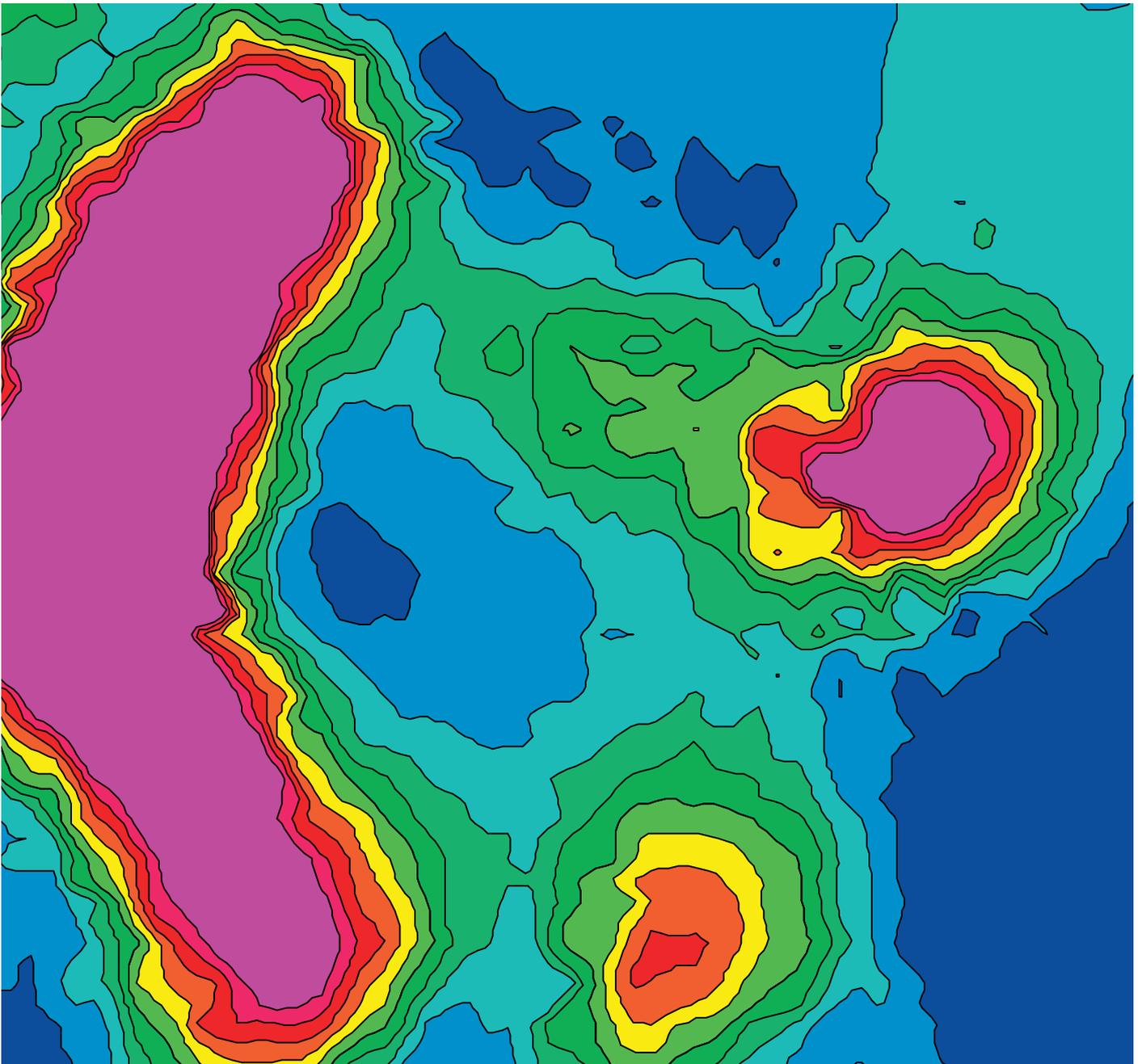




**Forschungszentrum Karlsruhe**  
in der Helmholtz-Gemeinschaft

# NACHRICHTEN



Jahrgang 35 • 4/2003

Moderne Analytik

**Im Inhaltsverzeichnis verwendete  
Abkürzungen:**

ÖA	Stabsabteilung Öffentlichkeitsarbeit
ISS	Institut für Synchrotronstrahlung
IMB	Institut für Medizintechnik und Biophysik
INE	Institut für Nukleare Entsorgung
IMF	Institut für Materialforschung
IFIA	Institut für Instrumentelle Analytik

**Herausgeber:**

Forschungszentrum Karlsruhe GmbH  
Postfach 3640 · D-76021 Karlsruhe  
Telefon-Nr. (07247) 82-0

**Redaktion:**

Dr. Klaus Körting

**Redaktionsbeirat:**

Prof. Dr. J. Blümer, IK-IEKP  
Dr. W. Breitung, IKET  
Prof. Dr. E. Dinjus, ITC-CPV  
Dr. K. Gompper, INE  
Dr. J. Gspann, IMT  
Dr. J. Hoffmann, ÖA  
Dr. W. Pfleging, IMF-I  
Prof. Dr. U. Schurath, IMK (Vorsitzender)  
Dr. K.-F. Weibezahn, IMB

**Grafik und Satz:**

Stolz Grafisches Atelier · Karlsruhe

**Layout:**

Tassilo Schnitzer

**Druck:**

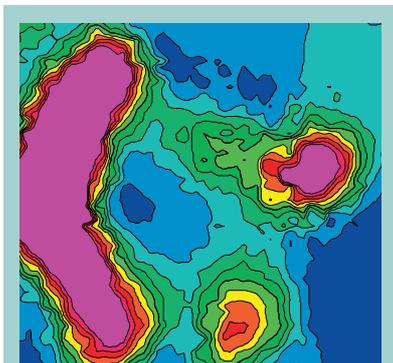
Wilhelm Stober GmbH · Eggenstein

Nachdruck mit Genehmigung des  
Forschungszentrums Karlsruhe GmbH  
unter Nennung der Gesellschaft und  
des Autors gestattet. Beleg erbeten.

Die NACHRICHTEN  
können kostenlos über die  
Hauptabteilung Bibliothek und Medien  
des Forschungszentrums bezogen  
werden.

Printed in the Federal Republic of  
Germany

Gedruckt auf chlorfrei gebleichtem  
Papier



Mikro-Röntgenfluoreszenzanalytik  
mit Synchrotronstrahlung: Zirkonver-  
teilung mit einer Auflösung von 20 µm  
x 40 µm an einem Mikrotektit aus  
dem Chicxulub-Impact-Krater, Mexi-  
ko (vgl. den Artikel von S. Staub et. al.  
auf Seite 185).

---

# Inhalt / Contents

■ **Moderne Analytik an ausgewählten Beispielen** 165  
**Examples of Modern Analytics**

J. Hoffmann, ÖA

New analytical methods improve detection limits or allow for measurements on smallest substance volumes, they provide information on the composition and spatial structure of materials, accelerate measurements, and open up new scientific fields of work. At Forschungszentrum Karlsruhe, new methods are invented and old ones improved, large devices are set up and used, and problems are rendered solvable by intelligent approaches. The present issue of the "Nachrichten" highlights some modern analytical methods with main activities of our Research Center being used as examples.

■ **Proteinstrukturanalyse mit Synchrotronstrahlung** 167  
**Protein Structure Analysis by Synchrotron Radiation**

G. Buth, D. A. Moss, ISS

The aim of protein structure analysis is to understand how proteins work at the molecular level. At the synchrotron light source ANKA, the complementary methods X-ray diffraction and infrared spectroscopy are being used to pursue this goal. X-ray diffraction provides a complete structural picture of the protein, in the sense of X,Y,Z coordinates for all its atoms. Infrared spectroscopy delivers dynamic information to complement the essentially static structural information from protein crystallography. In both methods, the advantages of synchrotron radiation – its high intensity, its low divergence and its extremely broad tunability – are exploited to the fullest extent.

■ **Untersuchung biologischer Adsorbate mittels moderner Quarzmikrogravimetrie** 173  
**Investigation of Biological Adsorbates by Modern Quartz Microbalance Technique**

A. Welle, IMB

The quartz crystal microbalance (QCM) is an important technique for biomaterial surface characterization and the examination of cell/surface interactions. The development of modern QCM devices and detailed theoretical models on the viscoelastic damping of transversal shear wave oscillators allowed a detailed investigation of adsorbed protein films and adherent living cells. Applying QCM and complementary techniques we studied the interplay of photochemical polymer surface modifications, protein layers formed by competitive adsorption and anchorage dependent cells like hepatocytes.

---

---

■ **Die Laser Induzierte Breakdown Detektion zur Analytik von aquatischen Kolloiden im Ultraspurenbereich**

179

**Analysis of Aquatic Colloids in Trace Concentrations by Laser Induced Breakdown Detection**

C. Walther, W. Hauser, H. Geckeis, Th. Fanghänel, INE

Aquatic colloids are omnipresent in natural water. Due to their small size of 10 to 1000 nm, these particles stay suspended and follow the aquifer flow field with little retardation. Their large specific surface along with high chemical reactivity makes them ideal carriers for pollutants, especially for polyvalent cations as are the actinides. However, their dilute concentration requires analytical methods of highest sensitivity, as provided by the laser induced breakdown detection. We present recent developments along with in-situ measurements in an underground laboratory, time resolved observation of aggregation kinetics and determination of actinide solubility constants.

■ **Synchrotron-Röntgenfluoreszenzanalyse an ANKA**

185

**Synchrotron X-ray Fluorescence Analysis at ANKA**

S. Staub, R. Simon, C. Frieh, M. Hagelstein, ISS

X-ray fluorescence spectrometry (SXRF) at the synchrotron radiation source ANKA allows the identification and quantitative determination of trace amounts of chemical elements in condensed matter. This method is non-destructive with ng/g relative detection limits and absolute detection limits in the fg range. It is possible to analyse parts of a sample in their natural environment by a laterally confined beam of micrometer dimensions. Applications range from trace analysis of metals in alloys to elemental distributions in aerosol particles or single cells. At ANKA, early prints and manuscripts as well as micro-tektites and spherules from meteorites have been investigated.

■ **Thermophysikalische Methoden in der Materialforschung**

191

**Thermophysical Methods in Materials Research**

M. Rohde, IMF

Thermophysical properties, namely the thermal conductivity, diffusivity and the heat capacity determine the behavior of every material under heat load. Therefore these properties are important not only for design purposes but also for the development of advanced materials. Within this contribution an overview will be given about measurement techniques for thermophysical properties. Some aspects of materials characterization and process development will be highlighted using selected research results.

---

■ **Ortsverteilte Detektion von Kohlenwasserstoff-Leckagen mit faseroptischer Impulsreflektometrie**

197

**Distributed Sensing of Hydrocarbon Leakage Using Fiber-optic Time Domain Reflectometry**

J. Bürck, K. Krämer, S. Roth, H. Mathieu, IFIA

In many industrial areas fast leakage detection and spill locating of environmentally hazardous substances in technical installations with large spatial extension, e.g., chemical plants, pipelines, tanks or waste deposits gains in importance. For a complete and continuous control of such sites distributed chemical sensing is essential. In this paper a new distributed sensor system for fast hydrocarbon leakage detection and localization is presented, which is based on hydrocarbon sensitive optical fibers and optical time domain reflectometry (OTDR). Depending on the used laser pulse width a minimum spatial resolution of 1 – 5 m is obtained, while the minimum response times are in the 15 – 30 s range.

■ **Zerstörungsfreie Analytik zur Überwachung von metallischen Kunstwerken und historischen Handschriften**

202

**Non-destructive Analysis for the Inspection and Control of Metallic Monuments and Historical Manuscripts**

W. Faubel, S. Heißler, H. Klewe-Nebenius, E. Willin, IFIA

As a contribution to the increasing efforts to preserve cultural heritage of historical bronze monuments exposed to atmospheric corrosion as well as historical books and manuscripts non-destructive analytical methods are highly desirable enabling an in-situ examination of the surface status of an object. The development and application of novel non-destructive analytical methods based on the photoacoustic and photothermal deflection spectroscopy allowed to investigate the state of bronze patina as well as the effectiveness of conservation procedures for historical manuscripts.

## Moderne Analytik an ausgewählten Beispielen

J. Hoffmann, ÖA

Neugier gehört zu den wesentlichen Merkmalen des Menschen. Neugier treibt uns an, unsere Umwelt zu betrachten. Wir vergleichen Vorgänge und Erscheinungen, suchen Gesetzmäßigkeiten und Kausalitäten. Wir erweitern unsere Erfahrungswelt durch Apparaturen, um den Makro- wie den Mikrokosmos zu erforschen.

Die Waage des Chemikers, das Fernrohr des Astronomen, das Mikroskop des Biologen – der Übergang von der Naturphilosophie zu den exakten Naturwissenschaften wäre ohne die Erfindung neuer analytischer Möglichkeiten nicht denkbar gewesen.

Neue analytische Methoden verbessern Nachweisgrenzen oder ermöglichen Messungen auch an kleinsten Substanzmengen, geben Aufschluss über die Zusammensetzung und die räumliche Struktur von Materialien, sie beschleunigen Messungen und eröffnen neue wissenschaftliche Felder.

Die Instrumente sind heute präziser, komplizierter und meist auch erheblich größer geworden; für die Auswertung notwendige Algorithmen sind oft nur noch mit den leistungsstärksten Computern zu handhaben. Teilchenbeschleuniger, Rasterkraftmikroskope, Kernspintomographen oder Satellitenmessungen bestimmen den wissenschaftlichen Fortschritt. Manche analytischen Methoden werden zum Standard in ihrer Disziplin (oder darüber hinaus), andere wurden entwickelt, um ein spezifisches Problem zu lösen. Im Forschungszentrum Karlsruhe trifft man alle

Spielarten: Hier werden neue Methoden erfunden und alte verbessert, werden riesige Apparate aufgebaut und verwendet, werden Probleme durch intelligente Herangehensweise lösbar gemacht.

Um die umfangreichen Analytikkompetenzen institutsübergreifend zu nutzen, hat das Forschungszentrum einen Analytikverbund gegründet. In Fachgruppen werden Erfahrungen ausgetauscht und neue Entwicklungen und Geräte vorgestellt. In einer Expertendatenbank sind Geräte und analytische Methoden mit Experten verknüpft, ein kompetenter Ansprechpartner kann so schnell gefunden werden.

Ein Charakteristikum von Helmholtz-Zentren wie dem Forschungszentrum Karlsruhe ist der Betrieb von Großgeräten. Im Februar 2001 wurde die Synchrotronstrahlungsquelle ANKA (ANGströmquelle KARlsruhe) eingeweiht. Neben der Fertigung von Komponenten für die Mikrosystemtechnik durch das im Forschungszentrum erfundene LI-GA-Verfahren (Lithographie, Galvanik und Abformung) wird ANKA vor allem für zerstörungsfreie Materialuntersuchungen eingesetzt. Das Projekt wurde aus Mitteln des Bundes, des Landes Baden-Württemberg und des Forschungszentrums Karlsruhe finanziert. Das große Engagement des Landes Baden-Württemberg, das abweichend vom üblichen



**Mit einem symbolischen Knopfdruck übergaben Bundesforschungsministerin Edelgard Bulmahn, Baden-Württembergs Wirtschaftsminister Dr. Walter Döring, ANKA-Aufsichtsratsvorsitzender Dr. Peter Fritz und der Vorstandsvorsitzende des Forschungszentrums, Professor Dr. Manfred Popp, die Synchrotronstrahlungsquelle ANKA am 2. Februar 2001 ihrer Bestimmung. Das Großgerät steht für die Mikrofertigung, vor allem aber auch für analytische Aufgaben zur Verfügung.**

---

Finanzierungsschlüssel 50% der Beschaffungskosten trug, zielt vor allem darauf ab, kleinen und mittelständischen Unternehmen im Land Synchrotronstrahlung für fertigungstechnische und analytische Fragestellungen zur Verfügung zu stellen.

Zwei Beiträge in diesem Heft beschäftigen sich mit der Weiterentwicklung und Anwendung analytischer Methoden mit Hilfe von Synchrotronstrahlung. So lassen sich mit **Synchrotron-Röntgenfluoreszenzanalyse** Spurenelemente zerstörungsfrei und in geringsten Mengen nachweisen. Geologische, mineralogische, archäologische, aber auch biologische und umweltrelevante Proben können so auf Elemente von Natrium bis Uran untersucht werden. Durch Variation des Einfallswinkels der Röntgenstrahlung können sowohl Informationen aus dem Inneren der Probe, als auch von der Oberfläche gewonnen werden.

Dagegen ermöglicht **Proteinkristallographie**, die molekulare Struktur komplexer Eiweiß-Moleküle (Proteine) aufzuklären, sofern diese in einen einkristallinen Zustand überführbar sind. In der Aufklärung des Proteoms, der Gesamtheit aller Proteine einer Zelle, sehen Forscher den Schlüssel zum Verständnis biologischer Prozesse und damit unter anderem zur Behandlung von Krankheiten.

Eng verbunden mit den wissenschaftlichen Programmen des Forschungszentrums sind Entwicklung und Anwendung einer Vielzahl weiterer analytischer Methoden. Im Rahmen der Gesund-

heitsforschung wurde ein Verfahren entwickelt, um die Proteinabsorption und Zelladhäsion auf Polymeroberflächen zu untersuchen. Die **Quarzmikrogravimetrie** nutzt die hohe Massensensitivität der Sensoren zur spezifischen Detektion von Antigenen in biologischen Proben. Nach Überwindung messtechnischer Probleme im Bereich Spezifität und Langzeitstabilität liegt in dieser Methode ein hohes Potential für die Diagnostik.

Im Bereich der Umweltforschung wurde die **faseroptische Impulsreflektometrie** entwickelt, die auf optischer Impulsrückstreuung in chemisch sensitiven Lichtleitern beruht. Mit diesem Verfahren kann der Austritt umweltgefährdender Substanzen beispielsweise aus Rohrleitungen, Tanks, Chemieanlagen oder Deponien, lückenlos und kontinuierlich überwacht werden.

Im Grundwasser dispergierte kleinste Partikel im Größenbereich von wenigen Nanometern beeinflussen die Löslichkeit und das Transportverhalten von Radionukliden und anderen Stoffen. Die Messung dieser Nanopartikel gelingt mittels **Laser induzierter Breakdown Detektion**. Mit dieser Methode kann sowohl die Größenverteilung der Partikel, als auch ihre Konzentration bestimmt werden. Diese Forschungsarbeiten berühren die Bereiche Nukleare Entsorgung und Umwelt.

Eine spannende Anwendung der ursprünglich für die Umweltforschung entwickelten Nutzung der **photothermischen Ablenkung** ist die Untersuchung von Kunst-

gegenständen. Insbesondere können mit diesem zerstörungsfreien analytischen Verfahren Oberfläche und Textur beispielsweise von Pastell- und Kreidezeichnungen bestimmt werden.

In der Materialforschung in verschiedenen Programmen des Forschungszentrums werden die **thermophysikalischen Eigenschaften**, also Wärmeleitfähigkeit, thermische Ausdehnung oder die spezifische Wärmekapazität benötigt. Solche Größen sind wichtig für die Auslegung von Anlagenkomponenten und die Entwicklung neuer Materialien.

# Proteinstrukturanalyse mit Synchrotronstrahlung

G. Buth, D. A. Moss, ISS

## Einleitung

Ziel der Proteinstrukturanalyse ist es, die Funktion von Proteinen zu verstehen und erklären zu können. Proteine sind molekulare Nanomaschinen mit beweglichen Teilen, Bindestellen zur Erkennung und zum Greifen von anderen Molekülen, usw. (Abb. 1) Die Frage, wie ein bestimmtes Protein seine Aktivität umsetzt und seine Rolle in den Lebewesen erfüllt ist letztendlich nur durch ein Verständnis seiner Struktur und strukturellen Dynamik zu erreichen.

In diesem Beitrag schildern wir, wie an der Synchrotronlichtquelle ANKA mit Hilfe der komplementären Messmethoden Röntgendiffraktion und Infrarotspektroskopie auf dieses Ziel hin gearbeitet wird.

## Proteinkristallografie

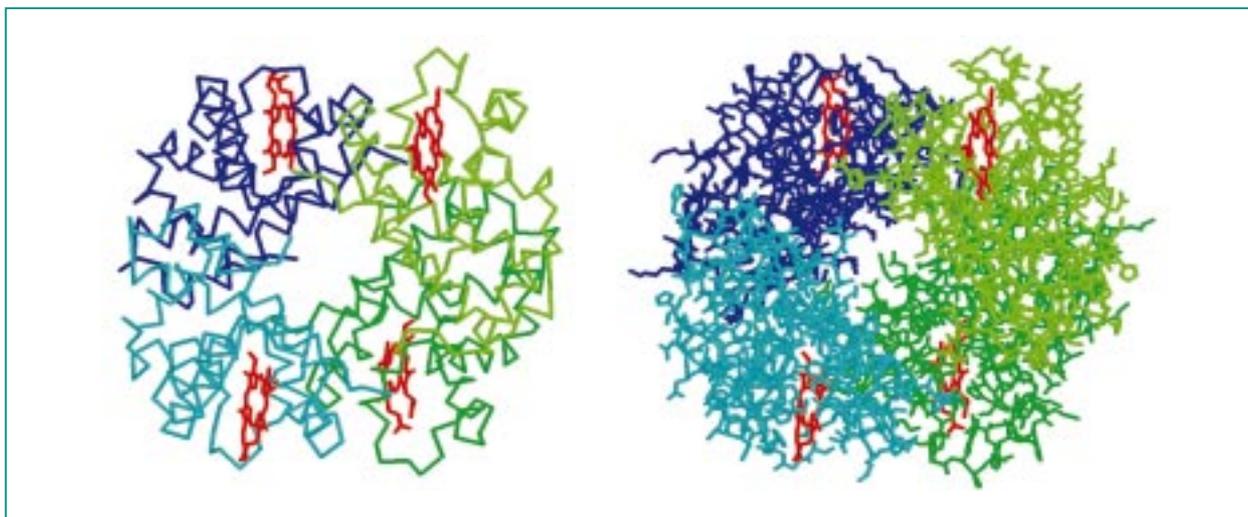
Mittels der Proteinkristallografie ist es möglich, die molekulare Struktur komplexer Eiweißmoleküle (Proteine) im Detail aufzuklären, insoweit sie in einen ein-kristallinen Zustand überführbar sind. Ziel einer Proteinstrukturanalyse ist die Bestimmung der Koordinaten jedes der einige 100 bis 1000 Atome in der Einheitszelle eines Proteinkristalls. Die Kenntnis der räumlichen Struktur eines Proteinmoleküls erlaubt die Entwicklung von Modellvorstellungen über Struktur-Wirkungsbeziehungen, etwa von Enzymen. Diese Erkenntnisse sind beispielsweise in der Pharmaforschung von vitalem Interesse, so auch für die gezielte Synthese von Wirkstoffen („Drug design“). Unter den vielen weiteren Anwendungen sei nur die Optimierung von Fettspaltern (Lipasen) in Waschmitteln erwähnt.

## Proteinkristallografie in Kurzform

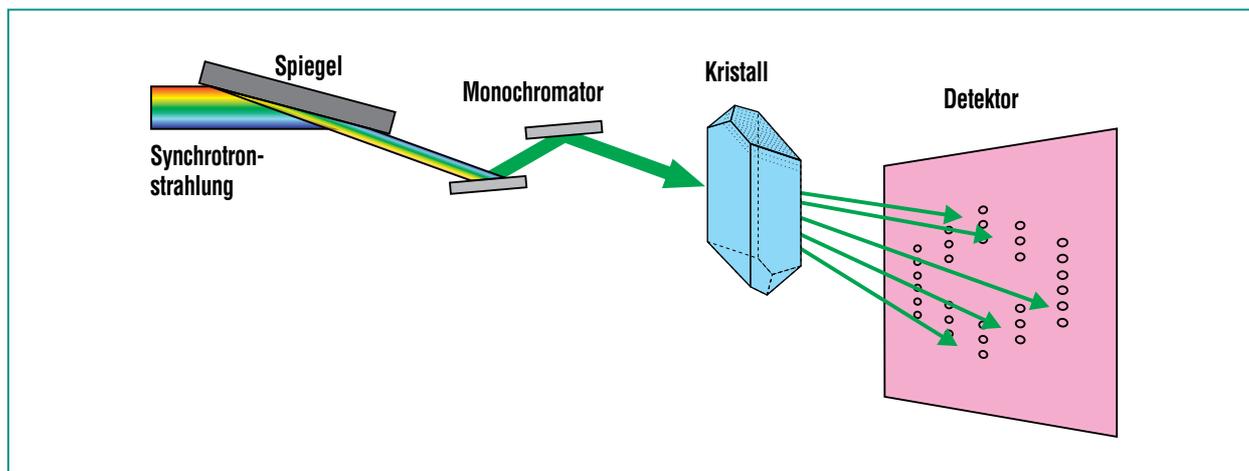
Wird ein Protein-Einkristall mit Röntgenlicht bestrahlt, wirken die Netzebenen des Kristalls analog zu einem optischen Beugungsgitter, allerdings in 3 Dimensionen. Die Röntgenstrahlung wird abgelenkt in Richtungen, die durch die Geometrie (Gitterparameter, Symmetrie) der Einheitszelle bestimmt werden. Für die Intensitäten der Reflexe ist die Anordnung der Atome innerhalb der Einheitszelle maßgebend.

Zur Analyse der 3D-Struktur wird der Kristall im Röntgenstrahl wiederholt um einen kleinen Winkel rotiert und dabei die gebeugte Röntgenstrahlung mit einem Flächendetektor registriert (Abb. 2).

Aus den gemessenen Intensitätsdaten ist auf die Anordnung der Atome in der Elementarzelle zurück zu schließen. Eine als das „Phasenproblem der Kristallogra-



**Abb. 1: Struktur des Hämoglobins.** Diese erste Proteinstrukturbestimmung wurde in Cambridge von Perutz und Kendrew mittels Röntgendiffraktion durchgeführt, wofür sie 1962 den Nobelpreis erhielten. Links ist nur das sog. Rückgrat dargestellt, um das verschlungene Faltmuster der vier Polymerketten sichtbar zu machen. Rechts sind alle 4656 Atome (ohne H) dieses eher unterdurchschnittlich großen Proteins dargestellt.



**Abb. 2: Schema des Aufbaus für Proteinkristallographie bei ANKA.**

phie“ bekannte Schwierigkeit dabei ist, dass Röntgendetektoren nur die Intensität, das Quadrat der Wellenamplitude der Reflexe messen. Das vom Kristall abgebeugte Wellenfeld enthält die Information über die Kristallstruktur aber in Form von Amplitude und Phase. Die Streuphasen müssen auf geeignete Weise rekonstruiert werden.

