



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

4  
2ej

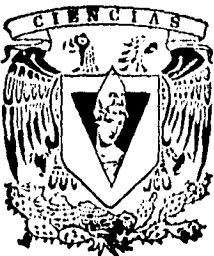
FACULTAD DE CIENCIAS

"ANALISIS DE MATERIAL BIOLÓGICO  
CON PIXE".

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
F I S I C O  
P R E S E N T A :  
JOSE DE LUIS ALVAREZ MONTIEL

DIRECTOR DE TESIS: DR. JAVIER MIRANDA MARTIN DEL CAMPO.



SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA  
DIRECCIÓN GENERAL DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

MEXICO, D. F.

1996

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

M. en C. Virginia Abrín Batule  
Jefe de la División de Estudios Profesionales de la  
Facultad de Ciencias  
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis:  
"Análisis de Material Biológico con PIXE"

realizado por ALVAREZ MONTIEL JOSE LUIS

con número de cuenta 8120125-1 , pasante de la carrera de Física.

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis  
Propietario OR. JAVIER MIRANDA MARTIN DEL CAMPO  
Propietario M. EN C. CARLOS CANIZAL SILAHUA  
Propietario FIS. MIGUEL ANGEL PEREZ PASTENES  
Suplente OR. JORGE RICKAROS CAMPBELL  
Suplente OR. JUAN CARLOS CHEANG WONG

Consejo Departamental de Física

DR. ROBERTO ALEJANDRO RUELAS MAYORGA  
Coordinador de Licenciatura

*Javier Miranda*  
*Abel*  
*[Signature]*  
*Jorge Rickaros*  
*[Signature]*  
*[Signature]*

**Dedico este trabajo con todo cariño a:**

**Mi madre.**

**Por el apoyo y comprensión que siempre me ha brindado.**

**Mi esposa Amelia Miranda.**

**Por toda la ayuda, apoyo, amor y cariño hacia mí.**

**Mis hermanos Lilia, Fernando, Arturo y J. Antonio.**

**Por el compartir la vida conmigo.**

**Mi asesor Javier Miranda.**

**Por el apoyo incondicional que siempre me ha ofrecido.**

**M. en C. Carlos Rodríguez I.**

**Por la confianza depositada en mí.**

## **AGRADECIMIENTOS:**

A la U N A M. por darme la formación profesional.

Al Instituto Mexicano del Seguro Social, en especial al Jefe del Departamento de Física, Fis. Felipe Flores Franco por el apoyo recibido para la realización de este trabajo.

Al Dr. Raúl Barrera Rodríguez por la contribución de material biológico y apoyo ofrecido en este trabajo.

Al Sr. Karim López G. Por su ayuda durante el trabajo experimental en el Laboratorio del Acelerador Van de Graaff de 0.7 MeV.

Al jurado Dictaminador de este trabajo:

Dr. Javier Miranda Martín del Campo.

M en C. Carlos Canizal Silalua.

Fis. Miguel Angel Pérez Pastenes.

Dr. Jorge Rickards Campbell.

Dr. Juan Carlos Cheang Wong.

Por la revisión y sugerencias de este trabajo.

A todos aquellos cuya aportación contribuyó para la realización de este trabajo.

## ÍNDICE.

INTRODUCCIÓN .....	1
<b>1. CÁNCER, ORÍGENES Y EFECTOS SOCIALES</b>	
1.1 Historia .....	3
1.2 Generalidades .....	3
1.3 Modelo de Carcinogénesis .....	6
1.4 Cáncer y Ambiente .....	10
<b>2 BASES FÍSICAS DE LA ESPECTROSCOPÍA PIXE</b>	
2.1. Fundamentos de la Espectroscopía PIXE .....	12
2.2. Niveles de Energía y Transiciones Atómicas .....	13
2.3. Sección Eficaz de Producción de Rayos X .....	15
2.4. Eficiencia de Detección .....	25
2.5. Análisis de Blanco Delgado .....	26
2.6. Curva de Sensibilidad .....	28
2.7. Corrección por Matriz .....	29
<b>3. DESARROLLO, EXPERIMENTO Y RESULTADOS</b>	
3.1. Acelerador Electrostático Van de Graaff .....	33
3.2. Sistema de Detección de Rayos X .....	35
3.3. Cámara de Dispersión .....	35
3.4. Curva de Sensibilidad .....	36
3.5. Consideraciones Básicas para la Preparación de las Muestras .....	39
3.6. Preparación de las Muestras .....	40
3.7. Análisis de las Muestras .....	41
<b>4. CONCLUSIONES</b> .....	<b>45</b>
REFERENCIAS .....	48

# INTRODUCCIÓN

En la historia del hombre han existido diversas enfermedades infecciosas que, en diferentes épocas, han causado estragos a las poblaciones de diferentes sitios. Como ejemplo de ello baste decir que, en la Edad Media, la peste bubónica acabó con más del cincuenta por ciento de los habitantes que vivían en Europa en esa época. Asimismo, recordemos que los habitantes de Mesoamérica fueron diezmados hasta llegar casi a su extinción cuando los europeos llegaron hasta este continente en el siglo XV debido a la epidemia de viruela, desconocida por los aborígenes hasta ese tiempo.

Durante los últimos 150 años, el mundo occidental ha ido eliminando estas enfermedades, las cuales habían presentado las cifras de mortandad más significativas. Sin embargo, existen otro tipo de enfermedades que permanecen latentes y cobran fuerza día con día. Ejemplo de ello es el cáncer, el cual cobra actualmente un número de vidas mayor que el sida o cualquier otra enfermedad conocida.

Actualmente una de las principales preocupaciones dentro del sistema de salud en México es el aumento en la incidencia del cáncer en la población, y es de llamar la atención que los incrementos de esta enfermedad se han presentado específicamente en laringe, pulmón, sistema gástrico, próstata y útero, siendo en la mayoría de los casos mortal, sin que hasta la fecha se haya podido determinar el origen de ello.

Con base en lo anterior se proyectó realizar algún tipo de investigación con la cual se pudiese encontrar en principio algún indicio del origen de uno de los cánceres más arraigados en México, el cáncer pulmonar.

En el mundo se han desarrollado una serie de estudios de materiales basados en la técnica analítica de origen nuclear conocida como PIXE (*Particle Induced X-Ray Emission*), en la cual intervienen procesos de excitación y ionización de los átomos por la interacción con el haz de partículas y su subsecuente desexcitación mediante la emisión de rayos X. Esta técnica de análisis permite efectuar un estudio cuantitativo multielemental muy completo y fino de los materiales empleados en cuestión, los cuales abarcan diversas áreas de estudios, tales como la geología, la arqueología, el arte, la ciencia de materiales, así como estudios ambientales y biomédicos, destacan dentro de éstos últimos el estudio de tejidos renales, del cerebro, hepáticos y urinarios.

Basado en tales estudios se estructuró el presente trabajo. La elección del tejido pulmonar como objeto de estudio obedeció fundamentalmente a las razones expuestas anteriormente y a que en el mundo se han efectuado muy pocos estudios mediante esta técnica, dada la dificultad de trabajar con él, lo cual quedará de manifiesto cuando se describa la problemática para la elaboración de las muestras.

El trabajo se estructuró de la siguiente manera:



En el primer capítulo se presentan algunas bases sobre los probables orígenes, desarrollo y propagación del cáncer, así como el impacto que representa para la sociedad

El segundo capítulo presenta las bases de la técnica PIXE y su aplicación al análisis de películas delgadas e intermedias, así como las correcciones debidas al espesor de la muestra.

El tercer capítulo describe el desarrollo experimental del trabajo, desde la técnica empleada para la preparación de las muestras hasta el arreglo experimental para su irradiación de dichas muestras y los resultados encontrados.

En el cuarto capítulo se presentan las conclusiones del trabajo.

1  
**CÁNCER, ORÍGENES Y  
EFECTOS SOCIALES**

## **1.1. HISTORIA.**

El cáncer ha acompañado desde siempre al hombre y parece más antiguo que él, puesto que se han encontrado lesiones tumorales en huesos del *Pithecanthropus erectus*<sup>[1]</sup> mucho antes de la aparición del *Homo Sapiens*, y se han encontrado lesiones de este tipo en los huesos de los dinosaurios<sup>[2]</sup>.

En Egipto<sup>[3]</sup> se hallaron tumores malignos en momias que datan del año 3400 a. C., calificándolos como osteosarcomas. Así mismo, el papiro de Edwin-Smith<sup>[4]</sup> que corresponde al antiguo Imperio Egipcio, cuya antigüedad es mayor de 3600 años, consiste de una colección de 48 historias clínicas y una de ellas está dedicada al cáncer de mama.

La palabra cáncer se remonta a la antigua Grecia<sup>[4,5]</sup> y se da la paternidad de este término a Hipócrates quien bautizó esta enfermedad como cáncer en alusión al aspecto como se propagaba, semejando las patas del cangrejo.

Aurelio Cornelio Celso, en el Volumen I de sus Ocho Libros de la Medicina<sup>[6]</sup>, escrito en el año 40 a. C. describe un tumor canceroso en el exterior de los genitales de una mujer noble, a quien no se le trató por ser mujer importante y debido a la responsabilidad que implicaba para el médico que lo extirpase sin éxito, de manera que se dejó avanzar el mal hasta que la mujer falleció.

En el año de 1775 el Dr. Sir Percival Pott<sup>[7]</sup> señaló la asociación que existía entre el cáncer del escroto y la presencia de polvo de carbón en la ropa y piel de los deshollinadores. Posteriormente en 1911 Peyton Rous logró aislar un virus del sarcoma producido en pollos, transmitiéndolo a otros animales de la misma especie.

Estos dos sucesos son trascendentes en el avance de la investigación sobre el origen del cáncer, pues por una parte se encontró una sustancia capaz de provocar esta enfermedad y por otra, se mostró que al menos un virus era capaz de provocar tumores en animales.

De lo anteriormente expuesto, se puede deducir que el cáncer no tiene un origen único.

## **1.2. GENERALIDADES.**

La característica fundamental de la célula cancerosa es la pérdida de la capacidad de controlar su crecimiento y división. Las células malignas se dividen cuando y donde no deberían hacerlo, siendo el resultado de su proliferación desorganizada la formación de un tumor.

Las propiedades que caracterizan a la célula tumoral pueden ser resumidas en tres: pérdida del control del crecimiento; pérdida del control posicional con la invasión y la metástasis, y capacidad de evadir la vigilancia inmunológica.

Los tipos de cáncer se encuadran en tres extensos grupos: carcinomas, sarcomas y leucemias. Los carcinomas se originan en los epitelios (capas de células que recubren la superficie del cuerpo y tapizan las diferentes glándulas). Los sarcomas se originan en las estructuras de sostén, como el tejido fibroso y los vasos sanguíneos. Las leucemias y los linfomas se originan en las células hematopoyéticas de la médula ósea y los linfonodos.

Los distintos tipos de cáncer se clasifican principalmente por el órgano en que se han originado y por la clase de células afectadas. Así se cuenta hasta un centenar de variedades de esta enfermedad, cuyos orígenes aún no han podido ser relacionados entre sí.

Según estadísticas de Estados Unidos, aproximadamente la mitad de todas las muertes por cáncer son provocadas por tumores malignos localizados en cuatro órganos, el pulmón, el intestino grueso, el cervix y la mama, según muestra la Fig 1.1

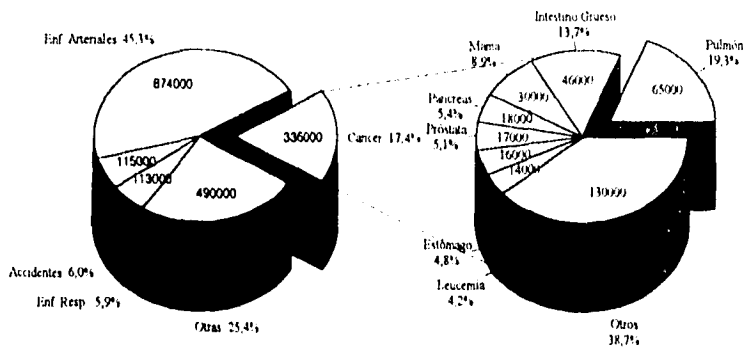


Fig 1.1. Muertes totales anuales en Estados Unidos. (Los números en miles representan las muertes totales anuales) [8]

Ninguno de los cuatro tumores mencionados anteriormente parecen estar relacionados entre sí, de tal manera que cada uno de ellos puede ser considerado como un fenómeno discreto (sin relación con los otros tres). Lo anterior queda establecido por estudios de incidencia de cáncer en poblaciones migratorias, en los cuales se ha observado que la incidencia de alguno de ellos puede variar con el cambio de los factores ambientales con respecto a la incidencia presente en el lugar de origen, sin que por ello tengan que variar la incidencia de los demás tumores.

Resulta interesante considerar la pérdida de vida laboral provocada por esta enfermedad con base en la mortandad que presenta. Bajo este concepto es mucho menos trágica la muerte de un hombre nonagenario por un cáncer de próstata que la muerte de un joven por leucemia. Con base en la reducción de la esperanza de vida media debido a cada tipo de cáncer hasta la edad de 65 años se obtienen los resultados presentados en la Fig. 1.2

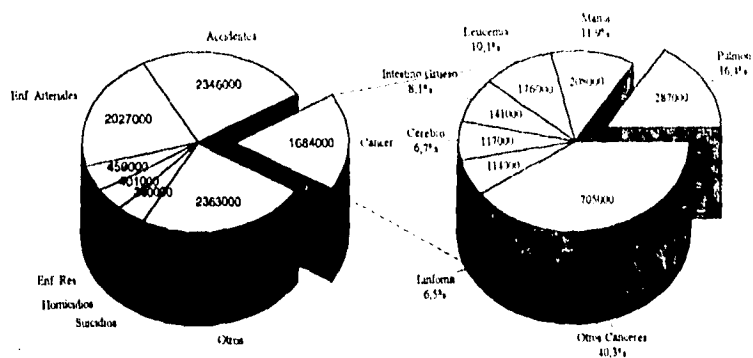


Fig. 1.2. Pérdida de vida laboral en Estados Unidos. (Los números en miles representan los años de trabajo perdidos por la muerte de individuos debido a los diversos tipos de cáncer enumerados, suponiendo un período de vida laboral desde los 20 hasta los 65 años de vida de un individuo)<sup>18)</sup>

Los datos se obtuvieron con pacientes que se presentaron voluntariamente al médico para efectuarse exámenes en donde se presupone la existencia de la enfermedad. Los datos anteriores podrían ser más exactos si pudieran considerarse también las formas de cáncer que pueden descubrirse a través de una investigación preventiva. Así se han descubierto muchas clases de cáncer en exámenes de rutina, lo que pone de manifiesto que pueden

detectarse tumores cancerosos de pequeñas dimensiones y asintomáticos. La mayoría de esos conglomerados de células crecen con tanta lentitud que no provocan síntomas durante la vida del paciente hasta que alcanzan un tamaño apreciable. Por ejemplo, la estimación convencional de la incidencia del cáncer de próstata en varones de 70 años es aproximadamente de 200 casos por cada 100000 varones al año, lo que representa el 0.2% anual, sin embargo, las autopsias rutinarias de hombres fallecidos por otra causa han mostrado la existencia de tumores cancerosos microscópicos invasivos de la próstata con una frecuencia que oscila entre el 15 y el 20 %. La incidencia medida por este método resulta así 100 veces mayor.

