
Anwendung von Isotopen
in der Organischen
Chemie und Biochemie

Band II

H. Simon (Hrsg.)

P. Rauschenbach · H.-L. Schmidt
H. Simon · R. Tykva · M. Wenzel

Messung von radioaktiven und stabilen Isotopen

Mit 87 Abbildungen



Springer-Verlag
Berlin · Heidelberg · New York 1974

ISBN-13:978-3-642-80805-0

e-ISBN-13:978-3-642-80804-3

DOI: 10.1007/978-3-642-80804-3

Das Werk ist urheberrechtlich geschützt. Die dadurch begründeten Rechte, insbesondere die der Übersetzung, des Nachdruckes, der Entnahme von Abbildungen, der Funksendung, der Wiedergabe auf photomechanischem oder ähnlichem Wege und der Speicherung in Datenverarbeitungsanlagen bleiben, auch bei nur auszugsweiser Verwertung, vorbehalten.

Bei Vervielfältigungen für gewerbliche Zwecke ist gemäß § 54 UrhG eine Vergütung an den Verlag zu zahlen, deren Höhe mit dem Verlag zu vereinbaren ist.

© by Springer-Verlag Berlin · Heidelberg 1974

Softcover reprint of the hardcover 1st edition 1974

Library of Congress Catalog Card Number 73-18745.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Gesamtherstellung: W. F. Mayr, Miesbach/Oberbayern.

Vorwort

Radioaktive und stabile Isotope gehören zu den wichtigsten Forschungswerkzeugen der organischen Chemie und der Biochemie. Die mit ihrer Hilfe in den letzten Jahrzehnten gewonnenen Erkenntnisse können kaum überschätzt werden. Aber auch in Zukunft wird die Isotopen-Anwendung nichts von ihrer Bedeutung verlieren. Von der Archäologie bis zur Zahnheilkunde gibt es kaum ein naturwissenschaftliches bzw. medizinisches Spezialfach, in dem nicht auch mit Isotopen gearbeitet wird. Solche Arbeiten sind stets mit Messungen verbunden. Ihre Ausführungen entscheiden, ob die großen Möglichkeiten der Isotopentechnik zu richtigen oder zu quantitativ oder gar qualitativ falschen Ergebnissen führen. Die Gefahr, falsche Ergebnisse zu erhalten, ist besonders groß beim Umgang mit weichen β -Strahlern und stabilen Isotopen. Hier beeinflussen viele Parameter, die mit dem Isotopengehalt gar nichts zu tun haben, das Meßergebnis. Entscheidend ist häufig die Präparation der Proben. Ob sie richtig oder falsch geschehen ist, sieht man dem Meßergebnis nicht an, zumal ein großes oder zumindest teures Gerät oft sehr überzeugend eine mitunter vielstellige Zahl anzeigt und große Genauigkeit vortäuschen kann. Die Problematik der Isotopen-Analyse, insbesondere die von radioaktiven Isotopen, liegt darin, daß es so einfach ist, ein Meßgerät zum Ansprechen zu bringen.

Das Buch soll auch dem weniger Versierten Kriterien für die optimale Auswahl beim Kauf der meist teuren Geräte an die Hand geben.

Isotopen-Analysen sind nach verschiedenen Prinzipien möglich. Für jedes von ihnen gibt es wieder zahlreiche Variationen. Sehr selten aber gibt es »die beste Methode«. Fast immer hängt die optimale Methode von der Fragestellung ab. Hier soll das vorliegende Buch Anleitung und Entscheidungshilfe sein. Die zahlreichen Möglichkeiten und Methoden werden deshalb nicht nur aufgezeigt, sondern wenn möglich auch problemorientiert gewertet. Solche Wertungen sind zwangsläufig mehr oder weniger subjektiv. Die Autoren haben die darin liegende Gefahr auf sich genommen, weil sie keine neutrale Literaturübersicht geben wollen, sondern eine *Anleitung zum praktischen Handeln*, verbunden mit den Fakten, die für das Verständnis notwendig sind.

Schließlich soll gezeigt werden, welche Erfahrungen mit den verschiedenen Methoden bereits gemacht worden sind. Von den explizit wiedergegebenen Vorschriften sind die Autoren, meist aus eigener Erfahrung, überzeugt, daß sie funktionieren und empfehlenswert sind. Das heißt natürlich nicht, daß dies für andere Verfahren nicht auch zutrifft.