Eine recht bekannte und verbreitete Methode hierzu ist der „Multiple isomorphe Ersatz“ (MIR, „Multiple Isomorphous Replacement“). Der Kristall wird gezielt mit Schweratomen (z. B. Hg, Pt) verunreinigt, die sich an bestimmten Gitterplätzen einlagern. Dadurch ändert sich die Elektronendichte auf charakteristische Weise. Durch Vergleich der Streuintensitäten verschieden präparierter Kristalle kann die Phase der Reflexe bestimmt und die Struktur gelöst werden. Damit dies gelingt, darf sich die Gitterstruktur der Kristalle durch den Einbau der Fremdatome nicht verändern (Isomorphie). Damit die Phasenlösung eindeutig wird, sind mindestens zwei Derivate zu

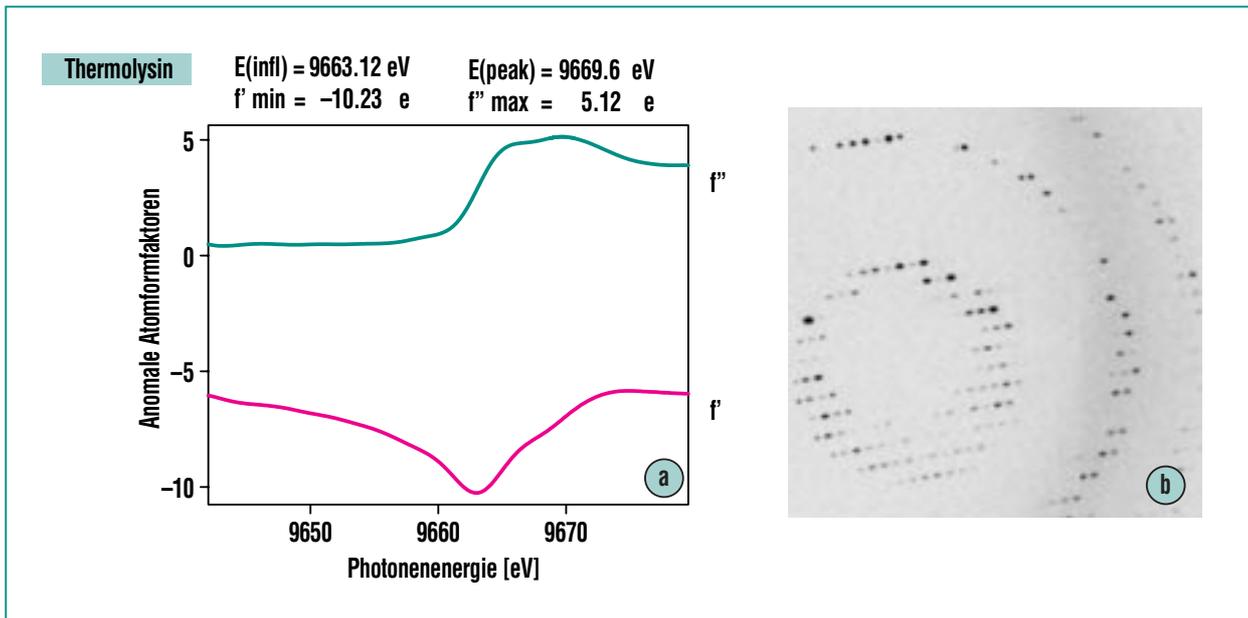
finden, bei denen die Schwermetallatome an unterschiedlichen Stellen an das Proteinmolekül binden. Mithin ist oft eine aufwändige Präparation geeigneter Kristalle, Suche nach geeigneten Schwerelementen und viel Ausprobieren erforderlich.

### *Proteinkristallographie mit Synchrotronstrahlung*

Synchrotronstrahlung hat eine Reihe herausragender Eigenschaften: Neben hoher Brillanz ein sehr breites Strahlungsspektrum vom fernen Infrarot bis in den harten Röntgenbereich. Ein entscheidender Vorteil für die Strukturanalyse ist, dass aus diesem Spektrum Strahlung mit einer über einen weiten Bereich durchstimmbaren Photonenenergie selektiert werden kann. Damit ist es möglich, solche Elemente im Proteinkristall gezielt anzuregen, die in der Lage sind, bei einer bestimmten Energie in Resonanz mit dem einlaufenden Röntgenwellenfeld zu gelangen. Dadurch ändert sich ihr atomares Streuvermögen beim Durchgang durch eine Resonanz (Abb. 3).

Gewissermaßen übernimmt jetzt eine einzelne Atomsorte, bei unterschiedlicher Energie angeregt, die Rolle der verschiedenen Elemente in den Schwermetallderivaten des MIR-Verfahrens.

Die zu Grunde liegende Funktionsweise dieses „MAD“ für „Multiple Anomale Dispersion“ genannten Verfahrens [1] lässt sich mit einem einfachen optischen Analogon veranschaulichen: Stellen wir uns vor, der Kristall bestünde aus lauter grauen Atomen, in das einige grüne Atome eingebettet sind. Strahlt man den Kristall mit rotem Licht an, heben sich die grünen Atome nicht deutlich von den grauen Atomen ab. Ändert man nun die Farbe des einfallenden Lichts von rot nach grün, scheinen mit einmal die grünen Atome hell aufzuleuchten und heben sich vom grauen Hintergrund deutlich ab, und man ist in der Lage ihre Positionen eindeutig zu bestimmen. Das MAD-Verfahren hat den Vorzug, dass im Prinzip eine komplette Strukturlösung mit nur einem einzigen Einkristall möglich ist, vorausgesetzt, er besitzt ein Element mit



**Abb. 3:** a) Streuvermögen der Zn-Atome in Thermolysin als Funktion der Photonenergie (dispersive Korrekturen) [3, 4]. b) Beugungsbild eines Thermolysin-Einkristalls: ein Bild von ca. 1200 eines MAD-Datensatzes [3].

einer Resonanz im der Messung zugänglichen Bereich. Hier hat sich Selen durchgesetzt wegen der Möglichkeit, bereits bei der Genexpression eines Proteins die schwefelhaltige Aminosäure Methionin durch Selenomethionin zu substituieren.

### Proteinkristallographie bei ANKA

Am Speicherring ANKA [2] wird ein Strahlrohr für makromolekulare Kristallographie betrieben. Es ist für Strukturbestimmungen mit MAD bei Energien zwischen 5 keV und 20 keV ausgelegt. Eine mit einem Röntgenspiegel vertikal und mit einem gebogenem Monochromatorkristall horizontal fokussierende Optik lenkt den Strahl auf einem typisch 0,1 mm<sup>3</sup> bis 0,5 mm<sup>3</sup> kleinen Probenkristall (Abb. 2). Zur Vermeidung von Strahlenschäden wird der Kristall

in einem kalten Stickstoffgasstrom bei Temperaturen um 100 K eingefroren. Als Detektionssysteme stehen wahlweise eine langsame aber großflächige Bildplatte und ein kleiner aber schneller CCD-Detektor zur Verfügung.

### Infrarotspektroskopie

Mit der Infrarotspektroskopie werden die Frequenzen von Streck- und Biegeschwingungen interatomarer Bindungen direkt gemessen. Solche Molekülschwingungen lassen sich gut anhand der wohlbekannten Kugel- und Stabmodelle von Molekülen vorstellen, wenn man gedanklich die Stäbe etwas realitätsnäher durch Federn ersetzt. Das ganze Molekül ist ständig in Bewegung und alles vibriert. Die Frequenzen dieser Schwingungen hängen von den Massen der

beteiligten Atome (d.h. deren chemischer Identität), der Stärke der Bindung sowie den Bindungslängen und -winkeln ab, also von allen Parametern, die die Molekülstruktur ausmachen.

Im Gegensatz zur Röntgenkristallographie liefert die Infrarotspektroskopie keine genauen dreidimensionalen Atomkoordinaten. Allerdings wirkt das Infrarotspektrum von Proteinen wie eine Art Fingerabdruck der Proteinstruktur, in dem sich selbst winzigste Strukturveränderungen ausdrücken [5]. Dabei ist eine Kristallisation nicht erforderlich; das Infrarotspektrum kann mit dem Protein in dessen nativem Zustand in Lösung oder in situ in einer Biomembran aufgezeichnet werden. Selbst Messungen an Zellen und Geweben in vivo sind möglich, und dieses Anwendungsgebiet wächst ständig.

Die Infrarotspektroskopie kann auch zeitlich aufgelöste Daten bis hinunter zu Zeitskalen von Nanosekunden liefern. Aus diesen Gründen sind Infrarotspektroskopie und Röntgenkristallographie Verfahren, die einander hervorragend ergänzen: Die Infrarotspektroskopie liefert dynamische Angaben als Ergänzung zu den im Wesentlichen statischen Strukturangaben der Proteinkristallographie. Damit kommen wir dem Ziel der Strukturbiologie näher, die Funktion biologischer Makromoleküle anhand ihrer Molekülstruktur zu erklären.

Die Fähigkeit der Infrarotspektroskopie, die Dynamik von Proteinstrukturen zu erfassen, kann am besten anhand eines Beispiels illustriert werden. Die Spektren in Abb. 4 zeigen die In-vitro-Fehlfaltung eines rekombinierten Prionenproteins aus der nativen Form in die pathologische Form, die

BSE hervorrufen soll [6]. Die negative (d.h. verschwindende)  $\alpha$ -Helixbande und die positive (d.h. entstehende)  $\beta$ -Faltblattbande deuten in Übereinstimmung mit den bisherigen Erkenntnissen darauf hin, dass es sich hierbei um die Umwandlung einer Helixstruktur in eine Faltblattstruktur handelt. Das kleine Maximum bei  $1690\text{ cm}^{-1}$  bedeutet übrigens, dass das  $\beta$ -Faltblatt antiparallel verläuft. Diese Fehlfaltung erfolgt bei niedrigerem pH-Wert viel schneller, doch zeigen die spektralen Signaturen, dass sich bei beiden pH-Werten die gleiche Umfaltung ergibt.

#### Infrarotspektroskopie mit Synchrotronlicht

Synchrotronlicht bietet dem Infrarotspektroskopiker eine Reihe erheblicher Vorteile gegenüber den üblichen Infrarotlichtquellen im Labor. [7] Wichtigster Vorteil ist

die tausendfach größere Brillanz (das bedeutet in etwa Lichtfluss pro Einheitsfläche), die sich in einer gewaltigen Verbesserung der Datenqualität ausdrückt, wenn man mit Proben von Mikrogröße arbeitet. Mit Synchrotronlicht lassen sich gute Daten im mittleren Infrarotbereich bei einer Ortsauflösung bis zu der Beugungsgrenze von  $5 - 10\text{ }\mu\text{m}$  erzielen.

Die Vorteile dieser hohen Ortsauflösung bei der Untersuchung von biologischen Materialien liegen auf der Hand – siehe hierzu Abb. 5 [8]. Aber auch bei Messungen an reinen Proteinen in Lösung kann die hohe Ortsauflösung des Synchrotronlichts für die Durchführbarkeit eines Experiments entscheidend sein. Der einschränkende Faktor bei Messungen an biologischen Proben ist oft die geringe verfügbare Probenmenge. Mit dem kleinen Messfleck des Synchrotronlichts,

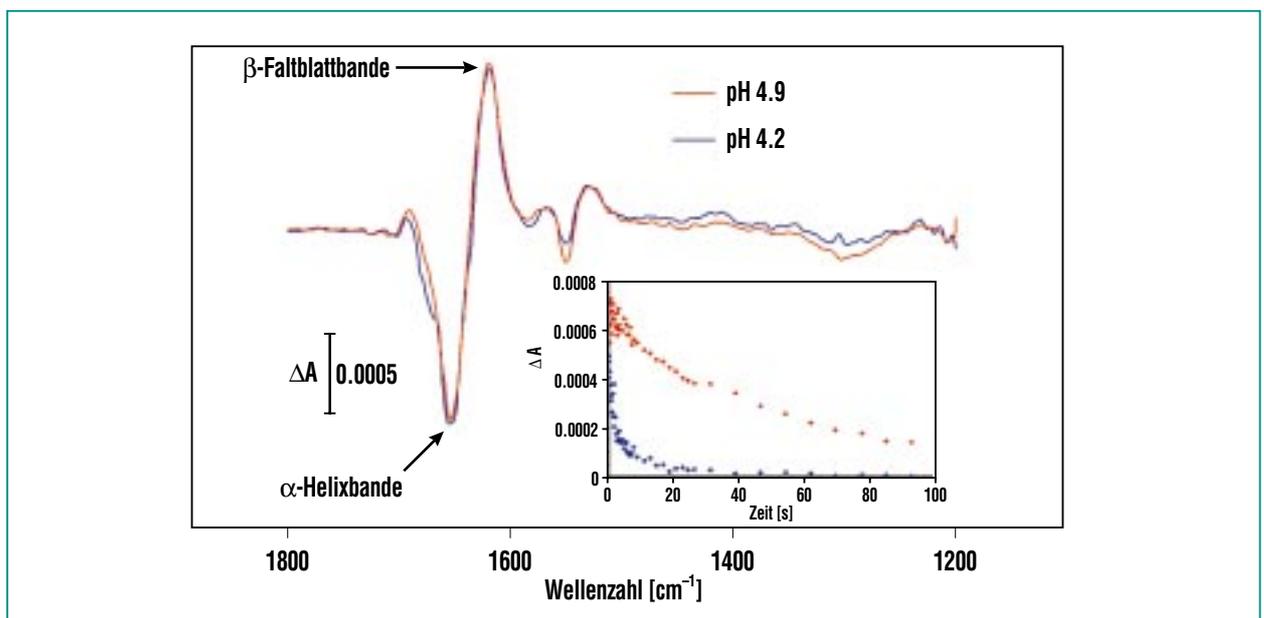


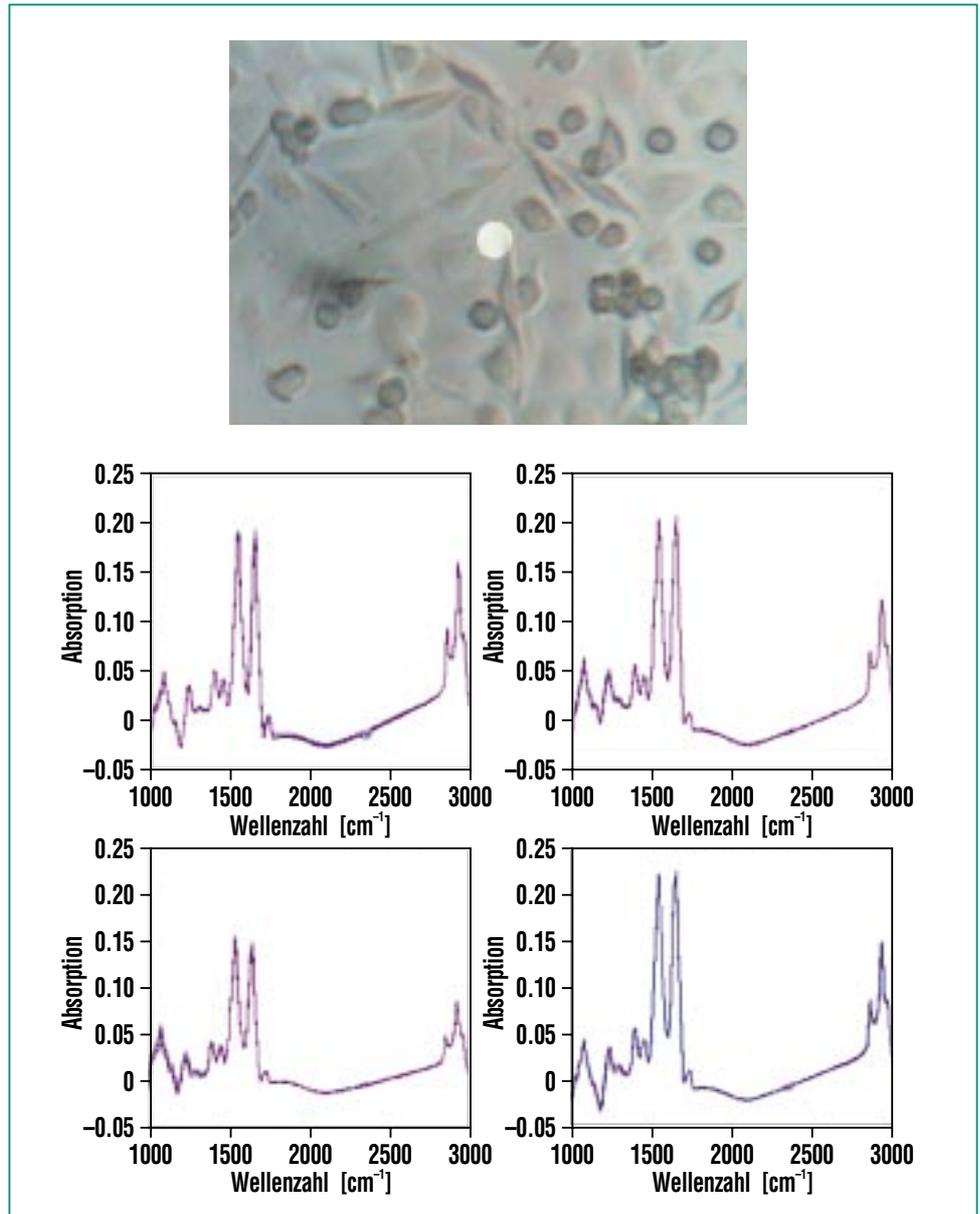
Abb. 4: Fehlfaltung eines Prionenproteins (in Zusammenarbeit mit dem Robert-Koch-Institut, Berlin). Die Infrarotdaten liefern eine Art Fingerabdruck des Umfaltungsmusters, hier in Abhängigkeit des pH-Wertes.

zusammen mit entsprechender Mikrofluidik [9, 10], lässt sich der benötigte Probenbedarf drastisch reduzieren. Ein Messfleck-Durchmesser von 10  $\mu\text{m}$  bedeutet ein Messvolumen von 1 Picoliter ( $10^{-12}$  Liter)!

Als weitere Vorteile des Synchrotronlichts können die natürliche Polarisation sowie die gepulste Zeitstruktur in biologischen Untersuchungen nutzbar gemacht werden. Schließlich bietet Synchrotronlicht im gesamten fernen Infrarotbereich bis hinauf zu mm-Wellenlängen eine nutzbare Intensität und ermöglicht damit die Untersuchung verhältnismäßig wenig erforschter Bereiche der Absorptionsspektren biologischer Makromoleküle.

### Zusammenfassung

Bei der Proteinstrukturanalyse verfolgt man das Ziel, die Funktionsweise von Proteinen auf molekularer Ebene zu verstehen. Mit Hilfe der komplementären Messmethoden Röntgendiffraktion und Infrarotspektroskopie wird an der Synchrotronlichtquelle ANKA auf dieses Ziel hingearbeitet. Durch Röntgendiffraktion wird ein vollständiges Strukturmodell des Proteins im Sinne der X,Y,Z-Koordinaten sämtlicher Atome erzeugt. Die Infrarotspektroskopie liefert dynamische Angaben als Ergänzung zu den im Wesentlichen statischen Strukturangaben der Proteinkristallographie. Bei beiden Messmethoden werden die Vorteile des Synchrotronlichts – seine hohe Intensität, niedrige Divergenz und extrem breite Durchstimbarkeit – im vollen Umfang ausgenutzt.



**Abb. 5:** Lebende menschliche Krebszellen unter dem Infrarotmikroskop bei ANKA (in Zusammenarbeit mit dem European Molecular Biology Laboratory, Heidelberg). Der helle Kreis mitten im Bild zeigt den eigentlich erfassten Messbereich, hier 20  $\mu\text{m}$  im Durchmesser. Die Spektren von vier Einzelzellen sind zwar sehr ähnlich, jedoch nicht identisch. Ohne die hohe Ortsauflösung des Synchrotronlichts würde man nur ein Durchschnittsspektrum über viele Zellen erhalten, die intraindividuellen Unterschiede würden untergehen.

Strahlzeit an ANKA wird der nationalen und internationalen wissenschaftlichen Gemeinde zur Verfügung gestellt. Antragsfor-

mulare sind auf der ANKA Webseite <http://www.fzk.de/anka/> verfügbar.

## Literatur

- [1] W.A. Hendrickson,  
*Science* 254 (1991) 51-58
- [2] H.O. Moser,  
*Journal of Alloys and Compounds*  
328 (2001) 42-49
- [3] J. Debreczeni, G. Bunkóczi,  
*private Mitteilung (Messung am*  
*ANKA-PX Strahlrohr, 2003)*
- [4] G. Evans, R.F. Pettifer,  
*J. Appl. Cryst.* 34 (2001) 82-86
- [5] D.A. Moss, K. Fuchsle, R. Masuch,  
A. Wolf,  
*Biomedical Spectroscopy*  
(A. Mahadevan-Jansen,  
G. J. Puppels, Eds.),  
*SPIE Proc.* 3918 (2000) 97-105
- [6] F. Sokolowski, A. J. Modler,  
R. Masuch, D. Zirwer, M. Baier,  
G. Lutsch, D. A. Moss, K. Gast,  
D. Naumann,  
*J. Biol. Chem.* 278 (2003)  
40481-40492
- [7] Y.-L. Mathis, B. Gasharova,  
D.A. Moss,  
*WIRMS 2003, Lake Tahoe, Ca.,*  
8.-11. Juli 2003
- [8] M. Keese, R. Pepperkok, D. A. Moss,  
*1st Workshop on Biological*  
*Applications of Synchrotron Infrared*  
*in Europe, Karlsruhe,*  
9.-10. September 2003
- [9] R. Masuch, D. A. Moss,  
*Appl. Spectrosc.* 57 (2003)  
1407-1418
- [10] S. Kulka, N. Kaun, J. R. Baena,  
J. Frank, P. Svasek, D. A. Moss,  
M. J. Vellekoop, B. Lendl,  
*Anal. Bioanal. Chem.*  
(eingereicht)

# Untersuchung biologischer Adsorbate mittels moderner Quarzmikrogravimetrie

A. Welle, IMB

## Grundlagen

Die Quarzmikrogravimetrie (Quartz Crystal Microbalance, QCM) nutzt Änderungen des Schwingungsverhaltens eines Quarzplättchens, hervorgerufen durch Massenbelegung seiner Oberfläche, zu Wägung im Nanogramm-Bereich. Abb. 1 soll das Prinzip verdeutlichen: Tonhöhe (entsprechend der Frequenz,  $f$ ) und Nachklingzeit (beziehungsweise die Dämpfung,  $D$ ) einer Glocke, als Beispiel eines mechanischen Oszillators, sind von ihrer Größe und ihrem Material abhängig<sup>1)</sup>. Setzt sich der Glöckner auf die Glocke, wird der Ton durch die zusätzliche Masse tiefer und klingt aufgrund der Viskoelastizität des Körpers, die für eine zusätzliche Dämpfung sorgt, schneller ab.

Bei der Quarzmikrogravimetrie wird durch Anlegen einer abgestimmten Wechselspannung im MHz-Bereich an die Elektroden auf Ober- und Unterseite eines Quarzes durch den piezoelektrischen Effekt eine Resonanzschwingung angeregt. Abhängig von der Dicke des Quarzscheibchens bildet sich eine transversale Scherschwingung der Kristalloberflächen aus.

Im einfachsten Fall, der Anlage einer starren Schicht auf der Oberfläche eines Quarzes der Dicke  $d_0$ , der ohne nennenswerte Reibungsverluste mit der Frequenz  $f_0$  schwingt, stellt das abgelagerte Material praktisch eine Vergrößerung der Kristalldicke,  $\Delta d$ , und somit der Wellenlänge der Scherschwingung, dar. Sau-



**Abb. 1: Eine Glocke klingt mit charakteristischer Tonhöhe und Nachklingzeit. Die gezeigten Veränderungen der Masse und Materialeigenschaften verändern Tonhöhe und Nachklingzeit, so dass eine Wägung und Rückschlüsse auf die „Festigkeit“ des Glöckners möglich sind.**

erbrey [1] zeigte, dass sich hier die Resonanzfrequenz wie folgt ändert:

$$\frac{\Delta f}{f_0} = -\frac{\Delta d}{d_0} = -\frac{1}{\rho_Q \cdot d} \cdot \frac{\Delta m}{A} \quad (1)$$

### Sauerbrey-Gleichung:

$\rho_Q$  Dichte des Quarzes  
 $A$  Fläche  
 $\Delta m$  Massenänderung

Da die genannten Randbedingungen beim Metallaufdampfen und anderen technischen Prozessen erfüllt sind, wird QCM zur Schichtdickenbestimmungen mit Sub-Nanometerpräzision genutzt. Bei dem am IMB eingesetzten Gerät (Abb. 2) entspricht nach (1) eine Massenbelegung von  $18 \text{ ng/cm}^2$  einer Verschiebung der ersten Resonanzfrequenz (5 MHz) um 1 Hz.

1) Daneben spielen das Umgebungsmedium und die Temperatur eine Rolle.

## Weiterentwicklungen

Vergleicht man die Viskositäten von Luft und Wasser, erscheint es unrealistisch, eine Quarzmikrowaage in Flüssigkeiten anzuwenden, da die wesentlich stärkere Dämpfung hier eine stabile Oszillation des Kristalls verhindert. Trotz der Attraktivität der Messmethode erschienen erst 2 Jahrzehnte nach Sauerbrey's Veröffentlichung



**Abb. 2: QCM-D Messaufbau. Rechts Hochfrequenzelektronik, davor Messkammer für Durchflussmessungen, am Binokular zweite Messkammer mit Sichtfenster.**

fentlichung weitere Berichte, die Quarzmikrogravimetrie in flüssigen Medien beschreiben [2]. Neben der großen Dämpfung bereiten die elektrische Kontaktierung des Kristalls und die Temperaturkontrolle<sup>2)</sup> experimentelle Probleme. Parallel zu technischen Verbesserungen wurden auch die Modelle weiterentwickelt: Zunächst wurde von Kanazawa [3] die Kopplung der Scherwelle mit der Flüssigkeit, später von Martin [4] eine starre Adsorbatschicht zusammen mit einer viskosen Flüssigkeit berücksichtigt.

In der rasch ansteigenden Zahl untersuchter Adsorbate, die mehr und mehr biologischen Ursprungs waren, tauchten nun häufiger Proben auf, die so weit von einem starren und ohne Phasenverschiebung mitschwingenden System entfernt waren, dass bisherige Modelle unrealistische Massen lieferten. Daher wurden

neue Modelle für viskoelastische Adsorbate entwickelt [5, 6]. Diese Stoffe zeigen bei Scherung sowohl die Dämpfung einer Flüssigkeit als auch eine Rückstellkraft<sup>3)</sup>. Das heißt, dass zusätzlich zu den Eigenschaften der Flüssigkeit die Dicke,  $d_F$ , und Dichte,  $\rho_F$ , des Adsorbatfilms sowie das komplexe Schermodul,  $G$ , die Messgrößen beeinflusst.  $G$  ist definiert als:

$$G = G' + iG'' = \mu_F + i2\pi f\eta_F \quad (2)$$

$\mu_F$  Elastizitätsmodul  
 $\eta_F$  Scherviskosität

Um die unbekanntenen Größen  $d_F$ ,  $\rho_F$ ,  $\mu_F$  und  $\eta_F$  zu modellieren (siehe Anhang), werden Dämpfungs- und Frequenzänderungen der Grundschwingung und bei Ober-tönen bis 35 MHz registriert. Damit liefert die Quarzmikrogravimetrie mit Dämpfungsmessung (QCM-D) sowohl die Masse als auch viskoelastische Größen eines Adsorbates, die, wie im Fol-

genden gezeigt wird, für das Verständnis biologischer Prozesse an Oberflächen wichtig sind. Ein weiteres Charakteristikum der QCM ist, dass im Gegensatz zu anderen Verfahren (Tab. 1) der Wassergehalt eines Adsorbats miterfasst wird.

