

1.4 Analysenverfahren zur Untersuchung biologischer Materialien

Für die Untersuchung biologischer Materialien, wie z.B. Körperflüssigkeiten (Blut, Urin) oder Geweben sind nachweisstarke Analysenverfahren erforderlich. In menschlichen Geweben haben die meisten Elemente Gehalte im Bereich zwischen 10^{-6} und 10^{-9} g/g Naßgewicht. Da es das Ziel ist, in einfachen, schnellen Verfahren die Elemente ohne einen vorherigen Anreicherungsschritt in Proben von weniger als 1 g zu bestimmen, müssen die Nachweisgrenzen so niedrig sein, daß Absolutgehalte der Elemente von 10^{-6} g bis zu 10^{-12} g gemessen werden können. Im Hinblick auf die komplexe organische Matrix biologischer Proben ist zudem eine möglichst matrixunempfindliche Methode anzuwenden.

Eines der am häufigsten eingesetzten Verfahren ist die Atomabsorptionsspektrometrie (AAS). Dank ihrer Spezifität und hohen Störungsfreiheit wird sie zur Analyse einer Reihe essentieller Elemente (Ca, Mg, Cu, Fe, Zn) in Körperflüssigkeiten und Geweben im Routinebetrieb der medizinischen Labors eingesetzt. Sowohl für die Flammen-Technik (F-AAS) als auch für die Graphitofen-Technik (GF-AAS) finden sich eine Reihe von Anwendungsbeispielen [8] - [12]. Nachteil der klassischen AAS ist die Limitierung auf Einelement-Analysen. In den letzten Jahren wurde zunehmend auch Simultan-Atomabsorptionsspektrometer auf dem Markt angeboten und für Analysenzwecke eingesetzt. Die Möglichkeiten dieser Multielementbestimmungsmethode sind allerdings sehr beschränkt: Lediglich 4 - 6 Elemente sind simultan bestimmbar. Zudem ist die Anwendbarkeit auf komplexe biologische Proben noch nicht nachgewiesen worden.

Im Gegensatz zur Atomabsorptionsspektrometrie bietet die optische Atomemissionsspektrometrie (OES) den prinzipiellen Vorteil der simultanen oder sequentiellen Mehrelement-Bestimmung, der auch für Analysen biologischer Proben genutzt wird, z.B. mit Hilfe des induktiv gekoppelten Plasmas (ICP) als Anregungsquelle [13, 14].

Eine weitere, sehr junge und leistungsstarke Multielementmethode ist die Massenspektrometrie in Kombination mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-MS), die ebenfalls sehr häufig zur Bestimmung von Elementgehalten in biologischen Proben genutzt wird [15] - [20]. Die ICP-MS vereint hierbei die Eigenschaften der Graphitofen-

AAS (hohe Nachweisempfindlichkeit) mit jenen der ICP-OES (weiter dynamischer Arbeitsbereich von bis zu 8 Dekaden und hohe Analysengeschwindigkeit). Besonders biologische Proben stellen an die ICP-MS hohe Anforderungen, da die typischerweise vorkommenden Mengenelemente Na, Mg, P, Cl, K, Ca und Fe zur Bildung von Molekülonen (wie NaCl^+ , ClO^+ oder CaO^+) neigen [21]. Als Nachteil der Methode ist die Empfindlichkeit gegenüber unvollständigen Probenaufschlüssen zu nennen.

Während der letzten zwei Jahrzehnte sind auch auf dem Gebiet nuklearer Analysemethoden weitreichende Fortschritte erzielt worden. Neben der (instrumentellen) Neutronen-Aktivierungsanalyse ((I)NAA) [22] - [29] wird die protoneninduzierte Röntgen-Emissionsanalyse (PIXE) [26] - [28] zur Bestimmung von Elementgehalten in biologischen Proben genutzt. Als Prinzip liegt der PIXE die Messung der Fluoreszenzintensität in Abhängigkeit vom Elementgehalt einer Probe zugrunde. Dazu wird die zu analysierende Probe in einer Vakuumkammer positioniert und zur Anregung der Fluoreszenz mit hochenergetischen Partikeln, vorzugsweise Protonen und Elektronen, beschossen. Beide genannten Methoden werden aufgrund ihrer Nachweisstärke und der Möglichkeit der Multielementanalyse eingesetzt. Als Nachteile sind für die protoneninduzierte Röntgen-Emissionsanalyse die Arbeit unter Vakuum zu nennen, die für einige Probenmaterialien problematisch sein kann [28], während für die NAA zum einen ein kostspieliger Reaktor zur Erzeugung der Anregungsstrahlung erforderlich, und zum anderen das Verfahren zudem durch lange Meßzeiten charakterisiert ist.

In die Gruppe der relativ jungen Analysenmethoden ist auch die Totalreflexionsröntgenfluoreszenzanalyse, kurz TRFA (engl. Total-reflection X-Ray Fluorescence, TXRF), einzuordnen. Sie wird zur simultanen Bestimmung von Elementen mit Ordnungszahlen $Z \geq 11$ im ng/kg- und $\mu\text{g}/\text{kg}$ -Bereich sowie zur Analyse von Oberflächen eingesetzt. Die TRFA basiert auf der Entstehung von stehenden Röntgenwellen über der Oberfläche eines planaren Probenträgers bei streifendem Einfall der Anregungsstrahlung. Durch die Verwendung sehr planarer Probenträger, auf die der Analyt (in Form einer Lösung oder Suspension) aufgebracht wird, kann bei Anregung der Probe mittels Röntgenstrahlung – im Vergleich zur klassischen Röntgenfluoreszenzanalyse (RFA) – eine Verbesserung des Signal/Rausch-Verhältnisses um mehrere Größenordnungen erzielt, und absolute Nachweisgrenzen bis unterhalb von 10^{-12} g erreicht werden. Im Vergleich zur PIXE, die ähnlich der TRFA ein sehr gutes Signal/Untergrund-Verhältnis aufweist, hat die TRFA zudem den Vorteil, daß die zu bestimmenden Proben nicht

in eine Vakuumkammer eingeführt werden müssen, sondern nach Trocknung direkt analysiert werden können.

Methodische Vergleiche der letztgenannten Analysemethoden wurden von verschiedenen Autorengruppen veröffentlicht. MICHAELIS und Co-Autoren verglichen ICP, NAA und TXRF [24, 29], KNÖCHEL stellte die Methoden TXRF, PIXE und Synchrotron-angeregte Röntgenfluoreszenzanalyse (SYXRF) gegenüber [30]. Dabei stellte sich in allen Veröffentlichungen die gute Eignung und Leistungsfähigkeit der TRFA zur Bestimmung von Elementgehalten in verschiedenen Materialien, auch unter dem Gesichtspunkt des Kostenfaktors, dar.