Die sicher etwas ungewöhnliche Besprechung von radioaktiven und stabilen Isotopen in einem Band schien sinnvoll, da in der Forschung, in der die Isotopentechnik ein Werkzeug neben anderen ist, stets die zu lösende Aufgabe im Vordergrund steht. Ob die Aufgabe dann durch die Anwendung radioaktiver oder stabiler Isotope bearbeitet werden kann, ist von sekundärer Bedeutung.

Häufig entscheiden die von der Analytik gesetzten Grenzen über Durchführbarkeit, Aufwand und Sicherheit der Aussage von Experimenten. Auch für die in diesem Zusammenhang auftauchenden Fragen soll das Buch eine Hilfe sein.

Die Autoren danken allen, die am Zustandekommen des Manuskripts mitgeholfen haben. Nicht zuletzt gilt ihr Dank ihren Familien für das Verständnis, das sie für die Arbeit während so vieler Stunden an Abenden und Wochenenden aufbrachten. Der Herausgeber dankt seiner Frau für Schreiarbeiten und andere vielfältige Hilfe.

Herausgeber und Autoren

Inhaltsverzeichnis

Vorwort	V
Adressenliste der Autoren	XIII
A. Einleitung	1
H. SIMON und P. RAUSCHENBACH, Technische Universität München	
1. Begriffe und Definitionen	2
1.1. Absorption, Ionisation, Anregung und Bremsstrahlung von β -Strahlung	5
1.2. γ - und Röntgen-Strahlung, Mechanismen der Absorption	5
1.3. Häufig verwendete radioaktive Isotope	6
1.4. Literatur und Bibliographie	11
B. Allgemeines und Prinzipien der Radioaktivitätsmessung	15
H. SIMON und P. RAUSCHENBACH, Technische Universität München	
1. Absolut- und Relativmessung von Radioaktivität.	15
2. Ionisationskammern und Zählrohre	17
2.1. Ionisationskammern	17
2.2. Zählrohre	18
2.2.1. Zählrohre zur Messung von β -Strahlung	19
2.2.2. Zählrohre zur Messung von γ -Strahlung	21
3. Halbleiterdetektoren (R. ТЫКВА, Tschechoslowakische Akademie der Wissenschaften, Prag)	21
4. Szintillationszähler	25
4.1. Allgemeines über Szintillationszähler	25
4.2. Messung mit flüssigen Szintillatoren	27
4.2.1. Lösungsmittel	29
4.2.2. Probengefäße	30
4.2.3. Szintillator-Substanzen	31
4.2.4. Löscheffekte, Phosphoreszenz und Chemolumineszenz	38
4.3. Messung durch Čerenkov-Strahlung	42
4.4. Messung von γ -Strahlern mit festen Szintillatoren.	44
4.4.1. Impulshöhenverteilung, γ -Spektroskopie und Auflösungs- vermögen	46
4.4.2. Einfluß verschiedener Parameter auf die Gestalt des Spektrums.	47
5. Literatur	48
C. Parameter, die auf Genauigkeit und Reproduzierbarkeit von Einfluß sind. Fehlerbetrachtung	53
P. RAUSCHENBACH, Technische Universität München	
1. Der radioaktive Zerfall als statistischer Vorgang	53

