

JOHANNES GUTENBERG-UNIVERSITÄT MAINZ

Entwicklung und Optimierung einer analytischen
Methode zur Quantifizierung von Bor in Vollblut für die
Anwendung in der Bor-Neutronen-Einfangtherapie

**Dissertation zur Erlangung des Grades
"Doktor der Naturwissenschaften" im Promotionsfach
Analytische Chemie**

dem Fachbereich Chemie, Pharmazie und Geowissenschaften der
Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Dorothee Silvana Iffland
geboren in Bad Dürkheim

Mainz, 2018

1. Berichterstatter: Anonymisiert

2. Berichterstatter: Anonymisiert

Tag der mündlichen Prüfung: 15.06.2018

Die Neugier steht immer an erster Stelle eines Problems, das gelöst werden will.

Galileo Galilei

Inhaltsverzeichnis

Kurzzusammenfassung.....	VII
Abstract	IX
1 Motivation und Zielsetzung.....	1
2 Theoretischer Teil.....	9
2.1 Bor-Neutronen-Einfangtherapie	9
2.2 Quantifizierung von Bor in Vollblut.....	13
2.2.1 Methoden für die Quantifizierung von Bor.....	13
2.2.2 Radioanalytische Methoden	15
2.3 Probenzuführungstechniken in der Atomspektrometrie.....	16
2.3.1 Pneumatische Zerstäubung.....	17
2.4 Das Induktiv gekoppelte Plasma als Anregungs- und Ionisationsquelle.....	30
2.4.1 Eigenschaften von Plasmen.....	30
2.4.2 Das induktive gekoppelte Plasma	32
2.4.3 Anregungsprozesse im ICP	35
2.4.4 Ionisationsprozesse in einem analytischen Plasma	36
2.5 Massenspektrometrie mit dem induktiv gekoppelten Plasma	37
2.5.1 Interface und Ionenoptik.....	38
2.5.2 Massenanalytoren	39
2.5.3 Detektoren	45
2.5.4 Polyatomare und isobare Interferenzen und deren Beseitigung.....	47
2.5.5 Oxidraden und zweifache Ionisierung	49
2.6 Grundlagen der optischen Emissionsspektroskopie	51
2.6.1 Radiale und axiale Beobachtungsweise des Plasmas.....	52
2.6.2 Mono- und Polychromatoren.....	54
2.6.3 Detektoren	56

2.6.4	Spektrale und chemische Interferenzen und deren Beseitigung.....	58
2.6.5	Robustheit des analytischen Plasmas	60
2.7	Analytische Güteziﬀern und Statistik.....	62
2.7.1	Analytische Güteziﬀern.....	62
2.7.2	Statistik.....	65
2.7.3	Unsicherheit von Konzentrationsangaben.....	66
2.7.4	Kalibriermethoden	67
3	Experimenteller Teil	70
3.1	Verwendetes Instrumentarium.....	71
3.1.1	Verwendete Geräte.....	71
3.1.2	Verwendete Chemikalien.....	77
3.2	Vergleich verschiedener Zerstäuber- und Sprühkammer-Systeme	80
3.2.1	Detektion mittels ICP-MS.....	81
3.2.2	Detektion mittels ICP-OES.....	90
3.2.3	Vergleich der Ergebnisse und Schlussfolgerungen.....	104
3.3	Bor-bedingter Memory-Effekt der ICP-MS und ICP-OES.....	110
3.3.1	Untersuchungen verschiedener Spüllösungen für Bor am ICP-MS.....	113
3.3.2	Untersuchung verschiedener Spüllösungen für Bor am ICP-OES.....	115
3.3.3	Variation der Sprühkammertemperatur am ICP-OES	117
3.3.4	Vergleich der Ergebnisse und Schlussfolgerungen.....	122
3.4	Quantifizierung von Bor in Blut, Vergleich der Kalibrierstrategien.....	124
3.4.1	Externe Kalibrierung.....	124
3.4.2	Online-Kalibrierung, Standardaddition	133
3.4.3	Online-Kalibrierung, extern.....	142
3.4.4	Vergleich der Ergebnisse und Schlussfolgerungen.....	146
4	Zusammenfassung.....	151
5	Ausblick	161
6	Literatur.....	163

7 Anhang	XI
Abbildungsverzeichnis.....	XI
Tabellenverzeichnis.....	XVII

Kurzzusammenfassung

Das Ziel dieser Dissertationsarbeit liegt in der Entwicklung und Optimierung einer schnellen und zuverlässigen Quantifizierungsmethode des Borgehaltes in Vollblutproben mittels Massen- und Emissionsspektrometrie, jeweils mit dem induktiv gekoppelten Plasma als Ionen- (ICP-MS) bzw. Anregungsquelle (ICP-OES) für die Anwendung in der Bor-Neutronen-Einfangtherapie (BNCT). Die Borkonzentration in Blut und Gewebe ist vor der Neutronenbestrahlung genau zu bestimmen, da anhand derer die resultierende Strahlendosis für den Patienten berechnet sowie die Bestrahlungsdauer und der Bestrahlungszeitpunkt ermittelt werden.^{1,2}