### Aktuelle Anwendungen aus der Biologie

Die Wechselwirkung künstlicher Oberflächen, zum Beispiel Zellkulturträger oder medizinischer Implantate, mit Bakterien, höheren Zellen oder Geweben wird immer vom Proteinadsorbat bestimmt, das spontan beim Kontakt der Oberfläche mit Zellkulturmedium oder Blut gebildet wird. Somit erfordert die Entwicklung spezieller Biomaterialien neben klassischer Oberflächenanalytik die Charakterisierung dieses Adsorbates, zum Beispiel mit den in Tab. 1 genannten Verfahren.

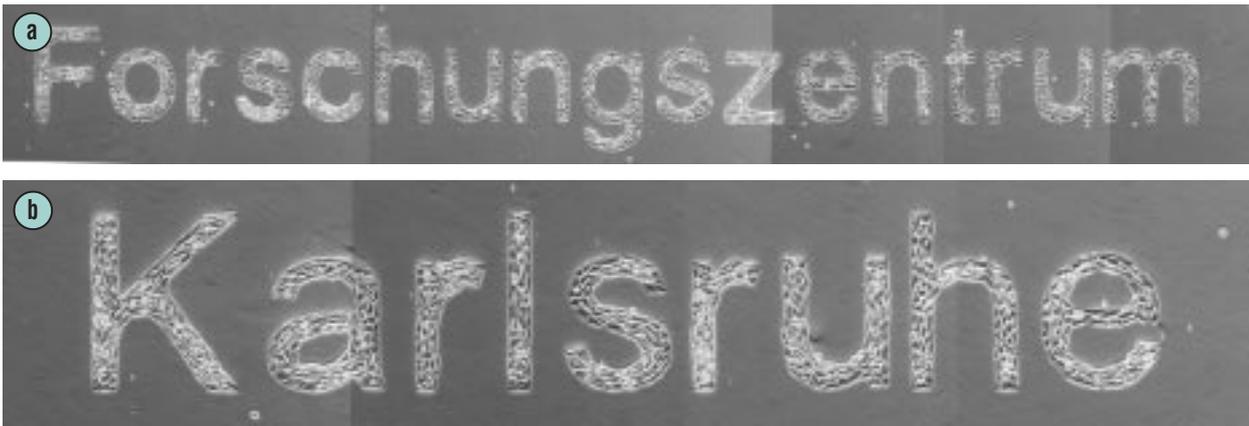
	Kinetik	Massenbelegung	Weitere Parameter	Selektivität *
QCM-D	ja	ja	$\mu_F$ und $\eta_F$	nein
Surface Acoustic Wave [7]	ja	ja	–	nein
Ellipsometrie [8]	ja	ja, nach Kalibrierung	Brechungsindex	nein
Oberflächen Plasmonen Resonanz [9]	ja	ja, nach Kalibrierung	Brechungsindex	nein
Elektrophorese/immunologisch* [10]	nein	grob	–	ja
MALDI-TOF * [11]	nein	nein	–	ja

**Tab. 1: Methoden zur Untersuchung von Proteinadsorbaten.**

**\*) Nach Desorption kann die Zusammensetzung eines Multiproteinadsorbats bestimmt werden.**

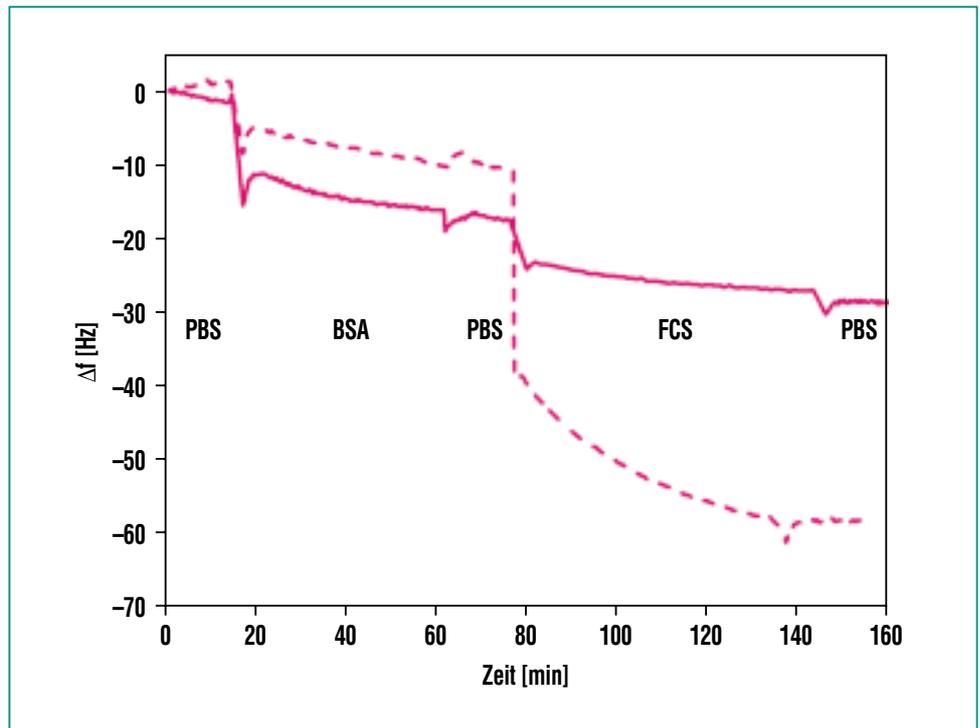
2) Temperaturänderungen beeinflussen stark die Viskosität der Flüssigkeit.

3) Ein Gummiball zeigt Viscoelastizität. Fällt er auf den Boden wird ein Teil seiner kinetischen Energie durch Scherspannung konserviert und wieder in potentielle Energie umgewandelt. Der Rest geht durch die Viskosität verloren wodurch der Ball nicht wieder sein Ausgangsfallhöhe erreicht.



**Abb. 3 a) und b):** Lebende Zellen (L929 Fibroblasten), die in UV-modifizierten Bereichen einer Polystyroloberfläche haften und von unmodifiziertem PS abgestoßen werden [12, 13]. Höhe der Initialien jeweils 475  $\mu\text{m}$ .

Am IMB wurde ein Verfahren zur Steuerung von Zelladhäsion auf Kunststoffen entwickelt [12, 13]. Das Schreiben chemischer Muster auf Polymeroberflächen, die von lebenden Zellen „gelesen“ werden können (Abb. 3), erlaubt den Aufbau komplexer, organähnlicher Strukturen in Bioreaktoren. Im QCM-D Experiment nach Abb. 4 werden zwei unterschiedlich modifizierte Polystyrol-(PS-)Oberflächen<sup>4)</sup> zunächst einer Pufferlösung (PBS) und nach 15 Minuten einer Albuminlösung<sup>5)</sup> (BSA) ausgesetzt. Nach Gleichung (1) zeigt die Frequenzabnahme die Adsorption des Proteins. Wird nach 1 Stunde mit PBS gespült, bleibt Albumin in unterschiedlicher Menge auf den Oberflächen zurück. Bei der folgenden Inkubation mit verdünntem Serum (FCS), das eine komplexe Proteinmischung enthält, werden auf dem UV-modifizierten PS im Vergleich zum Unbehandelten mehr Proteine gebunden.



**Abb. 4:** Frequenzänderung bei Proteinadsorption auf unbehandeltem (durchgezogen) und UV-modifiziertem Polystyrol (gestrichelt). Zu Beginn Pufferlösung (PBS), nach 15 Minuten Albuminlösung (BSA). Frequenzabnahme entspricht Adsorption des Proteins. Nach 1 Stunde Spülen mit PBS und folgend Inkubation mit Serum (FCS), dabei werden je nach Oberfläche weitere Proteine deponiert.

4) Durch Spincoating auf den Quarzkristall aufgebracht.

5) Kleinstes und häufigstes Protein im Blutplasma bzw. Serum. Ohne Peptidsequenzen die von den Rezeptoren der Zelle als Adhäsionspunkte erkannt werden.

Material	$\eta_{\text{BSA}}$ [ $\times 10^{-3}$ Pa s]	$G_{\text{BSA}}$ [kPa]	$d_{\text{BSA max}}$ [nm]
Gold	$4,3 \pm 0,5$	$670 \pm 150$	$0,8 \pm 0,1$
PS	$7,6 \pm 1,3$	$1100 \pm 140$	$2,2 \pm 0,2$
PS, UV-modifiziert	$4,5 \pm 0,4$	$1100 \pm 120$	$1,6 \pm 0,2$

**Tab. 2: Viskosität  $\eta_f$ , Schermodul  $G$ , und Sättigungsschichtdicke des Albuminadsorbats auf unterschiedlichen Oberflächen.**

Das bedeutet, dass zellabweisendes PS eine passivierende, albuminreiche Proteinschicht adsorbiert, während UV-modifiziertes PS die Albuminadsorption unterdrückt und statt dessen zelladhäsionsfördernde Serumproteine bindet. Die QCM-D zeigt zusätzlich Unterschiede der Viskoelastizität des Albumins (Tab. 2). Es wurde beobachtet, dass

Oberflächen mit hochviskosen Albuminschichten besonders schlecht von Leber- und anderen Zellen besiedelt werden.

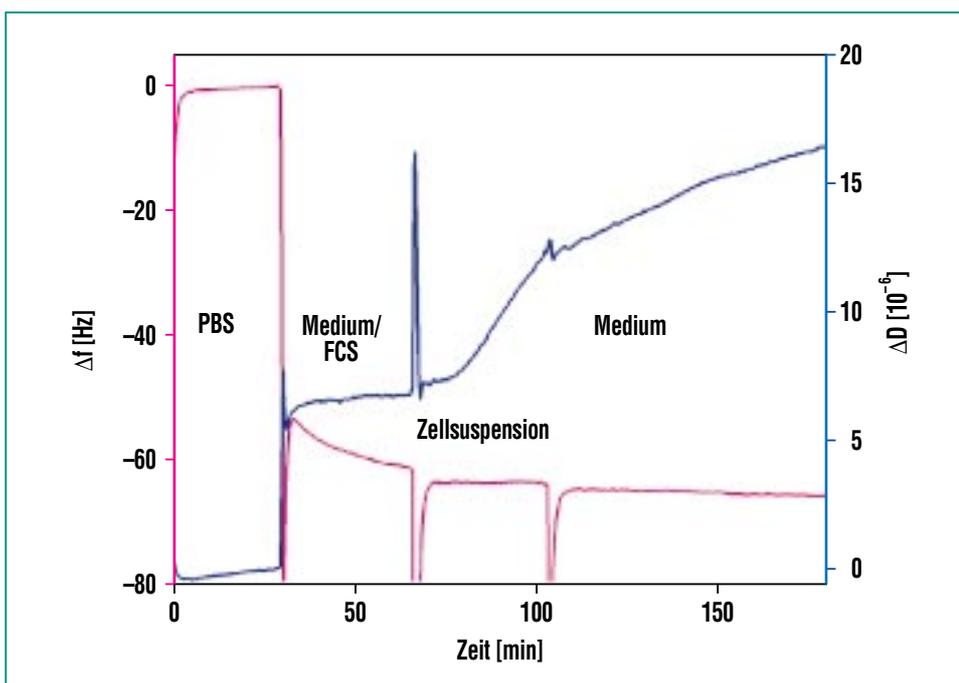
Auch folgende Schritte beim Kontakt lebender Zellen mit konditionierten Oberflächen können mit QCM-D verfolgt werden. Abb. 5 zeigt  $\Delta f$  und  $\Delta D$  bei Proteinadsorption und Zelladhäsion auf

UV-bestrahltem PS. Zunächst enthielt die Messkammer eine Pufferlösung, die bei  $t = 30$  min gegen serumhaltiges Zellkulturmedium ausgetauscht wurde. Die Proteinadsorption bewirkte hier die deutlichen Signaländerungen. Nachdem bei  $t = 65$  min eine Leberzellsuspension in die Kammer gespült wurde und die Zellen auf die Polystyrolbeschichtung des Quarzes sedimentieren und anhaften, reagiert praktisch nur die Dämpfung,  $\Delta D$ , da der größte Teil der Masse haftender Zellen nicht mehr von der Scherschwingung erfasst wird<sup>6)</sup> und die Dichteunterschiede zwischen Zellen und Lösung gering sind. Nur die Zellmembran, die direkten Kontakt zum Sensor hat, beeinflusst die Dämpfung des Systems. Nachdem bei  $t = 105$  min die Kammer wieder mit Medium gespült wurde, stieg  $\Delta D$  durch die Vergrößerung der Kontaktfläche (Zellspreitung) sowie Veränderungen der Membran und des Cytoskeletts weiter an. Derartige Messungen werden am IMB zur Entwicklung neuer Polymere als Trägermaterialien für Bioreaktoren genutzt.

### Zusammenfassung und Ausblick

Die QCM und verwandte Techniken dienen zur Untersuchungen der Vorgänge an der Grenzschicht zwischen synthetischen Materialien und lebenden Systemen (Zellkulturen, Gewebe, Bakterienfilme) und schließen die ge-

6) Die Schwingung reicht von der Sensoroberfläche nur wenige 100nm in das Medium. Der einige Mikrometer darüber hinausreichende Zellkörper wird nicht „mitgewogen“.



**Abb. 5: Frequenz- (rot) und Dämpfungsänderungen (blau) bei Zelladhäsion auf UV-bestrahltem Polystyrol. Erste Signaländerungen bei  $t = 30$  min durch Proteinadsorption aus serumhaltigen Medium. Dämpfungszunahme ab  $t = 65$  min durch Leberzellen, die auf die Oberfläche sedimentieren und dort haften. Nach Spülen mit Medium bei  $t = 105$  min weitere Dämpfungsänderung durch Spreiten der Zellen.**

genwärtig auf dem Forschungsgebiet der Biohybridsysteme bestehenden Lücken zwischen Biologie, Chemie und Materialwissenschaften. Nach bisherigen Erfahrungen ist das oberflächengebundene Proteinensemble wichtiger Auslöser biologischer Vorgänge (Zellvitalität und Funktion). Mit QCM-D können in situ und in Echtzeit die Schichtdicke und viskoelastische Parameter biologischer Adsorbate (Adhäsionsproteine, Antikörper, Extrazellulärmatrix), sowie die Wechselwirkungen lebender Zellen mit diesen Schichten verfolgt werden. So zeigten die bisherigen Arbeiten am IMB, dass durch UV-Modifikation von Zellkulturträgern das Plasmaproteinadsorbat beeinflusst werden kann und so die Adhäsion von Zellen lokal gesteuert wird.

Biologische Adsorbate sind jedoch oft so komplex, dass eine einzelne Analyseverfahren nicht in der Lage ist genügend Information zu liefern. Daher soll im Rah-

men von Kooperationen die Quarzmikrogravimetrie durch weitere Verfahren, wie Zirkulardichroismus-Messungen zur Strukturaufklärung adsorbierter Proteine, ergänzt werden.

Auch die Quarzmikrogravimetrie selbst besitzt ein großes Entwicklungspotential. Ziele der technischen Verbesserungen sind unter anderem robuste und günstige Sensoren, um neue Anwendungsfelder zu realisieren, sowie noch schnellere Systeme zur Datenaufnahme. Neue Anwendungsfelder für die QCM-D und die Surface Acoustic Wave Technik in der angewandten Sensorik dürften sich, ähnlich wie bei Organersatzsystemen in der Medizin, ausgehend von rein künstlichen Geräten hin zu biohybriden Systemen entwickeln. Das heißt, auch in der Sensorik werden Kopplungen eines Transducers wie QCM-D mit biologischen Komponenten entwickelt. Beispiele hierfür sind Sensoren, die auf Antigen/Antikörper-Wechsel-

wirkungen beruhen [16], oder lebende Zellen als aktive Elemente mit besonders hoher Selektivität und Sensitivität enthalten [17, 18].

So sind biohybride Systeme nicht nur selbst Gegenstand der Untersuchungen sondern stellen ihrerseits neue analytische Verfahren dar, denen großes wissenschaftliches Interesse entgegengebracht und von denen ein hohes Anwendungspotential erwartet wird [19-21].

### Danksagung

Mein Dank gilt Simone Weigel, Leo Hörner, Stefan Walheim, Thomas Koch und Kerstin Länge aus dem Forschungszentrum, sowie Mattias Rudh (Q-Sense AB, Göteborg) und Fredrik Höök (Chalmers University of Technology, Göteborg) für ihre freundschaftliche und engagierte Unterstützung.

## Anhang

Die Frequenz- und Dämpfungsänderung  $\Delta f$  bzw.  $\Delta D$  ergeben sich wie folgt:

$$\Delta f = \frac{\text{Im}(\beta)}{2\pi t_Q \rho_Q} \quad \Delta D = -\frac{\text{Re}(\beta)}{\pi f t_Q \rho_Q}$$

$$\beta = \xi_1 \cdot \frac{2\pi f \eta_F - i\mu_F}{2\pi f} \cdot \frac{1 - \alpha \cdot \exp(2\xi_1 d_F)}{1 + \alpha \cdot \exp(2\xi_1 d_F)} \quad \alpha = \frac{\xi_1 \cdot \frac{2\pi f \eta_F - i\mu_F}{2\pi f \eta_L} + 1}{\xi_2 \cdot \frac{2\pi f \eta_F - i\mu_F}{2\pi f \eta_L} - 1}$$

$$\xi_2 = \sqrt{-\frac{(2\pi f)^2 \rho_F}{\mu_F + i2\pi \eta_F}} \quad \xi_1 = \sqrt{i \frac{2\pi f \rho_L}{\eta_L}}$$

Subscripte Q, F und L bezeichnen Quarz, Film (Adsorbat) und Flüssigkeit.

## Literatur

- [1] G. Sauerbrey,  
*Z. Phys.* 155, 206, (1959)
- [2] P.L. Konash, et al.,  
*Anal. Chem.* 52, 1929, (1980)
- [3] K.K. Kanazawa, et al.,  
*Anal. Chim. Acta.* 175, 99, (1985)
- [4] S.J. Martin, et al.,  
*Anal. Chem.* 63, 2272, (1991)
- [5] F. Höök, et al.,  
*Anal. Chem.* 73, 5796, (2001)
- [6] M.V. Voinova, et al.,  
*Physica Scripta* 59, 391, (1999)
- [7] K. Länge, et al.,  
*Anal. Chem.* in press, (10/2003)
- [8] M. Källtorp, et al.,  
*Biomaterials* 20, 2123, (1999)
- [9] T.P. Vikinge, et al.,  
*Biosens. Bioelectron.* 15, 605, (2000)
- [10] M. Santin, et al.,  
*Biomaterials* 20, 1245, (1999)
- [11] R.D. Oleschuk, et al.,  
*Biomaterials* 21, 1701, (2000)
- [12] A. Welle, et al.,  
*Biomed. Microdev.* 4, 33, (2002)
- [13] A. Welle,  
*Nachrichten - Forschungszentrum  
Karlsruhe* 33, 295, (2001)
- [14] G. Nimeri, et al.,  
*Colloids and Surfaces B:  
Biointerfaces* 11, 155, (1998)
- [15] J. Wegener, et al.,  
*Eur. Biophys. J.* 28, 26, (1998)
- [16] J. Piehler, et al.,  
*Biosens. Bioelectron.* 11, 579,  
(1996)
- [17] K.A. Marx, et al.,  
*Biosens. Bioelectron.* 16, 773,  
(2001)
- [18] T. Zhou, et al.,  
*Biotechnol. Prog.* 16, 268, (2000)
- [19] A. Folch, et al.,  
*Annu. Rev. Biomed. Eng.*, 227,  
(2000)
- [20] A.L. Plant, et al.,  
*Langmuir* 19, 1449, (2003)
- [21] M. Tirrell, et al.,  
*Surf. Sci.* 500, 61, (2002)

# Die Laser Induzierte Breakdown Detektion zur Analytik von aquatischen Kolloiden im Ultraspurenbereich

C. Walther, W. Hauser, H. Geckeis, Th. Fanghänel, INE

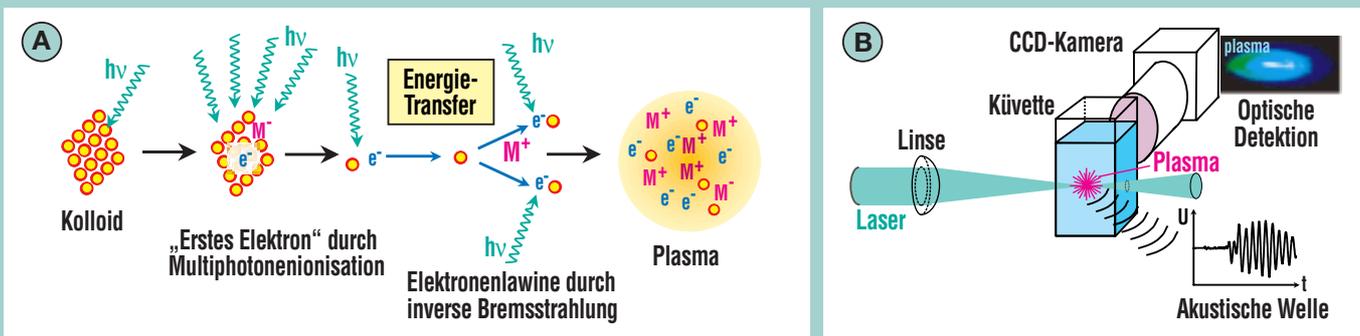
## Einleitung

Noch vor wenigen Jahren wurde die Relevanz des kolloidalen Transports von Radionukliden im Grundwasser weitgehend negiert. Eher zufällig wurde bei Untersuchungen im nuklearen Testgelände der Wüste von Nevada die Migration von Plutonium über eine Distanz von 1,3 km im oberflächennahen Grundwasser beobachtet [1]. In den bis dahin „gülti-

gen“ Modellvorstellungen wurde ein schneller Transport von Plutonium nur über wenige Zentimeter prognostiziert. Bei näherer Betrachtung wird deutlich, dass die Migration des Plutoniums kolloidal verursacht sein muss. D.h. kleinste Partikel, sogenannte Kolloide, sind für den Transport verantwortlich, die durch ihre große und reaktive Oberfläche Schadstoffe effizient adsorbieren und mehr oder weniger unretardiert

transportieren. Dies gilt insbesondere für polyvalente Kationen wie die Actiniden, die zusätzlich Eikenkolloide bilden, was die Konzentration in der mobilen Phase signifikant erhöht. Bei der Bewertung eines Endlagerstandortes ist daher der kolloidale Transport insbesondere der Elemente mit hoher Radiotoxizität wie der Actiniden Am, Th, Pu, Np und U von grundlegender Bedeutung.

## Grundlagen LIBD



Zeitliche Entwicklung der Plasmabackel über 100 ns, aufgenommen mit 200 ps Belichtungszeit.

LIBD basiert auf der selektiven Erzeugung eines Plasmas im Fokus eines gepulsten Laserstrahls genau dann, wenn sich ein Partikel in der Fokusregion befindet. Das Plasma der LIBD wird in einem Mehrstufenprozess generiert (Darstellung A). Eng gebündeltes Licht erzeugt hohe elektrische Feldstärken (hier ca. 100 MV/m), die einen Zusammenbruch der dielektrischen Eigenschaften des Mediums zur Folge haben. Quantenphysikalisch heißt das, dass durch Absorption von 5-6 Photonen innerhalb einiger 100 Pikosekunden Atome oder Moleküle ionisiert werden. Es entstehen also einzelne freie Ladungsträger. Dieser Prozess hat eine sehr geringe Wahrscheinlichkeit – man benötigt  $10^{15}$  Photonen zur Erzeugung eines Elektrons. Dieses wird dann in dem hohen elektrischen Feld des Lasers durch inverse Bremsstrahlung auf Energien beschleunigt, die ausreichen, durch Stöße weitere Elektronen aus benachbarten Atomen herauszuschlagen und eine „Elektronenlawine“ in Gang zu setzen, die innerhalb 1 ns ein Plasma aus freien Ionen und Elektronen (20000 K,  $10^{21}$  Elektronen/m<sup>3</sup>) erzeugt. Wie jede heiße Materie emittiert dieses Plasma Schwarzkörperstrahlung im sichtbaren Spektralbereich und lässt sich mit einer gewöhnlichen CCD-Kamera nachweisen. Aufgrund der plötzlichen Erhitzung dehnt sich das Plasma mit Überschallgeschwindigkeit aus und generiert eine akustische Schockwelle, die schon mit bloßem Ohr wahrzunehmen ist. Im Experiment wird zur Detektion eine Art Mikrophon – ein piezoelektrischer Detektor verwendet (Darstellung B). Die Kolloidselektivität der LIBD beruht nun darauf, dass es in einem (festen) Partikel viel leichter ist, freie Elektronen zu erzeugen als im Wasser. Das heißt, bei geschickt gewählter, niedriger Laserpulsenergie wird nur dann ein Plasma erzeugt, wenn sich ein Partikel im Fokus befindet [4].



**Abb. 1: In-situ-Kolloiddetektion mit einer mobilen LIBD-Anlage (Eigenentwicklung) im Untertagelaboratorium Äspö (Schweden).**

### Methode

Die geringe Größe sowie die z.T. extrem niedrige Konzentration solcher Kolloide erfordert eine höchstempfindliche Nachweismethode. Konventionelle Methoden, wie z.B. die Streulichtdetektion, werden für Teilchen kleiner als die Wellenlänge des gestreuten Lichts zunehmend unempfindlicher, und mikroskopische Methoden erfordern eine zeitaufwändige Probenpräparation. Aus diesem Grunde wurde im INE die Laser Induzierte Breakdown Detektion (LIBD) [2,3] weiterentwickelt, mit der aquatische Kolloide auch in-situ bis in den ng/l-Bereich bestimmt werden können. Das Prinzip beruht auf der selektiven Zündung eines Plasmas immer dann, wenn sich ein Kolloidpartikel im Fokus eines gepulsten Laserstrahls befindet.

Je nach Art des Plasmanachweises unterscheidet man zwischen akustischer und optischer LIBD. Erstere greift die akustische Schockwelle, die das Plasma erzeugt, mit einem piezoelektri-

schen Mikrofon ab [5,6]. Die Partikelkonzentration ergibt sich aus der Häufigkeit, mit der für eine gegebene Zahl von Laserschüssen Plasmen gezündet wurden (BDH). Detektiert man diese Häufigkeit noch als Funktion der Pulsenergie (s-Kurve), dann lässt sich daraus bei geeigneter Kalibrierung mit Referenzkolloiden auch die Größenverteilung der Kolloidteilchen bestimmen, denn an großen Partikeln zündet das Plasma bereits bei geringerer Flussdichte des Laserlichtes als an kleinen.

Diese Abhängigkeit von der Flussdichte nutzt man bei der optischen LIBD aus [7,8]: Wie in Abb. 2 oben gezeigt nimmt die Flussdichteverteilung im Fokus des Lasers von der Mitte zu den Rändern in charakteristischer Weise ab. Daher kann das Plasma für kleine Kolloidpartikel nur im Zentrum gezündet werden, für größere dagegen auch in der Randzone. Mithin lässt sich aus dem Ort, an dem das Plasma zündet, auf die Größe der Partikel zurückschließen. Man benötigt

dazu lediglich ein Mikroskopobjektiv und eine CCD-Kamera. Abb. 2 zeigt unten die räumliche Verteilung der Plasmaschwerpunkte von 4000 Aufnahmen für Latexpartikel unterschiedlicher Größe. Die von den 19-nm-Teilchen herrührenden Plasmen konzentrieren sich in der Mitte, während größere Partikel zunehmend auch in den Randbereichen detektiert werden. Man spricht von wachsender Zündlänge. Wie bei der akustischen Detektion ergibt sich die Partikelkonzentration aus der Breakdown-Häufigkeit über eine Kalibrierung mit Latexpartikelstandards. Im Folgenden werden drei aktuelle Anwendungen der LIBD vorgestellt.