2. Einfluß von Probenaktivität, Nulleffekt und Meßzeit auf den Fehler der Nettozählrate	58
2.1. Meßzeitoptimierung	64
3. Grenzpempfindlichkeit und Gütezahl	67
4. Fehler von Ratemeter-Messungen	70
5. Ermittlung von Störeffekten an Meßanordnungen aufgrund nicht-statistischer Ergebnisse	71
6. Erkennung eines zu hohen Fehlers einer Einzelmessung	75
7. Literatur	76
D. Präparation der Proben und deren Messung	77
P. RAUSCHENBACH und H. SIMON, Technische Universität München	
1. Messung in fester oder flüssiger Form mit Zählrohren	77
1.1. T-, ^{14}C -, ^{35}S - und ^{45}Ca -markierte Proben	84
2. Messung in der Gasphase nach Proben-Umwandlung	88
2.1. Tritium-markierte Proben.	88
2.2. ^{14}C - und T/ ^{14}C -doppelmarkierte Substanzen	93
2.3. Literatur	95
3. Flüssig-Szintillations-Messung	96
3.1. Probenpräparation	99
3.1.1. Direkt-Messung (ohne Probenumwandlung)	99
3.1.1.1. Homogene Meßsysteme.	99
3.1.1.1.1. Messung ohne Lösungsvermittler	99
3.1.1.1.2. Messung mit Lösungsvermittlern	100
3.1.1.1.3. Messung von Wasser und wäßrigen Lösungen	100
3.1.1.1.4. Häufig verwendete Szintillatorsysteme	104
3.1.1.2. Heterogene Meßsysteme	105
3.1.1.2.1. Emulsionen.	106
3.1.1.2.2. Suspensionen	108
3.1.1.2.3. Andere heterogene Materialien wie Papier- streifen, Dünnschicht- und Glasfaserproben	111
3.1.1.2.4. Häufig verwendete Szintillatorsysteme	114
3.1.2. Messung nach Probenumwandlung	115
3.1.2.1. Absorption gasförmiger Proben	116
3.1.2.2. Umwandlung in flüssiger Phase	122
3.1.2.2.1. Solubilisierung	122
3.1.2.2.2. Naß-Oxidation	127
3.1.2.3. Trockene Oxidation	132
3.1.2.3.1. Sauerstoff-Kolben-Verfahren	133
3.1.2.3.2. Sauerstoff-Strom-Verfahren	141
3.1.2.3.3. Oxidation im Bombenrohr oder in der Metallbombe	143
3.1.2.4. Spezielle Umwandlungsverfahren	144
3.2. Bestimmung der Zählhausbeute (Löschkorrektur)	144
3.2.1. Interne Standardisierung.	145
3.2.2. Löschkorrektur-Verfahren, aufgrund der Verschiebung des Proben-Impuls-Spektrums	147
3.2.2.1. Löschkompensation	148
3.2.2.2. Proben-Kanalverhältnis-Methode	149
3.2.2.3. Verstärkungsverhältnis-Methode	152

3.2.3. Externe Standardisierung	152
3.2.3.1. Verfahren basierend auf der Zählrate des externen Standards	152
3.2.3.1.1. Standard im Zählfläschchen angeordnet	152
3.2.3.1.2. Standard außerhalb des Zählfläschchens angeordnet	153
3.2.3.2. Externe Standard-Kanalverhältnis-Methode	154
3.2.3.2.1. Rechnerische Weiterverarbeitung der Meßwerte	158
3.2.4. Nachverstärkungs-Methode	159
3.2.5. Koinzidenz-Methoden	159
3.2.6. Verdünnungs-Methode	160
3.3. Datenverarbeitung	161
3.4. Literatur	164
E. Die Bestimmung geringer Radioaktivität	173
R. TYKVA, Tschechoslowakische Akademie der Wissenschaften, Prag	
1. Fragestellungen, welche die Bestimmung geringer Radioaktivität erfordern	173
2. Wahl der Bestimmungsmethode	174
3. Allgemeine Gesichtspunkte für ein Laboratorium zur Messung geringer Radioaktivität	175
3.1. Lokalisierung und Ausstattung	175
3.1.1. Konstruktionsmaterialien	177
3.1.2. Elektrische Entstörung der Meßeinrichtung	179
3.2. Erhöhung der Bestimmungsempfindlichkeit	182
3.2.1. Erniedrigung des Nulleffektes durch mechanische Abschirmung, Antikoinzidenz- oder Koinzidenzschaltung, Impulshöhen- und Anstiegszeitdiskrimination	182
3.2.2. Erhöhung der spezifischen Radioaktivität vor der Messung	187
4. Die einzelnen Meßverfahren	189
5. Literatur	192
F. Messung mehrfachmarkierter Proben	199
R. TYKVA, Tschechoslowakische Akademie der Wissenschaften, Prag	
1. Beispiele für die Verwendung und das Vorkommen mehrerer Radionuklide in einem Versuchssystem	199
2. Prinzipien der Meßverfahren	201
2.1. Flüssig-Szintillations-Zählung	202
2.1.1. Messung nach vorangehender Trennung der Radionuklide	202
2.1.2. Gleichzeitige Messung aufgrund unterschiedlicher Impulshöhenspektren	203
2.1.2.1. Prinzip der Methode	203
2.1.2.2. Berechnung der Zerfallsraten der einzelnen Nuklide von doppelmarkierten Proben	204
2.1.2.3. Die Wahl optimaler Arbeitsbedingungen bei der Messung löslicher, wenig gelöschter Proben	206
2.1.2.4. Bestimmung unlöslicher oder stark gelöschter Proben	218
2.2. Ionisationsmethoden und Halbleiterdetektoren	219
3. Literatur	222