Die analytische Bestimmung von Bor ist aufgrund von Memory-Effekten, aber auch wegen zu erwartender Matrixeinflüsse, welche von der Vollblutmatrix herrühren, schwierig.³ Da sich Bor aufgrund seiner hohen Affinität zu Gefäßoberflächen aus Glas nur sehr schlecht durch Spülen von der genannten Oberfläche entfernen lässt, muss eine geeignete Reinigungsprozedur entwickelt werden, um eine Verschleppung von Bor zwischen den einzelnen Proben zu verhindern (Memory-Effekt). Eine andere Möglichkeit, Memory-Effekte zu unterdrücken, ist die Verwendung von Gerätebauteilen aus Kunststoffen wie beispielsweise Polyfluoralkoxyalkan – PFA oder Polytetrafluorethen – PTFE, da von diesen Materialien das Bor nur in erheblich vermindertem Umfang adsorbiert wird und so besser aus den Geräteteilen ausgewaschen werden kann. Nach Beendigung der intravenösen Infusion des Borpharmakons, sinkt die Borkonzentration im Blut des Patienten und damit auch im Tumorgewebe innerhalb von ca. 2-3 Stunden auf seinen Ausgangswert ab.² Daher ist eine Bestimmung der Borkonzentration im Blut während der Infusion des Borpharmakons nötig, um den Zeitpunkt der maximalen Boranreicherung im Blut festzustellen und darüber Rückschlüsse auf den bestmöglichen Bestrahlungszeitpunkt ermitteln zu können. Somit ist eine schnelle und zuverlässige Methode zur Borbestimmung in Vollblutproben für die klinische Anwendung der BNCT zur effektiven Tumorthherapie notwendig. Hierfür geeignete Analysemethoden sind die Elementmassenspektrometrie sowie die Atomemissionsspektroskopie mit dem induktiv gekoppelten Plasma (ICP-MS bzw. ICP-OES) zu nennen, da diese beiden ICP basierten Methoden ein geringes Probenvolumen benötigen, eine kurze Analysezeit und damit verbunden einen hohen Probendurchsatz aufweisen. Ebenfalls besitzen die beiden genannten Methoden eine hohe Selektivität und Empfindlichkeit, sowie eine hohe Präzision und eine niedrige Nachweisgrenze, welche ebenfalls für die klinische Anwendung der BNCT von wichtiger Bedeutung sind. Weiterhin sind die ICP basierten Analysemethoden aufgrund der leicht

zugänglichen Peripherie im klinischen Umfeld leicht anwendbar. Für die ICP-MS sowie die ICP-OES ist es nötig die flüssige Vollblutprobe in ein feines Aerosol zu überführen, welches dem Plasma zugeführt wird. Dies geschieht meist durch Verwendung eines Zerstäubers. Daher wurde in der vorliegenden Arbeit ein ausführlicher Zerstäuber/Sprühkammer Vergleich hinsichtlich der erzielbaren Empfindlichkeiten für Bor bei gleichzeitig geringem Probenvolumen durch Detektion am ICP-MS sowie am ICP-OES durchgeführt. Der Fokus in dieser Arbeit liegt in der pneumatischen Zerstäubung, wobei aufgrund des Memory-Effektes von Bor bevorzugt Zerstäuber, welche aus einem Polymer gefertigt sind, zum Einsatz kommen. Hierbei erwiesen sich der Flow-Blurring-Zerstäuber "OneNeb" (Agilent Technologies, Santa Clara; USA) bei einer Probenflussrate von 50 $\mu\text{L}/\text{min}$ am ICP-MS und der Parallelpfad-Zerstäuber "PFA 250" (Burgener Research, Mississauga, Kanada) unter Verwendung einer Probenflussrate von 700 $\mu\text{L}/\text{min}$ am ICP-OES als am besten geeignet, da unter Verwendung dieser beiden Zerstäuber in der verwendeten Methode die höchsten Empfindlichkeiten für Bor bei gleichzeitig möglichst geringem Probenfluss erzielt werden konnten.

Weiterhin wurde in der vorliegenden Arbeit eine Studie zur Reduzierung des Memory-Effektes von Bor durchgeführt. Hierzu wurde die Auswaschzeit von Bor unter Verwendung verschiedener Spülreagenzien mittels Fließinjektion (FIA) sowohl am ICP-MS als auch am ICP-OES untersucht. Hier erwies sich für die BNCT die ICP-OES als die bevorzugte Analysemethode, da unter Verwendung der in dieser Arbeit untersuchten Spülreagenzien Auswaschzeiten von nur wenigen Sekunden für Bor ermittelt wurden.