### **1.3 MODELO DE CARCINOGENESIS.**

Se han propuesto varios modelos para explicar el incremento de la frecuencia de cáncer en la edad avanzada<sup>91</sup>. Uno de los mejores modelos establece que una célula normal que está desempeñando normalmente sus funciones en cualquier parte del cuerpo dispone de varios genes que impiden el desarrollo de tumores. Estos pueden llegar a formarse si se produce alguna mutación genética, cuya manifestación estará dada por una división y una proliferación celular incontrolables, haciendo caso omiso a los estímulos regulares del crecimiento normal, (Ver fig 1.3). formando así una masa, generalmente diferente en su forma al tejido sobre el cual se generó, ocupando espacio y pudiendo infiltrar o rechazar el tejido vecino, perjudicando su función e incluso puede llegar a extenderse a distancia ocasionando las llamadas metástasis, que son grupos de células tumorales que al viajar por la sangre, la linfa, etc., se implantan en otras regiones dando lugar a la aparición de tumores similares al original, llevando incluso a la muerte a la persona afectada

Actualmente se conocen 36 genes que por mutación son capaces de inducir la generación de tumores cancerosos.

Se dice que un tumor es benigno cuando tiene capacidad de crecimiento local sin que pueda invadir o expandirse a otros sitios. El tumor es maligno cuando su crecimiento es expansivo e invasor pudiendo producir metástasis. El cuadro 1.1. muestra las diferencias entre tumores benignos y malignos.

La célula cancerosa tiene, al parecer, una membrana diferente de la célula normal y produce antígenos (proteínas) diferentes, específicos para cada tumor, los cuales se localizan en la superficie de la célula y son los que dan lugar a la respuesta inmunitaria defensiva del organismo que busca destruir a las células productoras de ellos. Esta función se cumple en miles de casos que pasan inadvertidos, pero en algunas oportunidades no logran efectuarla. Ello puede tener su origen en varios factores.

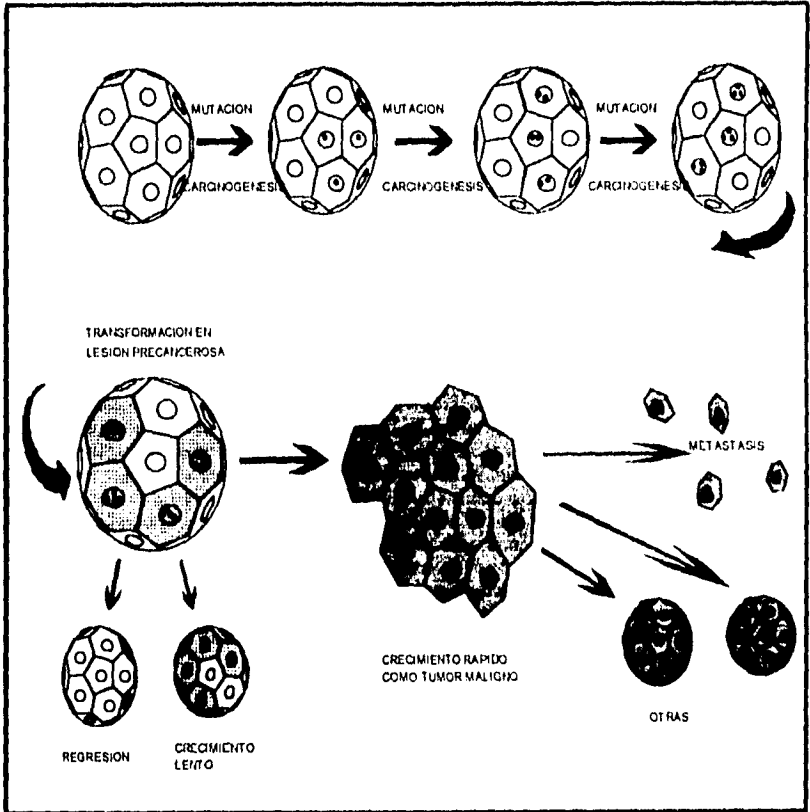


Fig. 1.3. Carcinogénesis (Fases probables) <sup>[10]</sup>.

CUADRO I.1. DIFERENCIAS ENTRE TUMORES BENIGNOS Y MALIGNOS

CARACTERÍSTICAS	TUMOR BENIGNO	TUMOR MALIGNO
Estructura y diferenciación	Frecuentemente típica del tejido de origen	Frecuentemente atípica, o sea, poco diferenciado
Modo de crecimiento	Expansivo, con formación de cápsula	Infiltrativo no encapsulado
Velocidad de crecimiento	Generalmente lento	Generalmente rápido
Progresión del crecimiento	Lento y progresivo, puede detenerse e incluso revertirse.	Raramente cesa, casi siempre es rápido y progresivo hasta la muerte.
Metástasis	Ausentes	Generalmente presentes
Reurrencia después de la extirpación	Rara	Frecuente
Cromatina nuclear (generadora de cromosomas)	Normal	Aumentada
Invasión a vasos	No	Frecuente
Divisiones Nucleares	Pocas y casi normales	Muchas divisiones
Cromosomas anormales	Pocos	Muchos

1.- Puede ser que el tumor produzca tantos antígenos que el sistema defensivo se ve desconcertado y no puede actuar con la rapidez adecuada.



2.- Existe la posibilidad de que esos antígenos sean similares a algunos elaborados en la vida embrionaria y por ese motivo no son reconocidos como enemigos o extraños.

3.- Es posible que debido a la cantidad de ataques, el sistema inmunológico se agote o pierda capacidad de generar anticuerpos para destruir a las células tumorales y en ese momento se produzca la multiplicación de éstas.

4.- Aparentemente existen sustancias que pueden cubrir a cierto tipo de células cancerosas, enmascarándolas y bloqueando la función del sistema inmunológico.

5.- Es posible que con la edad, el sistema inmunológico pueda deteriorarse, perdiendo su capacidad de respuesta ante la agresión de células tumorales.

La evidencia que sustenta a este último punto se manifiesta estadísticamente al efectuar estudios respecto a la incidencia de cáncer de intestino grueso en función de la edad. Las mutaciones pueden introducirse en cualquier momento de la vida de una célula o de sus antecesoras y la probabilidad de que cualquier célula del organismo sufra mutaciones en un gen particular aumenta en relación directa con la edad como se muestra en la distribución gráfica de la Fig 1.4.

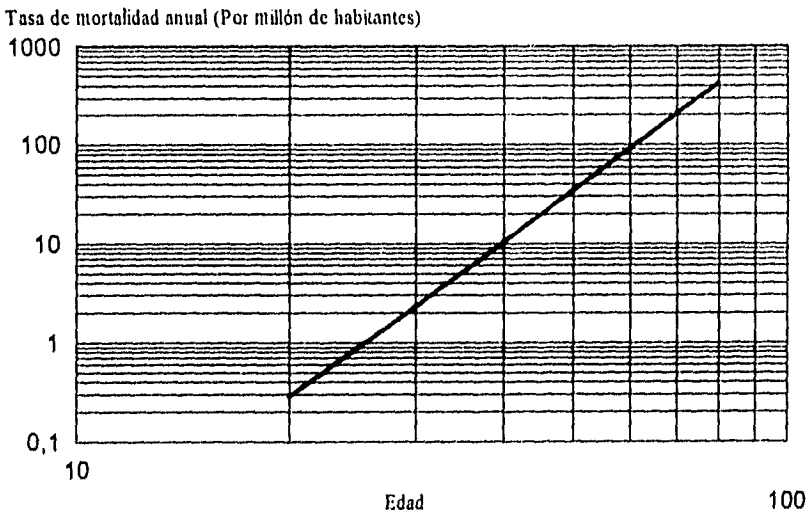


Fig 1.4. Variación por edad de la Tasa de mortalidad en función de la edad provocada por cáncer de intestino grueso en Estados Unidos<sup>[10]</sup>.

#### 1.4. CÁNCER Y AMBIENTE.

La interpretación anterior entre edad e incidencia tiene una implicación importante. Se considera a cada tipo de cáncer como resultado final de distintas mutaciones que pueden haber ocurrido en cualquier momento de la vida de un paciente. Por tanto, el periodo de incubación de cualquier tipo de cáncer se remonta al momento en que tuvo lugar la primera mutación, de modo que cubre a menudo gran parte de la vida del paciente. Por ejemplo, la incidencia de cáncer de pulmón en varios países no es directamente proporcional al número de cigarrillos que sus habitantes fuman hoy, sino al número que fumaban hace 20 años, de forma parecida, los tumores profesionales inducidos por la exposición a ciertos productos químicos industriales pueden tardar en aparecer hasta 10 y 20 años después que el individuo abandonara el trabajo.

Por otra parte, si fueran mutaciones las distintas etapas en que se va generando un cáncer, habría que saber hasta qué punto vienen inducidas por mutágenos externos, del ambiente, o bien, se originan por error espontáneo en la replicación del ADN.

Los genes de las moléculas del ADN son alterados por diversos mecanismos o sustancias carcinógenas (ambientales 80%, genéticas 15%, mutación espontánea 15%). Al ocurrir lo anterior, las moléculas pueden mantenerse estáticas o pueden producir sustancias diferentes a las normales, modificando y transformando a la célula que los contiene hasta producir un cáncer.

Para ahondar más respecto a la distribución de incidencia de cáncer y edad, resulta útil observar el influjo que las migraciones de una comunidad de un país a otro tienen sobre la incidencia del cáncer. Varios estudios efectuados en poblaciones nómadas muestran que la incidencia de muchos tipos de cánceres comunes se halla determinada parcialmente por el ambiente en el cual se desenvuelven los núcleos de población joven. Un ejemplo de ello son los judíos que emigran a Israel desde Europa o Estados Unidos, los cuales tienen una incidencia de cáncer típica de su país de origen, pero sus hijos, nacidos en Israel, cuentan con una tasa muy inferior en casi todos los tipos de cáncer.

Incluso dentro de un mismo país se puede detectar la influencia de variaciones locales del ambiente y de las circunstancias<sup>[11]</sup>. En Norteamérica, los individuos de piel muy clara tienen mayor probabilidad de morir por cáncer de piel si viven en uno de los estados soleados del sur, mientras que en la zona de las Montañas Rocosas la muerte por cualquier tipo de tumor es mucho menor que el promedio nacional, lo cual implica que una proporción sustancial del índice de mortandad podría prevenirse mediante el control de los factores que cabe imputar al ambiente.

Todo lo anterior indica que si una población se expone sin conciencia de ello a un agente cancerígeno, pueden transcurrir muchos años antes de que afloren las primeras

manifestaciones de la enfermedad y puede ser entonces demasiado tarde para hacer frente a la ola de tumores que se generasen. Lo anterior parece indicar que las células normales deben sufrir no una, sino varias alteraciones independientes antes de convertirse en células tumorales.

Se puede asegurar que ningún cáncer es causado por un solo factor, ya sea en el nivel molecular o en el celular. Son muchos estímulos los que contribuyen al cáncer y actúan además a través del tiempo sobre las personas, sus tejidos y células. Entre los factores implicados se encuentran: la constitución genética de cada individuo y sus mecanismos inmunológicos, la susceptibilidad a sustancias químicas, alimentos, radiación, etc, el equilibrio neuro-endócrino que posea, los hábitos y costumbres que ha tenido desde niño, el ambiente que lo rodea, los factores psíquicos que lo afecten y, la edad y sexo que tenga.

Hasta hoy no se dispone de una terapia general eficaz para el tratamiento del cáncer y no hay indicios de que pueda llegarse pronto a ella. Para la gran mayoría de tipos no existe una droga específica y deben tratarse mediante una combinación adecuada de cirugía, radiaciones y drogas citotóxicas, aun cuando ni el 50% de los pacientes que son tratados llegan a sobrevivir más de cinco años a partir del momento en que se verificó por primera vez el cáncer. De momento solo queda la vía de la prevención a través de la búsqueda y erradicación de las causas que dan origen a esta enfermedad.

De todo lo anterior se puede ver que es necesario efectuar investigaciones a nivel de la composición elemental de los diferentes órganos que constituyen nuestro cuerpo, ya que si estamos hablando de que debido a factores ambientales es posible contraer algún tipo de enfermedad, es necesario conocer qué factores son los causantes. En nuestro caso se presume que es debido a: la contaminación ambiental y al cambio de hábitos de la población por cuestiones sociales. La composición de nuestro organismo puede cambiar, generándose con ello la acentuación de algunas enfermedades en algunas regiones o países e incluso se pudiera llegar a la aparición de nuevas patologías, cuyas causas no pudiesen ser establecidas.

Otro aspecto que aporta información y hace necesaria la investigación de la composición elemental de nuestro cuerpo es el hecho de que a muchos pacientes se les detecta cáncer en el momento en que se efectúan estudios referentes a alguna otra enfermedad, lo cual es indicativo de que aun cuando la enfermedad no se ha manifestado en toda su extensión, cabe la posibilidad que la enfermedad se haya generado a consecuencia de los efectos de los agentes que constituyen el ambiente y que de alguna manera han impactado al paciente en cuestión. Para estos casos la técnica de análisis multielemental PIXE puede aportar valiosos datos para un mejor conocimiento de esta enfermedad.