G. Radiochromatographie	225
M. WENZEL, Freie Universität Berlin	
1. Einleitung	225
2. Papier- und Dünnschicht-Chromatographie	227
2.1. Allgemeine Aspekte	227
2.2. Direktmessung von Chromatogrammen und Elektropherogrammen	228
2.2.1. Papier-Chromatogramme und Elektropherogramme	228
2.2.2. Dünnschicht-Chromatogramme	231
2.2.3. Direktmessung von Parallel- und zweidimensionalen Chromatogrammen	236
2.2.4. Messung von doppelt-markierten Chromatogrammen	240
2.2.5. Zählausbeute und weitere Meßparameter bei der Direkt- messung	241
2.2.6. Kombination verschiedener Parameter	248
2.3. Diskontinuierliche Messung von Chromatogrammen	249
2.3.1. Diskontinuierliche Messung von Papier- und Dünnschicht- Chromatogrammen	250
2.4. Autoradiographische Verfahren	251
2.4.1. Film-Autoradiographie	252
2.4.2. Autoradiographie mit der Funkenkammer	255
3. Auswertung von Gel-Elektropherogrammen	257
4. Säulen-Chromatographie mit radioaktiven Lösungen	258
4.1. Kontinuierliche Messung	258
4.1.1. Durchfluß-Zellen aus Szintillator-Schläuchen	258
4.1.2. Durchfluß-Zellen mit fester Szintillator-Füllung	259
4.1.3. Durchfluß-Zellen für homogene Systeme	262
4.1.4. Radioaktivitäts-Messung von Eluaten durch Čerenkov- Strahlung	263
4.2. Diskontinuierliche Messung	264
5. Radio-Gaschromatographie (H. SIMON, Technische Universität München)	264
5.1. Einleitung	264
5.2. Einfluß verschiedener Parameter auf Ionisations-Detektoren	265
5.3. Apparatur und Arbeitsweise für hydrierende Crackung bzw. Oxidation	268
5.4. Grenzempfindlichkeiten	271
6. Verschiedene der Radiochromatographie verwandte Meßmethoden	272
6.1. Messung radioaktiver Zellsuspensionen auf Filtrierpapier	273
6.2. Messung radioaktiver Gewebe-Schnitte	273
6.3. In vivo Scanning bei Kleintieren (»Szintigraphie«)	274
7. Registriermöglichkeiten	277
7.1. Digitale und analoge Darstellung der Aktivitätsverteilung	277
7.2. Elektronische Peak-Integration	279
7.3. Darstellung der Aktivitätsverteilung und Peak-Integration mit einem Vielkanal-Analysator	281
8. Beispiele für Anwendung der Radiochromatographie zur Reinheits- kontrolle radioaktiver Substanzen	283
8.1. Reinheitskontrolle von ^{131}J -Hippuran und ^{131}J -Thyroxin	284

8.2. Reinheitskontrolle bzw. Reinigung von (6, 7-T)-Östradiol	284
9. Literatur	285
H. Analyse von stabil-isotop markierten Verbindungen	291
H.-L. SCHMIDT, Institut für Chemie und landwirtschaftliche Technologie Weihenstephan, Technische Universität München	
1. Anwendungen stabiler Isotope und Grundlagen ihrer Analytik	291
2. Elementaranalytische Isotopen-Bestimmungen.	296
2.1. Verfahren zum Aufschluß von markierten Verbindungen	296
2.1.1. Aufarbeitung von Proben zur Deuterium-Analyse	298
2.1.1.1. Verbrennung Deuterium-haltiger organischer Verbindungen und Isolierung des Wassers	298
2.1.1.2. Verbrennung organischer Substanzen und Reduktion von Wasser für die massenspektrometrische Deuterium-Analyse	301
2.1.1.3. Einstufen-Verfahren zur Gewinnung von Wasserstoff und automatisierte Wasser-Reduktion	306
2.1.1.4. Bestimmung von Deuterium in acidem Wasserstoff	307
2.1.2. Aufbereitung von Proben zur ^{13}C -Analyse	308
2.1.2.1. Verbrennung von Kohlenstoff-haltigem Material nach dem Prinzip der organischen Elementaranalyse	309
2.1.2.2. Probenbereitung aus anorganischem Material und aus Wässern	311
2.1.3. Probenchemie zur ^{15}N -Analyse	311
2.1.3.1. Kjeldahl-Aufschluß und Hypobromit-Oxidation	312
2.1.3.2. Oxidation nach dem Dumas-Verfahren	317
2.1.3.3. Oxidation von Ammoniak und organischen Substanzen im Bombenrohr (Einstufen-Verfahren)	318
2.1.3.4. Gewinnung von Stickstoff aus speziellen Bindungen	320
2.1.4. Aufschluß zur Sauerstoff-Isotopenanalyse	321
2.1.4.1. Aufschluß-Methoden zur Analyse von ^{18}O in organischen Verbindungen	322
2.1.4.2. Überführung von molekularem Sauerstoff in Kohlendioxid	329
2.1.4.3. Umarbeitung von Wasser für die massenspektrometrische ^{18}O -Isotopen-Analyse	329
2.1.4.4. ^{18}O -Analyse von anorganischen Stoffen	331
2.1.4.5. Reinigung von Kohlendioxid zur massenspektrometrischen Analyse.	335
2.1.4.6. Herstellung von Sauerstoff als Meßgas (^{17}O -Bestimmung)	335
2.1.5. Aufschluß zur Isotopen-Analyse des Schwefels	336
2.1.6. Probenchemie für $^{35}\text{Cl}/^{37}\text{Cl}$ -Bestimmungen	337
2.2. Quantitative instrumentelle Ermittlung des Isotopen-Verhältnisses in Meßproben	338
2.2.1. Massenspektrometrische Analyse gasförmiger Proben	338
2.2.1.1. Massenspektrometer zur Isotopenverhältnis-Analyse	338
2.2.1.2. Berechnungen von Isotopen-Häufigkeiten aus Massenspektren einfacher Moleküle.	342
2.2.1.3. Fehlerquellen und Korrekturen	344