Zur Quantifizierung von Bor in Vollblut für die BNCT wurden in dieser Dissertationsarbeit verschiedene Kalibrierstrategien zur Reduzierung möglicher Matrixeffekte sowie der Wiederfindungsrate für Bor untersucht. Es wurden Probenvorbereitungsverfahren mittels mikrowellenassistierter Druckaufschlüsse, sowie der Verdünnung von Vollblut untersucht. Da die mikrowellenassistierten Druckaufschlüsse sehr zeitaufwändig sind, wurden ebenfalls die Standardaddition, sowie die externe Kalibrierung durch online-Verdünnung der Probe bzw. online-Herstellung der Kalibrierproben für die Quantifizierung von Bor in Vollblut untersucht.⁴ Hier erwies sich die Verwendung der Online-Standardaddition als besonders geeignet, da Matrixeffekte vollständig eliminiert, sowie die Zeit zwischen Probenahme und Analyseergebnis auf ca. 10-12 Minuten pro Probe reduziert werden konnte.

Abstract

The aim of this thesis is the development and optimization of a fast and precise working method for the quantification of boron in whole blood samples by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) and inductively coupled plasma optical emission spectroscopy (ICP-OES) for the use in boron neutron capture therapy (BNCT).

For a successful application of the BNCT the boron concentration in blood and tissue samples had to be determined in order to define the optimal neutron irradiation time point and the resulting dose for the patient.^{1,2} After completing intravenous infusion of the boron compound, the boron concentration decreases in the patient's blood and also in the tumor tissue. Hence, a quantification of the boron in whole blood during the infusion of the boron carrier is necessary to determine the time of maximum boron enrichment in blood. Therefore, a fast, reliable and precise working method for boron in whole blood samples is necessary for clinical application of BNCT. Suitable analytical methods are the inductively coupled plasma mass spectrometry and inductively coupled plasma optical emission spectroscopy (ICP-MS or ICP-OES). These two ICP-based analytical techniques require a small sample volume, a short analysis time and have a high sample throughput. These techniques have also a high selectivity and sensitivity and work on a high degree of precision. Furthermore, the ICP-based techniques are accessible in clinic environment because of their easy periphery. For ICP-MS and ICP-OES, it is necessary to transfer the liquid sample into a fine aerosol with a small droplet size distribution. Aerosol is transferred into the plasma. This is usually performed by using a nebulizer/spray chamber system. Therefore, a detailed comparison of different nebulizer and spray chambers using ICP-MS or ICP-OES for detection was performed in the presented work. The investigation criteria were highest sensitivity for boron in combination with a low sample volume. In this work the Flow Blurring nebulizer "OneNeb" (Agilent Technologies, Santa Clara, USA) with a sample flow rate of 50 $\mu\text{L}/\text{min}$ at the ICP-MS and the Parallel Path Nebulizer "PFA 250" (Burgener Research, Mississauga, Canada) using a sample flow rate of 700 $\mu\text{L}/\text{min}$ reached the highest sensitivity for boron at the lowest sample volume.

The analytical determination of boron is challenging due to memory and matrix effects, which result from the whole blood matrix.³ Since boron has a high efficiency to adsorb at surfaces of glass (memory effect), a suitable rinse solution has to be developed to prevent any cross-contamination of boron between samples. It is also suitable to suppress memory effects by using a sample introduction system made of polymer like polyfluoroalkoxyalkane (PFA) or

polytetrafluorethylene (PTFE) because adsorption efficiency of boron is reduced on these materials.

Additionally, a study was performed to reduce the above mentioned memory effect of boron in this thesis. To reduce this effect, several rinse solutions were investigated and a flow injection (FIA) was used at ICP-MS and ICP-OES. The ICP-OES is the preferred technique to determine boron concentration in whole blood for the use in BNCT because rinse times for boron was reduced to few seconds, using the investigated rinse solutions.

Several calibration strategies and sample preparation methods were examined for the quantification of boron in whole blood for the use in BNCT. To specify the best strategy recovery rates of boron in boron-spiked, whole blood samples were determined to examine possible matrix effects of the whole blood matrix. Sample preparation using microwave assisted digestion, as well as the dilution of whole blood were investigated.

From sampling to analysis results, determination of boron for BNCT should take not longer than 20 minutes. Due to the time-consuming microwave assisted digestion, this sample preparation method was neglected. Standard addition and external calibration were verified for quantification of boron in whole blood. Furthermore, to decrease sample preparation, online standard addition/online external calibration methods were investigated.⁴ Online standard addition is the best option because suitable matrix effects can be completely eliminated, and the time between sampling and analysis results can be reduced to about 10-12 minutes per sample.