2

# **BASES FÍSICAS DE LA ESPECTROSCOPIA PIXE**

## 2.1. FUNDAMENTOS DE LA ESPECTROSCOPIA PIXE.

La ionización y excitación de los átomos puede generarse a partir de la interacción de éste con radiación electromagnética, rayos gamma o partículas.

PIXE (*Particle Induced X-Ray Emission*)<sup>[12,13,14,15]</sup> es el nombre de una técnica analítica de origen nuclear que permite efectuar análisis cuantitativos multielementales de diversos materiales al ser bombardeados con un haz de protones. Para determinar la composición elemental de una muestra esta técnica de análisis combina varios procesos. Por un lado se produce la excitación de los átomos constituyentes del material mediante su ionización por las partículas incidentes, lo cual genera la producción de dos tipos de rayos X: continuos y característicos, estos últimos debido a las recombinaciones de las órbitas electrónicas de los átomos excitados (Fig. 2.1). En este último proceso se da una competencia con otros fenómenos: la emisión de electrones Auger y la emisión simultánea de un electrón Auger y un fotón de rayos X (efecto Auger radiativo). La energía del fotón emitido es característica del elemento en cuestión, por lo cual es posible, mediante la medición de dicha energía, la identificación del elemento.

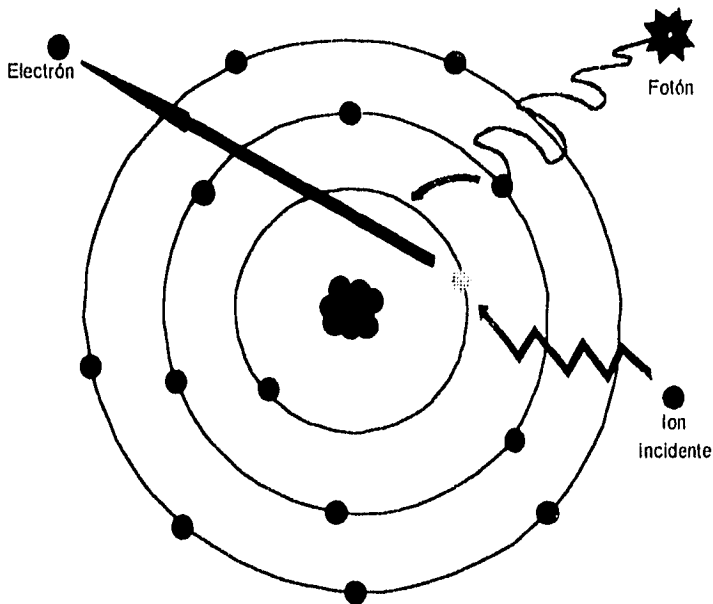


Figura 2.1 Diagrama del proceso de emisión de rayos X en el cual se basa la técnica PIXE.

Como se puede ver en la figura 2.1, un electrón es expulsado de una órbita interna del átomo en cuestión, lo cual produce una vacante en esa capa, la cual será llenada por la transición de un electrón de otra capa más externa, emitiéndose el excedente de energía como un fotón cuya energía es característica de la transición

## 2.2. NIVELES DE ENERGÍA Y TRANSICIONES ATÓMICAS.

En los átomos, los electrones se encuentran distribuidos en niveles discretos de energía. A esos niveles de energía se les ha denominado capas K, L, M, N, etc. A los electrones contenidos en las capas K les corresponde la menor energía, la cual aumenta para las siguientes capas. A los niveles de energía se les ha asociado el número cuántico  $n$ , de tal manera que al nivel K le corresponde  $n=1$ , a L,  $n=2$ , a M,  $n=3$ , y así sucesivamente.

Todas las capas o niveles discretos de energía, a excepción del nivel K, constan a su vez de subcapas o subniveles de energía. El número de subcapas o subniveles de energía del nivel  $n$ -ésimo de energía está determinado por  $i = 2n-1$ , donde  $i$  es el número cuántico orbital. Así, el nivel de energía L, con  $n=2$ , está dividido en  $i = 3$  subniveles de energía, los cuales se denotan agregando subíndices al símbolo de la capa, de tal manera que los tres subniveles de la capa L se denotan  $L_1$ ,  $L_2$  y  $L_3$ .

Debido a la existencia de niveles discretos de energía en un átomo, un electrón, al ser expulsado por un protón incidente en el proceso antes descrito puede corresponder a diferentes capas, generándose así una vacante, la cual será ocupada por un electrón procedente de cualquiera de las capas superiores. Esto origina grupos de líneas de rayos X bien determinadas, y que tienen una denominación acorde con la capa de la cual se removió el electrón original. Así, una línea que fue causada por una vacante en la capa K del átomo, (número cuántico principal  $n=1$ ) se denomina línea K; una línea debida a una vacante en la capa L (número cuántico  $n=2$ ) se denomina línea L, y así sucesivamente.

La energía del fotón emitido en la transición depende del átomo de que se trate y es igual a la diferencia en energía entre los subniveles del átomo involucrados en la transición.

El electrón que llena la vacante puede provenir de un gran número de subcapas, limitado solamente por las reglas de selección de transiciones atómicas.

Las líneas emitidas en una transición se agrupan en relación con la capa hacia la cual se efectúa la transición y la subcapa desde la cual se produce. De esta manera, el grupo de líneas generado por una vacante ubicada en la capa K, se denominan líneas K, dentro de las cuales se pueden tener líneas  $K_{\alpha}$ , líneas  $K_{\beta}$ ,  $K_{\gamma}$ , etc. A su vez, cada una de estas líneas puede estar compuesta por cierto número de transiciones, que se reconocen por un subíndice (1, 2,

3, ...), el cual depende de la subcapa en donde se produce la transición. En estas líneas K los subíndices  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta_1$  y  $\beta_2$  corresponden a las transiciones que ocurren de  $L_3$  a K, de  $L_2$  a K, de  $M_3$  a K y de  $M_2$  a K.

En cuanto a sus características, las líneas  $K_\alpha$  son de menor energía que las líneas  $K_\beta$ . Sin embargo, las líneas  $K_\alpha$  son de mayor intensidad que las líneas  $K_\beta$ , esto último se debe a que las transiciones  $K_\alpha$  son más probables que las transiciones  $K_\beta$ . La figura 2.2 muestra las principales transiciones posibles en los átomos y la nomenclatura correspondiente.

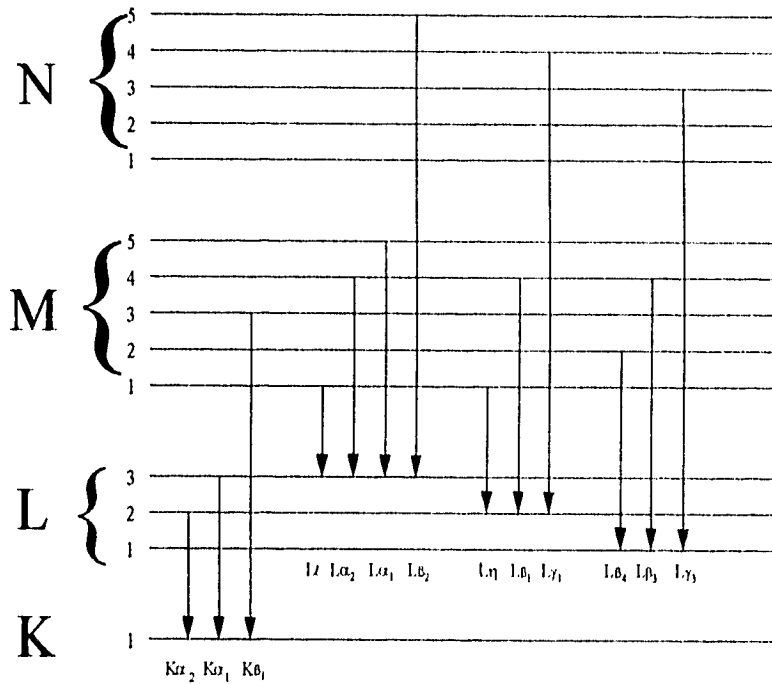


Fig. 2.2. Niveles de energía, transiciones posibles y su nomenclatura

Debido a que las energías de los rayos X emitidos al efectuarse una transición son características de cada átomo, a partir del conjunto de líneas generadas por la muestra es posible obtener información de los elementos y su proporción en la composición de un material.

### 2.3. SECCIÓN EFICAZ DE PRODUCCIÓN DE RAYOS X.

La probabilidad para producir fotones de rayos X de una línea en particular, que no es más que la sección eficaz de producción de rayos X, depende de varios factores, tales como el tipo de proyectil, la energía de incidencia y el tipo de átomo sobre el cual va a interactuar. Para cada línea se define una sección eficaz de producción de rayos X.

En el caso de las líneas K, la sección eficaz de producción de rayos X se relaciona con la probabilidad de ionizar el átomo, o sección eficaz de ionización mediante la ecuación:

$$\sigma_{XKi}(E) = \sigma_K(E)\omega_K P_i, \quad (2.1)$$

en donde  $\sigma_{XKi}$  es la sección eficaz de producción de rayos X,  $\sigma_K(E)$  es la sección eficaz de ionización,  $\omega_K$  es la producción de fluorescencia y  $P_i$  es la intensidad relativa de todas las posibles transiciones que producen radiación en la línea i. La producción de fluorescencia es el cociente del número total de rayos X emitidos entre el número total de vacantes en la capa  $K^{[16]}$ .

Para la capa L (y las capas superiores) las expresiones se complican, ya que además de las transiciones radiativas de electrones procedentes de capas más altas, se puede dar el caso de transiciones no radiativas entre las subcapas  $L_1$ ,  $L_2$  y  $L_3$ . Así, si se crea una vacante en la subcapa  $L_1$ , esta puede llenarse con un electrón proveniente de la subcapa  $L_2$ , y a su vez, esta última vacante producida en  $L_2$  se puede llenar mediante un electrón proveniente de la subcapa  $L_3$ . El efecto neto de todo ello es la producción de una vacante en  $L_3$ . A estas transiciones no radiativas se les conoce como transiciones de Coster-Kronig. Además de las transiciones radiativas, es necesario conocer las secciones de ionización y la producción de fluorescencia para cada subcapa. De lo anterior se tiene que para la sección eficaz de producción de rayos X de las líneas L más comunes para el análisis PIXE se tiene que:

$$\sigma_{X,L_1} = (\sigma_{1,1}f_{13} + \sigma_{1,1}f_{12}f_{23} + \sigma_{1,2}f_{23} + \sigma_{1,3})\omega_3F_{3a}; \quad (2.2)$$

$$\sigma_{X,L_2} = \sigma_{1,1}\omega_1F_{1b} + (\sigma_{1,1}f_{12} + \sigma_{1,2})\omega_2F_{2b} + (\sigma_{1,1}f_{13} + \sigma_{1,1}f_{12}f_{23} + \sigma_{1,2}f_{23} + \sigma_{1,3})\omega_3F_{3b}; \quad (2.3)$$

$$\sigma_{X,L_3} = \sigma_{1,1}\omega_1F_{1c} + (\sigma_{1,1}f_{12} + \sigma_{1,2})\omega_2F_{2c}; \quad (2.4)$$

$$\sigma_{X,L_4} = (\sigma_{1,1}f_{13} + \sigma_{1,1}f_{12}f_{23} + \sigma_{1,2}f_{23} + \sigma_{1,3})\omega_3F_{3c}; \quad (2.5)$$

donde  $\sigma_{i,j}$  son las secciones eficaces de ionización de las subcapas L,  $\omega_i$  son las fluorescencias de la subcapa i,  $f_{ij}$  es la probabilidad de una transición Coster-Kronig y  $F_{ij}$  es la probabilidad de que ocurra una transición radiativa, definida como la fracción de rayos X originados por una vacante en la subcapa  $L_i$  y que contribuya a la línea o transición  $L_j$ .



Se puede observar en las ecuaciones (2.2) - (2.5) que es necesario el conocimiento de las secciones de ionización de cada subcapa por separado, para calcular la sección eficaz de producción de rayos X de cada una de las líneas L.

Es posible definir la fluorescencia promedio y utilizar la intensidad relativa de la radiación emitida en la subcapa  $i$ , con lo cual se puede escribir de forma análoga al caso de la capa K

$$\sigma_{X,L,i} = \sigma_{L,L} \bar{\omega}_L P_i \quad (2.6)$$

en la cual  $\sigma_{L,L}$  es la sección de ionización total de la capa L,  $\bar{\omega}_L$  es la fluorescencia promedio de la capa L y  $P_i$  es la intensidad relativa de la radiación emitida por la capa L.

El fin deseado al bombardear un espécimen con protones o iones pesados es arrancar electrones de las órbitas internas (capas K o L) de los átomos, con la subsecuente emisión de rayos X característicos. Las secciones eficaces de ionización juegan un importante papel en esta técnica.

Las secciones eficaces tienden a ser máximas cuando la energía del proyectil se iguala a la velocidad orbital del electrón que será expulsado de los átomos

Diversos modelos se han generado para calcular la sección eficaz de ionización de las capas orbitales internas de los átomos cuando se produce bombardeo con protones o iones de helio. De todos esos modelos los más importantes son<sup>[14,17]</sup>:

- 1) La Aproximación de Encuentro Binario (BEA)
- 2) La Aproximación Semiclásica (SCA).
- 3) La Aproximación de Born de Onda Plana (PWBA)
- 4) La corrección ECPSSR a la PWBA.

*1) La Aproximación de Encuentro Binario (BEA).*

La primera teoría (BEA) explica clásicamente el proceso de ionización en las capas internas de los átomos, en la cual el proceso de ionización se establece como un encuentro binario entre dos partículas cargadas. Exclusivamente se basa en el cambio de energía debido a la interacción coulombiana entre la partícula incidente y el electrón, lo cual implica un cambio de momento para calcular la sección eficaz de ionización. La función del núcleo del átomo blanco es establecer la distribución inicial del momento del electrón que será expulsado.

Para la obtención de la sección eficaz de ionización se toma como punto de partida la sección eficaz de dispersión, de la cual se determina la sección eficaz diferencial de intercambio de energía entre el electrón y la partícula incidente, la cual se integra entre la energía de ionización y la energía de la partícula. Al calcular el promedio sobre la distribución de velocidad del electrón se obtiene la probabilidad de expulsar al electrón del átomo. Considerando la distribución de los impetus de los electrones en cada capa y las correcciones debidas a la repulsión entre la partícula y el núcleo del átomo, se obtiene el resultado deseado. Esta teoría es apropiada para partículas cuya energía es mayor que las energías de amarre de los electrones.