2.2.2. Emissions-Spektralanalyse von Gasen zur Isotopen-Bestimmung	348
2.2.3. Densimetrische Isotopen-Analyse von Wasser	350
2.2.4. Infrarot-Spektrophotometrie in der quantitativen Analyse von stabilen Isotopen	353
3. Intermolekulare, intramolekulare und positionelle Isotopen-Analyse . .	357
3.1. Gaschromatographische intermolekulare Isotopen-Analyse	358
3.2. Massenspektrometrie organischer Moleküle zur Isotopen-Analyse	359
3.2.1. Auswertung von Massenspektren und intermolekulare Isotopen-Bestimmungen.	360
3.2.1.1. Isotopen-Effekte bei der Massenspektrometrie	360
3.2.1.2. Rechnerische Korrektur der natürlichen Isotopen-Häufigkeit	361
3.2.1.3. Korrektur der natürlichen Isotopen-Häufigkeit mit Hilfe von Vergleichs-Spektren	363
3.2.1.4. Eliminierung des (M-1)-Anteiles	365
3.2.2. Direkte massenspektrometrische Isotopen-Bestimmung . . .	366
3.2.3. Molekül-Massenspektrometrie zur positionellen Isotopen-Analyse	368
3.3. Kernmagnetische Resonanz und Elektronenspin-Resonanz als Methoden der Isotopen-Analyse	370
3.3.1. Kernmagnetische Resonanz	372
3.3.1.1. Quantitative und intermolekulare Isotopen-Analyse durch kernmagnetische Resonanz	374
3.3.1.2. Positionelle Isotopen-Analyse durch kernmagnetische Resonanz	375
3.3.2. Stabile Isotope und Elektronenspin-Resonanz	380
3.4. Infrarot-Spektrophotometrie in der Analytik Isotopen-markierter Moleküle	381
4. Kernchemische Verfahren in der Analyse einiger stabiler Nuklide . . .	384
5. Literatur	387
Namenverzeichnis.	401
Sachverzeichnis (incl. Abkürzungen).	424

Adressenliste der Autoren

Dr. rer. nat. PETER RAUSCHENBACH

Organisch-Chemisches Laboratorium der Technischen Universität
München
D-8000 München 2, Arcisstr. 21

Prof. Dr. rer. nat. HANS-LUDWIG SCHMIDT

Lehrstuhl und Institut für Chemie und landwirtschaftliche Technologie
der Technischen Universität München
D-8050 Freising-Weihenstephan

Prof. Dr. rer. nat. HELMUT SIMON

Organisch-Chemisches Laboratorium der Technischen Universität
München
D-8000 München 2, Arcisstr. 21

Dr. RICHARD TYKVA, Csc.

Tschechoslowakische Akademie der Wissenschaften
Institut für Organische Chemie und Biochemie
Praha 6, Flemingovo nam. 2, ČSSR

Prof. Dr. rer. nat. MARTIN WENZEL

Freie Universität Berlin, Fachbereich 22 – Pharmazie
D-1000 Berlin 33, Königin-Luise-Str. 2/4