### Kolloid-Migration

Eine im INE entwickelte mobile LIBD-Anlage (Abb. 1) wurde bei Experimenten im Schweizer Felslabor in Grimsel eingesetzt. Ziel des internationalen Projekts ist die Untersuchung des Kolloideinflusses auf die Radionuklidmigration in einer Grundwasser führen-

den Scherzone in Granitgestein. Als Verfüllmaterial eines granitischen Endlagers für radioaktive Abfälle wird Bentonit diskutiert, aus dem Tonkolloide herausgewaschen werden können. Für ein möglichst realistisches Experiment wurde daher ein Cocktail aus natürlichem Grundwasser, Bentonit-Kolloiden (20 mg/l) und inaktiven bzw. radioaktiven Tracern (ca.  $10^{-8}$  mol/l) über ein Bohrloch in die Grundwasser führende Scherzone injiziert (Abb. 3).

Am Ende der Migrationsstrecke (hier 5 m) wird das Grundwasser abgepumpt und kontinuierlich der LIBD-Messzelle zugeführt. Abb. 3 zeigt die gemessene Durchbruchkurve von Bentonit-Kolloiden, die sich gut mit dem mittels ICP-Massenspektrometrie kontinuierlich gemessenen Verlauf der Konzentration an Al deckt, welches als Leitelement für Bentonit dient. Der mittlere Durchmesser der nach 40 Min. im Durchbruch eluierten Kolloide ist mit 116 nm deutlich kleiner als der der injizierten Kolloide (148 nm). Aufgrund dieser Größenabnahme und dem errechneten Kolloidmassenwiedererhalt von nur 55% wird geschlossen, dass eine Fraktion kleinerer Kolloide nahezu vollständig durch die Scherzone migriert, während die größeren Kolloide herausfiltriert werden. Wegen der vergleichsweise großen spezifischen Oberfläche der kleinen mobilen Kolloidfraktion kommt insbesondere hier die Radionuklidsorption zum Tragen. In mehreren derartigen Migrationsexperimenten wurde für die drei- und vierwertigen Actiniden Am, Pu, und Th eine starke Mobilisierung durch Kolloide festgestellt [9].

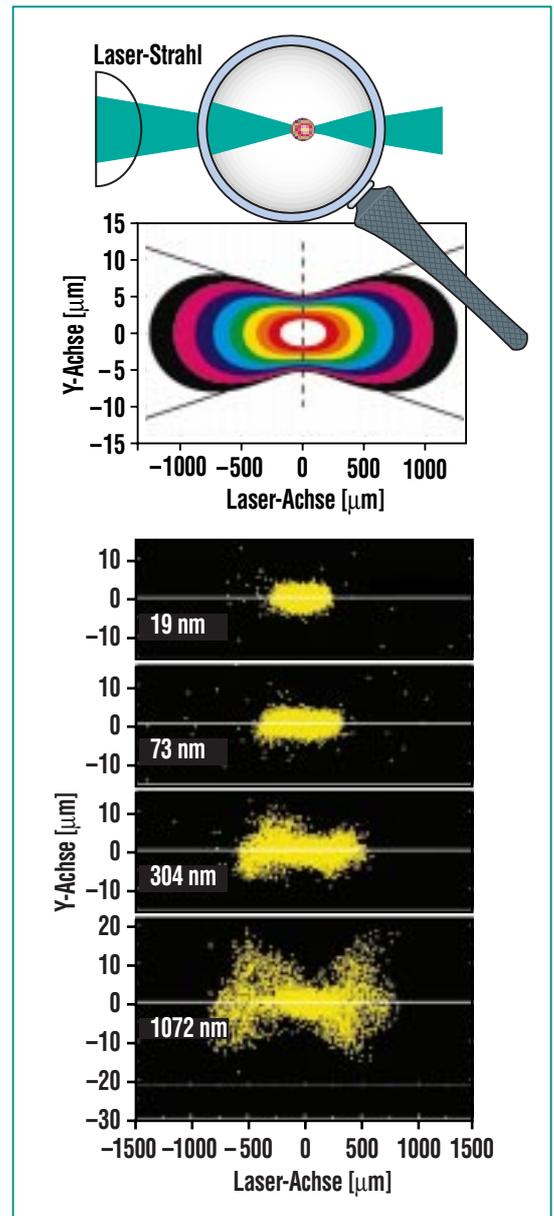
### Kolloidgrößenverteilung

Die bisherige Auswertung der LIBD-Daten (Einsatzschwelle der s-Kurven bzw. Zündlänge) ergibt lediglich eine gewichtete mittlere Kolloidgröße, was bei natürlichen Systemen breiter Kolloidgrößenverteilungen (multimodalen Systemen) unbefriedigend ist.

Im Gegensatz zu Streulichtmethoden wird bei der LIBD die Empfindlichkeit für kleine Partikel nur wenig durch die gleichzeitige Präsenz großer Kolloide beeinträchtigt und die s-Kurve (also die Abhängigkeit der BDH von der Laserpulsenergie) beinhaltet gleichzeitig Information aller Größenfraktionen. Jede monomodale Probe ergibt eine s-Kurve mit definierter Einsatzschwelle und Steigung, eine multimodale Suspension, als Summe mehrerer monomodaler Systeme, erzeugt auch eine Art „Summensignal“. Wird in die Auswertung die gesamte Kurvenform einbezogen, ergibt eine Entfaltung die Konzentrationen in den einzelnen Größenfraktionen.

Mit Hilfe dieser Technik verfolgen wir die Agglomeration von Bentonit-Kolloiden (Abb. 4). Der linke Teil zeigt den Ausgangszustand. Etwa  $\frac{2}{3}$  der Kolloidmasse liegt im Größenbereich um 100 nm (7 ppb) vor,  $\frac{1}{3}$  der Kolloidmasse (3 ppb) hat eine Größe von 20 nm. Aufgrund ihres viel geringeren Volumens (nur  $\frac{1}{125}$ ) ist die Anzahl kleiner Kolloide aber sehr viel höher.

Unter den gewählten chemischen Bedingungen (pH = 6, 10 mM NaCl) agglomerieren die Kolloide fast ungehindert, erkennbar an der Verschiebung der Verteilung



**Abb. 2:** Oben: Im Laserfokus haben die Isolinien, also Regionen gleichen Photonennflusses eine Erdnuss-förmige Gestalt. Unten: Kleine Kolloide werden nur in der Mitte bei hohem Fluss detektiert, große Kolloide zünden auch am Rand.

zu größeren Durchmessern hin nach schon 5 min (Mitte). Der Anteil der 100 nm Partikel bleibt fast unverändert, da die geringere Anzahldichte einen Stoß zweier

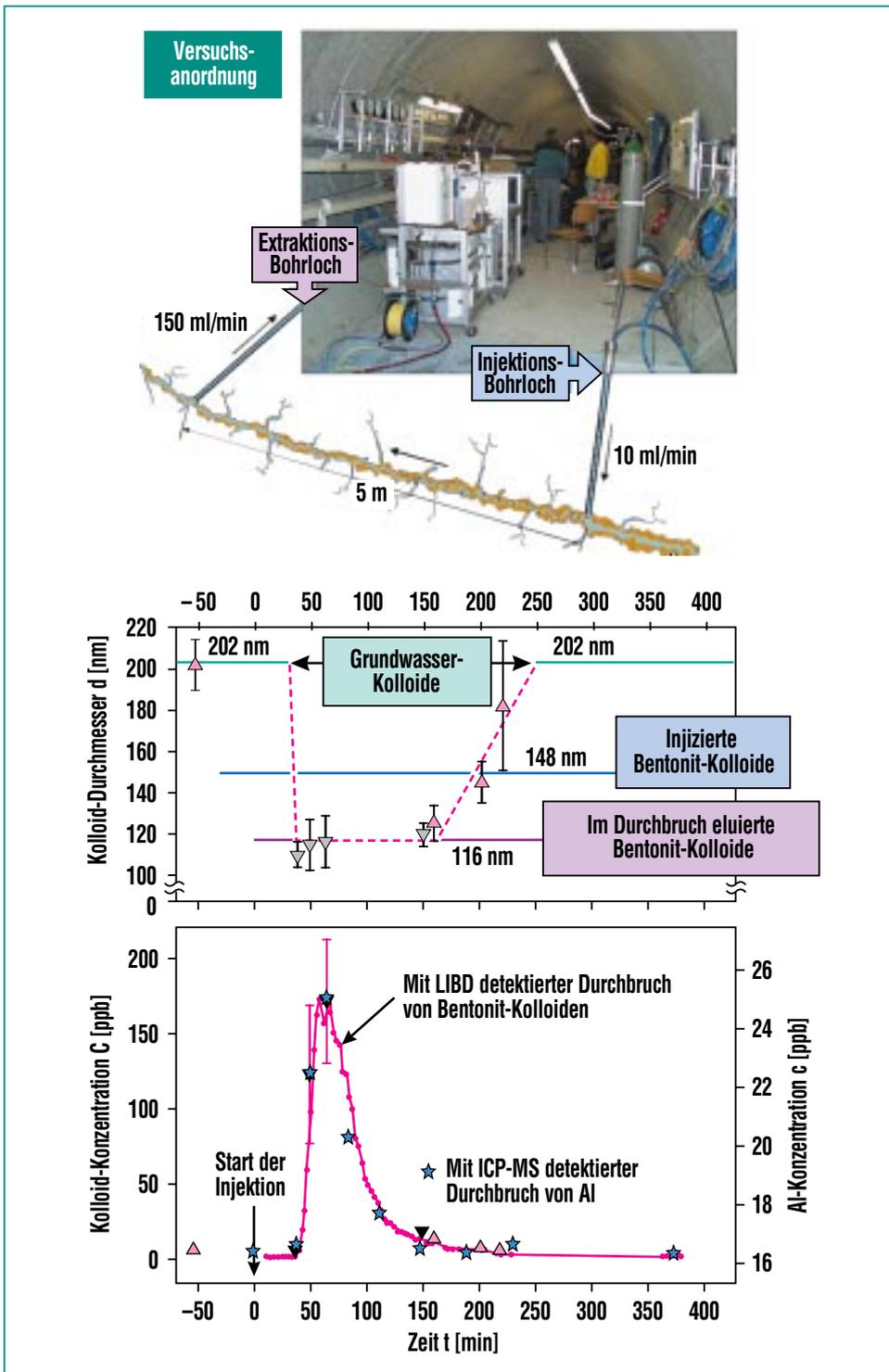


Abb. 3: Einsatz einer mobilen LIBD-Anlage (oben) bei einem Migrations-Experiment im Felslabor Grimsel. Die Abbildungen unten zeigen, dass die mittleren Kolloiddurchmesser im Durchbruchspeak abnehmen, d.h. größere Tonpartikel werden in der Scherzone ausgefiltert.

100-nm-Teilchen untereinander viel unwahrscheinlicher macht. Nach 40 min sind praktisch alle Partikel (9.3 ppb) bereits auf 100 nm oder größer gewachsen. Zur Zeit ist unser Instrument noch auf den Größenbereich bis 100 nm limitiert, an der Erweiterung auf größere Teilchen wird aber gearbeitet.

Eine Standardmethode zur Charakterisierung von multimodalen Suspensionen ist die Fluss-Feldflussfraktionierung (FFFF) bei der die Kolloide in einem dünnen bandförmigem Kanal, der von einer Trägerlösung durchflossen wird, entsprechend ihres hydrodynamischen Durchmessers voneinander getrennt werden. Die Auftrennung geschieht in einem parabolischen Flussprofil durch Anlegen eines zweiten Flusses, der senkrecht zur Trägerfließrichtung verläuft. Der Trennkanal wird von einer keramischen Fritte und einer Ultrafiltrationsmembran nach oben und unten begrenzt (Abb. 5). Unter Verwendung eines kommerziellen Laserlichtstreudektors (LLS) kann eine Mischung von Polystyrolkolloiden (Durchmesser 19, 50 und 102 nm) teilweise nicht mehr detektiert werden. Verwendet man statt dessen die LIBD als Durchflussdetektor [10], werden insbesondere kleine Kolloide mit Durchmessern <100 nm deutlich empfindlicher nachgewiesen. Die FFFF-LIBD-Kombination eignet sich daher prinzipiell zur Größencharakterisierung verdünnter multimodaler Kolloiddispersionen, ist allerdings invasiv, da die unter Umständen starke Verdünnung in kolleidalen Gleichgewichte eingreifen kann.

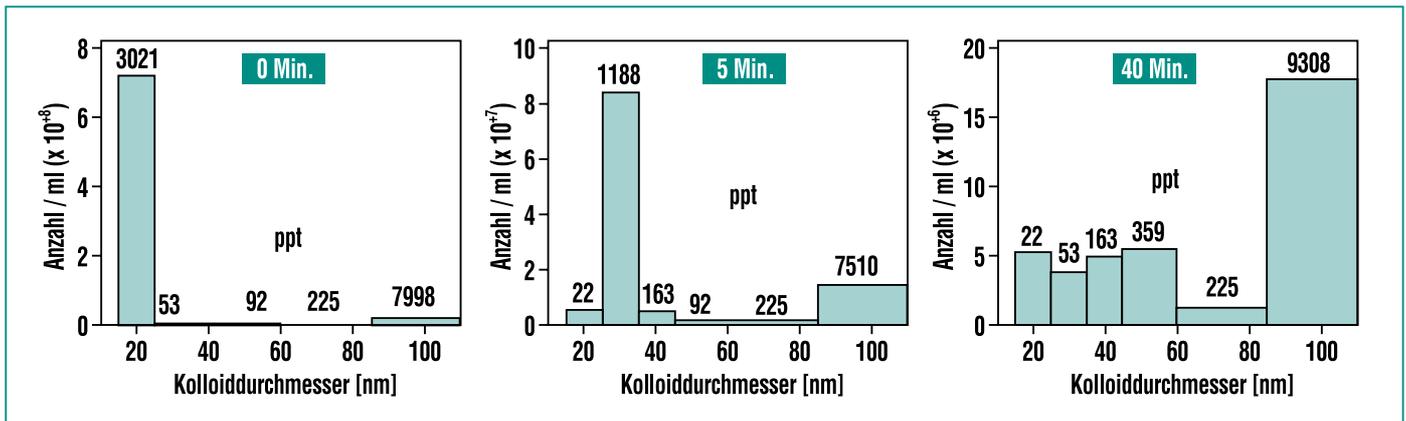


Abb. 4: Zeitaufgelöste Beobachtung der Agglomeration einer multimodalen Bentonit-Kolloidsuspension (10 ppb) bei pH = 6 nach 5 min bzw. 40 min.

### Kolloidbildung in übersättigten Plutonium(IV)-Lösungen

Neben der Untersuchung aquatischer Kolloide lässt sich die LIBD auch zur Ermittlung thermodynamischer Löslichkeitsdaten einsetzen. Plutonium ist von spezieller Relevanz für die Langzeitsicherheit der Endlagerung, da nach Abklingen kurzlebiger Spaltprodukte ( $T_{1/2} < 100$  a) sowie des  $^{241}\text{Am}$  ( $T_{1/2} \sim 430$  a) zum Zeitpunkt der zu erwartenden Behälterkorrosion nach ca. 1000 Jahren,  $^{239}\text{Pu}$  mehr als 90% der Radiotoxizität des Abfalls bildet. Die Freisetzung von Plutonium wird dabei maßgeblich durch die Löslichkeit der entsprechenden Festphasen unter den gegebenen geochemischen Bedingungen kontrolliert. Klassisch wird die Löslichkeit bestimmt, indem man bei Bildung eines Bodenkörpers die verbleibende Menge Pu in Lösung massenspektrometrisch oder radiochemisch misst. Wichtig ist die Unterscheidung zwischen Kolloiden und echt gelösten ionischen Spezies, da Kolloide schon „Festkörper“ darstellen,

nur sind diese so klein, dass sie durch die Brownsche Molekularbewegung in der Schwebelösung gehalten werden.

Die Löslichkeit ist also nicht erst überschritten, wenn sich ein Bodenkörper bildet, sondern schon wenn die ersten Kolloide entstehen.

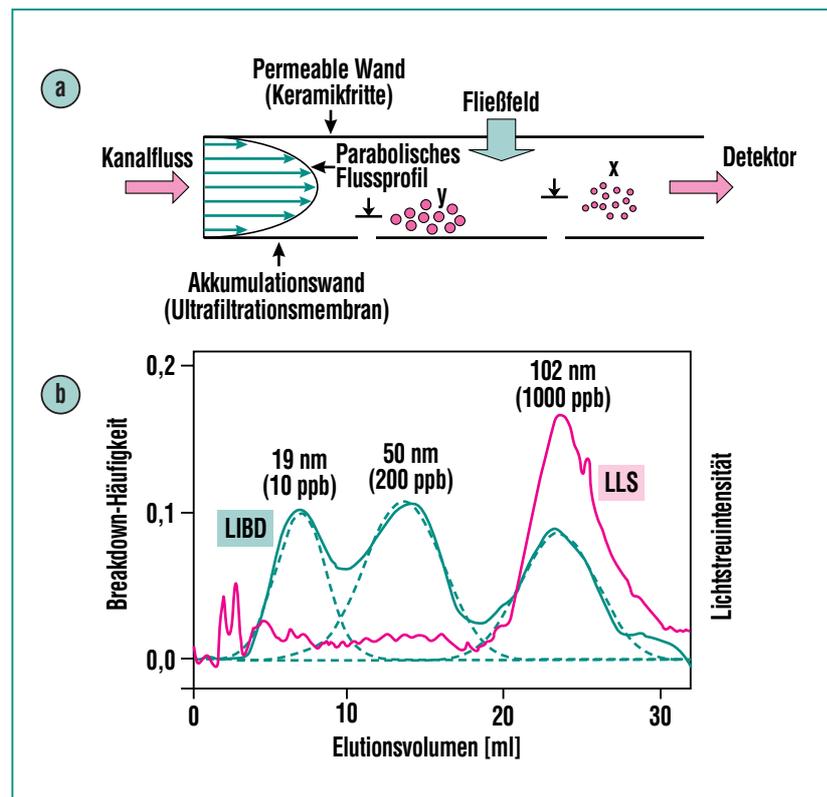


Abb. 5 a): Prinzip der Fluss-Feldflussfraktionierung (FFF) (siehe Text); b): Fraktogramm einer Probelösung mit Polystyrolkolloiden mit nominellen Durchmessern von 19, 50 und 102 nm detektiert mit der LIBD und einem kommerziellen Laserstreulichtdetektor.

hen. Diese Unterscheidung ist mit herkömmlichen Methoden nicht möglich, wir aber machen sie uns bei den folgenden Untersuchungen zu Nutze (Prinzip [11-13]).

Eine  $^{242}\text{Pu(IV)}$ -Stammlösung in 0.5 M Salzsäure wird durch Zugabe von 0.5 M NaCl-Lösung verdünnt und damit gleichzeitig die Pu-Konzentration gesenkt und

der pH erhöht (Abb. 6 links oben). Ab einem bestimmten pH (hier 1.3) setzt die Kolloidbildung ein, erkennbar an dem stark ansteigenden LIBD-Signal (Abb. 6 links unten). Den Punkt, an dem die Breakdown-Häufigkeit 1% übersteigt, bezeichnen wir als Einsatzschwelle. Verändert man die Pu-Konzentration der Stammlösung, erhält man parallelverschobene Verdünnungsreihen, deren jeweilige Einsatzschwellen in Abb. 6 rechts doppelt logarithmisch dargestellt sind. Die Datenpunkte folgen einer Geraden mit Steigung  $-2$ . Dies zeigt, dass die Pu-Kolloide aus dem zweifach hydrolysierten Pu-Ion gebildet werden, die Reaktion folgt also der Gleichung  $\text{Pu}^{4+} + 2\text{H}_2\text{O} = \text{Pu(OH)}_2^{2+} + 2\text{H}^+$ , und  $\text{Pu(OH)}_2^{2+}$  befindet sich im Gleichgewicht mit Pu(IV)oxidhydrat-Kolloiden. Aus der bekannten Hydrolysekonstanten lässt sich das gesuchte Löslichkeitsprodukt zu  $\log K_{\text{sp}} = -59.0$  bestimmen.

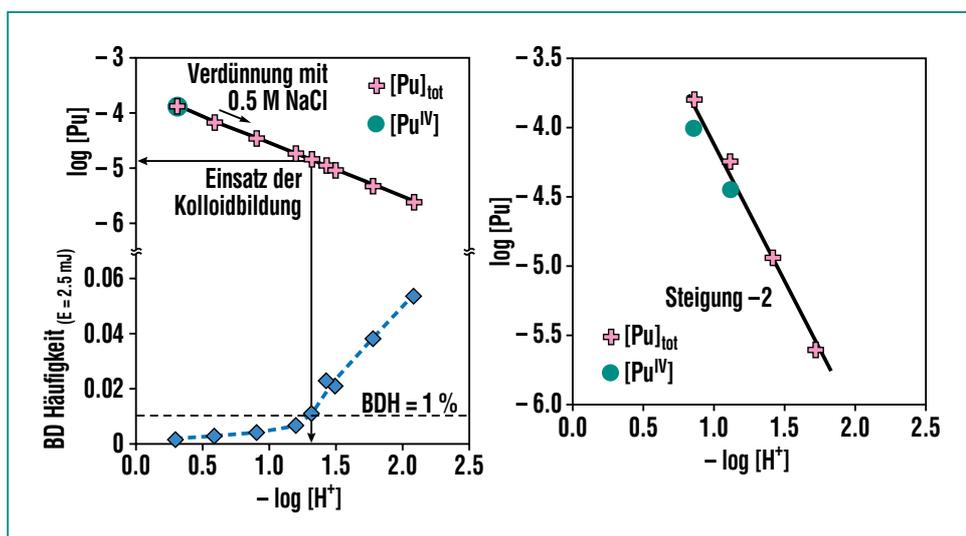


Abb. 6: Links: Durch Verdünnung mit NaCl-Lösung wird gleichzeitig die Pu-Konzentration gesenkt und der pH erhöht bis Pu(IV)-Kolloide entstehen (Einsatzschwelle). Die Kolloide werden mittels LIBD detektiert. Rechts: Mit abnehmender Pu-Konzentration verschiebt sich die Einsatzschwelle zu höherem pH. Aus der Steigung  $= -2$  lässt sich erkennen, dass Pu(IV) zweifach hydrolysiert ist und sich im Gleichgewicht mit Kolloiden befindet (Löslichkeitsprodukt  $\log K_{\text{sp}} = -59.0$ ).

## Literatur

- [1] A. B. Kersting, D. W. Efurud, D. L. Finnegan, D. J. Rokop, D. K. Smith, J. L. Thompson, *Nature*, vol. 397, pp. 56-59, 1999.
- [2] T. Kitamori, K. Yokose, K. Suzuki, T. Sawada, Y. Goshi, *Japanese J. Appl. Phys.*, vol. 27, pp. L983-L985, 1988.
- [3] F. J. Scherbaum, R. Knopp, J. I. Kim, *Appl. Phys. B*, vol. 63, pp. 299-306, 1996.
- [4] C. Walther, C. Bitea, W. Hauser, J. I. Kim, F. J. Scherbaum, *Nucl. Instr. Meth. B*, vol. 195, pp. 374-388, 2002.
- [5] J. I. Kim, R. Klenze, F.-J. Scherbaum, *FZK Nachrichten*, vol. 28, pp. 321-328, 1996.
- [6] W. Hauser, R. Götz, *Patent: DE 196 02 048*, 1999
- [7] W. Hauser, T. Bundschuh, *Patent: DE 198 33 339*, 2000
- [8] T. Bundschuh, W. Hauser, J. I. Kim, R. Knopp, F. J. Scherbaum, *Coll. Surf. A*, vol. 180, pp. 285-293, 2001.
- [9] W. Hauser, H. Geckeis, J. I. Kim, T. Fierz, *Coll. Surf. A*, vol. 203, pp. 37-45, 2002.
- [10] N. M. Thang, R. Knopp, H. Geckeis, J. I. Kim, H. P. Beck, *Anal. Chem.*, vol. 72, pp. 1-5, 2000.
- [11] C. Bitea, R. Müller, V. Neck, C. Walther, J. I. Kim, *Coll. Surf. A*, vol. 217, pp. 63-70, 2002.
- [12] T. Bundschuh, R. Knopp, R. Müller, J. I. Kim, V. Neck, T. Fanghänel, *Radiochim. Acta*, vol. 88, pp. 625-629, 2000.
- [13] V. Neck, R. Müller, M. Bouby, M. Altmaier, J. Rothe, M. A. Denecke, J. I. Kim, *Radiochim. Acta*, vol. 90, pp. 485-494, 2002.

# Synchrotron-Röntgenfluoreszenzanalyse an ANKA

S. Staub, R. Simon, C. Frieh, M. Hagelstein, ISS

## Einleitung

Mit der Synchrotron-Röntgenfluoreszenzanalyse (SyRFA) ist die zerstörungsfreie Spurenelementbestimmung in biologischen, geologischen, mineralogischen und umweltrelevanten sowie archäometrischen Proben möglich. Dabei handelt es sich um eine Multielementanalyse mit niedrigen Nachweisgrenzen im Nanogramm/Gramm-Bereich. Durch Fokussierung der Anregungsstrahlung auf wenige Mikrometer ist eine hohe Ortsauflösung möglich ( $\mu$ SyRFA).

Die Messzeitnachfrage für den  $\mu$ SyRFA-Messplatz an der Angströmquelle Karlsruhe (ANKA) ist groß. Die Vielfalt der bearbeiteten wissenschaftlichen Fragestellungen wird nachfolgend anhand von drei Beispielen illustriert.

Im Rahmen des EU-Projekts „Mikro-XRF“ [1] wird die  $\mu$ SyRFA-Methode weiterentwickelt, um sie als Referenzmethode für andere analytische Strahlentechniken wie Sekundärionenmassenspektrometrie (SIMS) oder Röntgenpho-

toelektronenspektrometrie (XPS) zu verwenden.

## Prinzip der Röntgenfluoreszenzanalyse (RFA)

Atome in einer zu untersuchenden Probe, die mit hartem Röntgenlicht bestrahlt werden, senden charakteristische Röntgenfluoreszenzstrahlung aus. Seine spektrale Zusammensetzung und die Intensität der einzelnen Linienanteile verrät in welchen Konzentrationen die einzelnen Spurenelemente vorliegen.

Neben der Elementzusammensetzung der Probe und deren Konzentrationen erhält man durch Abrastern einer Probe zusätzliche Informationen über die räumliche Verteilung der einzelnen Elemente.