1 Motivation und Zielsetzung

In der Medizin steht Krebs für einige verwandte Krankheiten, welche durch unkontrolliertes Wachstum autonomer Zellen zu Ungunsten von gesundem Gewebe charakterisiert sind. Die Entstehung solcher autonomer Zellen wird ausgelöst durch Störungen des genetisch geregelten Gleichgewichts zwischen Mitose und Apoptose der jeweiligen Zellen. Eine Zellwucherung wird jedoch erst dann zu den Krebserkrankungen gezählt, wenn sie die Fähigkeit erlangt hat, Metastasen zu bilden und Zellen infiltrierend in benachbartes Gewebe wachsen zu lassen. Obwohl die genaue Entstehung einer Krebserkrankung bis heute noch nicht vollständig geklärt ist, ist die Kanzerogenese mit Sicherheit ein mehrstufiger Prozess, der auf einer Häufung von Mutationen der DNA einer Zelle beruht. Diese genetischen Veränderungen betreffen kritische biologische Schlüsselprozesse, welche die Kontrollmechanismen wie z.B. Wachstumsfaktoren, Inhibitoren oder Apoptosesignale verhindern. Dies führt dazu, dass der Zellzyklus nicht mehr vom Organismus kontrolliert werden kann.⁵ Potentiell begünstigend für solche Abweichungen vom Genom gesunder Zellen sind bestimmte genetische Prädispositionen ebenso wie einige Virusinfektionen, Ernährungs- und Lebensgewohnheiten.⁶ Aus biologischen und kulturellen Gründen sind Männer von diesen benachteiligten Faktoren stärker betroffen als Frauen, was zu einer häufigeren Krebserkrankung bei Männern im Vergleich zu Frauen führt. Die Wahrscheinlichkeit einer Krebserkrankung steigt ebenfalls mit dem Alter des Menschen an. Diese These kann dadurch belegt werden, dass 60% aller Neuerkrankungen bei Patienten auftreten, die das 65. Lebensjahr überschritten haben.⁷ Prognosen zufolge soll die Lebenserwartung in Europa in den kommenden Jahren steigen, wodurch sich auch die Häufigkeit von Krebs weiterhin erhöhen wird.⁸ Zurzeit erkranken bereits über 30% aller Europäer mindestens einmal im Laufe ihres Lebens an einem Malignom. Am häufigsten tritt hierbei Lungen- und Darmkrebs auf. Werden die Krebserkrankungen geschlechterspezifisch betrachtet, so tritt bei Männern Prostata- und bei Frauen Brustkrebs am häufigsten auf.⁹ Die chirurgische Entfernung des Karzinoms und die meist darauf folgende Chemotherapie, sowie die konventionelle Strahlentherapie, stellen derzeit die etablierten Behandlungsmethoden zur Behandlung von Tumoren dar. In der konventionellen Strahlentherapie wird die Wirkung von ionisierender Strahlung gezielt eingesetzt, um entartete Zellen aus dem Zellzyklus zu entfernen. Hierbei muss die Strahlendosis für die gesunden Zellen so gering wie möglich gehalten werden, damit das funktionale Gewebe nicht zerstört wird und dessen genetische Stabilität gewährleistet bleibt. Für eine erfolgreiche Therapie müssen jedoch alle Tumorzellen aus dem Zellzyklus entfernt werden. Als mögliche Gefahr ist die Nekrose zu nennen, die durch einen zeitgleichen

pathologischen Zelltod aller Tumorzellen auftritt. Sie stellt die größte Gefahr für den gesamten Organismus bei einer konventionellen Strahlentherapie dar.¹⁰

Eine erfolgreiche Strahlentherapie wird zum einen durch die selektive Aufnahme der verwendeten Radiopharmazeutika und zum anderen durch die meist niedrigere Strahlenresistenz von Tumorzellen begünstigt. Die niedrigere Strahlenresistenz von Tumorzellen ist in ihrer erhöhten mitotischen Aktivität begründet.¹⁰ Die Entartung gesunder Zellen und das Überleben entarteter Zellen sind zwei weitere große Gefahren der Strahlentherapie, welche durch den Einsatz von Strahlung mit niedriger Reichweite und hohem linearem Energietransfer (LET) minimiert werden können. Dies geschieht beispielweise durch die Anwendung von Alphastrahlung, die gezielt im Zytoplasma von Tumorzellen emittiert wird. Die obig genannten Therapieformen der Chemotherapie und Strahlentherapie werden in dieser vorliegenden Arbeit nicht weiter betrachtet, da die vorliegende Arbeit sich im Kontext der Bor-Neutronen-Einfangtherapie (BNCT) befindet. Diese stellt eine Alternative zur konventionellen Strahlentherapie dar, welche ihren Ursprung in der Neutronen-Einfangtherapie, kurz NCT hat (englisch: Neutron Capture Therapy). Sie wurde bereits kurz nach der Entdeckung des Neutrons durch *Chadwick* im Jahre 1932 und der Entdeckung des hohen Neutroneneinfangquerschnitts für thermische Neutronen durch das Nuklid ^{10}B postuliert.¹¹ Im Jahre 1934 hat *Goldhaber* aufgrund dieser Erkenntnis die NCT für die therapeutische Anwendung vorgeschlagen. *Gordon Locher* postulierte 1936 das Prinzip der BNCT für die Tumorbehandlung.

