

21. NATELSON, S. and B. SHEID: Clin. Chem. **6**, 299, 314 (1960); vgl. diese Z. **182**, 155 (1961).
22. — — Anal. Chem. **33**, 396 (1961); vgl. diese Z. **188**, 449 (1962).
23. — — Clin. Chem. **7**, 115 (1961).
24. — — Clin. Chem. **8**, 17 (1962).
25. — — and D. R. LEIGHTON: Clin. Chem. **8**, 630 (1962).
26. — A. N. VASSILEVSKY, P. K. DE, and W. R. WHITFORD: Microchem. J. **8**, 295 (1964); vgl. diese Z. **217**, 116 (1966).
27. —, and W. R. WHITFORD: Methods Biochem. Anal. **12**, 1 (1964).

Dozent Dr. G. HAUCK
Institut für Gerichtliche und Versicherungsmedizin
der Universität
7800 Freiburg i. Br., Albertstraße 9

Anwendung der Elektronen-Mikrosonde zur Röntgenemissionsanalyse in biologischem Material

E. WEINRYB

Applied Research Laboratories, LeMesnil St. Denis (Frankreich)

Eingegangen am 20. September 1968

Application of the Electron Micro-Probe to the X-Ray Emission Analysis of Biological Material. After discussion of some basic principles of the apparatus and technique used the following examples of application are mentioned: determination of fluorine in teeth, determination of foreign particles in lung tissue, and analysis of dried solutions.

Die Anwendung der Röntgenspektrometrie in der chemischen Analyse ist schon lange bekannt. Bereits 1913 veröffentlichte MOSELEY die physikalischen Grundlagen dieser Technik. Ihre Verwendung in der analytischen Alltagspraxis ist jedoch erst in neuester Zeit üblich geworden. Das Prinzip ist sehr einfach: eine Substanzprobe, die von einem Elektronenbündel getroffen wird, strahlt ein kompliziertes Röntgenspektrum aus, das die charakteristischen Linien der verschiedenen Elemente, die sich im bombardierten Punkt befinden, aufweist. Die Auswertung dieses Spektrums ermöglicht die Bestimmung der Zusammensetzung und Konzentration dieser Elemente.

Aufbau des Mikroanalysators

Der Elektronenstrahl-Mikroanalysator, dessen erstes Modell von GUINIER u. CASTAING [1] (1951) beschrieben wurde, stellt eine Anwendung dieser Technik für sehr kleine zu analysierende Bereiche dar.

Das Elektronenbündel, das man auch „Sonde“ nennt, ist in einer klassischen Elektronenkanone enthalten, die einen Wolfram-Glühfaden ent-

hält, der die Elektronen abgibt. Die Geschwindigkeit der Elektronen wird durch stabilisierte Hochspannung festgelegt. Elektronenoptische Linsen erlauben die Focusierung des Bündels auf die Oberfläche der zu analysierenden Probe [2].

Die Messung der emittierten Röntgenstrahlen erfolgt mit Röntgenspektrometern, die rund um die Elektronenoptik angeordnet sind. Sie enthalten Dispersionskristalle und Röntgendetektoren und befinden sich im Hochvakuum, um Röntgenstrahlen großer Wellenlänge (d. h. kleiner Energie) messen zu können.

Ein Probenhalter, der sich unter Vakuum bewegen kann, ermöglicht es, die zu analysierende Probe oder eine der Eichproben unter die Sonde zu bringen.

Punktanalysen über $1\ \mu\text{m}$ werden durch Vergleich der Röntgenintensitäten der Probe und einer Eichprobe durchgeführt. In erster Annäherung ist das Verhältnis dieser Intensitäten dem prozentualen Gehalt der zu analysierenden Elemente gleich.

Aufnahme von Bildern

Ein solcher Apparat, der statistische Analysen durch Erregung eines Volumens Materie von etwa $1\ \mu\text{m}^3$ durchführen kann, kann durch ein Abtastgerät ergänzt werden. Es ist dann möglich, Bilder aufzunehmen, die die Verteilung eines Elementes in einer bestimmten quadratischen Fläche der Probe zeigen. Der Schirm eines Oscilloskops nimmt dieses Bild auf und ermöglicht Photographien mit einem Schnellentwicklungsgerät (Polaroid Land).

Es ist auch wichtig, alle Ergebnisse, die von der Probe kommen, auszuwerten: Eine Probe, die durch ein Bündel energetischer Elektronen bombardiert wird, ergibt eine Mehrzahl komplizierter Signale, die zum größten Teil aus rückgestreuten Elektronen bestehen. Diese geben Hinweise auf die Atomnummer und den Zustand der Oberfläche der Probe am bombardierten Punkt. Man kann diese Ergebnisse auch auf dem Schirm des Oscilloskops aufnehmen [3]. Die Aufnahme der Bilder ist dem Fernsehsystem ähnlich. Die Vergrößerung kann bis zu 2000fach eingestellt werden.