## Der ANKA Synchrotron-Röntgenfluoreszenz-messplatz

Die Nutzung der intensiven Synchrotronstrahlung von ANKA [2] für die RFA ermöglicht eine besonders hohe Nachweisempfind-

lichkeit. Elemente wie Mangan, Kobalt und Kupfer lassen sich in Femtogramm-Mengen (einem Millionstel eines Staubkorns) identifizieren. Mit dem auf wenige Mikrometer gebündelten Strahl können selbst geringste Probenmengen gemessen sowie einzelne Bereiche einer Probe Punkt für Punkt zerstörungsfrei analysiert werden.

Der Aufbau des  $\mu$ SyRFA-Messplatzes [3] an ANKA ist in Abb. 1 dargestellt. Die Elemente des Messaufbaus werden im Folgenden kurz beschrieben.

Synchrotronstrahlung entsteht bei der Ablenkung hochrelativistischer Elektronen an einem Ablenkmagneten des Speicherrings. Das Schlitzsystem blendet aus dem Strahlenfächer einen nutzbaren Anteil aus. Einerseits steht damit ein polychromatischer Röntgenstrahl in einem Energiebereich von 2 – 30 keV mit wenigen Millimetern Durchmesser für  $\mu$ SyRFA-Messungen zur Verfügung. Andererseits lässt sich die Energie der Röntgenstrahlung mit dem Monochroma-

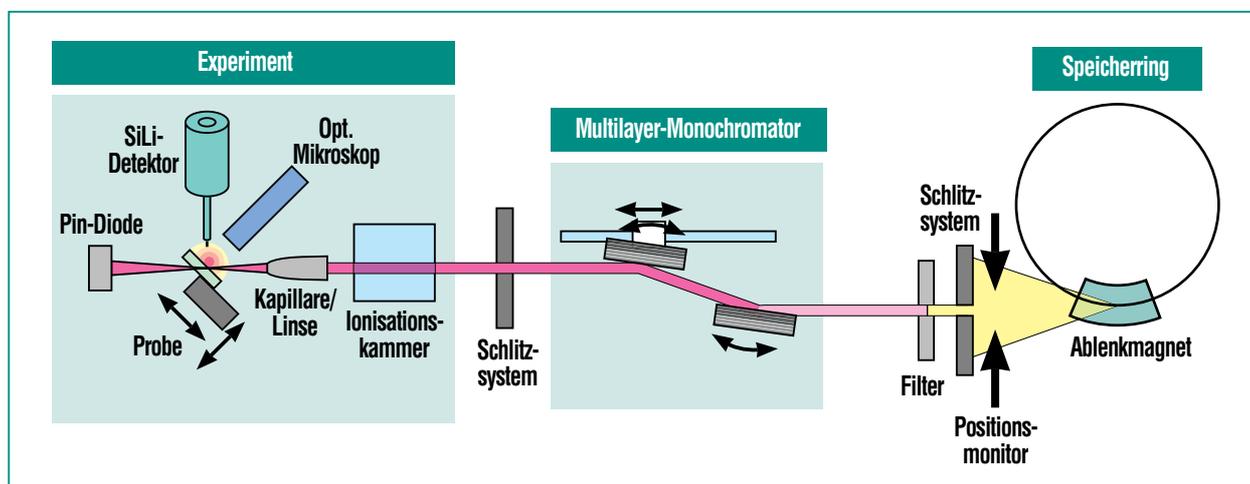


Abb. 1: Skizze des ANKA Synchrotron-Röntgenfluoreszenz-Messplatzes.

tor im Bereich von 2 bis 24 keV einstellen. Dadurch lassen sich Spurenelemente gezielt anregen oder störende Elemente gleichsam „ausblenden“, wie Abb. 2 am Beispiel einer stark eisenhaltigen Mineralprobe verdeutlicht. Zur Bestimmung des Eisenanteils wählt man eine Anregungsenergie oberhalb der Absorptionskante von Eisen. Das Spektrum zeigt nur die Eisenfluoreszenz, die Signale der leichteren Elemente sind kaum zu beobachten. Sie sind jedoch leicht nachzuweisen, wenn eine Anregungsenergie genutzt wird, die unterhalb der Eisenabsorptionskante liegt. Damit ist es auch möglich, röntgenanalytische Problemfälle, wie die Bestimmung von Nickelpuren in Kupferlegierungen, zu lösen.

Die direkte Probenumgebung ist in einer Vakuumkammer aufgebaut. Durch Evakuierung oder Einsatz einer Heliumatmosphäre kann Absorption niederenergetischer Röntgenstrahlung in der Atmosphäre vermieden und da-

mit der zu analysierende Elementkatalog auf den Bereich der leichten Elemente erweitert werden. Damit sind die Elemente von Natrium bis Plutonium an ANKA bestimmbar.

Für hochauflösende ( $\mu$ SyRFA-) Messungen wird der Strahl auf die Probe fokussiert. Als Linsensystem werden Röntgenkapillaren und refraktive Röntgenlinsen eingesetzt.

In einer Röntgenkapillare wird der Röntgenstrahl an den Wänden der konisch zulaufenden Kapillare reflektiert und in der Austrittsöffnung an der Kapillarspitze konzentriert. Bei ANKA beträgt der mit Röntgenkapillaren erreichte Fokusedurchmesser derzeit  $10\ \mu\text{m}$  bei einem Intensitätsgewinn in der Größenordnung von 10 bis 30.

Refraktive Röntgenlinsen bestehen aus einem Array kleiner Linsenelemente, die bisher vorwiegend auf der Basis leichter Elemente (Si, Be, Al) gefertigt wurden.

Dem Institut für Mikrostrukturtechnik (IMT) ist es gelungen, refraktive Röntgenlinsen aus strahlungsbeständigem Polymer herzustellen. Diese Linsen wurden an der ANKA-Fluoreszenz-Beamline charakterisiert und lieferten erste vielversprechend Ergebnisse [4]. Sie erzielen einen deutlichen Intensitätsgewinn (derzeit 75-fach) bei einer Fokusgröße von  $4\ \mu\text{m} \times 12\ \mu\text{m}$  und relativ kurzer Brennweite. Die Linsen werden weiter optimiert bis zur universellen Einsatzreife.

Der kleine Querschnitt der fokussierten Strahlung ermöglicht es, kleinste Proben effektiv zu untersuchen oder orts aufgelöste Spurenelementanalysen in unterschiedlichen Matrices durchzuführen. Die Intensität im Fokus beträgt typischerweise  $10^{13}$  Photonen  $\text{s}^{-1} \text{mm}^{-2}$ . Damit ist eine Bestimmung von Spurenelementgehalten bis in den Femtogramm Bereich möglich.

Durch die Motorisierung der Probenhalterung und Steuerung des Messplatzes durch eine spezielle Scansoftware können Probenbereiche fein abgerastert und Elementverteilungen mit bis zu  $1\ \mu\text{m}$  Ortsauflösung bestimmt werden.

Die Fluoreszenzstrahlung wird mit einem Oxford  $30\ \text{mm}^2$  Si(Li)-Halbleiterdetektor mit digitalem Signalprozessor (Gresham) detektiert. Die Energieauflösung dieses Detektors beträgt  $135\ \text{eV}$  (Halbwertsbreite) bei einer Energie von  $5,9\ \text{keV}$  (Mn-K $\alpha$ ).

Zusätzlich erlaubt der flexible Aufbau des ANKA-Fluoreszenz-Messplatzes den Einfallswinkel der anregenden Röntgenstrahlung auf die Probe bis hin zum

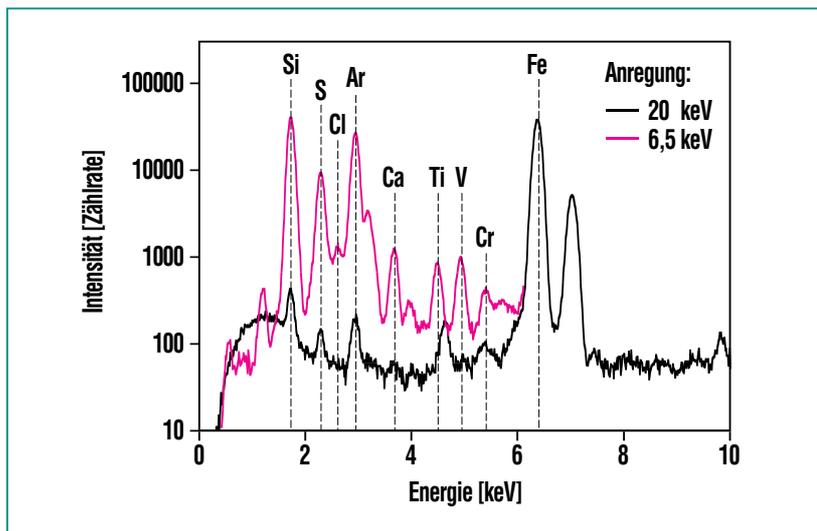


Abb. 2: Vergleich der Fluoreszenzspektren einer Gesteinsprobe (Jarosit) mit verschiedenen Anregungsenergien.

streifenden Einfall zu variieren und damit die Durchführung von Totalreflektions-Röntgenfluoreszenzanalysen (TRFA). Ohne Probenumbau können Messungen in Totalreflexionsgeometrie durchgeführt werden.

### Nachweisgrenzen

Die relativen und absoluten Nachweisgrenzen der  $\mu$ SyRFA wurden an zertifizierten Standardreferenzmaterialien (NIST SRM 613, SRM 1577b, SRM 1832, SRM 1833) bestimmt.

Bei Anregung einer äußerst kleinen Probenfläche von lediglich  $20 \times 20 \mu\text{m}^2$  werden, bedingt durch den hohen Polarisationsgrad und die Brillanz der vom Synchrotron ANKA bereitgestellten Röntgenstrahlung, relative Nachweisgrenzen im Bereich von 15 bis 100 ng/g (ppb) für die Elemente Kupfer ( $Z = 29$ ) bis Molybdän ( $Z = 42$ ) erreicht. Diese sind vergleichbar mit Ergebnissen, die an der Beamline ID18F der European Synchrotron Radiation Facility erzielt wurden [5].

Absolute Nachweisgrenzen liegen für die Elemente Vanadium ( $Z = 23$ ) bis Kupfer ( $Z = 29$ ) bei 3-10 fg ( $10^{-15}$  g) [6].

### Anwendungen

Typische Anwendungen der SyRFA sind Spurenelementbestimmungen in verschiedenen Materialien wie Metallen und Legierungen z.B. die Bestimmung von Spurenverunreinigungen auf Waferoberflächen [7].

Weitere Anwendungen betreffen die Möglichkeit, Multielement-

analysen mit höchster Ortsauflösung durchzuführen. So wurden mit Synchrotronstrahlung Elementverteilungen in einzelnen Aerosolpartikeln auf Filtern [8] und in einzelnen Zellen [9] untersucht.

An ANKA wurden Handschriften und frühe Drucke (s. Beispiel 1) sowie geologische und mineralogische Proben (s. Beispiel 2) analysiert.

Außerdem wurden orts aufgelöste Analysen toxischer Elemente und Schadstoffe in Umweltproben sowie biologischer Materialien wie Haaren (s. Beispiel 3) an ANKA durchgeführt.

#### Anwendungsbeispiel 1: *Analyse historischer Manuskripte*

In Zusammenarbeit mit G. Banik, Staatliche Akademie der Bildenden Künste Stuttgart, und W. Faubel, IFIA, werden historische Handschriften und frühe Buchdrucke untersucht [10, 11].

Als Beispiel eines frühen Buchdrucks wurde ein original handkoloriertes Kräuterbuch „Herbarium imagines vivae / Imaginum Herbarum Pars II“ aus dem 16. Jhd. von der Senckenbergischen Bibliothek, Frankfurt, der größten Spezialbibliothek für beschreibende Naturwissenschaften in Deutschland, analysiert. Das Kräuterbuch besteht aus zwei Teilen von 1538 und 1536 und ist das einzige mit originalem Renaissanceeinband in öffentlichen Bibliotheken in Deutschland, Österreich und der Schweiz. Kräuter und Pflanzen wurden mit Holzschnittdruck gedruckt und anschließend hand-

koloriert. Das Kräuterbuch weist Schäden wie Verbräunungen, Wasserränder, Fleckenbildungen und Farbveränderungen auf, weshalb zur Unterstützung von Restaurierungsmaßnahmen die Bestimmung der Farbzusammensetzung der Kolorierungen notwendig ist. Da die Probenahme insbesondere bei Papierobjekten ausgeschlossen ist, wurde die zerstörungsfreie  $\mu$ SyRFA eingesetzt (s. Abb. 3).

Die grüne Kolorierung zeigt neben einem größeren Kupfergehalt Bestandteile des geleimten Papiers (Kalium, Calcium, Mangan, Eisen, Rubidium und Strontium). Der Vergleich der Kupferverteilung im Kräuterbuch mit einem original unkolorierten Deckblatt



**Abb. 3:**  $\mu$ SyRFA-Aufbau mit spezieller Probenhalterung für die Analyse einzelner Buchseiten.

bestätigte die Migration von Kupfer im Papier durch einen Wasserschaden. Die grüne Kolorierung wurde anhand von Referenzmaterialien als Grünspan identifiziert. Das wasserlösliche Kupferpigment Grünspan katalysiert Oxidationsprozesse von Cellulose und zerstört durch den sogenannten Kupferfraß das Papier.

### Anwendungsbeispiel 2: Analyse geologischer Proben

Untersuchungen zur Entstehung und Herkunft geologischer Pro-

ben werden in Zusammenarbeit mit U. Kramar, M. Harting und D. Stüben, Universität Karlsruhe, durchgeführt [12] (s. Abb. 2).

Im Rahmen des Internationalen Kontinentalen Tiefbohrprojekts (ICDP) wird ein Krater bei Chicxulub (Außendurchmesser 180 – 200 km) auf der nördlichen Halbinsel Yucatan in Mexiko untersucht, der vor 65 Mio. Jahren durch den Einschlag eines Meteoriten mit 10 km Durchmesser entstand. Durch den Einschlag dieses Meteoriten wurden auch Mikrotektite und Spherule rund

um den Golf von Mexiko und in Zentralamerika verteilt. Diese Mikrotektite und Spherule bestehen aus Kondensationsprodukten, Schmelzprodukten und Fragmenten des ursprünglichen Gesteins und können auch Komponenten des Meteoriten enthalten. Durch die Bestimmung der orts aufgelösten Verteilung ihrer Spurenelemente mit  $\mu$ SyRFA an ANKA werden „Spurenelement-Fingerabdrücke“ ermittelt, die ihre Zuordnung zum Ausgangsmaterial im Krater ermöglichen. Dazu wird die Probe mit fokussiertem Röntgenstrahl gescannt und

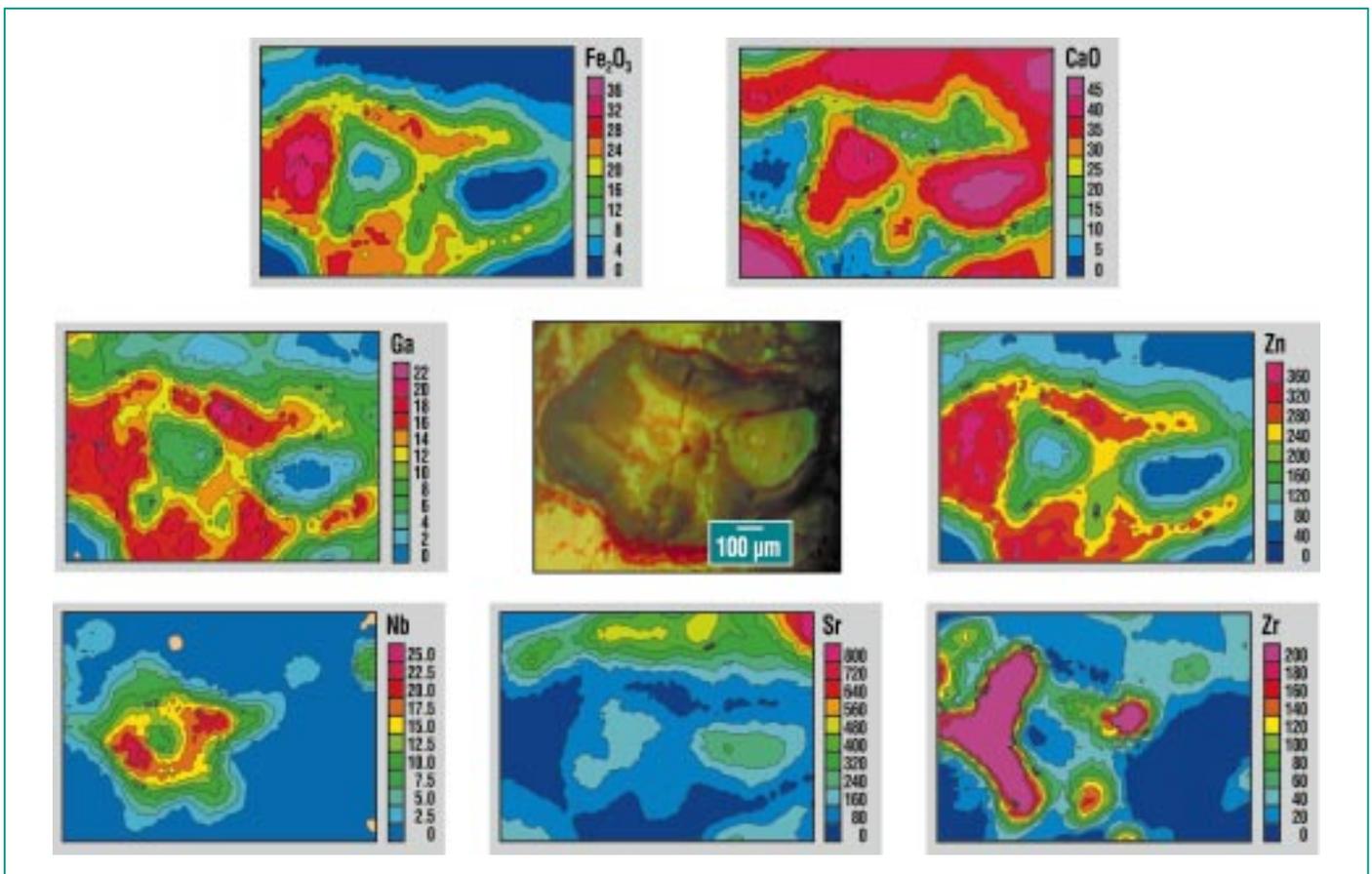
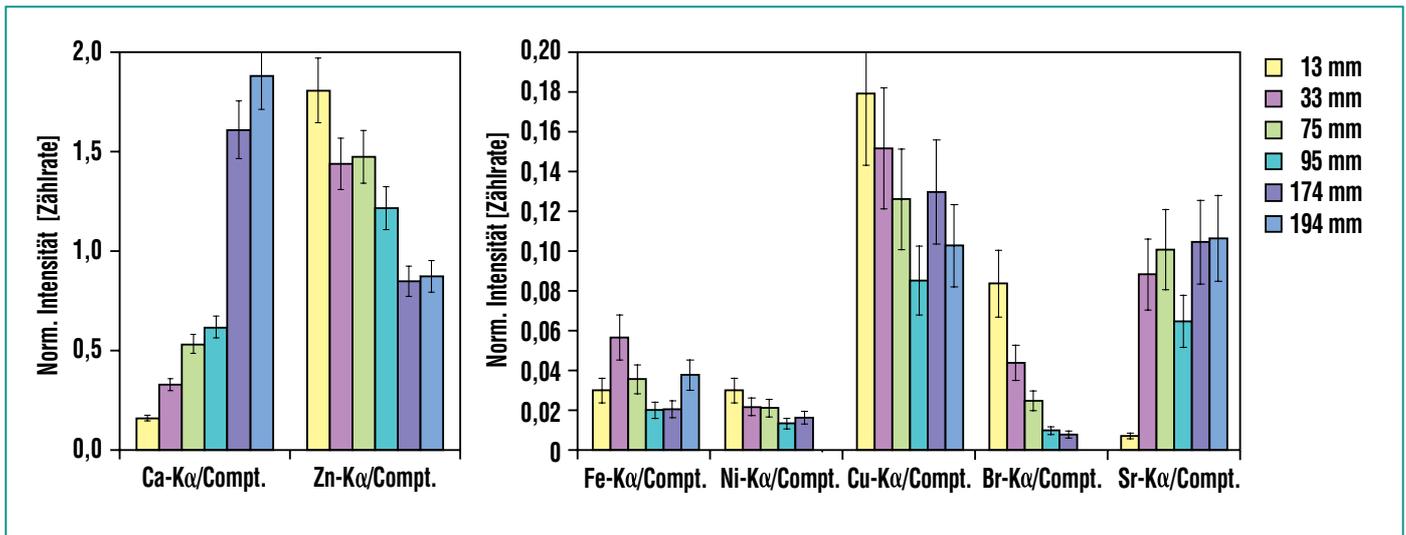


Abb. 4: 2D-Flächenscan eines Mikrotektits aus der Umgebung des Chicxulub-Impact-Kraters (Bochil) mit monochromatischer Anregung bei 21 keV (Auflösung: 20 µm x 40 µm, Messzeit: 15 h); Optisches Mikroskopiebild des Schmelzpartikels (Mitte) und  $\mu$ SyRFA-Elementkonzentrationsverteilungen (CaO- und  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ -Konzentrationen in %, Zink-, Gallium-, Strontium-, Zirkonium- und Niobkonzentrationen in µg/g).



**Abb. 5: Abhängigkeit der Elementintensitäten (Normierung auf den Comptonpeak) von der Haarlänge (Entfernung von der Haarwurzel in mm).**

ein energiedispersives Spektrum für jeden Messpunkt aufgenommen. Als Ergebnis der Messungen erhält man orts aufgelöste Verteilungsmuster der Spurenelementkonzentrationen, wie Abb. 4 illustriert.

Der untersuchte Mikrotektit stammt aus der Umgebung des Chicxulub-Kraters (Bochil).

### Anwendungsbeispiel 3: Analysen einzelner menschlicher Haare

Die Bestimmung von Elementverteilungen in verschiedenen Gewebearten wie Knochen, Zähnen und Weichteilen ermöglicht ein besseres Verständnis der Rolle einzelner Elemente in den Lebensprozessen. Von besonderem Interesse sind Wirkungsmechanismen äußerer Einflüsse. Dabei müssen Aussagen über Gesamtkonzentrationen durch Informationen über die örtliche Verteilung der Analyten ergänzt werden.

An ANKA wurden Haare verschiedener menschlicher Individuen mit  $\mu$ SyRFA hinsichtlich der Elementverteilung in Zusammenarbeit mit T. Ernst, ANKA GmbH, untersucht [13]. Faktoren wie Umweltgifte, Krankheiten, die Einnahme von Pharmawirkstoffen oder Drogen und die Behandlung mit kosmetischen Produkten können einen Einfluss auf die Elementverteilung haben.

Von besonderem Interesse ist die Bestimmung des Konzentrationsprofils der Spurenelemente entlang des Haares (s. Abb. 5), da es die Historie einer Person reflektiert [14].

Betrachtet man die Elementverteilungen, so zeigen einige Elemente mit zunehmender Haarlänge eine deutliche Zunahme der Elementintensitäten. Die Calciumintensität ist nahezu linear abhängig von der Haarlänge. Für andere Elemente wie Zink, Nickel, Kupfer und Brom wird eine Abnahme der Intensitäten

sichtbar und eine dritte Gruppe, Eisen und Strontium zeigt keinerlei Abhängigkeit der Elementintensitäten von der Haarlänge.

Haaranalysen von verschiedenen Personen zeigten für Calcium (Zunahme) und Brom (Abnahme) für alle Individuen jeweils das gleiche Verhalten. Beim Zink wurden sowohl Zu- als auch Abnahmen mit zunehmender Haarlänge festgestellt. Dies ist ein Zeichen für die große biologische Variabilität, welche systematisch untersucht werden muss.

### Danksagung

Unseren Kooperationspartnern und Kollegen von ANKA gilt unser besonderer Dank.

Der Europäischen Union danken wir für die finanzielle Unterstützung im Rahmen des „Mikro-XRF“ Projekts mit dem Förderkennzeichen G6RD-2000-0345.

## Literatur

- [1] „Mikro-XRF“ Projekt im 5. Rahmenprogramm der Europäischen Union, Förderungskennzeichen: G6RD-2000-0345
- [2] „Synchrotronstrahlung für Forschung und Entwicklung“, Nachrichten des Forschungszentrums Karlsruhe 32 Bd. 4 (2000)
- [3] R. Simon, G. Buth, M. Hagelstein, *Nucl. Instrum. and Meth. in Phys. Res. B* 199 (2003) 554-558
- [4] V. Nazmov, J. Mohr, R. Simon, *ANKA Annual Report (2003)* 98-99
- [5] A. Somogyi, M. Drakopoulos, L. Vincze, B. Vekemans, C. Camerani, K. Janssens, A. Snigirev, F. Adams, *X-Ray Spectrom.* 30 (2001) 242-252
- [6] R. Simon, S. Staub, C. Frieh, *ANKA Annual Report (2003)* 15
- [7] B. Beckhoff, R. Fliegau, G. Ulm, *Spectrochim. Acta B* 56 (2001) 2073-2083
- [8] J. Osán, S. Török, J. Fekete et al., *Energ Fuel* 14 (2000) 986-993
- [9] H. Yuying, Y. Wu, L. Zhao et al., *Spectrochim. Acta B* 56 (2001) 2057-2062
- [10] S. Staub, N. Klinger, S. Heißler, W. Faubel, A. Pataki, G. Banik, *ANKA Annual Report (2003)* 94-95
- [11] W. Faubel, S. Heißler, H. Klewe-Nebenius, E. Willin, *diese Nachrichten*
- [12] U. Kramar, M. Harting, R. Simon, S. Staub, D. Stüben, *ANKA Annual Report (2003)* 96-97
- [13] T. Ernst, S. Staub, R. Simon, *ANKA Annual Report (2003)* 92-93
- [14] D. A. Carpenter, *Industrial applications of  $\mu$ -XRF*, in: K. H. A. Janssens, F. C. V. Adams, A. Rindby, *Microscopic X-Ray Fluorescence Analysis*, WILEY-VCH, Weinheim (2000) 358

# Thermophysikalische Methoden in der Materialforschung

M. Rohde, IMF

## Einleitung

Thermophysikalische Eigenschaften – dies sind u.a. die Wärmeleitfähigkeit, die spezifische Wärmekapazität und die thermische Ausdehnung – bestimmen das Verhalten von Werkstoffen unter thermischer Belastung. Die Kenntnis dieser physikalischen Größen, die das Wärmetransportverhalten, das Speichervermögen für Wärmeenergie und die thermisch induzierte Längen- oder Volumenänderung bestimmen, ist nicht nur wichtig für die Auslegung von Komponenten, sie ist auch von Bedeutung für die Entwicklung von neuen Materialien.

Im folgenden Beitrag werden moderne Messmethoden zur Bestimmung der Wärmeleitfähigkeit bzw. Temperaturleitfähigkeit und der spezifischen Wärmekapazität vorgestellt. Anhand von ausgewählten Ergebnissen wird die Bedeutung dieser Untersuchungen für die Entwicklung von fortgeschrittenen Werkstoffen für unterschiedliche Anwendungen diskutiert.