1959 bis 1961 wurden erste klinische Studien in den USA am Massachusetts General Hospital sowie am Brookhaven National Laboratory durchgeführt. Als Borpharmakon wurde Borax verwendet. Es stellte sich jedoch mit der Zeit heraus, dass Borphenylalanin (BPA) und Mercaptoundecahydrodecaborat (BSH) besser von den Tumorzellen aufgenommen werden, als das zuvor verwendete Borax. Weiterhin ist es BSH möglich die Blut-Hirn-Schranke zu überwinden, wodurch es Behandlungen von Hirntumoren mittels BNCT zugänglich macht.^{12,13,14}

Anfang der 1950er Jahre wurden erste klinische Studien zur BNCT durchgeführt. Bis heute wurden mehrere Hundert Patienten mittels BNCT vor allem in Finnland, Japan, China und Taiwan behandelt, jedoch mit unterschiedlichem Erfolg. Die ersten relevanten Therapieversuche wurden an Tumoren des zentralen Nervensystems (Glioblastoma multiforme) durchgeführt, da diese Tumorart nicht chirurgisch entfernt werden kann. In der nachfolgenden Abbildung 1 ist die zeitliche Entwicklung der BNCT nochmals graphisch verdeutlicht.

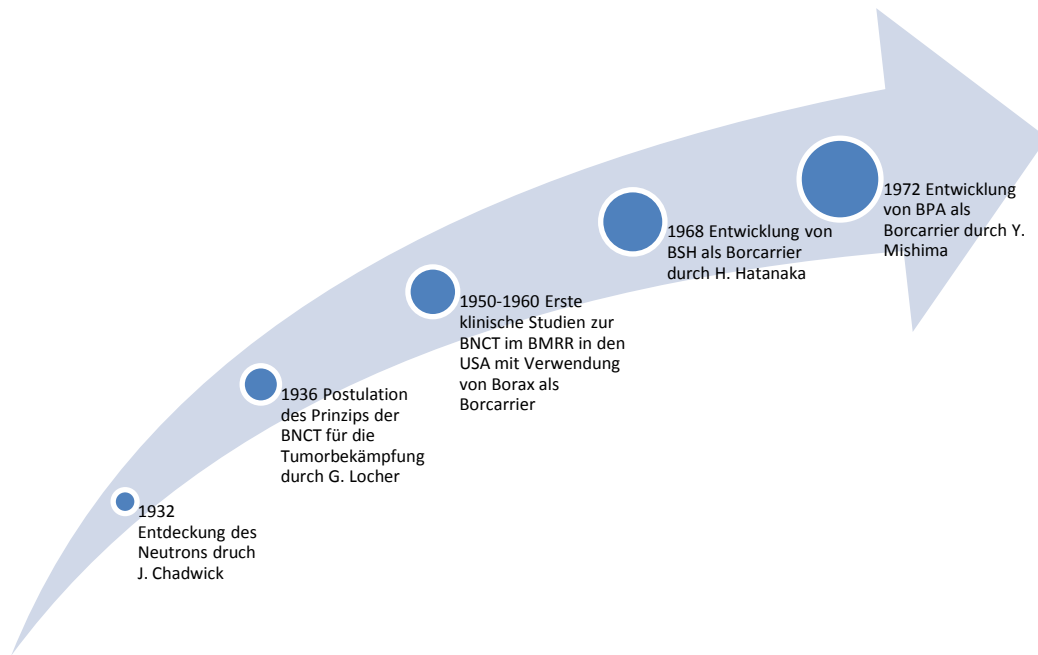


Abbildung 1: Zeitliche Entwicklung der BNCT

Im Laufe der Jahre haben sich die Behandlungsvielfalt und das Forschungsfeld der BNCT verbreitert. Seit 1950 wurden in den USA, Deutschland, Schweden, Finnland und Japan schon Patienten mit Tumorarten des zentralen Nervensystems (Glioblastoma multiforme, GBM), des HNO-Bereichs (Karzinom der Glandula submandibularis) und der Haut (malignes Melanom) mittels BNCT behandelt. In der nachfolgenden Tabelle sind klinische Studien seit 1996 zusammengefasst.