### *2) La Aproximación Semiclásica (SCA).*

Mediante la aproximación semiclásica (SCA) el átomo se considera como un sistema de referencia fijo, calculándose así la sección eficaz de ionización. La base para este cálculo es considerar que la trayectoria del proyectil es una línea recta, y de ahí, evaluar las probabilidades de transición de los electrones del átomo blanco de un estado a otro. Este modelo no es adecuado para calcular la sección eficaz de ionización si las partículas viajan a baja velocidad y su carga es pequeña.

### *3) La Aproximación de Born de Onda Plana (PWBA).*

La aproximación PWBA se basa en la consideración de que la partícula incidente y el ion dispersado viajen en todo momento como ondas planas y sean puntuales, desde el punto de vista cuántico tomando como centro de dispersión al átomo sin perturbar los estados de los electrones de modo que se pueda aplicar el modelo de dispersión debido a Born. Estas condiciones se cumplirán siempre y cuando la partícula incidente tenga una carga pequeña y que viaje a gran velocidad, lo cual restringe mucho su aplicación.

El modelo de la Aproximación de Born de Onda Plana de Born es similar al modelo de la Aproximación Semiclásica, pues además de que para ambos es indispensable que la partícula viaje a gran velocidad y su carga sea pequeña, la consideración de onda plana en la partícula corresponde a trayectorias rectilíneas de la partícula en la Aproximación Semiclásica.

### *4) La corrección ECPSSR a la PWBA.*

El modelo ECPSSR toma como bases los modelos PWBA y SCA y considera los efectos de pérdida de energía de la partícula incidente en la colisión (E), la interacción coulombiana entre el núcleo del blanco y la partícula (C), el aumento de energía de ligadura de los electrones orbitales del blanco y del electrón expulsado debido a la presencia del proyectil con base en la teoría de estados estacionarios perturbados (PSS) y la descripción relativista del electrón involucrado (R).

En primera instancia se supone que la trayectoria de la partícula dentro del campo coulombiano del núcleo es una hipérbola, encontrándose la sección eficaz diferencial de ionización. La pérdida de energía interviene al suponer una colisión inelástica de la partícula, lo que modifica la desviación coulombiana. Se toma en cuenta la transferencia de ímpetu de la partícula al electrón expulsado, sumado a su energía final más los efectos de repulsión coulombiana entre ellos (este último es despreciable si la velocidad de la partícula incidente es alta). El efecto de ligadura es considerado cuando se propone a los estados iniciales de los electrones como la superposición de los estados de la molécula partícula-átomo, lo cual trae como consecuencia una reducción en la sección eficaz de ionización. Generalmente aquellos electrones que tienen mayores velocidades dentro de la distribución de los estados ligados son expulsados. Considerando los efectos relativistas para las funciones de onda del átomo, resultan modificadas las distribuciones de dichos estados ligados y la sección eficaz de ionización, haciendo que el radio de Bohr se vea disminuido, lo cual ocasiona un aumento en la velocidad de los electrones y la sección eficaz de ionización.

Cabe señalar que la sección eficaz de ionización depende de la energía de incidencia del proyectil, (ver Fig. 2.3) y por esta razón, la sección eficaz de frenamiento juega un papel importante en la producción de rayos X en el material, ya que en las interacciones de los átomos con los proyectiles, éstos van perdiendo energía.

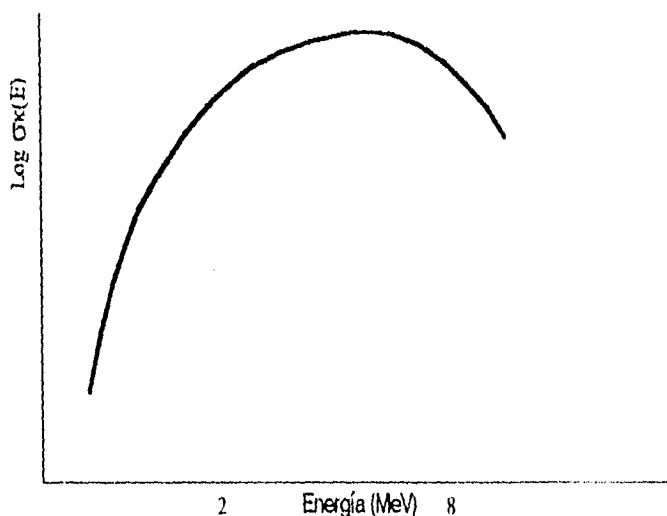


Fig. 2.3. Comportamiento típico de la sección eficaz de producción de rayos X en función de la energía del haz de partículas incidente sobre un átomo blanco.

De lo anterior se desprende que una cantidad importante en PIXE es el poder de frenado másico  $S(E)$ , definido a partir de la densidad del material  $\rho$  a bombardear como

$$S(E) = \frac{I}{\rho} \frac{dE}{dx} \quad (2.7)$$

en la cual el término  $dE/dx$  es el poder de frenado lineal, definido como:

$$s(E) = \frac{dI}{dx} \quad (2.8)$$

Algunos autores prefieren considerar el poder de frenado atómico, expresado como.

$$\epsilon(E) = \frac{I}{N} \frac{dE}{dx} \quad (2.9)$$

en donde la densidad del material y la densidad atómica volumétrica del material  $N$  están relacionadas para un material monoelemental a través de:

$$\rho = N (A/N_A) \quad (2.10)$$

donde  $A$  es la masa atómica del elemento y  $N_A$  es el número de Avogadro. Entonces el poder de frenado atómico está relacionado con el poder de frenado másico por:

$$S(E) = \frac{N_A}{A} \epsilon(E) \quad (2.11)$$

La energía de un proyectil a una profundidad  $x$  de la superficie bombardeada está dada por:

$$E(x) = E_0 - \int_0^x s(E) dx \quad (2.12)$$

El poder de frenado lineal se conoce para una gran cantidad de sustancias y diversos proyectiles en un amplio intervalo de energías. Entonces, una partícula de energía inicial  $E_0$ ,

tras interactuar con los átomos de un material, adquiere una energía  $E < E_0$  y recorre una longitud  $x$  dada por:

$$x = \int_{E_0}^E \frac{dE}{s(E)} \quad (2.13)$$

De esta última ecuación, y de las ecuaciones 2.7 y 2.11 podemos definir el alcance  $R$  de una partícula dentro de un material de densidad  $\rho$  como:

$$R = \int_0^R dx = \int_{E_0}^0 \frac{dE}{dE/dx} = \int_{E_0}^0 \frac{dE}{\rho S(E)} \quad (2.14)$$

donde  $E_0$  es la energía incidente del proyectil, y el límite superior de la integral significa que la partícula ha perdido toda su energía dentro del material.

Por otra parte, dentro de un material que es irradiado existe dispersión y absorción de rayos X, lo que provoca una disminución en su intensidad. Si el material es homogéneo la disminución de la intensidad  $-dI$  es proporcional a la intensidad incidente  $I$  y el espesor  $dx$  que recorren los rayos X dentro del material, lo cual queda expresado como:

$$\frac{dI}{dx} = -\mu I \quad (2.15)$$

En la cual  $\mu$  es el coeficiente de atenuación lineal del material. De lo anterior se deduce que la intensidad de los rayos X queda establecida como:

$$I = I_0 e^{-\mu x} \quad (2.16)$$

donde  $I_0$  es la intensidad inicial de los rayos X. La atenuación se determina por

$$T = e^{-\mu x} \quad (2.17)$$

dado que la atenuación está determinada por la interacción de los rayos X con los átomos del material mediante los efectos de Fluorescencia a Bajas Energías, Fotoeléctrico y Compton, el coeficiente de atenuación lineal queda expresado como:

$$\mu = (\sigma_f + \sigma_f + \sigma_c) G \quad (2.18)$$

en la que  $\sigma_f$ ,  $\sigma_f$  y  $\sigma_c$  son las secciones eficaces correspondientes a cada efecto, siendo  $G$  una constante de proporcionalidad relacionada con el número de átomos que en un determinado intervalo de distancia interactúan con los rayos X.

Cuando un material se encuentra constituido por una mezcla de elementos, la atenuación de los rayos X se determina proporcionalmente a la cantidad de cada elemento presente en el material. Con base en lo anterior, el coeficiente de atenuación lineal de una muestra compuesta se expresa como:

$$\mu = \sum_{i=1}^n m_i \mu_i \quad (2.19)$$

donde  $m_i$  es la masa y  $\mu_i$  es el coeficiente de atenuación del  $i$ -ésimo elemento de un total de  $n$ .

El dispositivo experimental empleado normalmente para llevar a cabo un experimento con PIXE para análisis de muestras delgadas e intermedias se muestra en la Fig. 2.4. Aquí, el haz de partículas incide sobre la muestra, produciéndose rayos X, los cuales son captados por un detector de estado sólido del tipo Si(Li) colocado a un determinado ángulo con respecto a la normal a la superficie de la muestra, en el detector se genera un pulso de acuerdo a la energía del fotón emitido, que es amplificado y enviado a un analizador multicanal vinculado a una computadora, y se produce un espectro PIXE. La medición del número de partículas que inciden sobre la muestra se efectúa mediante una caja de Faraday y un integrador de corriente en la parte posterior de la cámara de análisis.

Debido a los efectos de Fluorescencia a Bajas Energías, Fotoeléctrico y Compton mencionados anteriormente, se produce radiación de fondo en la muestra, también compuesta por radiación secundaria y bremsstrahlung, este último producido por el frenamiento de las partículas al interactuar con los núcleos y por el frenamiento de los electrones secundarios. Es mayor su producción cuanto mayor sea la energía de las partículas incidentes en el material.

Si la partícula incidente cuenta con suficiente energía como para excitar a los núcleos de los átomos de la muestra, éstos emiten rayos gamma, los cuales producen efecto Compton sobre el detector de rayos X, contribuyendo aún más a la producción de radiación de fondo. Por lo anterior, el espectro PIXE presenta las líneas de rayos X característicos emitidos por la muestra superpuestas a la radiación de fondo, complicando el análisis del mismo. Ejemplo

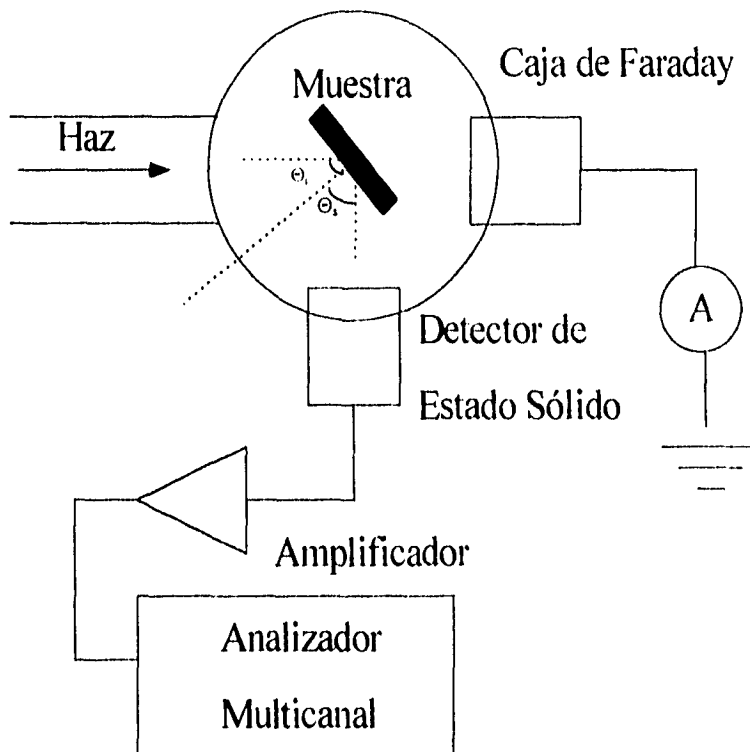


Fig. 2.4. Dispositivo experimental para análisis PIXE de blanco delgado y de espesor intermedio.

de un espectro se puede observar en la Fig. 2.5. donde se puede observar que la serie de picos que aparecen en el espectro corresponden a los rayos X característicos elementales emitidos según la Fig. 2.2. explicadas anteriormente, superpuestos a la radiación de fondo. Dado que la posición en energía de los picos es propia de las transiciones antes mencionadas, dicha posición no varía, independientemente de la profundidad a la que se encuentren los elementos en la muestra. Los elementos ligeros se pueden observar mediante las emisiones K y los elementos pesados mediante las emisiones L. El área de los picos está relacionada directamente con la concentración de los correspondientes elementos en la muestra, aunque no se pueden efectuar comparaciones directas entre las alturas de los picos para obtener información respecto a la concentración de los elementos en el material. Se han

desarrollado programas de cómputo para efectuar la deconvolución de los espectros y para el cálculo de las áreas bajo los picos con un alto grado de confiabilidad.

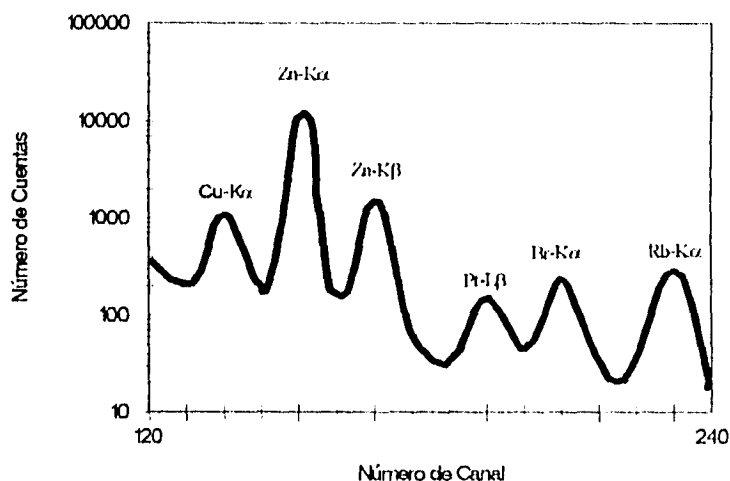


Fig. 2.5. Porción de un espectro PIXE obtenido de una muestra de tejido orgánico de una rata.