## Messmethoden

### Wärmeleitfähigkeit/ Temperaturleitfähigkeit

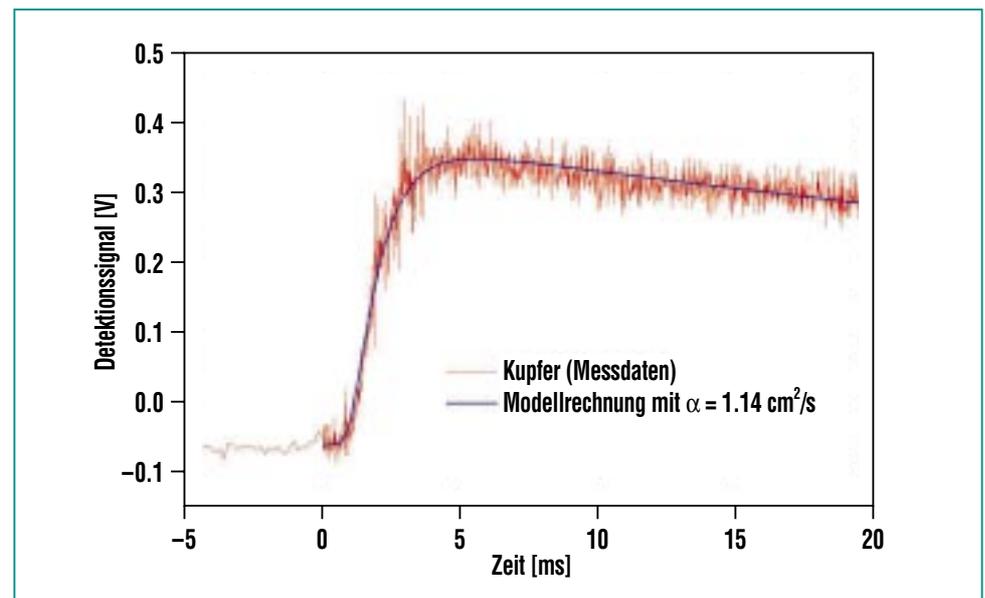
Zur direkten Bestimmung der Wärmeleitfähigkeit [1] wird in Proben mit zylindrischer Geometrie ein kontrollierter stationärer Wärmestrom erzeugt und der daraus resultierende Temperaturgradient ermittelt. Aus der gegebenen Wärmestromdichte und dem gemessenen Temperaturgradienten kann dann unter Berücksichtigung der Probengeometrie die Wärmeleit-

fähigkeit berechnet werden. Die nach diesem Prinzip arbeitenden Messmethoden haben jedoch bei hohen Temperaturen den Nachteil, dass die Einstellung des erforderlichen thermischen Gleichgewichts sehr lange dauern kann und außerdem Abstrahlungseffekte zu einer Verfälschung des Temperaturgradienten führen können. Darüber hinaus ist es oft schwierig, in der Probe einen definierten Wärmestrom zu erzeugen. Daher haben sich in den letzten 10–15 Jahren instationäre Messmethoden mehr und mehr durchgesetzt. Mit diesen Methoden wird zunächst die Temperaturleitfähigkeit bestimmt – eine Art dynamischer Wärmeleitwert – und dann die

Wärmeleitfähigkeit berechnet gemäß der Gleichung:

$$\lambda = \alpha \rho c_p \quad (1)$$

Dabei sind  $\alpha$  die Temperaturleitfähigkeit,  $\rho$  die Dichte und  $c_p$  die spezifische Wärmekapazität der Probe. Ein Standardverfahren zur Messung der Temperaturleitfähigkeit ist die Laser-Flash-Methode [2]. Bei diesem Verfahren wird durch einen kurzen Laserpuls auf der Stirnfläche einer zylindrischen Probe ein Wärmepuls erzeugt. Die Laufzeit dieses Wärmepulses von der Stirnfläche zur Rückseite der Probe bestimmt bei gegebener Probendicke die Temperaturleitfähigkeit (Abb.1),



**Abb. 1: Typische Messkurve einer Laser-Flash-Messung, die das Laufzeitverhalten des Wärmepulses von der Vorderfläche der Probe bis zur Rückseite darstellt. Gemessen wird die Temperaturerhöhung auf der Rückseite der Probe mit einem Infrarot-Detektor, dessen Signalspannung sich erhöht mit steigender Temperatur. Die berechnete Modellkurve ist das Ergebnis eines mathematischen Modells, das die Wärmeausbreitung im Festkörper beschreibt. Sie wird bei vorgegebener Dicke der Probe durch Variation des Parameters Temperaturleitfähigkeit an die Messkurve angepasst. Der angegebene Wert der Temperaturleitfähigkeit von Cu entspricht einer Wärmeleitfähigkeit von 385 W/mK.**

die explizit aus dem Anstieg der Temperatur als Funktion der Zeit auf der Rückseite der Probe ermittelt werden kann. Im einfachsten Fall kann der Temperaturleitwert aus folgender Beziehung ermittelt werden:

$$\alpha = 0.1388 L^2 / t_{1/2} \quad (2)$$

Hier sind  $t_{1/2}$  die Zeit, die benötigt wird, bis die Temperatur auf der Rückseite der Probe die Hälfte ihres Maximalwertes erreicht hat, und  $L$  die Dicke der Probe. Die Bestimmung des thermophysikalischen Kennwerts Temperaturleitfähigkeit wird hier reduziert auf die Messung einer Laufzeit. Dieses Verfahren arbeitet daher sehr schnell im Vergleich zu den stationären Methoden und ist relativ einfach zu handhaben. Mehr als 80 % aller weltweit veröffentlichten Messwerte der Temperaturleitfähigkeit werden mit Hilfe der Laser-Flash-Technik bestimmt.

### Wärmeleitfähigkeit von dünnen Schichten und Mikrokomponenten

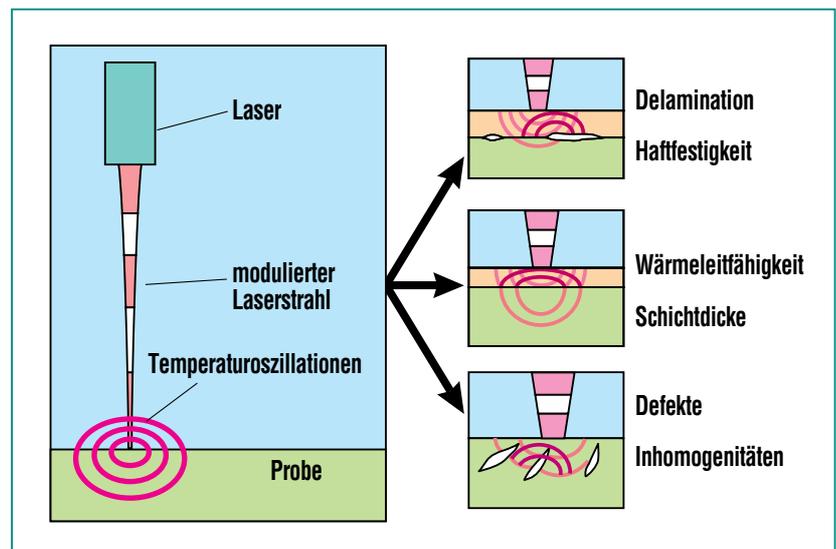
Zur Untersuchung von Werkstoffen und Komponenten der Mikrosystem- oder Dünnschichttechnik sind die Standardverfahren wie zum Beispiel die Laser-Flash-Methode nicht geeignet. Zur Bestimmung der Wärmeleitfähigkeit von dünnen Schichten oder Strukturen mit Abmessungen im Mikrometerbereich werden so genannte photothermische Verfahren [3, 4] angewendet. Bei diesen Messverfahren werden durch Einstrahlung von intensitätsmoduliertem Licht auf die Probenoberfläche thermische Wellen (Abb. 2) in der Probe erzeugt, de-

ren Laufzeitverhalten nachfolgend detektiert wird. Thermische Wellen sind räumlich und zeitlich periodische Temperaturosillationen. Sie unterliegen einer starken Dämpfung, die ihre Reichweite begrenzt. Die Eindringtiefe wird dabei von der Modulationsfrequenz des eingestrahlichten Lichtes und der Wärmeleitfähigkeit des Materials bestimmt. Durch Fokussierung des eingestrahlichten Lichtes lassen sich Ortsauflösungen bis zu einigen Mikrometern erzielen, da nur im Fokus thermische Wellen erzeugt werden und

damit ausschließlich der beheizte Bereich zum Messsignal beiträgt.

Allen photothermischen Methoden ist die Art der Erzeugung der thermischen Wellen gemeinsam, während sie sich bezüglich der Detektion der Temperaturosillationen auf der Probenoberfläche unterscheiden. Als Lichtquellen werden in der Regel Xenon-Lampen oder Laser verwendet, deren Intensität durch Chopper-Scheiben oder elektro-optische Modulatoren moduliert wird [5].

Die photothermische Radiometrie registriert die von der thermi-



**Abb. 2: Messprinzip photothermischer Verfahren:** Durch die Absorption der intensitätsmodulierten Laserstrahlung werden auf der Probenoberfläche Temperaturosillationen hervorgerufen, die sich dann wie so genannte thermische Wellen ausbreiten. Die Eindringtiefe dieser Wellen wird bestimmt durch die Wärmeleitfähigkeit der Probe und die Modulationsfrequenz des Lasers. Niedrige Frequenzen und hohe Wärmeleitfähigkeit bedeuten große Eindringtiefen, während Temperaturosillationen mit hohen Frequenzen in einem Material geringer Wärmeleitfähigkeit auf oberflächennahe Bereiche beschränkt sind. Thermische Wellen werden an Hindernissen wie innere Grenzflächen oder Defekten gestreut, so dass über die Bestimmung der Wärmeleitfähigkeit in Schichtsystemen hinaus auch Delaminationen, Risse und Inhomogenitäten im Werkstoff sichtbar gemacht werden können.

schen Welle ausgehende Infrarotstrahlung über einen geeigneten Infrarot-Detektor. Die photoakustische Methode detektiert die Druckschwankungen in einem abgeschlossenen Gasvolumen vor der Probe, die durch die periodischen Temperaturschwankungen induziert werden, mit einem empfindlichen Mikrophon. Bei der Laserstrahl-Deflektion wird ein parallel oder im flachen Winkel zur Probenebene einfallender Laserstrahl durch Wechselwirkung mit den lokal erzeugten Temperaturosillationen periodisch abgelenkt. Weitere Verfahren beruhen auf der Ausnutzung des thermoelastischen Effekts, wobei eine durch den Anregungslaser thermisch induzierte Schallwelle von einem piezoelektrischen Aufnehmer erfasst wird.

### Spezifische Wärmekapazität

Ein Standardverfahren zur Bestimmung der spezifischen Wärmekapazität [6] ist die dynamische Differenzkalorimetrie (DDK). Kennzeichnend für dieses Messprinzip (DDK, engl.: DSC: differential scanning calorimetry) ist die Bestimmung der spezifischen Wärme einer unbekanntes Probe im Vergleich zu einem Referenzmaterial mit bekannter Wärmekapazität. Bei einer DDK-Messung wird die Temperaturdifferenz zwischen Probe und Referenz (Abb. 3) gemessen, während die Messzelle gleichmäßig aufgeheizt bzw. der Proben-träger für das Proben- und Referenzmaterial einem gleichförmigen Wärmestrom ausgesetzt wird. Die gemessene Temperaturdifferenz ist dann proportional zur Differenz der spezifi-

schon Wärmekapazität von Probe und Referenz.

Zur quantitativen Bestimmung der Wärmekapazität hat sich die folgende Prozedur bewährt, mit der auch der Einfluss von gerätespezifischen Konstanten und auch der Proben-tiegel eliminiert wird:

1. Messung mit zwei leeren Tiegeln mit konstanter Heizrate über das interessierende Temperaturintervall
2. Messung mit einem leeren Tiegel und gefülltem Proben-tiegel (Probe) bei identischer Heizrate und Temperaturintervall
3. Messung mit einem leeren Tiegel und gefülltem Proben-tiegel (Referenzmaterial) bei identischer Heizrate und Temperaturintervall

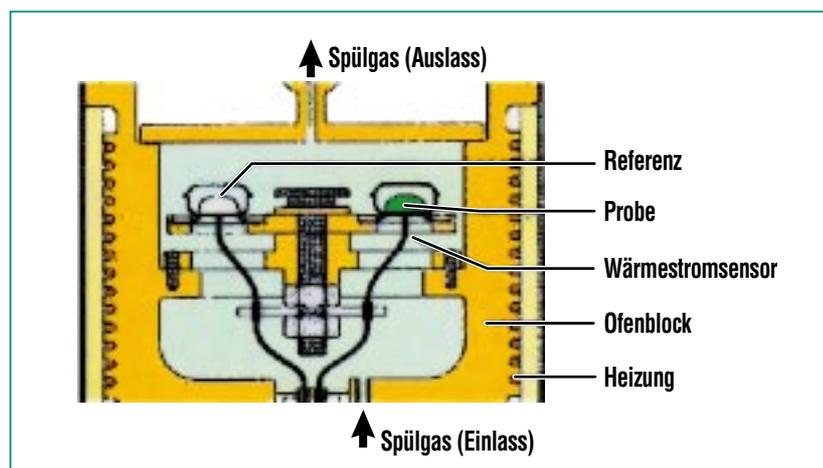
Aus den drei Teilmessungen kann unter Berücksichtigung des Mas-

senverhältnisses von Probe und Referenz und unter Vorgabe der bekannten Werte für die Wärmekapazität des Referenzmaterials die spezifische Wärmekapazität der Probe ermittelt werden.

Über die quantitative Bestimmung der Wärmekapazität hinaus können mit Hilfe der DDK auch Aussagen gemacht werden über Phasenumwandlungen, Reaktionen und Gefügeveränderungen.

### Thermophysikalische Kenngrößen von fortgeschrittenen Werkstoffen

Keramische Werkstoffe werden häufig verwendet als Substrate für mikroelektronische Anwendungen oder als Trägermaterial für aktive oder passive Elemente der Sensortechnik. Im Allgemeinen haben diese Materialien gute



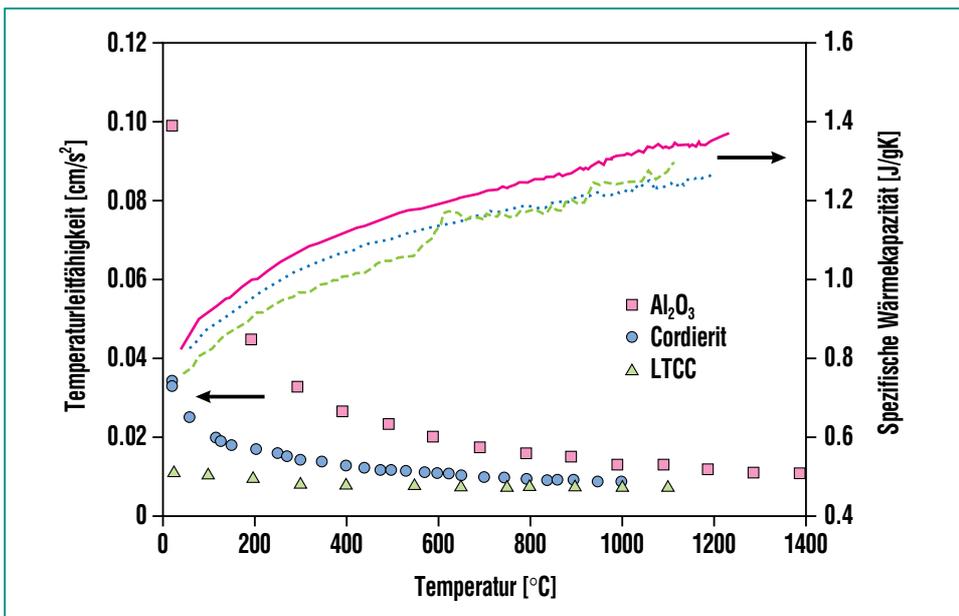
**Abb. 3: Aufbau der Messzelle eines Differenzkalorimeters: Probe und Referenzmaterial werden gemeinsam in einem Ofen aufgeheizt oder abgekühlt. Dabei wird die Temperaturdifferenz zwischen Proben- und Referenz-tiegel gemessen. Da die spezifische Wärmekapazität des Referenzmaterials als Funktion der Temperatur bekannt ist, lassen sich die entsprechenden Werte der Probe mit geeigneten Auswertalgorithmen ermitteln.**

dielektrische und ausreichende mechanische Eigenschaften. Für spezielle Anwendungen, die dadurch gekennzeichnet sind, dass punktuell hohe thermische Belastungen auftreten können, ist jedoch die Wärmeleitfähigkeit zu niedrig, was zu hohen Temperaturgradienten und entsprechenden thermisch induzierten mechanischen Spannungen führen kann. Mit Hilfe geeigneter Prozesse [7, 8] kann die Wärmeleitfähigkeit dieser Materialien lokal

erhöht werden. Untersuchungen der Wärmeleitfähigkeit bzw. Temperaturleitfähigkeit werden durchgeführt, um den Ausgangszustand und die Modifikation der thermophysikalischen Eigenschaften nach erfolgtem Prozess zu ermitteln.

Die Ergebnisse von Messungen der Temperaturleitfähigkeit und der spezifischen Wärmekapazität in Abhängigkeit von der Temperatur an unterschiedlichen keramischen Substrat-

werkstoffen sind dargestellt in Abb. 4. Obwohl bei Raumtemperatur die Temperaturleitfähigkeit der Substrate  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , Cordierit ( $2\text{MgO}\cdot 2\text{Al}_2\text{O}_3\cdot 5\text{SiO}_2$ ) und der Glaskeramik LTCC (Low Temperatur Co-fired Ceramics) sich sehr deutlich unterscheidet, verschwinden diese Unterschiede zu hohen Temperaturen mehr und mehr. Dieses Verhalten erklärt sich durch Wärmetransportmechanismen auf atomarer Skala. In dielektrischen Festkörpern (elektrische Isolatoren ohne freie Elektronen) wird Wärme durch Phononen – dies sind quantisierte Gitterschwingungen – transportiert. Die Wärmeleitfähigkeit wird hier bestimmt durch Wechselwirkungen der Phononen miteinander, mit strukturellen Eigenheiten des Werkstoffes und mit Defekten im Gitter [9]. Während die Phonon-Phonon-Wechselwirkung sehr stark temperaturabhängig ist, da die Zahl der Phononen mit steigender Temperatur und damit auch die Phonon-Phonon-Streuung zunimmt, ist die Streuung von Phononen an Defekten und Grenzflächen oberhalb der Raumtemperatur nahezu temperaturunabhängig. Als Konsequenz daraus ergibt sich, dass Phononen sich in „einfachen“ Gitterstrukturen ungestört ausbreiten können als in komplizierten. Damit erklärt sich auch der Unterschied der Temperaturleitfähigkeit der drei Substratwerkstoffe bei Raumtemperatur. Die einfachste Gitterstruktur besitzt  $\text{Al}_2\text{O}_3$  mit nur zwei Atomsorten (Al, O) in einer hexagonalen Einheitszelle. Cordierit ist ebenfalls hexagonal, jedoch ist die Einheitszelle mit vier unterschiedlichen Atomsorten (Al, Mg, Si, O)



**Abb. 4: Temperaturleitfähigkeit und spezifische Wärmekapazität keramischer Substratwerkstoffe:** Die Temperaturleitfähigkeit der drei keramischen Werkstoffe unterscheidet sich deutlich in der Nähe der Raumtemperatur. Ursache dafür sind Wechselwirkungen von thermisch angeregten Gitterschwingungen (Phononen), deren mittlere freie Weglänge das Wärmetransportverhalten bestimmt, mit Details der Gitterstruktur und des Gefüges. Bei hohen Temperaturen spielen diese Details keine Rolle mehr, da die freie Weglänge dieser Phononen auf den Abstand nächster Nachbarn reduziert ist, der in den drei Materialien vergleichbar ist. Die spezifische Wärmekapazität zeigt dagegen nur geringfügige Unterschiede, da diese Größe als eine Art Maß für das Aufnahmevermögen für Wärme angesehen werden kann und damit relativ unabhängig ist von Feinheiten der Gitterstruktur oder des Gefüges. Thermisch induzierte Veränderungen einer Phase haben jedoch Auswirkungen auf die Wärmekapazität. So wird das breite Maximum zwischen 600 und 800 °C der LTCC-Kurve durch den Glasübergang der amorphen Phasen verursacht.

sehr viel komplizierter aufgebaut. Die Glaskeramik LTCC besteht zwar zu etwa 50 % aus  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , besitzt jedoch zusätzliche Phasen, die zum Teil amorph sind. Die Werte der Temperaturleitfähigkeit bei Raumtemperatur geben diese Unterschiede wieder. Bei steigenden Temperaturen nimmt durch die zunehmende Zahl der Phononen deren mittlere freie Weglänge mehr und mehr ab und wird letztlich reduziert auf den Abstand der nächsten Nachbaratome im Gitter. Dieser nächste Nachbarabstand ist bei den drei Keramiken sehr ähnlich, was auch die geringen Unterschiede in der Temperaturleitfähigkeit bei hohen Temperaturen erklärt.

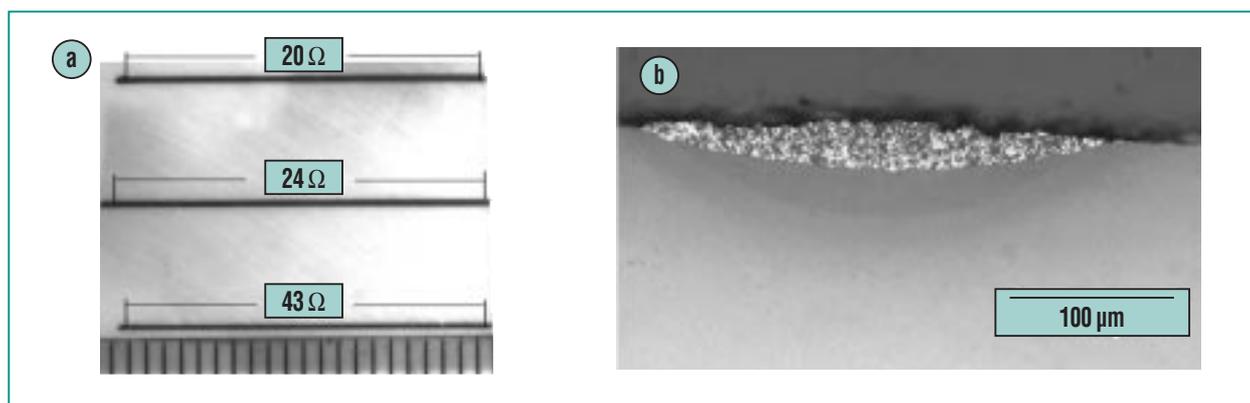
Im Gegensatz zur Temperaturleitfähigkeit zeigt die spezifische Wärmekapazität der drei keramischen Werkstoffe nur geringe Unterschiede über den gesamten untersuchten Temperaturbereich.

Während die spezifische Wärmekapazität von  $\text{Al}_2\text{O}_3$  und Cordierit monoton mit der Temperatur ansteigen, weist die entsprechende Kurve für LTCC zwischen 600 und 950 °C ein breites Maximum auf, das verursacht wird durch den Glasübergang der amorphen Phasen [10].

Durch die Anwendung eines lasergestützten Modifikationsprozesses [7, 8] können sowohl die elektrischen als auch die thermophysikalischen Eigenschaften in den keramischen Substraten lokal verändert werden. Bei diesem Prozess wird zunächst die Oberfläche der Keramik lokal mit einem fokussierten Laserstrahl aufgeschmolzen und die Schmelze mit metallischen Partikel angereichert. Nach der Erstarrung ist dann ein Kompositwerkstoff von metallischen Partikeln in einer keramischen Matrix entstanden mit Eigenschaften, die sich deutlich

unterscheiden von denen des Ausgangswerkstoffs. Mit diesem Verfahren lassen sich elektrisch leitende Strukturen (Abb. 5) direkt in die Oberfläche der Keramik „einschreiben“.

Mit der photothermischen Methode kann die lokale Erhöhung der Wärmeleitfähigkeit in diesen Strukturen ermittelt werden. Ein typisches Ergebnis einer photothermischen Messung an einer mit Wolfram oberflächenmodifizierten Cordierit-Keramik ist dargestellt in Abb. 6. Hier wurde mit dem fokussierten Laserstrahl eines Ar-Lasers der lasermodifizierte Bereich des Substrats abgerastert und an jedem Punkt die Phasenverschiebung der resultierenden Temperaturosillationen mit einem Infrarot-Detektor aufgenommen. Die Modulationsfrequenz wurde dabei konstant gehalten. Auf diese Weise entsteht eine sogenannte photother-



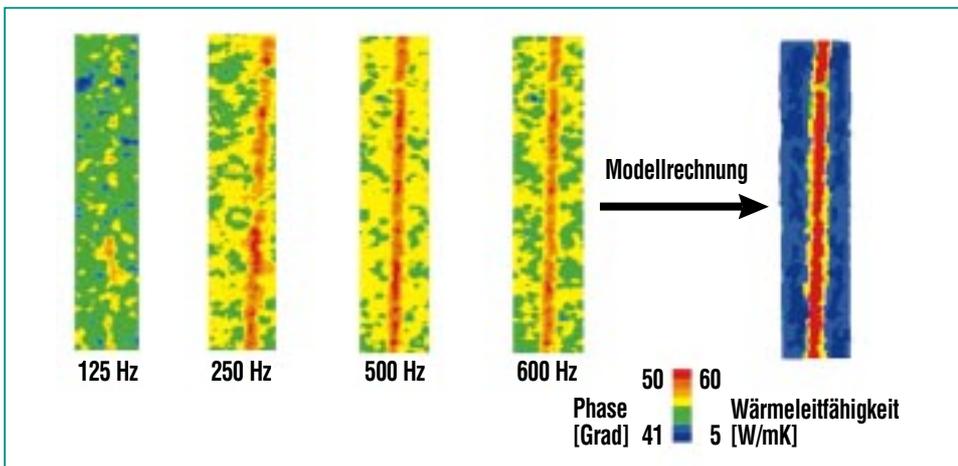
**Abb. 5: Aufsicht (a) und Querschliff (b) einer mit Wolfram modifizierten Cordierit-Keramik. In der Aufsicht sind drei verschiedene, elektrisch leitende Spuren dargestellt, die mit einem lasergestützten Prozess in die Oberfläche der Keramik „eingeschrieben“ wurden. Dabei wurde zunächst die Keramik mit Wolframpulver beschichtet, danach wurde über eine Strecke von etwa 20 Millimetern mit dem fokussierten Strahl eines Hochleistungslasers die Keramik aufgeschmolzen. Bei der Erstarrung entsteht eine leitfähige Spur bestehend aus Wolfram in der keramischen Matrix. Diese Spur ist eingebettet in die Oberfläche der Keramik, so dass eine gute mechanische und thermische Ankopplung an das Substrat gewährleistet ist. Durch Veränderung der Prozessparameter können unterschiedliche elektrische Widerstände erzeugt werden.**

mische Abbildung des oberflächenmodifizierten Bereichs. Wird diese Messung bei unterschiedlichen Modulationsfrequenzen wiederholt, kann aus der Phaseninformation als Funktion der Modulationsfrequenz mit Hilfe eines Zwei-Lagen-Modells die

Wärmeleitfähigkeit bestimmt werden. Aus den Konturen der Wärmeleitfähigkeit in Abb. 6 wird deutlich, dass nur im lasermodifizierten Bereich die Wärmeleitfähigkeit um etwa einen Faktor 10 gegenüber dem Wert des unbehandelten Substrats erhöht werden konnte.