Tabelle 1: Auswahl aktueller klinischer Studien im Bereich der BNCT (N = Anzahl der Patienten)

Autor	Jahr	Reaktor	N	Tumorart	Klinische Wirkung und Nebenwirkungen
Laramore et al.¹⁵	1996	KURRI	14	GBM	Mediales Überleben 10,5 Monate
Joensuu et al.¹⁶	2003	Finnish Research Reaktor (TRIGA Mark II)	17	GBM	Gute Verträglichkeit, 1-Jahres Überleben: 61%
Capala et al.¹⁷	2003	Studsvik, Schweden	17	GBM	Alopezie
Daiz¹⁸	2003	BMRR	53	GBM	Überleben zwischen 11 und 14 Monaten
Nakagawa et al.¹⁹	2003	KURRI	105	GBM	Überleben von Strahlendosis abhängig
Fukuda et al.²⁰	2003	Tohoku University, Japan	22	Malignes Melanom	Hautschäden bei 16 Patienten; Ansprechrate: 73%
Kato et al.²¹	2004	KURRI	6	Karzinom des Squamosum Sarcoma, Karzinom der Glandula parotis	Geringe Alopezie und Mucositis, Verbesserung der Prognose in allen Fällen; Ansprechrate: 69%
Vos et al.²²	2005	Petten Irradiation Facility	24	GBM	Atrophie der weißen Substanz bei 12 Patienten

Autor	Jahr	Reaktor	N	Tumorart	Klinische Wirkung und Nebenwirkungen
Aihara et al.²³	2006	KURRI	1	Karzinom der Glandula submandibularis	Komplette Remission seit 1,5 Jahren (Stand 2008)
Kankaanranta et al.²⁴	2007	Finnish Research Reaktor (TRIGA Mark II)	12	Karzinom des Squamosum, Adenocystisches Karzinom, Urothelkarzinom	Locoregionale Kontrolle der Karzinome in 50% der Fälle; Ansprechrate: 83%
Menéndez et al.²⁵	2009	University of Buenos Aires	7	Malignes Melanom	Ansprechrate: 69%
Kawabata et al.²⁶	2009	KURRI	21	GBM (neu diagnostiziert)	Mediales Überleben: 20 Monate
Kimura et al.²⁷	2009	KURRI	6	Karzinom des Squamosum, Malignes Melanom, Adenokarzinom, Mukoepidermoidkarzinom	Geringe Alopezie und Mucositis, Verbesserung der Lebensqualität

Autor	Jahr	Reaktor	N	Tumorart	Klinische Wirkung und Nebenwirkungen
Sköld et al.²⁸	2010	Studsvik	29	GBM	Mediales Überleben: 9,9-17,6 Monate
Kageji et al.²⁹	2011	KURRI	23	GBM	Mediales Überleben: 19,5 Monate

Wie in der obenstehenden Tabelle zu erkennen ist, hat sich die Zahl der publizierten klinischen Studien im Kontext der BNCT mit der Zeit verringert. Seit dem großen Tsunami im März 2011 in Japan, bei dem mehrere Reaktoren in Fukushima havarierten, wurden weltweit viele Reaktoren und Forschungsreaktoren abgeschaltet und es wurde begonnen diese zurück zu bauen. Daher hat sich der Forschungsschwerpunkt im Bereich der BNCT dahingehend verändert, dass nun die BNCT mithilfe von Teilchenbeschleunigern durchgeführt werden soll.^{30,31} Hierzu ist jedoch noch Grundlagenforschung notwendig, da die Beschleuniger für die BNCT so konzipiert werden müssen, dass möglichst nur thermische bzw. für bestimmte Tumorarten epithermische Neutronen generiert werden. Als thermische Neutronen werden langsame Neutronen mit einer Energie zwischen 10^{-3} und $0,1$ eV bezeichnet. Wohingegen epithermische Neutronen eine Energie von $0,1 - 10^3$ eV aufweisen.³² Ein weiteres BNCT Forschungsfeld ist zurzeit die Synthese und Entwicklung neuer Borcarrier, welche selektiv nur von Tumorzellen aufgenommen werden. Die beiden aktuell für die BNCT zugelassenen Borpharmaka BPA und BSH werden nur aufgrund des erhöhten Metabolismus der Tumorzellen von diesen vermehrt aufgenommen. Daher beschäftigen sich verschiedene Gruppen mit der Entwicklung neuer Bormedikamente und deren Aufnahmemechanismus in Tumorzellen.^{33,34,35}

Im Rahmen der BNCT wird dem Tumorpatienten eine intravenöse Infusion mit einem Borcarrier, welcher nahezu zu 100% mit ^{10}B angereichert ist, verabreicht, wobei sich dieser aufgrund des erhöhten Metabolismus bevorzugt vom Tumorgewebe aufgenommen wird. Nach Beendigung der Infusion wird das Bor schnell wieder aus dem Tumor ausgewaschen. Für den bestmöglichen Behandlungserfolg sollte die Borkonzentration maximal sein. Daher muss die Borkonzentration im Tumor vor und während der intravenösen Infusion des Borcarriers bestimmt werden, um so den bestmöglichen Bestrahlungszeitpunkt sowie die für den Patienten resultierende Strahlendosis zu ermitteln.^{1,2} Die Borkonzentration im Tumor ist jedoch nur durch Biopsien zugänglich, welche den ohnehin schon durch den Tumor sehr geschwächten Patienten weiter schwächen würden. Daher wird von der Borkonzentration im Patientenblut auf die Konzentration im Tumor zurückgeschlossen. Aus diesem Grund werden dem Patienten vor und während der Infusion des Borpharmakons im Abstand von 15-20 Minuten Blutproben entnommen, welche möglichst schnell hinsichtlich der Borkonzentration untersucht werden müssen.² Daher soll in der vorliegenden Arbeit eine Analyseverfahren entwickelt werden, welche ein geringes Probenvolumen sowie eine kurze Analysezeit besitzt und in einer komplexen Probenmatrix wie Vollblut richtige sowie präzise Ergebnisse liefert.