Bajo las condiciones anteriores, el área de cada uno de los picos del espectro puede expresarse de la siguiente forma:

$$dY_i = \frac{\Omega}{4\pi} \eta \sigma_{Xij}(E(x)) P(y,z) n(x,y,z) e^{-\mu(x/\cos\theta_i)} dV \quad (2.20)$$

En la cual  $dY_i$  es la cantidad de rayos X producidos por un material de espesor  $dx$  producidos a una profundidad  $x$ ,  $\Omega / 4\pi$  y  $\eta$  son el ángulo sólido y la eficiencia del detector,  $\sigma_{Xij}(E(x))$  es la sección eficaz de producción de rayos X de una capa  $j$  a una capa  $i$ ,  $P(y,z)$  es la distribución espacial del haz de partículas,  $n(x,y,z)$  es la distribución espacial del elemento en el material y  $e^{-\mu(x/\cos\theta_i)}$  corresponde al factor de atenuación de los rayos X que se han producido a una profundidad  $x$  y captados por el detector a un ángulo  $\theta_i$ , el cual se puede observar en la Fig. 2.4.



Si suponemos que la densidad del material analizado es uniforme y que el haz es uniforme en el plano y-z, entonces la ecuación (2.20) puede reescribirse de la siguiente manera:

$$dY_i = \frac{\Omega}{4\pi} \eta \sigma_{Xij}(E(x)) Q n e^{-\mu(E(x))x} dx \quad (2.21)$$

En la que Q es la carga total de las partículas incidentes con que se está irradiando el material.

En este caso la distribución espacial de un elemento en el material está dada como:

$$n = \frac{N_A C_Z \rho}{A_Z} \quad (2.22)$$

En la cual  $N_A$  es el número de Avogadro,  $C_Z$ , y  $A_Z$  son la concentración y la masa atómica del elemento en el material y  $\rho$  es la densidad del material.

Por otra parte, definiendo la eficiencia absoluta del detector de la siguiente manera:

$$\eta_A = \frac{\Omega}{4\pi} \eta \quad (2.23)$$

Substituyendo las ecuaciones (2.22) y (2.23) en la (2.21) se tiene que:

$$dY_i = \eta_A Q \frac{N_A C_Z \rho}{A_Z} \sigma_{Xij}(E(x)) e^{-\mu(E(x))x} dx \quad (2.24)$$

Recordando que la sección eficaz de producción de rayos X puede quedar expresada en función de la sección eficaz de ionización e integrando esta última ecuación desde 0 hasta una profundidad X, la expresión para la cantidad de rayos X producidos por una transición j a la capa i en un material de densidad uniforme queda expresada de la siguiente manera:

$$Y_i = \eta_A Q \frac{N_A C_Z \rho}{A_Z} \omega_i P_i \int_0^X \sigma_{ij}(E(x)) e^{-\mu(E(x))x} dx \quad (2.25)$$

Esta ecuación puede ser reescrita en función de la longitud recorrida por la partícula en el medio (Ec. 2.13) y el factor de atenuación (Ec. 2.17), con lo cual se obtiene que

$$Y_i = \eta_A Q \frac{N_A C_z \rho}{A_z} \omega_i P_i \int_{E_0}^0 \sigma_i(E(x)) \frac{T_X(E)}{S(E(x))} dE \quad (2.26)$$

En la cual se define al término  $T_X(E)$ , el cual describe la transmisión de los rayos X desde profundidades sucesivas dentro de la muestra como:

$$T_X(E) = \exp \left[ - \frac{\mu}{\rho} \frac{t}{\cos \Theta} \int_{E_0}^E \frac{dE}{S(E(x))} \right] \quad (2.27)$$

En la cual  $\Theta$ , es el ángulo de salida de los rayos X, tal como se observa en la Fig. 2.4.

Para poder obtener una mejor estadística en los picos del espectro y para aumentar su sensibilidad es preferible colocar el detector a un ángulo de  $90^\circ$  con respecto a la dirección del haz incidente en la muestra y colocar esta muestra a  $45^\circ$  con respecto a la misma dirección.

#### 2.4. EFICIENCIA DE DETECCIÓN.

Un aspecto importante es la eficiencia absoluta del detector, que depende de la energía de los rayos X emitidos por la muestra al detector. Si la energía de los rayos X producidos es muy baja, la radiación tendrá poca penetración en el detector y por lo consiguiente la interacción que se pudiese producir en el mismo será mínima, ocasionando que la detección de rayos X sea baja. Si la energía es demasiado alta, los rayos X pueden atravesar el detector teniendo poca interacción, produciéndose nuevamente bajos niveles de detección de la radiación. De lo anterior se deduce que es necesario determinar el intervalo de energías en las cuales el detector tiene una buena eficiencia. La dependencia cualitativa de la eficiencia absoluta del detector con respecto a la energía de los rayos X se puede apreciar en la Fig. 2.6.

Como se ha mencionado anteriormente, los elementos ligeros se pueden observar mediante las emisiones K y los elementos pesados mediante la emisión de líneas L. Sin embargo existe un problema, las líneas K de los elementos ligeros se superponen a las líneas L de los elementos pesados, debido a que ambas emisiones se encuentran en la región de mayor eficiencia de detección, ocasionando con ello que el análisis de un espectro se complique de manera sustancial. No obstante, ello no impide que dentro de un análisis puedan ser detectados aproximadamente 15 elementos, si la muestra contiene un número mayor que éstos.

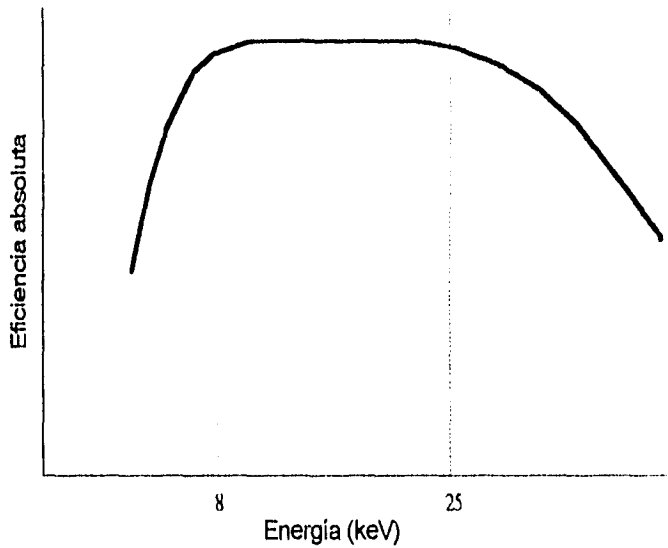


Fig. 2.6. Eficiencia absoluta de un detector de Si(Li) en función de la energía de los rayos X.

## 2.5. ANÁLISIS DE BLANCO DELGADO.

Cuando se tienen muestras construidas como blancos delgados, se supone que no existe pérdida de energía de las partículas incidentes en el material y que no hay atenuación de los rayos X generados por el material de la muestra. Con base en lo anterior, la concentración de cada elemento en el material a analizar puede ser descrita para cada elemento mediante la sección eficaz de ionización a la energía de la partícula incidente ( $E_0$ ) de la siguiente manera:

$$Y_{xi} = \frac{\eta_A \cdot Q \cdot N_A \cdot C_Z \cdot \rho \cdot \omega_i \cdot \pi_i \cdot \sigma_i(E_0) \cdot t}{A_Z} \quad (2.28)$$

donde  $t$  es el espesor de la muestra

Es muy útil en la práctica combinar varias de estas cantidades en una sola, definiéndola como la sensibilidad de la muestra  $k(Z)$  de la siguiente manera:

$$k_i(Z) = \frac{\eta_A N_A \omega_i \Pi_i \sigma_i(E_0)}{A_Z} \quad (2.29)$$

en donde el subíndice  $i$  puede corresponder a la capa K o L. Sustituyendo la ec. (2.29) en la (2.28) tenemos que

$$Y_{xi} = Q \cdot C_Z \cdot k_i(Z) \cdot \rho_Z \cdot t \quad (2.30)$$

Ahora bien, la concentración de un elemento dado con densidad  $\rho_Z$  en un blanco delgado está dada como

$$C_Z = \rho_Z / \rho \quad (2.31)$$

Sustituyendo la ec. (2.31) en la (2.30) tenemos que:

$$Y_{xi} = Q \cdot k_i(Z) \cdot \rho_Z \cdot t \quad (2.32)$$

Si se efectúa el cociente de la masa total  $M(Z)$  de un elemento determinado en un blanco delgado entre su área total ( $S$ ) se tendrá lo que se denomina como la densidad superficial del elemento en ese blanco ( $Ma(Z)$ ), esto es:

$$Ma(Z) = M(Z)/S \quad (2.33)$$

pero  $Ma(Z)$  también queda descrita como el producto de  $\rho_Z \cdot t$ , por lo cual, igualando términos con la ec. 2.33, tenemos que:

$$Ma(Z) = \frac{M(Z)}{S} = \rho_Z \cdot t \quad (2.34)$$

Sustituyendo la ec. 2.34 en la ec. 2.32 es posible obtener la relación entre la cantidad de rayos X emitidos por un elemento y el número total de partículas que inciden en el material, la sensibilidad del elemento en cuestión y la densidad superficial del mismo, lo cual se expresa mediante la siguiente ecuación:

$$Y_{xi} = Q \cdot k_i(Z) \cdot Ma(Z) \quad (2.35)$$

## 2.6. CURVA DE SENSIBILIDAD.

De acuerdo a la ecuación 2.35., es posible expresar la sensibilidad de un elemento como función de Z, midiendo la cantidad de rayos X emitidos de las capas K<sub>a</sub> o L<sub>a</sub> por  $\mu\text{C}$  de carga de un blanco patrón y uniforme mediante un arreglo geométrico de acuerdo a la Fig 2.4. La expresión para obtener lo anterior es la siguiente

$$k_i(Z) = \frac{Y_{xi}}{Q \cdot Ma(Z)} \quad (2.36)$$

Los blancos patrones consisten de capas muy delgadas de elementos o compuestos evaporados sobre películas de Mylar o filtros de Nuclepore ( $Ma = 20-50 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ )

Al medir la carga que incide sobre blancos patrones de diversos elementos y evaluando la cantidad de rayos X ( $Y_{xi}$ ) mediante programas de cómputo, es posible obtener incertidumbres en la determinación de la curva de sensibilidad menores al 10%. Un ejemplo de la curva de sensibilidad se puede ver en la Fig 3.1

Debido a la dependencia con la eficiencia de detección que ofrece el detector a los rayos X, la cual está expresada en la ec. 2.29, la diferencia entre las curvas de sensibilidad para las capas K y L obedece a que la curva correspondiente a la capa K se obtiene mediante elementos ligeros, mientras que la curva de la capa L se obtiene con elementos pesados.

Una vez que se ha obtenido la curva de sensibilidad es posible conocer la cantidad de un elemento dado que contiene una muestra. Sustituyendo la ec. 2.34 en la ec. 2.31., y sabiendo que la masa de la muestra esta dada por  $m = S \cdot t \cdot \rho$  se obtiene que

$$C_Z = \frac{Ma(Z)}{\rho \cdot t} = \frac{Ma(Z)}{m/S} = \frac{Ma(Z) \cdot S}{m} \quad (2.37)$$

De la ec. 2.35 se obtiene que

$$Ma(Z) = \frac{Y_{xi}}{Q \cdot k_i(Z)} \quad (2.38)$$

y sustituyendo esta expresión en la ec. 2.37 tenemos que

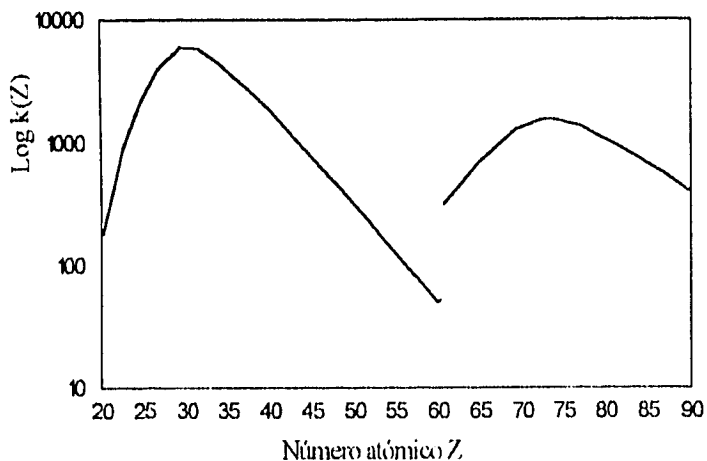


Fig. 3.1. Curvas de sensibilidad de blancos delgados para la capa K y L.

$$C_Z = \frac{Y_{xi} \cdot S}{m \cdot Q \cdot k_i(Z)} \quad (2.39)$$

Lo que nos da la concentración elemental de un elemento dado en un blanco delgado.

## 2.7. CORRECCIÓN POR MATRIZ.

En la mayor parte de los casos no es posible cumplir con el formalismo expresado en la sección anterior para blancos delgados y es frecuente que se encuentren muestras para análisis cuyo espesor se encuentre en el orden de unos pocos  $mg/cm^2$ , lo cual produce una considerable disminución en la energía de las partículas incidentes. Por lo anterior, es necesario aplicar un factor para compensar lo anterior, llamado factor de corrección por matriz, lo cual puede ser expresado de la siguiente manera<sup>[13]</sup>:

$$Y_{xi}^c = F \cdot Y_{xi}^d \quad (2.40)$$

en la cual  $Y_{xi}^C$  es la cantidad de rayos X corregidos, F es el factor de corrección por matriz y  $Y_{xi}^d$  es la cantidad de rayos X que ha captado el sistema de detección

El factor de corrección por matriz  $F(Z)$  se define como el cociente entre la cantidad de rayos X producidos por un blanco delgado  $Y_{xi}^D$  y la cantidad de rayos X producidos por un blanco grueso de un espesor determinado  $Y_{xi}^G$ , esto es:

$$F(Z) = \frac{Y_{xi}^D}{Y_{xi}^G} \quad (2.41)$$

Integrando la ec. 2.26 se obtiene la cantidad de rayos X producida en una muestra de un espesor determinado. La ec. 2.28 nos da la cantidad de rayos X producida por un blanco delgado. Sustituyendo estas dos ecuaciones en la ec. 2.41 se obtiene el factor de corrección deseado, el cual es:

$$F = \frac{\sigma(E_o) \rho t}{\int_{E_o}^{E_f} \frac{\sigma(E(x)) T(x)}{S(E(x))} dE} \quad (2.42)$$

en donde  $\rho t$  es la densidad superficial de la muestra.