Die Gleichzeitigkeit der Bildaufnahme und der mikroskopischen Beobachtung erleichtert das Suchen der zu analysierenden Stellen.

Anwendungen

Auf zahlreichen Gebieten kann die Mikrosonde Anwendung finden. Es seien nur einige Beispiele genannt: Seigerungen, Diffusionsprobleme, Untersuchung von Einschlüssen, unbekannte Phasen, Oxydationsproblemen usw. in der Metallurgie, Mineralogie und Biologie.

Biologische Proben

Wenn ein Elektronenbündel auf die Oberfläche von biologischem Material trifft, entstehen elektrische Ladungen, die abgeleitet werden müssen. Da biologische Proben keine elektrischen Leiter sind, werden diese Ladungen durch einen dünnen Film leitender Substanz (Kohlenstoff, Aluminium, Kupfer), der durch Verdampfung unter Hochvakuum über die Probe gelegt wird, abgeleitet. Die Dicke dieses Films bleibt immer kleiner als 200 \AA , um die Röntgenemission der Probe nicht zu stören.

Um die Präparate leicht handhaben zu können, gibt es zwei Möglichkeiten: dünne Präparate werden über ein Elektronenmikroskop-Gitter gelegt, dickere werden auf ein Blöckchen von poliertem Kupfer oder Beryllium gesetzt. Diese Methode gilt auch für Lösungen: ein Tropfen wird auf die Oberfläche des Blocks gegeben und getrocknet.

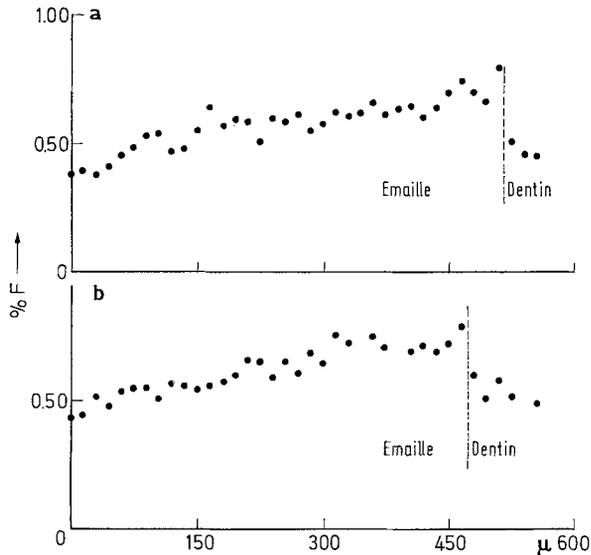


Abb.1a u. b. Fluorverteilung in Zähnen. Behandlungszeit: a 10 min; b 15 min

1. Bestimmung der Fluorverteilung in Zähnen. Die Vorbereitung der Probe ist sehr einfach: die Oberfläche wird mit Diamantpaste poliert, dann mit Kupfer bedampft. Die Zähne werden zuvor mit einer NaF-Lösung behandelt (Elektrophorese). Die zwei Kurven (Abb.1), die die Eindringtiefe des Fluors zeigen, wurden nach 10 bzw. 15 min Behandlungszeit erhalten. Besonders interessant ist der Fluorgehalt der Zahnoberfläche.

2. Verteilung fremder Teilchen in Lungengewebe. Diese Präparate wurden auf Kupferblöckchen gelegt und mit Kohlenstoff bedampft. Ein Teil der Proben stammt von Personen, die ungefähr 10 Jahre lang in einer Eisen-

grube arbeiteten. Die Elektronenbilder zeigen die Oberfläche des Präparats und einige Fremdteilchen (weiße Körner auf dem Bild). Auf den Röntgenbildern sieht man, daß es sich um Eisenteilchen handelt (Abb. 2).

Andere Proben stammten von einer Person, die in einem Metallabschleifungs-Labor gearbeitet hat. In diesem Fall haben wir nach Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Mo und W gesucht, konnten aber nur Silicium feststellen. Es scheint, daß die Teilchen vom Poliermittel und nicht von den Metallen herrühren.