Als mögliche Analysetechnik eignen sich hierfür die Elementmassenspektrometrie sowie die Atomemissionsspektroskopie mit dem induktiv gekoppelten Plasma (ICP-MS bzw. ICP-OES). Daher sollen in der vorliegenden Arbeit darauf basierend Analysemethoden entwickelt und diese hinsichtlich ihrer Anwendbarkeit für die Quantifizierung von Bor in Vollblut auf die durch die BNCT vorgegebenen Anforderungen verglichen werden. Für die Entwicklung der Methode zur Quantifizierung von Bor in Vollblut sind folgende Aspekte von besonderer Bedeutung:

- Möglichst geringes notwendiges Probenvolumen
- Minimale bzw. wenig aufwendige Probenvorbereitung
- Kurze Analysendauer
- Hohe Empfindlichkeit für Bor
- Geringe Matrixabhängigkeit

2 Theoretischer Teil

In diesem Teil der vorliegenden Arbeit soll die Bor-Neutronen-Einfangtherapie, welche die Anwendung für die in dieser Arbeit entwickelten und optimierten Methode zur Quantifizierung von Bor in Vollblut darstellt, näher erläutert werden. Weiterhin werden die Probenzuführungsarten für feste, flüssige sowie gasförmige Proben für die Elementmassenspektrometrie sowie die Atomemissionsspektroskopie mit dem induktiv gekoppelten Plasma (ICP-MS bzw. ICP-OES) sowie der Aufbau dieser Analysetechniken beschrieben. Das Kapitel wird mit einer Erläuterung der verwendeten statistischen Auswerteverfahren und analytischen Güteziffern abgeschlossen.

2.1 Bor-Neutronen-Einfangtherapie

Die Bor-Neutronen-Einfangtherapie, welche eine binäre Tumortherapieform ist, stellt eine alternative Form der Tumorbehandlung dar. Im ersten Behandlungsschritt wird dem Patienten ein Medikament intravenös verabreicht, welches mit ^{10}B nahezu 100% angereichert ist. Im zweiten Schritt, wird der Tumor mit thermischen Neutronen, die eine niedrige kinetische Energie aufweisen, bestrahlt.

Zur Zeit wird die BNCT hauptsächlich für die Behandlung hirneigener Tumore (Glioblastoma multiforme)^{26,36,37,38}, für maligne Melanome³⁹, Kopf- und Halstumore^{21,23}, sowie Lebermetastasen kolorektaler Karzinome^{40,41} eingesetzt. Die Grundlage zu dieser Behandlungsform lieferte G. Locher bereits kurz nach der Entdeckung des Neutrons im Jahre 1936. Sie basiert auf der Reaktion von ^{10}B mit thermischen Neutronen, wobei ein instabiler Compoundkern ^{11}B entsteht, welcher in ein Alphateilchen ($^4\text{He}^{2+}$) und ein $^7\text{Li}^+$ - Ion zerfällt. Die beschriebene Kernreaktion ist in Abbildung 2 nochmals aufgezeigt.