Este factor puede ser evaluado si la composición de la matriz y el espesor del blanco son conocidos. La composición de la matriz es necesaria para poder evaluar el poder de frenado de la matriz, el cual, junto con el espesor de la matriz nos dará el límite superior  $E_f$  de la integral. Generalmente es necesario calcular los coeficientes de atenuación  $\mu / \rho$  para los rayos X característicos en la matriz.

De lo anterior, la concentración real de un elemento en cuestión está determinada por la combinación de las ecuaciones 2.39 y 2.40, expresándose de la siguiente manera:

$$C_Z^C = \frac{F \cdot Y_{xi} \cdot S}{m \cdot Q \cdot k_i(Z)} \quad (2.43)$$

en la cual  $C_Z^C$  se expresa en unidades de  $\mu\text{g/g}$ .

Para la obtención de la cantidad de rayos X producidos por cada elemento de la muestra se realizará una deconvolución y una integración de las cuentas de los diversos picos que

corresponden a las diversas líneas de emisión de los elementos existentes mediante el programa AXIL<sup>[18]</sup>

A continuación se calculará el factor de corrección por matriz mediante el programa PIXEMAT. Este programa es necesario alimentarlo con el número de átomos en la muestra, las líneas a emplearse en el análisis ( $K$ ,  $L_{\alpha}$ , o  $L_{\beta}$ , según se requiera), la composición de la muestra, obtenida inicialmente del análisis de blanco delgado y la densidad superficial de la muestra, así como la energía y el ángulo de incidencia del haz de partículas con que se bombardea la muestra, el ángulo de detección de los rayos X respecto a la normal, y finalmente, el número de intervalos de integración

Las magnitudes más importantes involucradas en el programa PIXEMAT son la sección eficaz de producción de rayos X, el poder de frenado y los coeficientes másicos de atenuación de rayos X. Usa el método de Simpson para integración numérica

El cálculo de la sección eficaz de producción de rayos X se realiza a partir de la sección eficaz de ionización según la teoría ECPSSR<sup>[19,20]</sup>. El algoritmo empleado es el desarrollo Smit<sup>[21]</sup>, requiriendo de las tabulaciones de fluorescencia de Krause<sup>[22]</sup>, el cociente  $K_{\beta}/K_{\alpha}$  (necesario para conocer las intensidades relativas) se toma de las tablas de Khan y Karimi<sup>[23]</sup>. Para el caso de las líneas L, se emplean las producciones de fluorescencia de las subcapas de Krause, las probabilidades de transición de Coster-Kronig y las razones de emisión de las tabulaciones de Scofield<sup>[24]</sup>.

El poder de frenado se obtiene de un ajuste con expresiones analíticas, hecho por Eppacher<sup>[25]</sup> a las tablas de Janni<sup>[26]</sup>, donde se proporciona esta magnitud en un amplio intervalo de energías menores a 1 MeV.

El cálculo de los coeficientes másicos de atenuación se realiza a partir de los ajustes semiempíricos de Thin y Leroux<sup>[27]</sup>. La energía de los rayos X no debe sobrepasar los 40 KeV.

La fluorescencia secundaria se calcula mediante el método propuesto por Rickards<sup>[28]</sup>, considerando la atenuación de los rayos X en el material producidos dentro del mismo y que son capaces de excitar a los electrones de los otros elementos, lo cual aumenta la cantidad de rayos X característicos emitidos por estos elementos

Como resultado del empleo de este programa se obtienen los factores de corrección por matriz para cada elemento de los que componen el material, según la composición elemental y la densidad de la muestra proporcionada. Aplicando la ec. 2.43 se obtiene directamente la concentración real de los elementos en el material, concluyéndose así el análisis del blanco de espesor intermedio



Dado que la técnica de PIXE es óptima para la detección de trazas<sup>1291</sup>, ésta fue una de las razones principales por la que se eligió para el análisis de muestras de tejido humano, ya que además, no tiene efectos destructivos en la muestra, lo cual es muy importante en este tipo de estudios y es una técnica de análisis multielemental que permite la obtención de información en corto tiempo. No obstante, se ve limitada en cuanto al rango de detección de elementos, pues sólo es posible detectar aquellos cuyo número atómico es mayor a 11, debido a la atenuación de los rayos X producidos en la muestra por los absorbentes existentes entre ella y el detector.

3

**DESARROLLO,  
EXPERIMENTO Y  
RESULTADOS**

En este capítulo se describirán los dispositivos y procedimientos experimentales empleados en este trabajo

### 3.1. ACCELERADOR ELECTROSTÁTICO VAN DE GRAAFF.

Para hacer el análisis multielemental con PIXE se usaron protones como haz incidente. Para producir el haz, se empleó un acelerador Van de Graaff (VDG), la energía del haz fue de 0.7 MeV. A continuación se hace una breve descripción del funcionamiento de este tipo de aceleradores

El acelerador empleado en particular es un VDG modelo AN-700 fabricado por la compañía High Voltage Engineering Corporation, el cual emite un haz de protones que cubren un intervalo de 0.1 a 0.7 MeV. En la fig. 4.1 se muestra el interior del acelerador señalando sus componentes más importantes<sup>[30,31]</sup>

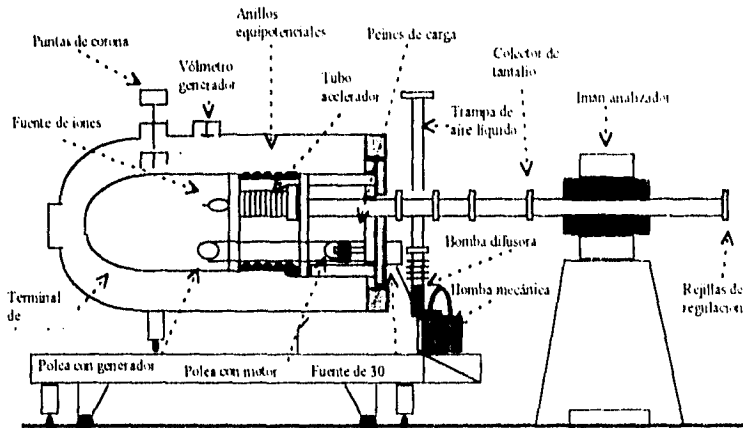


Fig. 4.1. Interior del acelerador Van de Graaff de 0.7 MV.

El haz de protones es producido en el interior del acelerador, ionizando hidrógeno dentro de una cápsula de cuarzo por medio de radiofrecuencia aplicada entre dos electrodos. El haz de protones es acelerado por una diferencia de potencial eléctrica producida entre la terminal de alto voltaje y una terminal a tierra. La terminal de alto voltaje se carga eléctricamente por medio de una banda, movida mediante un sistema de poleas, que transporta a la terminal de

alto voltaje la carga suministrada por una fuente de voltaje de 30 kV a través de un sistema de peines de carga. La banda deposita la carga en la terminal de alto voltaje, la cual se encuentra separada de la terminal aterrizada por un sistema de 18 platos equipotenciales, cada uno con una impedancia de 1250 M $\Omega$ .

Dentro de la terminal de alto voltaje se encuentran la fuente de iones y los sistemas electrónicos mediante los cuales se controla la producción de iones, tipo, cantidad, enfoque primario y la energía a la cual van a ser acelerados. Tanto el sistema electrónico, el de ionización y la terminal de alto voltaje se encuentran totalmente aislados. Debido a esto, son alimentados eléctricamente por una corriente producida por un generador de corriente alterna conectado al sistema mecánico de poleas de la banda.

La diferencia de potencial entre las terminales se mide empleando un voltmetro generador que produce y envía a la consola de control pulsos de voltaje proporcionales en altura a la diferencia de potencial entre las terminales.

El interior del acelerador tiene una atmósfera de hexafluoruro de azufre, a una presión de 5 kg/m<sup>2</sup>, la cual constituye un medio aislante entre el interior y el exterior del acelerador para evitar descargas.

Una vez que el haz de protones se ha producido, éste se envía a las diferentes líneas de conducción mediante un imán analizador, el cual es capaz de orientar el haz de protones proveniente del acelerador a cuatro líneas de conducción a 22.5°, -22.5°, 45° y -45°. Aquí se utilizó la línea de conducción de 22.5° que está construida con tubos de acero inoxidable, de diámetro de 0.06 m, y con una longitud aproximada de 3 m. A lo largo de esta línea se encuentran varios dispositivos conectados: una trampa de nitrógeno líquido, válvulas electroneumáticas, bombas mecánicas y de difusión. Estos dispositivos pueden observarse en la Fig. 4.1.

La función de la trampa de nitrógeno líquido es condensar y evacuar gases que posiblemente serían ionizados o transportados por el haz de protones y que pudiesen contaminar el interior de la línea de conducción.

El acelerador cuenta con tres sistemas de vacío, uno de ellos conectado cerca de la base del acelerador, que evacúa el tubo acelerador y la fuente de iones, el segundo sistema está ubicado a la salida del imán analizador y el tercero se encuentra situado cerca de la cámara para análisis. Cada uno de los sistemas está constituido por una bomba de difusión y una bomba mecánica, una trampa de nitrógeno, válvulas de vacío, medidores de vacío y sistemas electrónicos de protección por falta de flujo hidráulico. Las válvulas de vacío son electroneumáticas y se cierran automáticamente cuando se presenta una pérdida de vacío. Estos sistemas pueden evacuar hasta una presión de 10<sup>-6</sup> Torr.

### **3.2. SISTEMA DE DETECCIÓN DE RAYOS X.**

El sistema de detección asociado al acelerador consta de un detector de Si(Li) Debido a que la difusión del litio es extremadamente grande a temperatura ambiente, estos detectores deben ser mantenidos todo el tiempo a temperatura de nitrógeno líquido. Este tipo de detectores poseen un nivel de amplificación bajo, por lo tanto es necesario que las señales producidas por éste pasen a través de un preamplificador, el cual debe tener una ganancia muy alta con un nivel de ruido térmico muy bajo. El preamplificador también debe ser mantenido a temperatura de nitrógeno líquido.

Al incidir los rayos X provenientes de la muestra sobre el detector, se generan en éste una gran cantidad de pares electrón-vacante. La conversión de energía en un detector de Si(Li) es muy eficiente, ya que para producir un par electrón-vacante se requiere de sólo 3 eV, lo cual proporciona un alto nivel de resolución, pudiendo distinguirse líneas espectrales de las mismas series de elementos de números atómicos cercanos entre si.

Es necesario calibrar el sistema periódicamente debido a que en el transcurso del tiempo, este tipo de detectores se ve afectado en sus parámetros de resolución, intervalos de energías y eficiencia.

Las características del detector de Si(Li) son: marca Ortec, mod. SLR06165 con ventana de berilio de 0.025 mm, polarización del detector a -1500 V, resolución del detector de 200 eV a 5.9 keV, caja de Faraday de grafito.

Asociado al detector de Si(Li), se encuentra el sistema electrónico el cual tiene como función el procesamiento de los pulsos eléctricos provenientes del cristal semiconductor, y consta de una fuente de alto voltaje, preamplificador, amplificador, analizador multicanal, integrador de corriente y computadora asociada.

### **3.3. CÁMARA DE DISPERSIÓN PIXE.**

La cámara de dispersión empleada es de forma cilíndrica, fabricada en acero inoxidable con varias entradas y diseñada para realizar análisis con la técnica PIXE. En la Fig. 4.2 se puede ver un dibujo simplificado del arreglo experimental de una cámara PIXE para el análisis de un blanco delgado, que consta de un colimador, el portamuestras, la caja de Faraday, el detector, el sistema asociado al detector y el analizador multicanal vinculado a una microcomputadora.

La cámara se mantiene durante el experimento a una presión de  $10^{-6}$  Torr. El portamuestras se mantiene aislado eléctricamente de la cámara. Este portamuestras sostiene el marco que

soporta propiamente a la película delgada, la cual es atravesada por el haz de partículas, generándose rayos X correspondientes a las líneas de emisión de cada elemento que componen a la muestra. Los rayos X característicos son captados por el sistema de detección, procesados y enviados al analizador multicanal y después a la computadora donde se conforma el espectro PIXE.

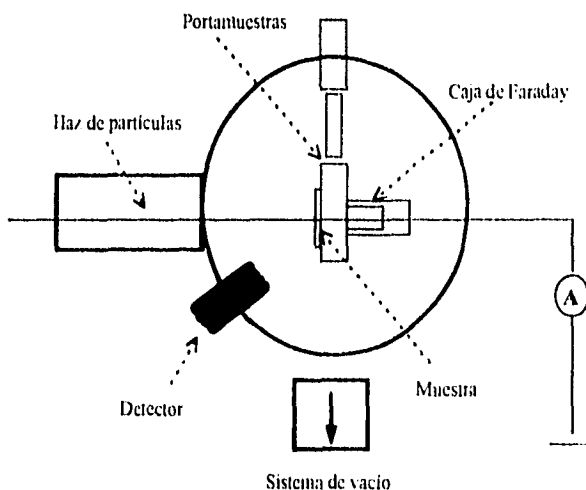


Fig. 4.2 Dibujo simplificado de la disposición experimental de una cámara PIXE para el análisis de un blanco delgado.

### 3.4. CURVA DE SENSIBILIDAD.

El término sensibilidad se define para el análisis de muestras delgadas, como el número de cuentas detectadas por microgramo por  $\text{cm}^2$  de elemento en el blanco por nC para las líneas  $K_{\alpha}$ .

Para obtener la curva correspondiente se emplearon los siguientes parámetros: Haz de protones de 0.7 MeV de energía, incidencia normal del haz con respecto a la muestra, ángulo del detector de  $20^\circ$  con respecto al haz de partículas.