### Zusammenfassung

In diesem Beitrag wurden typische Messmethoden für thermophysikalische Eigenschaften vorgestellt. Anhand von ausgewählten Beispielen wurde verdeutlicht, dass thermophysikalische Methoden sowohl für die Charakterisierung als auch für die Prozessentwicklung eine wichtige Rolle spielen. Thermophysikalische Stoffdaten der Temperaturleitfähigkeit und der spezifischen Wärmekapazität sind nicht nur von Bedeutung für die konstruktive Auslegung von thermisch belasteten Komponenten und Strukturen oder auch als Eingabedaten für die Modellierung und Simulation, sie geben auch Aufschluss über Zusammenhänge zwischen Wärmetransport, Phasenübergängen, Mikrostruktur und Gefüge des Werkstoffes.



**Abb. 6:** Photothermische Abbildungen des lasermodifizierten Bereichs (W-Cordierit) aufgenommen mit unterschiedlichen Modulationsfrequenzen und daraus berechnete Konturen der Wärmeleitfähigkeit: Bei der photothermischen Messung wurde die Probenoberfläche mit fokussiertem Laserstrahl (Fokussdurchmesser ca. 10  $\mu\text{m}$ ) bei einer fest vorgegebenen Modulationsfrequenz abgerastert. An jedem Punkt wurde die Phasenverschiebung der Temperaturoszillationen bestimmt. Diese Prozedur wurde wiederholt mit verschiedenen Modulationsfrequenzen. Anhand der Serie der Phasenkonturen wird die Abhängigkeit der Eindringtiefe der thermischen Wellen von der Modulationsfrequenz deutlich. Bei der niedrigsten Frequenz ist der lasermodifizierte Bereich, der eine größere Wärmeleitfähigkeit besitzt als das Ausgangsmaterial noch nicht deutlich zu erkennen. Die Eindringtiefe der thermischen Wellen ist noch zu hoch, um die Laserspür zu „erkennen“. Mit steigender Frequenz wird die Eindringtiefe geringer und die Laserspür im Phasenbild immer deutlicher. Aus der Phasenverschiebung als Funktion der Frequenz kann die Wärmeleitfähigkeit über eine Modellrechnung bestimmt werden.

### Literatur

- [1] K.D. Maglic, A. Cezairliyan, V.E. Peletski (Hrsg.), *Compendium of Thermophysical Measurement Methods, Vol. 1*, Plenum Press, New York, 1984
- [2] W.J. Parker, R.J. Jenkins, C.P. Butler, G.L. Abbott, *J. Appl. Phys.* 32 (1961) 1679  
G. Breuer, L. Dusza, B. Schulz, *Interceram* 41 (1992) 489
- [3] A. Rosencwaig, *Rev. Sci. Instr.* 48 (1977) 1144
- [4] M. Rohde, *Thin Solid Films* 238 (1994) 199
- [5] M. Rohde, *Materialprüfung* 38 (1996) 241
- [6] G. Höhne, W. Hemminger, H.-J. Flammersheim, *Differential Scanning Calorimetry*, Springer Berlin, 1996
- [7] S. Schreck, *Diss. TH Karlsruhe, FZKA 6816*, 2003
- [8] S. Rüdiger, H. Gruhn, R. Heidinger, M. Rohde, J. Schneider, K.-H. Zum Gahr, in H. Dimigen (Hrsg.): *Surface Engineering, Euromat 99, Vol. 11*, 510
- [9] M. Rohde, B. Schulz, *ASTM STP 1125*, R.E. Stoller (Hrsg.) (1992) 746
- [10] U. Duitsch, S. Schreck, M. Rohde, *Int. J. Thermophys.* 24 (2003) 731

# Ortsverteilte Detektion von Kohlenwasserstoff-Leckagen mit faseroptischer Impulsreflektometrie

J. Bürck, K. Krämer, S. Roth, H. Mathieu, IFIA

## Einleitung

Kohlenwasserstoffe (KW) sind heute ein unverzichtbarer Bestandteil des täglichen Lebens. Ihre intensive Nutzung in vielen Bereichen ist jedoch mit Risiken verbunden, da die Herstellung und Anwendung vieler KWs nicht nur für die menschliche Gesundheit, sondern auch für die Umwelt ein Gefahrenpotenzial darstellt. Gelangen diese Stoffe in die Umwelt, verteilen Sie sich dort und können Wasser, Boden und Luft nachhaltig kontaminieren, weshalb ihr Eintrag möglichst zu vermeiden ist. Damit befasst sich eine Vielzahl von Gesetzen, z.B. das Wasserhaushaltsgesetz [1], sowie verschiedene Vorschriften und länderspezifische Verordnungen zum Umgang mit Wasser gefährdenden Stoffen [2,3]. In vielen Bereichen der Industrie ge-

winnt daher die kontinuierliche, schnelle Erkennung und Lokalisierung von Leckageereignissen in räumlich weit ausgedehnten Objekten, wie z.B. Rohrleitungen, Tanks, Chemieranlagen oder Deponien mit KW-haltigen Flüssigkeiten zunehmend an Bedeutung, da hierdurch eine KW-Emission in die Umwelt und damit verbundene Folgeschäden minimierbar sind. Das schnelle Auffinden einer Leckagestelle, etwa in einer Rohrleitung, ist jedoch mitunter ein schwieriges Unterfangen, da Leitungen oft unterirdisch geführt werden oder schwer zugänglich sind. Um eine möglichst lückenlose und kontinuierliche Kontrolle derartiger Objekte gewährleisten zu können, sind örtlich verteilte Sensorsysteme erforderlich („distributed sensing“).

## Messprinzip und Beschreibung des Sensorsystems

In diesem Artikel wird ein neuartiges auf optischen Impulsrückstreumessungen in chemisch sensitiven Lichtleitern basierendes faseroptisches Sensorsystem vorgestellt, welches zur KW-Leckageerkennung und -ortung geeignet ist [4]. Das Messprinzip ist in Abb. 1 illustriert. Hierbei werden Lichtimpulse einer 850-nm-Laserdiode mit Pulsbreiten von wenigen ns über einen optischen Richtungskoppler in eine Glasfaser eingekoppelt. Das in der Faser durch Totalreflexion geführte Licht wird aufgrund von Brechzahlchwankungen im Quarzglas innerhalb des Fasermaterials gestreut bzw. an den Koppelstücken (Glas-Luft-Übergang) am Anfang und Ende der

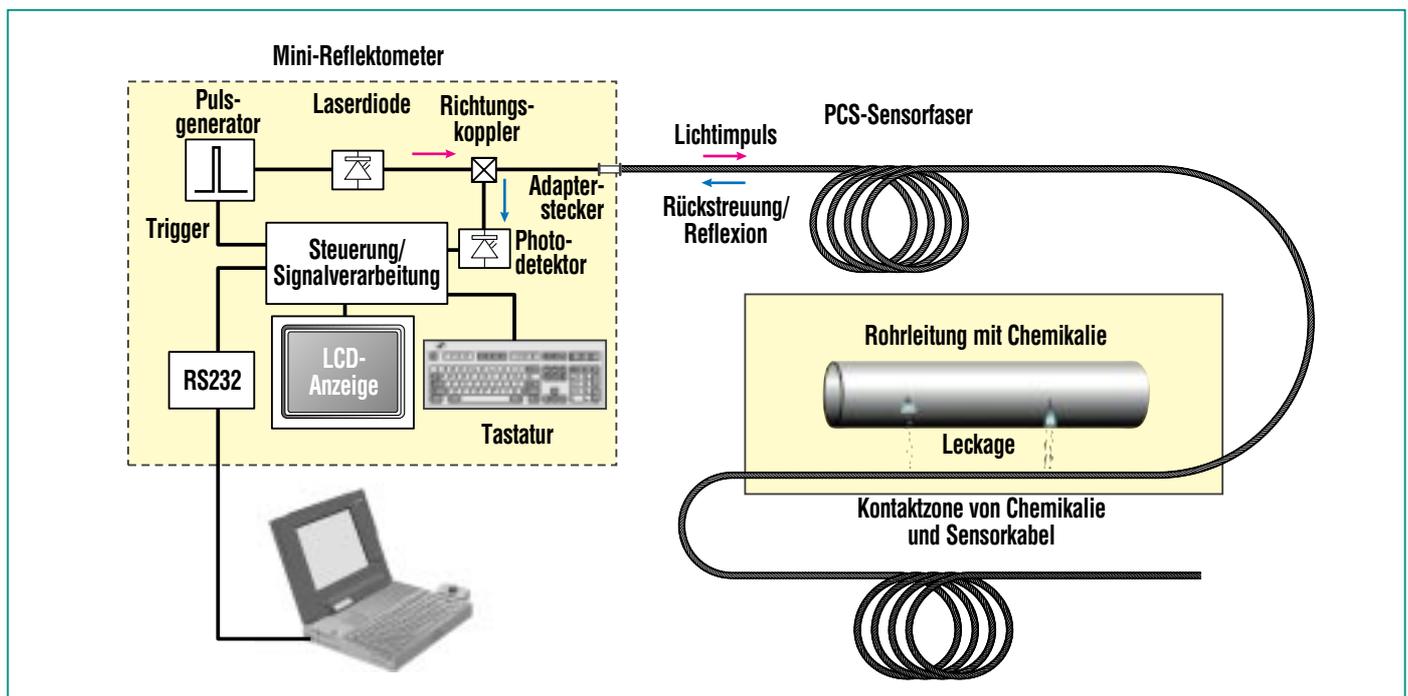
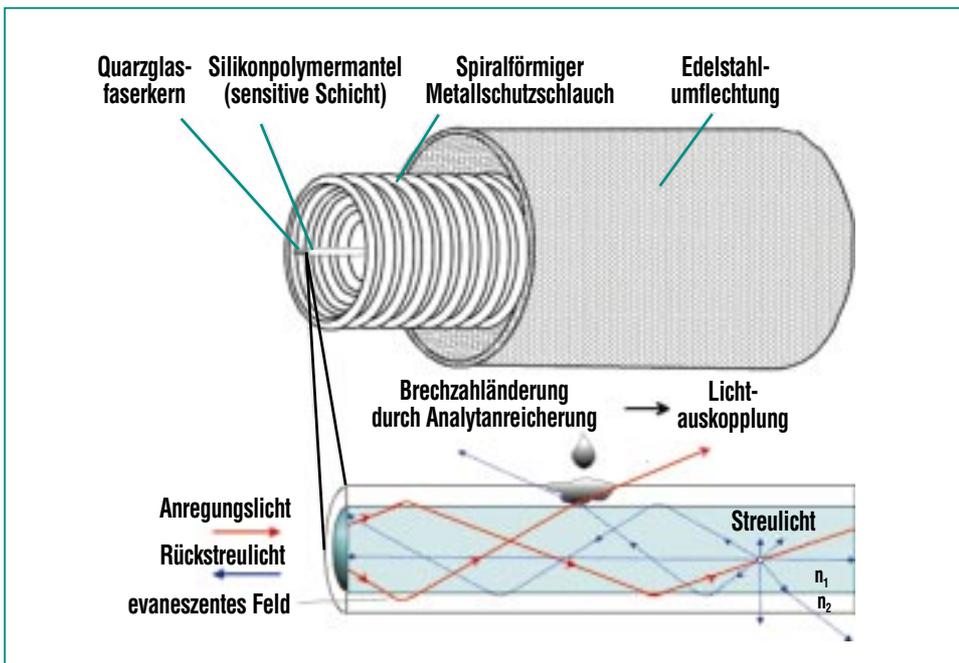


Abb. 1: Schematische Darstellung des Messsystems zur ortsaufgelösten Detektion chemischer Substanzen basierend auf optischer Impulsrückstreureflektometrie.

Faser reflektiert. Ein Teil dieser gestreuten bzw. reflektierten Lichtimpulse wird zum Faseranfang zurückgeführt und über den optischen Richtungskoppler auf einen schnellen Photodetektor geleitet, opto-elektronisch gewandelt und mittels einer schnellen elektronischen Signalverarbeitung in ihrer Reihenfolge aufgezeichnet. Ein Mikroprozessor berechnet die zeitliche Verzögerung der Rückstreusignale gegenüber dem Anregungslichtimpuls und die gemessene Signalintensität wird als Funktion der Laufzeit / bzw. des Ortes registriert und graphisch dargestellt. Rückstremessungen werden in der Telekommunikation zur Bestimmung der Dämpfung von Lichtleiterkabeln oder zur Ortung von Spleißen oder Bruchstellen in Glasfasernetzwerken eingesetzt [4]. Diese „Störstellen“ zeigen

sich als Stufen oder Peaks im ansonsten stetig mit zunehmender Distanz vom Faseranfang in seiner Intensität abfallenden Rückstreusignal. Das in Abb. 1 schematisch dargestellte Mini-Reflektometer aus der Telekommunikationstechnik kann prinzipiell auch zur Ortung von „Störstellen“ verwendet werden, die durch Chemikalienkontakt mit einer speziellen Lichtleiterfaser als solche identifiziert werden können. Hierbei wird ein Lichtleiter mit hydrophobem Polymermantel („polymer clad silica“, PCS) eingesetzt, in welchen apolare KWs eindiffundieren und die lichtführenden Eigenschaften der Faser beeinflussen können. Der Aufbau des Kabels und die Wirkung von KWs auf die lichtführenden Eigenschaften der PCS-Faser ist in Abb. 2 illustriert. Als Schutz gegen

sprachung ist der fragile Lichtleiter in einen spiralförmigen Metallschutzschlauch und eine Edelstahlumflechtung eingezogen, welche beide für Flüssigkeiten permeabel sind. Die PCS-Faser als sensitives Element hat einen Quarzglasfaserkern (Brechzahl  $n_1 = 1,456$  bei 633 nm und 20°C,  $\varnothing 100 \mu\text{m}$ ) und einen Silikonpolymermantel mit kleinerer Brechzahl ( $n_2 = 1,436$  bei 633 nm und 20°C,  $\varnothing 200 \mu\text{m}$ ). Aus der Totalreflexion der im Lichtleiter propagierenden Moden (geführte Lichtwellen) an der Grenzfläche Kern / Mantel resultieren stehende Wellen, deren evaneszentes (quergedämpftes) Lichtfeld über eine kurze Distanz in den Fasermantel eindringt, wo es mit den dort vorhandenen Substanzen wechselwirken kann [4]. Die Anreicherung eines flüssigen KW im Polymermantel einer PCS-Sensorfaser bewirkt eine lokale Änderung seiner Brechzahl  $n_2$ . Hat der angereicherte KW eine höhere Brechzahl als das unbeflusste Polymer, so kommt es in Abhängigkeit von der resultierenden lokalen Brechzahländerung zu einer teilweisen oder vollständigen Auskopplung von Lichtintensität an der Kontaktstelle. Neben dem Anregungslichtimpuls, wird auch das in Richtung Faseranfang zurückgeführte Streulicht aus Faserzonen hinter der Kontaktstelle beim Passieren der Kontaktstelle geschwächt und in der Rückstreusignalform ergibt sich eine Signalstufe [4], welche vom Überwachungsinstrument automatisch registriert und dokumentiert wird [5]. Hierdurch ist die Position einer Kontaktstelle mit einer flüssigen apolaren Substanz detek-



**Abb. 2: Aufbau des chemisch sensitiven Sensorkabels und Illustration des Messprinzips (Rückstremessungen unter Nutzung des evaneszenten Lichtfeldes in einer mit Polymer ummantelten Quarzglasfaser).**

tierbar, wenn das Sensorkabel z.B. entlang einer Rohrleitung mit umweltgefährdenden KWs unterhalb der Leitung verlegt wird (vgl. Abb. 1) [6]. Die örtliche Auflösung, d.h. die Möglichkeit mit dem Reflektometer z.B. zwei Stufensignale in unmittelbarer örtlicher Nachbarschaft zu unterscheiden, liegt bei 1 – 5 m. Sie ist durch die Pulsbreite des Lichtimpulses und die Bandbreite des Detektionssystems vorgegeben. Abb. 3 zeigt eine Fotografie des faseroptischen Überwachungssystems: es besteht aus dem Mini-Reflektometer, welches an das Sensorkabel und einen PC, der als Steuer-, Auswerte- und Dokumentationseinheit dient, angeschlossen ist.

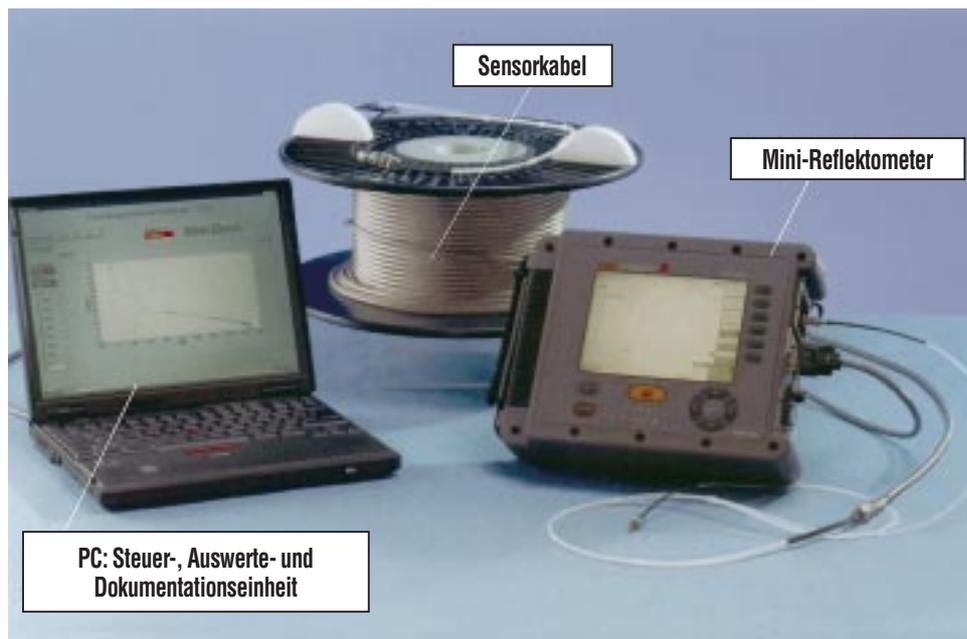


Abb. 3: Faseroptisches Sensorsystem zur kontinuierlichen Überwachung und Ortung von Kohlenwasserstoff-Leckagen.

### Rückstreusignalformen

Abb. 4 illustriert typische mit dem Überwachungssystem gemessene Signalformen. In allen Kurven zeigt sich jeweils ein deutlicher Peak am Anfang und Ende der Faser aufgrund der Reflexionen des Anregungslichtimpulses am Stecker (Übergang Luft-Glas) und eine mit zunehmender Faserlänge kontinuierlich abnehmende Signalintensität, welche durch Lichtstreuung und -absorption im Fasermaterial hervorgerufen wird. Hierdurch ist die maximale Faserlänge auf ca. 1,5 km begrenzt, da die Signale bei größeren Längen im Bereich des Rauschens des opto-elektronischen Detektionssystems liegen. Aufgrund der starken Einkoppelreflexion ist die Photodiode kurzfristig in Sättigung und es ergibt sich eine „Totzone“ von etwa 20 m Länge am Faseranfang.

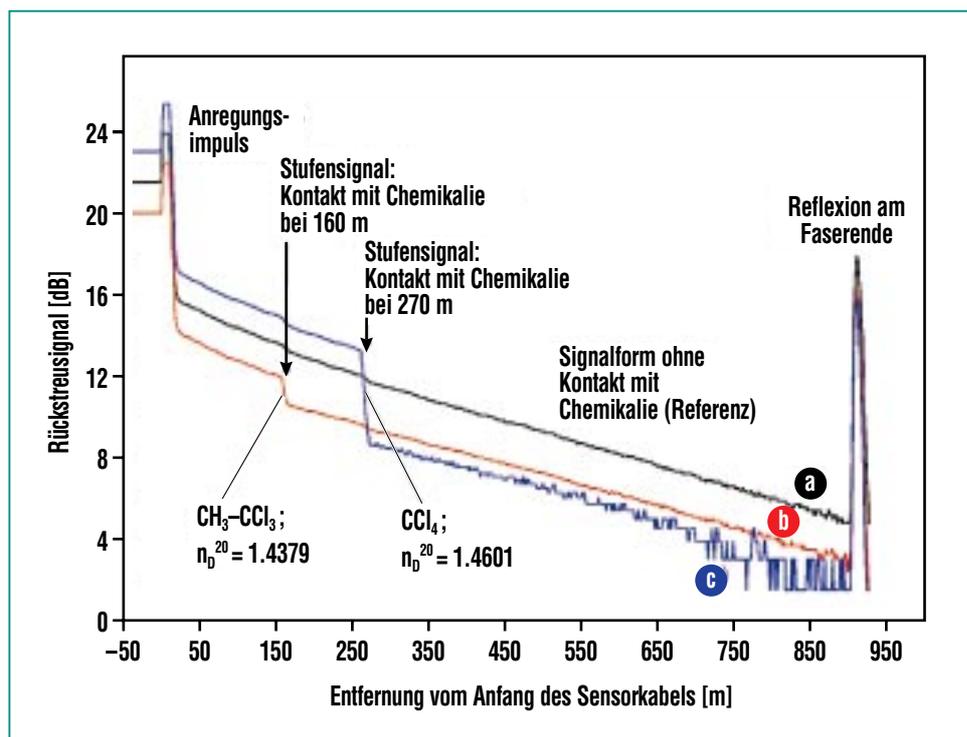


Abb. 4: Rückstreusignalformen aus einer 934 m langen Sensorfaser bei Kontakt mit Luft (a), 1,1,1-Trichlorethan (b) und Tetrachlorkohlenstoff (c), die Signalformen (b) und (c) sind zur übersichtlicheren Darstellung um  $-1,5$  dB bzw.  $+1,5$  dB auf der Ordinatenachse parallel verschoben.

Kurve a zeigt das Rückstreusignal aus einer Faser, welche über ihre ganze Länge lediglich mit der Umgebungsluft in Kontakt stand. Diese Referenz-Signalform wird vom System abgespeichert und dient als Vergleichszustand gegenüber den später erfolgenden kontinuierlichen Messungen. Bei Kontakt der Faser entlang einer Strecke von 2 m in einer Entfernung von 160 m vom Faseranfang mit dem chlorierten KW 1,1,1-Trichlorethan (Abb. 4, Kurve b), welcher eine leicht höhere Brechzahl als der Fasermantel hat, tritt eine 1-dB-Stufe bei der entsprechenden Faserposition auf. Für Tetrachlorkohlenstoff, welches eine deutlich höhere Brechzahl besitzt und eine entsprechend höhere „Mischungsbrechzahl“ im Fasermantel herbeiführt, wird eine Stufe mit einer Höhe von ca. 4-dB-Faser erhalten (Abb. 4, Kurve c, Kontakt bei 270 m). Außer im Bereich der 20-m-Totzone am Faseranfang sind apolare KWs an jedem Punkt entlang des Kabels lückenlos erfassbar. Bei KWs mit hoher Brechzahl und starker Anreicherung im Fasermantel wird die Brechzahl lokal derart erhöht, dass das gesamte Rückstreulicht ausgekoppelt wird und daher nur diese Kontaktzone detektierbar ist; ansonsten können auch mehrere hintereinander liegende Kontaktzonen erfasst werden [4]. Weiterhin ist die Höhe und Breite der Rückstreusignalstufen linear mit der Länge der Faserzone korreliert [4], welche mit Flüssigkeit kontaktiert ist, so dass für einen gegebenen KW aus der Höhe und Breite des Stufensignals auch eine Aussage über die Ausdehnung der Anreicherungsstelle möglich ist.

### Anwendungsspektrum des faseroptischen Sensorsystems

Tab. 1 zeigt exemplarisch die gemessenen Stufensignalhöhen für verschiedene reine KWs, sowie für praxisrelevante KW-Gemische aus großen Tanklagern der

Mineralölindustrie. Generell lässt sich feststellen, dass die Stufensignalhöhe mit zunehmender Brechzahl und abnehmender Polarität des KW's ansteigt. Für die KW-Reinsubstanzen ist in Tab. 1 zusätzlich zur Brechzahl, die jeweilige Polarität als  $E_T^N$ -Wert angegeben [7]. Die  $E_T^N$ -Polaritäts-

KW-Reinsubstanzen			
	Stufensignalhöhe [dB]	$n_D^{20}$	$E_T^N$ -Wert [7]
Dichlormethan	0.00	1.4242	0.3086
Chloroform	1.53	1.4459	0.2593
Cyclohexanon	0.39	1.4507	0.2809
1-Methyl-2-Pyrrolidon	0.03	1.4684	0.3549
Trichlorethen	8.30	1.4773	0.1605
Toluol	8.33	1.4961	0.0988
Tetrachlorethen	8.52	1.5053	0.0432
Pyridin	0.81	1.5095	0.3025
1,2-Dibrompropan	3.00	1.5201	0.2593
Anilin	0.10	1.5863	0.4198
KW-Gemische aus Tanklagern			
	Stufensignalhöhe [dB]	$n_D^{20}$	
Heizöl	0.63	1.4665	–
Diesel	0.39	1.4609	–
Superbenzin	0.31	1.4390	–
Superbenzin 98	0.27	1.4389	–
Normalbenzin	0.09	1.4446	–
JET A1, Kerosin	0.87	1.4422	–
Rohöl	0.19	n.b.	–
Brunnenteer	0.46	n.b.	–

**Tab.1: Stufensignalhöhen für verschiedene KW-Reinsubstanzen und praxisrelevante KW-Gemische aus Tanklagern; Werte gelten für Kontakt der flüssigen Substanz mit einer 2-m-Zone entlang der Sensorfaser.**

werte sind normiert und liegen auf einer Skala von 0 (Tetramethylsilan) bis 1 (Wasser), d.h. je polarer eine Substanz ist, desto näher liegt ihr  $E_T^N$ -Wert bei 1 und desto geringer reichert sie sich im Fasermantel an. Bei Auftragung der auf den Maximalwert des Stufensignals (= vollständige Lichtauskopplung) normierten Signale von gemessenen reinen KWs als Funktion des Quotienten aus Brechzahl und  $E_T^N$ -Wert, resultiert ein S-förmiger Kurvenverlauf, der durch eine sigmoide Funktion mathematisch beschreibbar ist [6]. Mit der ermittelten Modellfunktion lässt sich die Stufensignalthöhe für reine KWs, deren Brechzahl und  $E_T^N$ -Wert bekannt ist, in erster Näherung vorhersagen.

Bei allen detektierbaren KW-Reinsubstanzen und praxisrelevanten KW-Gemischen, war eine erste Signaländerung bereits nach 15 – 30 Sek. nachweisbar, während der Gleichgewichtszustand (konstante Stufenhöhe) abhängig vom KW zwischen ca. 3 – 15 Min. erreicht wurde. Flüchtige KWs dampfen aus dem Fa-

sermantel wieder vollständig aus, d.h. das Ansprechverhalten des Sensorsystems ist hier vollständig reversibel. Auch bei KWs mit geringer Flüchtigkeit konnte die Sensorfaser in vielen Fällen durch Spülen mit Aceton oder Petroleumether sauber gespült und weiterverwendet werden [4]. Das entwickelte faseroptische Sensorsystem zur ortsaufgelösten Detektion von flüssigen KWs existiert momentan lediglich als Prototypinstrument. Zur Zeit wird es im Rahmen eines TT-Projektes mit einem industriellen Partner weiter optimiert, um es bei der praktischen KW-Leckageortung einsetzen zu können.