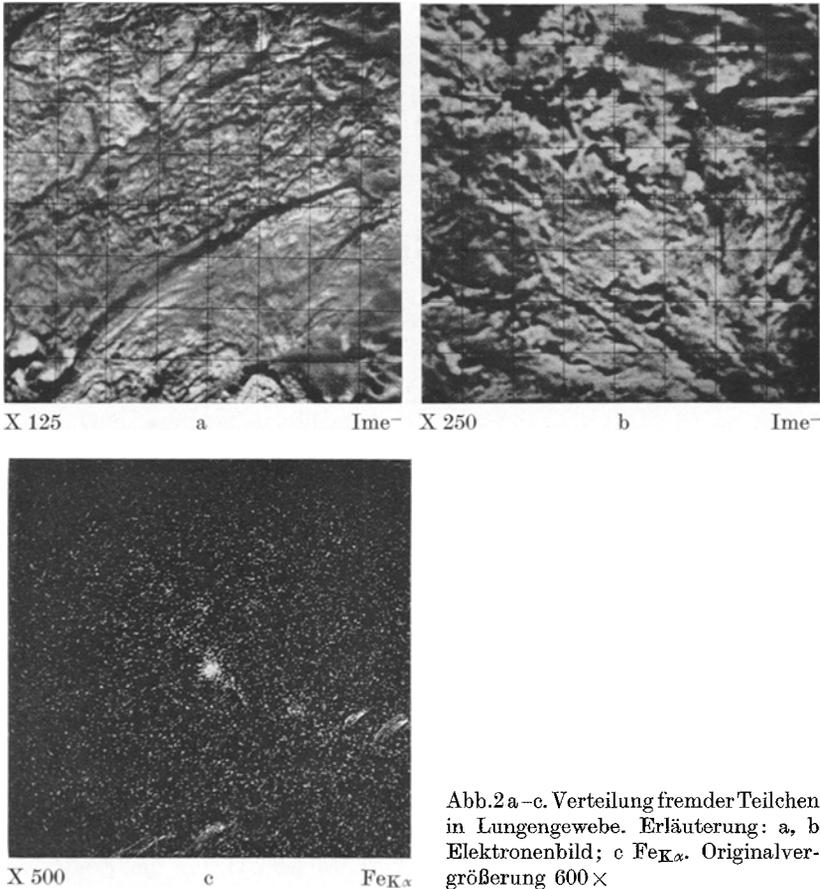


Abb. 2 a-c. Verteilung fremder Teilchen in Lungengewebe. Erläuterung: a, b Elektronenbild; c $\text{FeK}\alpha$. Originalvergrößerung $600\times$

3. *Quantitative Analyse in Lösungen.* Die Lösung wird mit einer 1 ml fassenden Pipette auf ein Blöckchen aus poliertem Beryllium gegeben und getrocknet. Da nur sehr wenig Materie auf dem Halter sitzt, ist keine Bedampfung nötig. Bei diesen Untersuchungen haben wir die Gehalte

an Phosphor, Kalium, Natrium, Calcium und Eisen bestimmt. Im allgemeinen blieben die Konzentrationen dieser Elemente zwischen $5 \cdot 10^{-4}$ und $5 \cdot 10^{-2}$ g/nl. Das heißt, daß der statistische Fehler die Grenze der Methode darstellt: bei diesen Experimenten blieb 2σ immer kleiner als 5% und dies ist noch besser als die Reproduzierbarkeit der Pipetten. Es wurden lineare Eichkurven erhalten.

Zusammenfassung

Einige biologische Anwendungen des Elektronenstrahl-Mikroanalysators werden beschrieben und kurze Hinweise auf die Apparatur gegeben. Im einzelnen wird die Fluorbestimmung in Zähnen, die Bestimmung fremder Teilchen in Lungengewebe und die Analyse getrockneter Lösungen erwähnt.

Literatur

1. CASTAING, R.: Thèses 1951, Publication ONERA No. 52.
2. WEINRYB, E.: Mikrochim. Acta **1967**, Suppl. II, 173—187.
3. — Thèses 1965, Faculté des Sciences de Paris.

Dr. E. WEINRYB
Applied Research Laboratories
F-78 LeMesnil St. Denis (Frankreich)

Isotopenverfahren

Anwendung der Aktivierungsanalyse in der Biochemie

FRANZ LUX

Institut für Radiochemie der Technischen Hochschule München

Eingegangen am 3. September 1968

Application of Activation Analysis in Biochemistry. The first part comprises a short introduction to the basic principles of activation analysis. The second part is a survey of activation analysis in life sciences. The special techniques needed for analysing biological material are outlined and using selected examples it is shown how various problems have been solved with activation analysis. The problems were classified as follows: determination of the main constituents (light elements C, N, O; other elements); derivative activation analysis; stable tracers, isotopic analysis; determination of trace elements; activation analysis in vivo.