Los patrones empleados para la calibración del sistema se obtuvieron de la compañía Micromatter y fueron los siguientes: Al, SiO, GaP, CuS<sub>2</sub>, NaCl KI, CaF<sub>2</sub>, ScF<sub>3</sub>, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, ZnTe, Ge, CsBr, SrF<sub>2</sub> y RbI

Una vez obtenido el espectro correspondiente de cada patrón, se analizó mediante el programa AXIL, el cual integra las cuentas bajo los picos de cada línea de emisión de los elementos correspondientes. Teniendo la densidad superficial de las películas y la carga integrada para cada espectro se obtiene, mediante la ec 2.36 la curva de sensibilidad correspondiente. Los datos experimentales se pueden observar en la Tabla 4.1 y la curva correspondiente se puede observar en la Fig. 4.3

Elemento	Número atómico	Energía K $\alpha$ keV	Sensibilidad k(Z) I/( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) $\mu\text{C}$
Mg	12	1.254	12.64
Al	13	1.487	43.18
Si	14	1.740	113.62
P	15	2.015	230.26
S	16	2.307	359.43
Cl	17	2.622	432.13
Ar	18	2.957	400.13
K	19	3.312	285.36
Ca	20	3.690	228.06
Sc	21	4.088	170.18
Ti	22	4.508	126.99
V	23	4.949	94.76
Cr	24	5.411	70.71
Mn	25	5.895	52.76
Fe	26	6.400	39.37
Co	27	6.925	29.38
Ni	28	7.472	21.92
Cu	29	8.041	16.36
Zn	30	8.631	12.21
Ga	31	9.243	9.11
Ge	32	9.876	6.80
As	33	10.532	5.07
Se	34	11.210	3.79
Br	35	11.907	2.82
Kr	36	12.630	2.11
Rb	37	13.375	1.57
Sr	38	14.142	1.17

Tabla 4.1. Valores de sensibilidad correspondientes al sistema de detección de la cámara PIXE del acelerador Van de Graaff de 0.7 MV.

Una vez obtenida la curva de sensibilidad, se procedió a la preparación de las muestras a analizar.

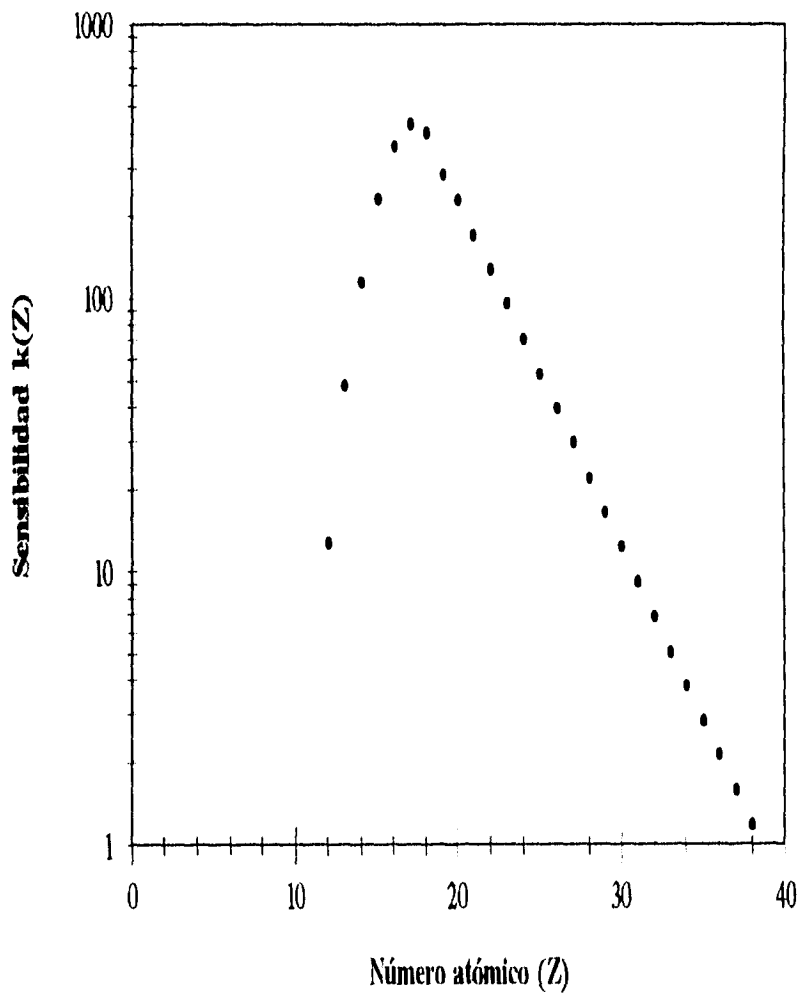


Fig. 4.3. Curva de sensibilidad obtenida experimentalmente para las líneas K correspondiente al sistema de detección de la cámara PIXE del acelerador Van de Graaff de 0.7 MV.



### **3.5. CONSIDERACIONES BÁSICAS PARA LA PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS.**

Como se mencionó en el primer capítulo, el interés de este estudio radica en que la incidencia de cáncer de pulmón en el país se ha incrementado notablemente en los últimos años, convirtiéndose en una de las principales causas de muerte. Este tipo de enfermedad es muy difícil de erradicar y prácticamente el 100% de los pacientes que llegan a las Instituciones de Salud padeciendo la enfermedad mueren a los 3 años como máximo después de efectuar el diagnóstico, por ello es prioritario establecer las causas que lo provocan.

Una de las técnicas que han sido empleadas para el estudio de tejidos, tanto en animales como en humanos es la técnica de PIXE. Esta permite el análisis multielemental de las muestras de tejido con relativa facilidad, sin alterar las estructuras orgánicas que se analizan<sup>[32,33,34,35]</sup>.

Para desarrollar el trabajo se tomaron en cuenta los siguientes aspectos en la preparación de muestras:

1 - La patología a analizar debería haberse originado en el órgano del cual se fuese a extraer el tejido para análisis, con el objeto de que los componentes que se consideran como causa de la enfermedad se encontrasen en su estado original y sin la influencia de agentes internos propios del organismo que pudiesen provocar su modificación.

2 - Dado que usualmente la técnica empleada para el combate de estas enfermedades es la quimioterapia, los medicamentos empleados tienen un alto contenido de metales, tales como cromo, platino, titanio, plata, etc, los cuales son fácilmente absorbidos por los tejidos, provocando la contaminación de la muestra y alterando sus componentes originales, por lo tanto se requería que el tejido a analizar fuese de organismos cuya enfermedad no hubiese recibido tratamiento alguno.

3 - El tejido debía ser obtenido lo más pronto posible a partir de la muerte del organismo, pues los mecanismos de degradación comienzan a actuar de manera inmediata, lo cual puede provocar cambios drásticos en la composición de los tejidos. Lo mismo puede suceder si se trata de conservar el organismo, aun cuando el nivel de degradación sería menor.

4 - La extracción del tejido debería efectuarse en las condiciones más limpias posibles, empleando instrumentos que no llegasen a producir contaminación. Por ejemplo, el empleo de bisturíes de acero provoca contaminación al cortar tejido orgánico.

5 - La preparación de las muestras para irradiación debía efectuarse inmediatamente después de extraer el tejido del organismo. Las razones para ello son las mismas que en el punto

No 3, además de que los factores ambientales pueden actuar sobre el tejido tumoral extraído y modificar con mayor facilidad su composición.

6.- El método de preparación de las muestras debería producir el mínimo de alteraciones en el tejido, ello con el objeto de conservar las cantidades y proporciones de sus componentes.

### **3.6. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS.**

De acuerdo a las consideraciones básicas, la preparación de las muestras se llevó a cabo de la siguiente manera:

Dado que la obtención de un tejido canceroso humano es difícil de conseguir y pocas personas pueden tener acceso a ellos, en primera instancia se pensó cultivar tejido canceroso en ratones. Llevando esto a cabo se inyectaron células infectadas en ratones de la cepa Balb-C. Posteriormente se prepararon una serie de muestras para analizar, pero se concluyó que esto tendría muchos inconvenientes, ya que la reproducción de las células inyectadas no fuese exactamente a como se reproducirían en un ser humano, alterándose los componentes originales del tumor.

Sin embargo la oportunidad de obtener un tejido se presentó en el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER), en el cual se concentra la mayor cantidad de enfermos de cáncer de pulmón en el país.

La muestra de tejido se obtuvo de un paciente de 65 años al cual le fue diagnosticada la enfermedad en sus últimas etapas y solamente se le administraron dietas especiales y medicamentos paliativos para contrarrestar los efectos de su padecimiento.

El tejido para análisis se obtuvo durante la autopsia del cadáver, empleando para efectuar las incisiones un cuchillo de vidrio, ya que los bisturís habituales pueden producir contaminación por la hoja de acero. Obtenida la muestra se procedió a lavarla con agua bidestilada y desionizada, conservándola en un refrigerador a -50 °C.

24 h. después, se procedió a su pulverización. Primeramente se mezcló el tejido con agua bidestilada y desionizada, se colocó en un sonicador para su desintegración, generándose una especie de pulpa, la cual se colocó en un liofilizador para la extracción del agua a una presión de  $10^{-3}$  Torr., a temperatura ambiente por espacio de 24 h., así se obtuvo un material totalmente seco y pulverizado.

Para formar una película de polvo primeramente se preparó una hoja de Mylar, la cual se dividió en cuadros de 2 cm x 2 cm, simultáneamente se preparó una solución líquida compuesta de grasa Ápiezon con solvente toluol en una charola adecuada.

Se impregnó el Mylar sumergiendo una cara de cada cuadro dentro de la charola que contenía la solución, procurando una adherencia uniforme de la solución al Mylar. Una vez que se secó el toluol, en el Mylar quedó una delgada capa de grasa. En todo momento para el manejo del Mylar se emplearon guantes y pinzas.

Posteriormente se prepararon las muestras espolvoreando el tejido sobre cada uno de los cuadros de Mylar con grasa, ello con el objeto de que la grasa le diese un mayor soporte al polvo y no se desprendiese, se sacudió el Mylar de tal modo que sólo quedara una delgada capa de polvo en él. Se consideró que el empleo de la grasa no afectaba al análisis de las muestras, ya que los constituyentes de la grasa son carbono, nitrógeno y oxígeno, los cuales no pueden ser detectados mediante esta técnica.

Durante este proceso se empleó una balanza analítica de alta resolución (1  $\mu\text{g}$ ) para pesar cada cuadro de Mylar en diversas etapas: antes de impregnarlo con la solución de grasa, después de ser impregnado de ésta y después de que se espolvoreó el material a analizar. Así se obtuvo la densidad superficial de cada una de las muestras.

Cada cuadro de Mylar se montó en un soporte para diapositiva con un negativo de película al cual se le ha efectuado un orificio en el centro para colocar el cuadro de Mylar espolvoreado con la muestra para análisis.

Se prepararon 29 muestras, ya que la cantidad de tejido conseguida fué pequeña.

### **3.7. ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS.**

Las 29 muestras preparadas se irradiaron en la cámara PIXIE bajo los mismos parámetros con los cuales se calibró el sistema siguiendo la configuración de blanco delgado, y se obtuvieron los espectros de cada muestra, uno de los cuales se puede observar en la Fig. 4.4. Después se obtuvieron las cuentas bajo la curva mediante el programa AXIL.

Para realizar el análisis de las muestras se emplearon los siguientes parámetros: Haz de protones de 0.7 MeV de energía, incidencia normal del haz con respecto a la muestra. Angulo del detector de 20° con respecto al haz de partículas, detector de Si(Li) marca Ortec, mod. SLR06165 con ventana de berilio de 0.025 mm, polarización del detector a -1500 V, resolución del detector de 200 eV a 5.9 keV, caja de Faraday de grafito.

Posteriormente se efectuó el análisis cuantitativo de las muestras mediante la ec. 2.39, empleando el área del blanco, la cantidad de material, la carga integrada, la sensibilidad para cada elemento y el número de cuentas obtenido.

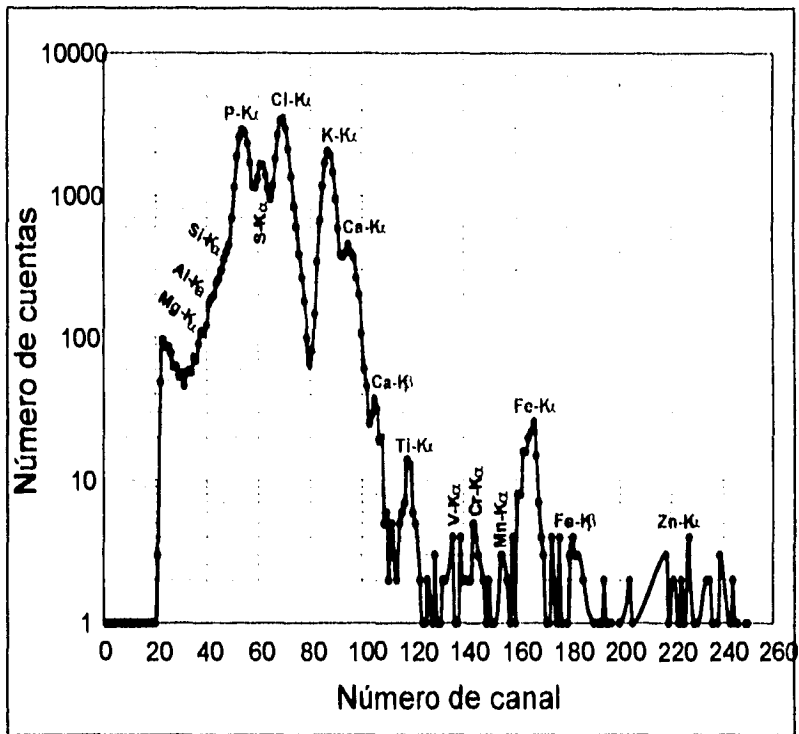


Figura 4.4. Espectro de tejido pulmonar canceroso obtenido de una de las muestras analizadas en el que se muestran líneas de emisión de algunos de sus componentes.

Las concentraciones obtenidas de esta manera no han sido corregidas por el factor de matriz, por lo cual se emplearon el programa PIXEMAT, los parámetros de la irradiación de las muestras y la composición promedio del tejido pulmonar sano, los cuales se aplicaron a las concentraciones calculadas anteriormente, obteniéndose con ello las concentraciones de material corregido en peso seco, esto es, la composición de cada una de las muestras.

Al efectuar el cálculo del factor de corrección se observó que este afecta en gran medida a la concentración no corregida pues sus valores oscilaban entre el 100% y 200%, lo cual indica que la corrección por matriz altera el valor de la concentración no corregida al doble o triple de esta.