### Zusammenfassung

In vielen Bereichen der Industrie gewinnt die schnelle Erkennung und Lokalisierung von Leckageereignissen in räumlich weit ausgedehnten Objekten, wie z.B. Rohrleitungen, Tanks, Chemieanlagen oder Deponien mit umweltgefährdenden Flüssigkeiten zunehmend an Bedeutung, da hierdurch die Emission gefährlicher Substanzen in die Umwelt

und damit verbundene Folgeschäden minimierbar sind. Zur lückenlosen und kontinuierlichen Kontrolle derartiger Objekte sind örtlich verteilte Sensorsysteme erforderlich. Im Beitrag wird ein neuartiges, auf optischen Impulsrückstreuungsmessungen in chemisch sensitiven Lichtleitern basierendes, faseroptisches Sensorsystem vorgestellt, welches zur schnellen Detektion und Lokalisierung von Kohlenwasserstoff-Leckagen geeignet ist. Die minimale Ortsauflösung liegt abhängig von der verwendeten Lichtimpulsbreite bei 1 – 5 m, während die minimalen Ansprechzeiten zwischen 15 – 30 Sek. liegen. Bei geeigneter Anordnung des Sensorkabels in einer Anlage ist das System aufgrund des schnellen Ansprechverhaltens und des zusätzlichen Informationsgehaltes über Ort und Ausdehnung der KW-Leckage eine Ergänzung oder Alternative zu herkömmlichen Leckanzeigergeräten.

### Literatur

- [1] Gesetz zur Ordnung des Wasserhaushalts (WHG) in der Fassung vom 12. November 1996, BGBl. I S. 1696.
- [2] Allgemeine Verwaltungsvorschrift zum Wasserhaushaltsgesetz über die Einstufung wassergefährdender Stoffe in Wassergefährdungsklassen (VwVwS) vom 17. Mai 1999, Bundesanzeiger Nr. 98a.
- [3] Verordnung des Umweltministeriums über Anlagen zum Umgang mit wassergefährdenden Stoffen und über Fachbetriebe (Anlagenverordnung) vom 29. November 1995, Gesetzblatt Baden-Württemberg 33, S. 816.
- [4] E. Sensfelder, J. Bürck, H.-J. Ache, *Appl. Spectrosc.* 52 (1998) 1283-1298.
- [5] M. Schwörer, *Mess-, Bedien- und Auswerteprogramm für ein faseroptisches Sensorsystem. Diplomarbeit, Fachhochschule Karlsruhe, 2003.*
- [6] J. Bürck, K. Krämer, S. Roth, *Technische Überwachung* 41 (2001) 18-22.
- [7] Ch. Reichardt, *Chem. Rev.* 94 (1994) 2319-2358.

# Zerstörungsfreie Analytik zur Überwachung von metallischen Kunstwerken und historischen Handschriften

W. Faubel, S. Heißler, H. Klewe-Nebenius, E. Willin, IFIA

## Einleitung

Denkmäler, Bücher oder historische Handschriften sind heute zunehmenden Angriffen durch atmosphärische Verunreinigungen ausgesetzt. Im Fall der Patina auf Bronzemonumenten wird nicht nur das Aussehen, sondern zunehmend auch das metallische Substrat in Mitleidenschaft gezogen, was langfristig zur Zerstörung der wertvollen, meist im Freien stehenden Denkmäler führt. Originale, historisch wichtige Handschriften werden zwar standardmäßig in allen Bibliotheken der Welt in klimatisierten Räumen aufbewahrt. Trotz aller Maßnahmen ist ihre Alterungsbeständigkeit je nach ursprünglicher Herstellungsart und Lagerungsbedingung aber oft begrenzt. Deshalb suchen Restauratoren und Bibliothekare in aller Welt nach Methoden, um diese historisch wertvollen Objekte vor dem Verfall zu bewahren. Zu ihrer Konservierung muss der Zustand der Oberflächen des betreffenden Objektes bekannt sein. Hierzu müssen derzeit immer noch relativ große Proben entnommen werden, was zu einer zusätzlichen Schädigung und dem Verlust historischer Substanz führt.

So haben zum Beispiel umfangreiche Patina-Untersuchungen für das Bronzemonument von Kaiser Josef II. in Wien gezeigt [1], dass die vorwiegenden kristallinen Kupfer-Korrosionsprodukte Brochantit und Antlerit sind. Vergleicht man allerdings pulverförmige Patinaproben von unterschiedlichen Stellen des Monuments, so findet man merkliche Mengen an Chalkanthit in

bestimmten Oberflächenbereichen. Das Auftreten dieser Verbindung gilt allgemein als Anzeichen für eine drohende oder bereits vorliegende Schädigung der schützenden Patina, während reine Brochantit-Bereiche als Schutz für das System Metall/Patina angesehen werden.

Verhornungen sind ein häufiges Schadensbild an Pergamentdokumenten, welche die Benutzbarkeit solcher Handschriften oder Urkunden erheblich einschränken oder sogar unmöglich machen. Solche Verhornungen an Pigmenten entstehen häufig durch äußere Einflüsse, wie Hitze, Wasserschäden durch unkontrolliertes Quellen mit anschließender Austrocknung, oder auch durch mikrobiellen Befall. So galt es bei den Restaurierungsmaßnahmen der Erfurter Bibel (Ms.or.fol 1210-11, im Preußischen Kulturbesitz), den Einfluss von Harnstoff auf Pergament zu analysieren und seine Wirksamkeit als Ingredienz für die Restaurierungsmaßnahme zu bewerten [2].

Ganz aktuell berichtet die Financial Times Deutschland [3], dass „Deutsche Bibliotheken alarmierende Zahlen melden: Rund 60 Millionen Bücher gelten als nicht mehr benutzbar, weil ihr Papier zu brüchig ist. Etwa 80 Prozent der Forschungsliteratur seien auf „saurem“ Papier gedruckt und dadurch mittelfristig von Zerstörung bedroht“.

Daher ist die Entwicklung von Methoden zur zerstörungsfreien In-situ-Kontrolle von Veränderungen des Zustands irregulärer Oberflächen und Deckschich-

ten (Patina, Papier, Pergament, Buchmalereien oder Tintenhandschriften) von größtem Interesse. Mit Hilfe solcher Methoden lassen sich dann Testverfahren und Anwendungsmöglichkeiten für geeignete, speziell entwickelte „sanfte Konservierungs-Therapien“ für ausgewählte Teile eines Kunstobjektes, zum Schutz von technischen Metallobjekten oder Büchern ableiten.

## Analytische Methoden

### Klassische Methoden

Zur Untersuchung von Patina und historischen Handschriften werden unterschiedliche analytische Methoden eingesetzt, wie z.B. Röntgenbeugung, Atomabsorptions-Spektroskopie, Infrarot-/Raman-Spektroskopie oder die röntgenstrahl-induzierte Photoelektronen-Spektroskopie (XPS) und die Augerelektronen-Spektroskopie (AES). Diese Methoden sind zwar z.T. in der Lage, zwischen verschiedenen chemischen Komponenten zu unterscheiden. Sie sind jedoch häufig sehr aufwendig und erfordern insbesondere eine Probenentnahme vom Originalobjekt sowie oftmals eine umfangreiche Probenpräparation.

### Zerstörungsfreie Methoden

Die photoakustische Spektroskopie (PAS) und die photothermische Ablenkungsspektroskopie (PTDS) bieten Möglichkeiten zur kontaktlosen zerstörungsfreien Bestimmung globaler Parameter (Änderungen optischer bzw. thermischer Eigenschaften wie z.B. Absorption, unterschiedlicher

Dichten oder Porositäten, chemischer Zusammensetzung oder Schichtung) von oberflächennahen Schichten eines Festkörpers. Diese Methoden lassen sich so modifizieren, dass sie in situ für atmosphärisch korrodierte Festkörperoberflächen einsetzbar werden.

Da photoakustische/photothermische Experimente zunächst im Wesentlichen globale Parameter oberflächennaher Schichten der Festkörper liefern und keine direkten analytischen Aussagen machen können, ist es notwendig, diese Daten bzgl. solcher chemischer und struktureller Eigenschaften zu kalibrieren, die den Zustand und ggf. dessen Änderungen der untersuchten Systeme beschreiben.

### Photothermische Ablenkungs- und photoakustische Spektroskopie

Das photothermische Messprinzip ist außerordentlich einfach

und beruht auf der thermischen Umsetzung des Lichts von Lasern oder konventionellen Lampen durch die zu untersuchende Substanz. Die Absorption von Strahlung erhöht die innere Energie eines Moleküls. Der absorbierte Energieanteil wird zum größten Teil in Form von potentieller Energie zur Anhebung eines Valenzelektrons in einen energetisch höheren Zustand verbraucht. Im Falle strahlungsloser Desaktivierung verwandelt sich dieser Energiebetrag in kinetische Energie und verteilt sich auf alle Freiheitsgrade der Rotation, Schwingung und Translation des Moleküls. Diese Anregungsenergie wird über strahlungslose Relaxation auf die Umgebung eines Moleküls – dies kann ein Feststoff, ein Gas oder ein Lösungsmittel sein – übertragen und führt zu einer Temperaturerhöhung, die mit geeigneten Temperatursensoren nachgewiesen wird.

An dieser Stelle soll auf die photothermische Ablenkung (engl.: Photothermal Deflection Spec-

trosopy PTDS) und die Fast-Fourier-Infrarot-/photoakustische Spektroskopie FTIR/PAS näher eingegangen werden (Abb. 1):

Ein modulierter Anregungs-(Pump-)Lichtstrahl wird an der Oberfläche absorbiert und bewirkt somit eine periodische Erwärmung der Probe. Die Wärme breitet sich in die Probe hinein aus und diffundiert wiederum zur Oberfläche zurück, wobei sie auf das angrenzende Gas (hier Luft) übertragen wird. Für die Bestimmung dieser lokalen, temperaturabhängigen Dichteoszillation der Luft werden zwei Detektionsprinzipien angewendet:

- (1) Bei der photothermischen Ablenkung wird die Temperaturänderung durch einen Messstrahl (Probelaser) nachgewiesen, der oberhalb der Probenoberfläche die erwärmte Region durchquert (Abb. 1a). Die infolge des Brechungsindex-Gradienten der darüber stehenden Luft bewirkten periodischen Ablen-

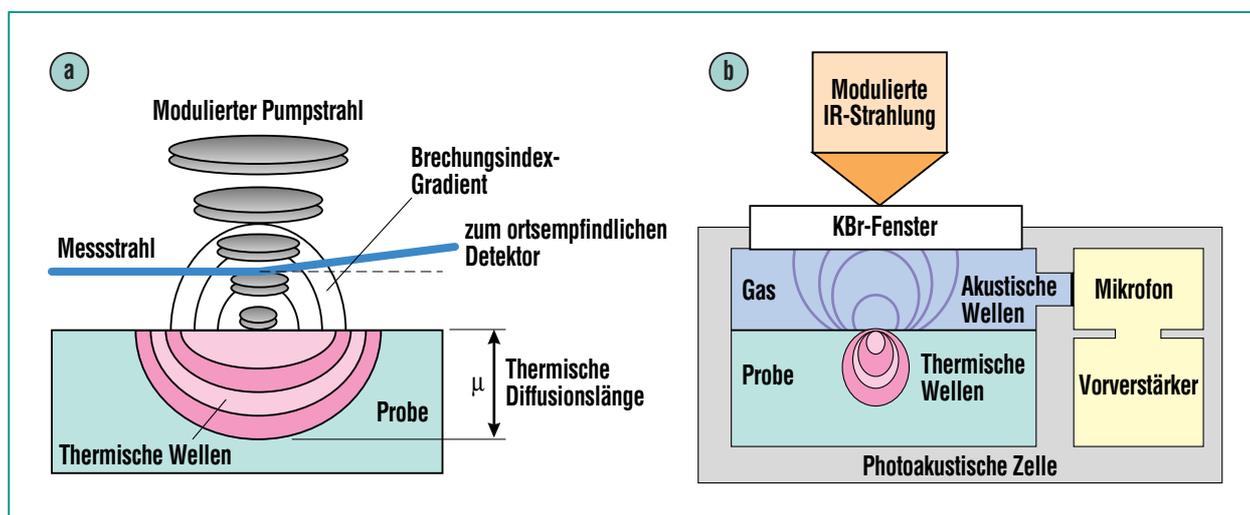


Abb. 1: Prinzip der photothermischen Ablenkungs-Spektroskopie (a, links) und der photoakustischen Spektroskopie (b, rechts).

kungen des Probestrahls werden mit einem positionsempfindlichen, optischen Detektor registriert.

- (2) Bei der Photoakustik wird in einer mit Helium gefüllten photoakustischen Zelle mit einem Mikrofon die von den thermischen Wellen bewirkte zeitliche Druckänderung gemessen (Abb. 1b). Da mit beiden Detektionsvarianten nur Signale nachgewiesen werden, die innerhalb der thermischen Diffusionslänge erzeugt werden, erlauben diese Methoden eine Unterscheidung zwischen der Oberfläche und den darunter liegenden Schichten eines Festkörpers und sogar deren chemische Charakterisierung bei Verwendung einer Infrarotlichtquelle als Pumpstrahl (FTIR-Fingerprintspektren).

## Anwendungen

### *Kupfer- und Bronzeobjekte*

Um eventuelle Schädigungen an Bronzemonumenten oder anderen metallischen Objekten bereits im Anfangsstadium zu entdecken, wäre es von großem Vorteil, Hinweise darauf ohne direkten Eingriff in das Objekt in Form einer regelmäßigen Überwachung bzw. Kontrolle zu erhalten und daraufhin ggf. genauere Untersuchungen an Einzelproben mit spezifischen Labor-Analysemethoden durchzuführen. Hierzu ist die Entwicklung von Methoden zur zerstörungsfreien In-situ-Kontrolle von Veränderungen des Zustands irregulärer Oberflächen und Deckschichten (Metall-Ober-

fläche, Patina und evtl. Schutzschichten) erforderlich.

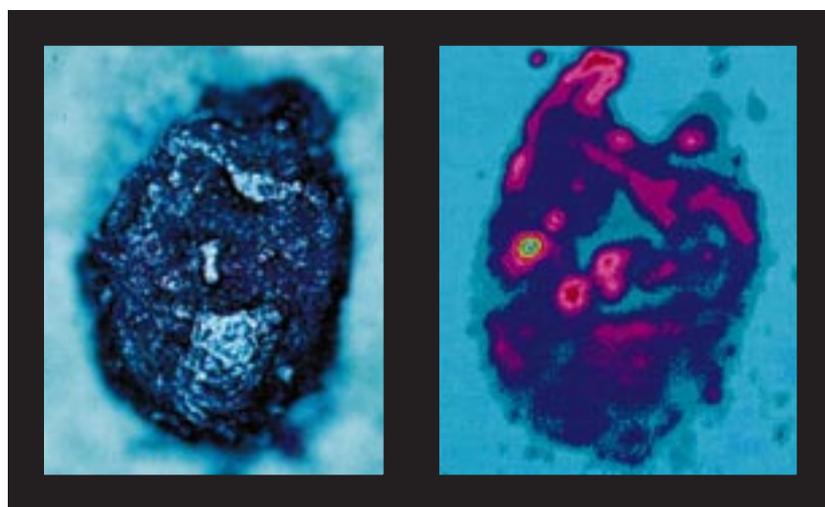
Mit der PTDS lassen sich Strukturen unterschiedlicher thermischer Eigenschaften auf und unterhalb der Oberfläche nachweisen [1]. So weisen z.B. der Atmosphäre ausgesetzte Kupfer- oder Bronzeobjekte in der Patinaschicht oftmals schwarze Einlagerungen aus der Atmosphäre (Staub, Ruß etc.) auf, deren Strukturen und Einflüsse auf die Patina noch wenig untersucht sind. In Abb. 2 ist ein optisches Bild (links) eines solchen schwarzen Einschlusses auf der Außenseite der Patina mit dem entsprechenden PTDS-Bild (rechts) verglichen. Letzteres zeigt eine deutlich größere Ausdehnung der thermischen Struktur des Einschlusses im Vergleich zum optischen Bild.

Die chemische Charakterisierung einer natürlichen Patina (Cu-Dachblech des Stockholmer Rathauses), die zum Schutz gegen Korrosion mit einem Inctalac-Polymer überzogen wurde, zeigt

das Fourier-Transform-Infrarot-/photoakustische Spektrum in Abb. 3 [4]. Die Variation der Modulationsfrequenz gestattet einen Blick unter die Inctalac-Schutzschicht.

### *Die Restaurierung der Erfurter Bibel – Untersuchungen zum Einfluss von Harnstoff auf Pergament*

Pergament fand seit dem zweiten Jahrhundert v. Chr. Verwendung als Beschreibstoff, da es aufgrund seiner extrem hohen Haltbarkeit und der vielfältigen positiven Eigenschaften wie Opazität, heller Farbe, hoher Affinität für Tinten und Farbstoffe und glatter Vorder- und Rückseite hervorragend zum Schreiben geeignet ist. Später wurde es durch Papier ersetzt. Beide weisen große Empfindlichkeiten gegenüber äußeren Einflüssen wie Wärme und sehr trockene Lagerungsbedingungen, plötzliche hohe Hitzeeinwirkung sowie Sonnenlicht- und UV-



**Abb. 2: Optisches (links) und photothermisches (rechts) Bild eines sichtbaren Einschlusses („black spot“) auf der Patina des Kupferdachs vom Stockholmer Rathaus.**

Einstrahlung aber auch – und das ist von besonderer Bedeutung – Wasserschäden auf.

Im Falle der Erfurter Bibel (Ms.or.fol.1210-11, im Besitz der Staatsbibliothek zu Berlin – Preußischer Kulturbesitz) liegt ein solches sowohl durch Hitze als auch durch Wasser erzeugtes Schadensbild vor (Abb. 4). Die zwei-bändige Pergamenthandschrift aus dem Jahre 1348 mit insgesamt 1068 Blatt und einem Format von ca. 63 x 47 cm weist aufgrund eines Hitze- und Wasserschadens extreme Verbräunungen, Deformierungen und Verklebungen auf.

Eine Restaurierungsmethode zum Weichen und Trennen verhornter Pergamente stellt die Applikation von wässrigen oder al-

koholischen Harnstofflösungen in Konzentrationen von ca. 3-10% (g/g) dar. Diese wird seit den 1960er Jahren häufig angewendet, wenngleich sie nicht unumstritten ist.

Photothermische Aufnahmen konnten zeigen, dass es auch auf der Oberfläche mit Harnstoff behandelte Pergamente zu deutlichen Inhomogenitäten kommt (Abb. 5). Erklären lassen sich diese außer durch den ungleichmäßigen Auftrag selbst auch durch ein ungleichmäßiges Auskristallisieren des Harnstoffs beim Abdampfen des Lösungsmittels. Durch Unebenheiten des Pergaments können Kristallisationskeime entstehen, an denen die weitere Auskristallisierung verstärkt stattfindet. Bei einer Trocknung

zwischen Löschkarton ist die inhomogene Auftrocknung noch deutlicher als bei einer Trocknung an der Luft. Lichtmikroskopische Aufnahmen konnten die Auskristallisierung auf der Oberfläche des Pergaments verdeutlichen. Beobachtete Erfolge durch Harnstoffbehandlungen sind folglich eher auf die Wirkung des Lösungsmittels Wasser bzw. Wasser/Alkohol, auf extrem hohe Konzentrationen oder auf sehr lange Einwirkungszeiten zurückzuführen. Bei der Restaurierung der Erfurter Bibel wurde daher vollständig auf die Verwendung von Harnstoff oder anderer weichender Substanzen verzichtet [2]. Nach einem kontrollierten Befuchtungs-, Spann- und Trocknungsprozess konnte in allen Bereichen eine zufrieden stellende

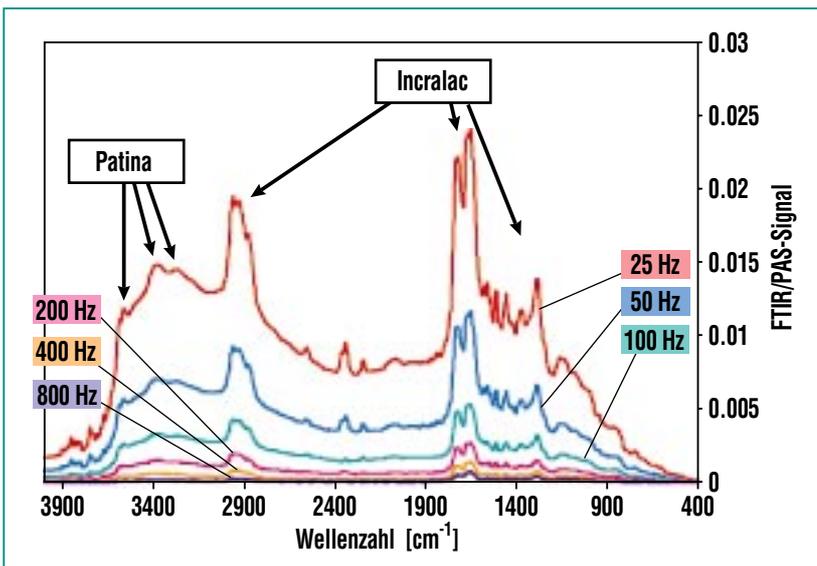
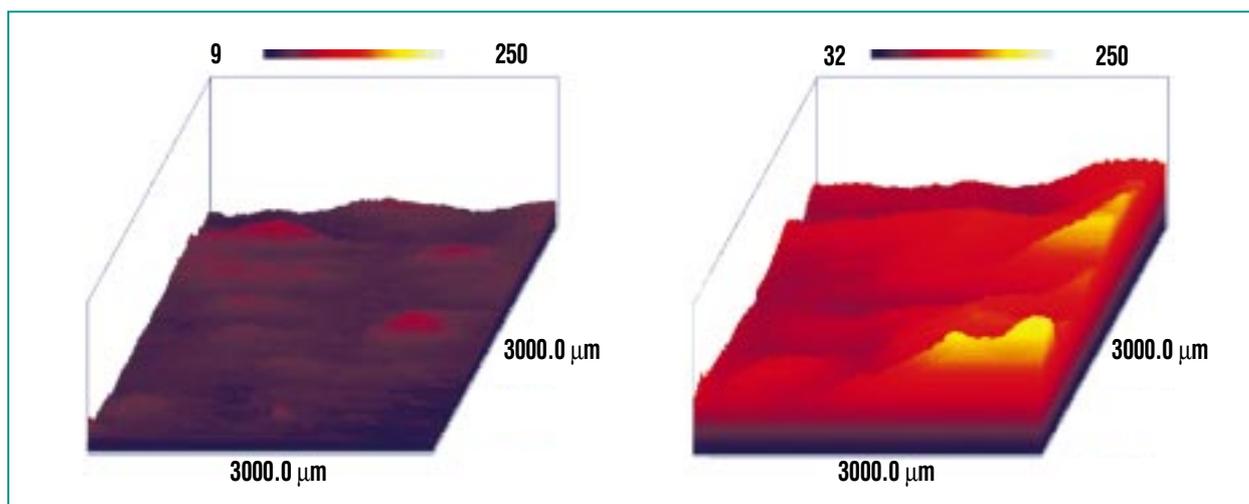


Abb. 3: FTIR/PAS-Tiefenprofil einer mit Incralac überzogenen Patina, wobei die mit verschiedenen Frequenzen aufgenommenen Spektren jeweils aus einer anderen Tiefe der Schicht stammen. In den Spektren kann deutlich zwischen den verschiedenen O-H-Absorptionsbanden der Patina (3588 bzw. 3580, 3402 und 3278  $\text{cm}^{-1}$ ) und den C-H (2988  $\text{cm}^{-1}$ ), C=O (1744  $\text{cm}^{-1}$ ) und C-O-C (1242 und 1186  $\text{cm}^{-1}$ ) Banden der aufgetragenen Incralac-Schutzschicht unterschieden werden.



Abb. 4: Kopf (Ms.or.fol. 1211) vor und nach der Restaurierung, siehe Text (Reproduktion mit Genehmigung der Staatsbibliothek zu Berlin).



**Abb. 5: Photothermische Aufnahme der unbehandelten Probe Z1 0/5 (links) und der behandelten Probe Z1 24 (rechts).**

Zunahme der Flexibilität verzeichnet werden. Die Deformationen waren vollständig beseitigt, eine Abnahme der Verbräunungen ist bemerkbar und die Lesbarkeit ist signifikant gestiegen wie in Abb. 4 zu sehen ist.

### Ausblick

Derzeit werden von uns auch moderne Gemälde, wie z.B. ein Siebdruck von Andy Warhol, untersucht. Der Siebdruck weist aufgrund eines Wasserschadens im oberen rechten Bereich starke Wellen auf. Er wurde mit speziel-

len Lösungsmitteln behandelt, anschließend kontrolliert befeuchtet. Nach der Trocknung konnten visuell keine Oberflächen- und Farbveränderungen festgestellt werden. Photothermische Untersuchungen werden herangezogen, um mögliche morphologische Veränderungen der Farboberfläche, die nach der Restaurierung visuell nicht feststellbar sind, zu detektieren [5]. Die Messung kann zum Beschreiben von restauratorischen Maßnahmen dienen. Bei dieser Arbeit handelt es sich um erste Versuche, Veränderungen von farbigen

Oberflächen mit Hilfe von photothermischen Messungen zu verfolgen. Die chemische Referenzanalytik für Gemälde mit Pigmentfarben und historischen Handschriften wird derzeit an der Synchrotronstrahlenquelle (ANKA) mit Mikro-Röntgenfluoreszenz-Strahlung durchgeführt [6]. Dies alles verlangt eine enge Zusammenarbeit von Restauratoren und Naturwissenschaftlern, um die Ergebnisse sinnvoll auszuwerten.

### Literatur

- [1] *Development of a New Non-destructive Method for Analysis of the Atmospheric Corrosion and Corrosion Protection of Copper and Copper Alloys*, EC-Program "Environment and Climate", Project ENV4-CT95-0098, Research Report No. 10 (1999) und: W. Faubel, H. Klewe-Nebenius, P. Misaelidis, B. Pichler, A. Vendl, *Italian Society for Non-Destructive Testing Monitoring Diagnostics (AIPnD)*, Art 99, Vol. 1 (1999) 233-246
- [2] J. Vervoort, E. Bartelt, W. Faubel, S. Heissler, E. Willin, A. Pataki, G. Banik, *Forschungszentrum Karlsruhe, Wissenschaftliche Berichte, FZKA 6521* (2001)
- [3] *Financial Times Deutschland*, Do, 28.08.2003, Seite 28
- [4] W. Faubel, S. Heissler, R. A. Palmer, *AIP, Rev.Sci. Instr.* 74 (2003) 331-333
- [5] M. Ritter, *Restaurierung beschädigter Siebdrucke auf Papier*, Diplomarbeit, Staatliche Akademie der Bildenden Künste, Stuttgart (2002).
- [6] S. Staub et al., *dieses Heft*.