Kanals A entspricht.

(Faustregel: Kanäle $B/A \approx 0,15$ bis $0,2$. Die ungelöschte Probe sollte anschließend ein Kanalverhältnis von $B/A \approx 0,7$ ergeben).

7.2. Erstellung von Löschkorrekturkurven nach der Methode:

- a) des Kanalverhältnisses (B/A)
- b) des Flächenschwerpunktes (SIS)
- c) des externen Standards (tSIE)

Nun werden alle 10 Proben mit der ermittelten Einstellung gemessen. Maßgebend für die Meßzeit jeder Probe ist die Zählstatistik im Kanal B ($2\sqrt{N} \leq 0,5 \%$).

7.3. Graphische Darstellung der Löschkorrekturkurve

Unter Zuhilfenahme des Programms "Excel" werden nun das Kanalverhältnis B/A versus Meßausbeute (f) im Kanal A, sowie der Flächenschwerpunkt SIS versus Meßausbeute (f) im Kanal A und die Daten des externen Standards tSIE versus Meßausbeute (f) im Kanal A graphisch dargestellt.

7.4. Messung des Nulleffektes

Die bereitgestellte Nulleffektsküvette enthält 15 ml Szintillatorlösung (Toluol mit 7 g/l Butyl-PBD) und wird 10 Minuten gemessen.

7.5. Messung einer unbekannt Probe

Eine bereitgestellte Probe unbekannter ^3H -, ^{14}C - oder ^{35}S -Aktivität und Löschung wird gemessen, deren Kanalverhältnis (B/A), SIS-Wert und tSIE-Wert ermittelt und anhand der jeweiligen graphischen Darstellung im Programm "Excel" die Zählrate im Kanal A löschungskorrigiert. Zur Kontrolle des erhaltenen Resultates wird die gleiche Probe zu der Nulleffektsküvette gegeben. Nun zählt man die ungelöschte Probe und kann die Impulsrate im Kanal A mit der löschungskorrigierten Probe direkt vergleichen. Die Abweichung der beiden Proben sollte nicht größer als 1 % sein.

8. Bestimmung des Gütefaktors der Meßapparatur

Der Gütefaktor G (figure of merit) einer Meßapparatur ist eine von Herstellern eingeführte Größe, um unterschiedliche Geräte miteinander vergleichen zu können. Er ist folgendermaßen definiert:

$$G = \frac{E^2}{b}$$

wobei E die Meßausbeute in % und b der Nulleffekt im Kanal A ist. Die Meßausbeute einer Apparatur läßt sich mit einem ungelöschten Standard ermitteln, dessen Aktivität bekannt ist.

9. Einfluß der Farblöschung auf die Messung

Zu einer ungelöschten Flüssigszintillationsprobe wird eine kleine Menge Farbstoff gegeben. Anhand der Quenchparameter (B/A, SIS und tSIE) wird wieder versucht, aus der jeweiligen Löschkorrekturkurve die wahre Impulsrate der Probe zu ermitteln. Die Abweichungen der korrigierten Probe zur ungelöschten Probe werden in Prozent angegeben und mit dem Ergebnis der chemischen Löschung verglichen.

10. Einige Fragen für das Protokoll

zu 7.5. Welches Löschkorrekturverfahren liefert das beste Resultat?

zu 9. Welches Verfahren wäre mit Ausnahme des internen Standards zur Korrektur der Farblöschung denkbar?