Posteriormente se efectuó el promedio de las concentraciones de los elementos de las 29 muestras junto con su incertidumbre<sup>[36]</sup> las cuales se pueden ver en la tabla 4 2

El cálculo de la incertidumbre se realizó mediante la siguiente ecuación:

$$\sqrt{(\sigma_{m_i}/n)^2 + (\delta m_i)^2} \quad (3.1)$$

En la cual  $\sigma_{m_i}/n$  es la evaluación de la incerteza mediante el análisis estadístico de todos los resultados obtenidos durante la irradiación de cada una de las muestras (Incerteza tipo A) y  $\delta m_i$  es la evaluación de la incerteza debidas a parámetros tales como especificaciones de fabricantes, calibraciones previas e incertezas de parámetros obtenidas de manuales de referencia (Incerteza tipo B).

En esta tabla también se puede observar la referencia de la composición promedio del tejido pulmonar sano<sup>[37]</sup>, así como la composición de tejido pulmonar analizado por Bartsh y colaboradores<sup>[38]</sup> empleando la misma técnica y la composición obtenida por Shuichi y colaboradores<sup>[39]</sup> obtenida mediante espectroscopia por absorción atómica.

4  
CONCLUSIONES

TABLA 4.2. COMPOSICIÓN PROMEDIO DE LAS 29 MUESTRAS DE TEJIDO PULMONAR ANALIZADO Y VALORES DE REFERENCIA PARA LA COMPOSICIÓN TÍPICA DE ESTE TEJIDO.

Elemento	Cz ( $\mu\text{g/g}$ ) Corregida	Cz ( $\mu\text{g/g}$ ) Ciba-Geigy <sup>(17)</sup>	Cz ( $\mu\text{g/g}$ ) Bartsch <sup>(18)</sup>	Cz ( $\mu\text{g/g}$ ) Suichi <sup>(19)</sup>
Mg	1898 $\pm$ 171	315		426.4
Al	2097 $\pm$ 98	267		
Si	2155 $\pm$ 67			
P	8588 $\pm$ 171	5400		
S	4537 $\pm$ 104	5715		
Cl	8814 $\pm$ 200	11700		
K	8241 $\pm$ 203	6750	7450	
Ca	1404 $\pm$ 49	765	1050	1784
Ti	47 $\pm$ 7		12.5	
V	5 $\pm$ 2			
Cr	8 $\pm$ 2		2.85	4.74
Mn	4 $\pm$ 1	1		
Fe	473 $\pm$ 42		1050	1170
Co	11 $\pm$ 3			0.21
Ni	10 $\pm$ 1		0.4	1.67
Cu	12 $\pm$ 1	5	7.5	14.5
Zn	28 $\pm$ 8		54.5	128.3

## CONCLUSIONES.

De la tabla 4.2 se observa que los elementos de número atómico bajo, esto es, del magnesio hasta el calcio, se encuentran abundantemente dentro de la composición de las muestras analizadas; no así los elementos cuyo número atómico es mayor a los anteriores, lo cual es de esperarse, ya que todas las estructuras del cuerpo humano se componen fundamentalmente de elementos ligeros y muy pocos elementos con número atómico grande se encuentran dentro de su composición elemental, tales como el plomo, el estaño y la plata

Comparando los resultados obtenidos con respecto al los valores de referencia de Ciba-Geigy se puede ver un gran aumento en constituyentes como el magnesio, aluminio, calcio, manganeso y cobre. Así mismo se observa que existe deficiencia en un componente, el cloro. Tres elementos presentan similitudes en cuanto a la cantidad de material presente en el tejido, tal es el caso del fósforo, el azufre y el potasio.

Hay que hacer notar que los elementos detectados y que no aparecen en los registros de Ciba-Geigy no deberían existir dentro de la composición del tejido o deberían presentarse en cantidades de 1-2  $\mu\text{g/g}$ . Sin embargo se puede ver que por ejemplo, existen 2155  $\mu\text{g/g}$  de silicio, llegando hasta el elemento de menor concentración detectado, que es el manganeso, el cual presentó 4  $\mu\text{g/g}$

Al comparar los resultados obtenidos en el presente trabajo con aquellos obtenidos por Bartsch y colaboradores mediante la misma técnica de análisis se ve que los resultados pueden ser comparables entre sí sólo para algunos elementos, pues se observan fuertes diferencias en las concentraciones de titanio y níquel. Ello se puede atribuir a que en nuestro caso, las líneas de emisión empleadas para el análisis cualitativo fueron las  $X K_{\alpha}$ , dado que la energía del haz de protones fue de 0.7 MeV, no así en el estudio de Bartsch, pues él emplea una energía de 3 MeV, lo cual le permite analizar con mayor detalle la composición de las muestras mediante líneas de emisión  $X K_{\alpha}$ ,  $X K_{\beta}$ ,  $X L_{\alpha}$  y subsiguientes

Efectuando nuevamente una comparación de los resultados obtenidos con estudios de tejido pulmonar efectuados por Shuichi y colaboradores mediante espectroscopía por absorción atómica se puede ver un comportamiento similar al anterior, pues las únicas concentraciones parecidas a las encontradas en este trabajo son las que corresponden al calcio y al cobre. Se puede ver que la concentración del cinc y hierro determinadas están muy por debajo de su contraparte, no así las concentraciones de los demás elementos, pues los resultados obtenidos son mayores

Con base en la incertidumbre calculada se puede ver que existen grandes diferencias entre las que corresponden a los elementos de número atómico bajo, desde el magnesio hasta el calcio incluyendo el hierro con respecto a los demás elementos. Básicamente lo anterior se debe a



que en el primer caso siempre aparecen todos los elementos en las muestras, mientras que los elementos de mayor número atómico aparecían en algunas muestras y en otras no, además de que son menos abundantes, lo cual tiene como consecuencia un aumento en la incerteza de estos (de 15 a 30 %) con respecto a los elementos del primer grupo, los cuales presentan una incertidumbre que oscila entre el 2% y 9%

De los resultados obtenidos en el análisis cuantitativo elemental expuesto al analizar las muestras de tejido pulmonar mediante la técnica de PIXE podemos obtener las siguientes conclusiones:

1.- Es posible que la patología presente en el tejido pulmonar analizado pueda ser causada por alteraciones en las concentraciones de los constituyentes básicos de mismo

2.- En este estudio se encontraron constituyentes del tejido infectado que no están presentes en tejido sano, lo cual indica que tales elementos pudieron concentrarse allí por las siguientes causas:

2.1. Debido a mecanismos propios del metabolismo corporal del individuo los cuales pueden desencadenar su concentración en pulmón

2.2. Ingestión de sustancias en las que estuviesen presentes tales constituyentes, siendo estas asimiladas por el tejido pulmonar.

2.3. Incorporación de estos elementos por vía aérea.

3.- Es posible que los elementos encontrados, que deberían ser ajenos a la composición del tejido, pudiesen haber sido asimilados del ambiente en el que vivió el paciente.

4.- Es de llamar la atención que en las muestras analizadas se encontraron 2155 µg/g de silicio, siendo que este constituyente no debería encontrarse dentro de la composición del tejido pulmonar.

5.- Uno de los materiales que contiene silicio es el asbesto, el cual es muy común dentro de nuestra vida cotidiana. La presencia de silicio en el tejido pulmonar se denomina silicosis, siendo esta la causa directa de la patología denominada mesotelioma, que es una de las variedades dentro del cáncer de pulmón.<sup>[40]</sup>

6.- Se sabe que existe una relación directa entre la generación del mesotelioma y la incorporación de asbesto en el tejido pulmonar, pero se desconocen los mecanismos mediante los cuales el silicio puede desencadenar la enfermedad. Es posible que efectuando

más estudios de muestras provenientes de pacientes con la misma patología, se pudiesen acalarar un poco esos mecanismos.

7.- En base al punto No. 2, cabe la posibilidad de que el silicio en forma de asbesto pudiese ser incorporado a los pulmones por vía aérea, ya que la fijación común de éste es en forma de fibras de asbesto (asbestosis) al tejido pulmonar.

8.- La comparación efectuada con dos estudios más y cuyo objetivo era el mismo revela que es posible aplicar la técnica de PIXE para determinar la concentración de elementos en tejido biológico con un buen grado de certeza.

Considerando lo expuesto, se podría plantear un proyecto para el desarrollo de este tipo de análisis en tejido orgánico, en el cual se pudiese disponer de suficiente material como para poder establecer relaciones firmes entre una patología determinada y los componentes que la constituyen; todo ello con el apoyo de otras disciplinas, tales como la biología molecular y la patología.

La ejecución de lo anterior representaría un gran apoyo en el área de la investigación en las ciencias médicas dentro del área oncológica, y específicamente en el campo de la oncología pulmonar, pues como se sabe, actualmente los índices de cáncer pulmonar en la población no disminuyen, sino que, al contrario, presentan un fuerte incremento en su incidencia y se espera que para el año 2000 esta patología pase a ocupar el primer lugar en cifras de mortandad por cáncer dentro del área, sin que se vislumbre a corto o mediano plazo una cura efectiva para esta enfermedad.

## REFERENCIAS

## REFERENCIAS.

- [1] Denoix, F. Clefs. Pour la Cancerologie. Editorial Seghers. Paris, 1974
- [2] Brottwell, D, Sandison A.T. Diseases in Antiquity. Publ. C. C. Thomas. Springfield Illinois, 1967
- [3]. Dubos, Rene. Mirage of Health Utopias: Progress and Biológicoal Changes. Harper and Row Publ. Inc. 1959
- [4] Lain, Entralgo P. Historia de la Medicina. Salvat Editores S.A. Barcelona, 1982.
- [5] Pérez Tamayo, T. Principios de Patología. La Prensa Médica Mexicana, México, 1959.
- [6]. Aurelio Cornelio Celso. Los Ocho de la Medicina, Vol. I. Publ. Gráficas Diamante. Barcelona, 1966.
- [7]. Garrison, F.H. An Introduction to the History of Medicine. W.B. Saunders Co. Philadelphia, 1992
- [8] J.I. Murray, L.M. Axtell. Impact of Cancer. Years of Life Lost Due to Cancer. The Journal of The National Cancer Institute, 52 (1974) p. 3-7.
- [9]. Juan Jaramillo Antillón. Cancer, Vol. I. Universidad de Costa Rica, 1991.
- [10]. Eugenio Santos. El Cáncer. Libros de Investigación y Ciencia. Prensa Científica. España, 1986.
- [11]. Z.W. Zagulla-Mally, E.W. Rosenberg, M. Kashgarian. Frequency of Skin Cancer and Solar Keratoses in a Rural Southern County as Determined by Population Sampling. Cancer 34 (1974) p. 345-349.
- [12]. E. Koltay. Proton Induced X-Ray Emission, Spectroscopy in Atomic and Solid State Physics. NATO ASI, Series B, Vol. 187, Plenum Press. N.Y. 1988.
- [13]. S.A.E. Johansson, J.L. Campbell. "PIXE: A Novel Technique for Elemental Analysis". John Wiley & Sons. Chichester, 1988
- [14]. S.A.E. Johansson, T.B. Johansson. Analytical Application of Particle Induced X-Ray Emission. Nucl. Instr. Meth. 137 (1976).

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

- [15] F.Folkman J. Phys E8 (1975) p 429
- [16] W. Bambynek et. al Rev Mod. Phys 44 (1972), p 716
- [17] Javier Miranda Martín del Campo Técnicas Analíticas de Origen Nuclear: Un Curso Introductorio. U.N.A.M. 1996
- [18]. P. Van Espen, H. Nullens, W. Maenhaut. Microbeam Analysis. D.E. Newbury San Francisco Press San Francisco, 1979, p. 265.
- [19]. G. Basbas, W. Brandt, R. Laubert Phys. Rev. A 7 (1973), p. 983.
- [20]. W. Brandt, G. Lapicki Phys. Rev. A 23 (1981), p 1717
- [21]. Z. Smit. Nucl. Instr. Meth B36 (1989), p 254.
- [22] M.O. Krause. J. Phys. Chem Ref Data 8 (1979), p. 307.
- [23]. Md. R. Khan, M.Karimi, X-Ray Spectrum 9 (1980), p.32
- [24]. J. H. Scofield, At. Data and Nucl. Data Tables 14 (1979), p. 109.
- [25]. C. Eppacher, D. Semrad, Nucl. Instr. Meth. B35 (1988), p.109.
- [26]. J.F. Janni, At. Data and Nucl. Data Tables. 27 (1982) p 147, p.341.
- [27]. T.P. Tinh, J. Leroux. X-Ray Spectrum. 8 (1979) p. 85.
- [28]. J.R.Rickards, E.P. Zironi. Nucl. Instr. Meth. B29 (1987), p. 527.
- [29]. F. Folkman, J. Borggreen, A. Kjeldgard. Nucl Instr. Meth 119 (1974), p.117.
- [30]. I Curso Regional sobre Aplicaciones de los Aceleradores de Partículas. Notas I.F.U.N.A.M. México, 1993.
- [31]. The Model AN700 Positive Ion Accelerator, High Voltage Engineering Instruction Manual.
- [32]. Niels Hertel, Ole Thorlacius. Ussing PIXE Analysis of Biomedical Samples Nucl Inst and Meth. in Physics. Res B22 (1987) p. 29-33.

- [33] Akira Maruashi y col. Several Problemas on the Aplicacion of PIXE to Cancer Diagnosis Nucl. Inst. and Meth. in Physics Res. B3 (1984), p. 382-384.
- [34] Janusz Gafuzsca. The Influence of Target Preparation and Mode of Irradiation on PIXE Analysis of Biological Samples. Nucl. Inst. and Meth. in Physics Res. B3 (1984), p. 141-146
- [35] Maenhaut, W. Particle-Induced X-Ray Emission (PIXE) Analysis of Biological Materials: Precision, Accuracy and Aplicacion to Cancer Tissues. Nucl. Instr. and Meth. 168, (1980), p. 557-562.
- [36] Barry N. Taylor, Chris E. Kuyatt. Guidelines for Evaluating and Expressing the uncertainty of NIST Measurements Results. NIST Technical Note 1297. Estados Unidos, 1994.
- [37] Documenta Geigy. Tablas Cientificas. Sexta Edición. Basilea, Suiza, 1965, p. 530
- [38] P. Bartsch, A. Collignon, G. Weber, G. Robaye, Y. Roelandts, J.M. Delbrouck, J. Yujie. Arch. Environ. Health 37 (1982), p. 111-117
- [39] Shuichi Adachi. Metal Concentration in Lung Tissue of Subjects Suffering from Lung Cancer. Int. Arch. Occup. Environ. Health. (1991) 63, p. 193-197
- [40] Seminars in Diagnostic Pathology. Vol. 9. No. 2. Estados Unidos, 1992.