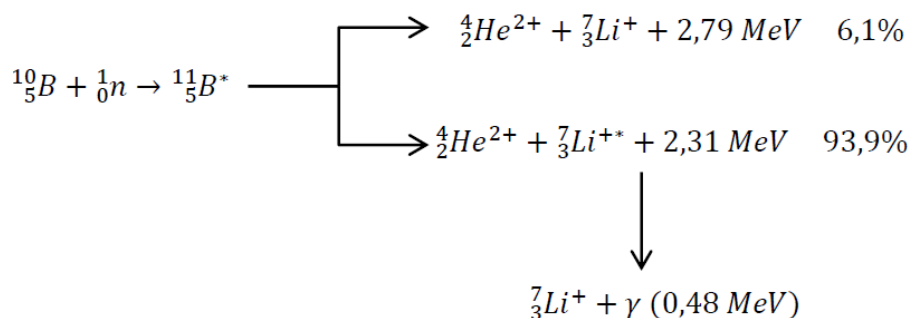


Abbildung 2: Neutroneneinfangsreaktion von ^{10}B

Locher postulierte, dass diese (n, α)-Reaktion zur Zerstörung von Tumoren verwendet werden kann, wenn diese direkt im Tumorgewebe statt fände. Lochers Annahme wird bestärkt durch den hohen Einfangsquerschnitt von ^{10}B ($\sigma_{\text{th}}=3838$ barn) für thermische Neutronen, der eine hohe Reaktionswahrscheinlichkeit bedingt, sowie die geringe Toxizität von Bor. Die Zerfallsprodukte von der in Abbildung 2 abgebildeten (n, α)-Reaktion besitzen nur eine sehr geringe Reichweite von ca. 5-10 μm in menschlichem Gewebe.⁴² Da der Durchmesser von menschlichen Zellen, abhängig von der Zellart, zwischen 10 und 14 μm beträgt⁴³, findet die Energiedeposition der Teilchen vollständig innerhalb der Zelle statt, welche das ^{10}B zuvor aufgenommen hat. Der lineare Energietransfer (kurz: LET) des Lithiumions und des Alphateilchens ist mit $\text{LET}_{\text{Li-7}}=175$ keV/ μm und $\text{LET}_{\alpha}=150$ keV/ μm sehr hoch.⁴⁴ Das bei der oben abgebildeten (n, α)-Reaktion von ^{10}B zu ca. 94% entstehende γ -Quant besitzt aufgrund seiner geringen Energie ebenfalls nur eine geringe Reichweite im menschlichen Gewebe und fügt dem umliegenden Gewebe somit keinen Schaden zu. Dieses γ -Quant kann für die Quantifizierung von Bor mittels Prompt Gamma Aktivierungsanalyse (PGAA) verwendet werden, auf welche in Kapitel 2.2.2 näher eingegangen wird.

Trifft ein ^7Li - Ion oder ein α -Teilchen auf einen Zellkern, so kann dies zu Doppelstrangbrüchen in der DNA führen, welche später zum Zelltod führen können.⁴⁵ Damit eine erfolgreiche Behandlung mittels BNCT möglich ist, sind ca. 10^9 Boratome (25 ppm) pro Zelle nötig, da von jedem dieser Reaktionsprodukte die DNA nur mit einer bestimmten Wahrscheinlichkeit geschädigt wird.⁴⁶ Um eine ausreichende Anreicherung des ^{10}B in den Tumorzellen zu erreichen, sind verschiedene Pharmaka entwickelt worden. Am häufigsten werden aktuell L-4-Dihydroxyborylphenylalanin (BPA) und Mercaptoundecahydrodecaborat (BSH) verwendet. Das früher eingesetzte Borax findet dagegen keine medizinische Verwendung mehr, da es sich nicht selektiv im Tumorgewebe anreichert, sowie die Fruchtbarkeit beeinträchtigen kann. Die Strukturformeln von BPA sowie von BSH sind in Abbildung 3 aufgezeigt. Da BSH die Blut-Hirn-Schranke durchdringen kann, wird es häufig bei der Behandlung von hirneigenen Tumoren verwendet. BPA wurde als Strukturverwandter von Tyrosin, welches eine essentielle Aminosäure darstellt, für die Behandlung von Melanomen entwickelt, da diese BPA als Precursor für Melanin aufnehmen. Die mangelnde Tumorselektivität von BPA und BSH wird durch den erhöhten Metabolismus der entarteten Zellen ausgeglichen.⁴⁷ Hierdurch wird eine erhöhte Anreicherung des Borpharmakons im Tumorgewebe erreicht.

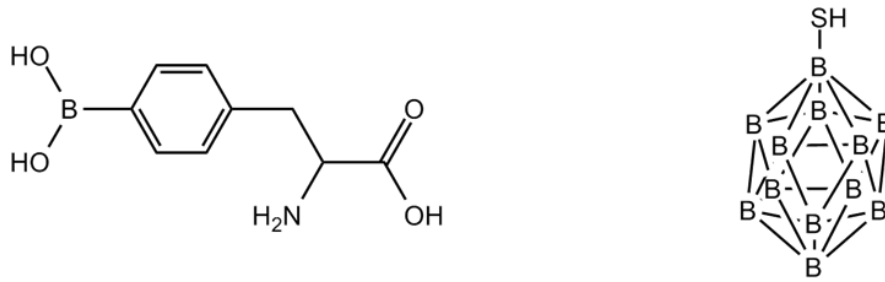


Abbildung 3: Strukturformeln von Borphenylalanin (links) und Mercaptoundecahydrodecaborat (rechts)

Das Hauptziel dieses ersten Behandlungsabschnittes ist es, einen möglichst großen Konzentrationsunterschied an ¹⁰B zwischen gesundem und entartetem Gewebe zu erreichen, sodass im optimalen Fall die Strahlendosis allen Tumorzellen einen Schaden zufügt, während sie gleichzeitig eine so geringe Strahlenbelastung für die gesunden Zellen auslöst, dass diese langfristig funktionsfähig bleiben.

Als größter Vorteil der BNCT gegenüber den herkömmlichen ionisierenden Strahlentherapien ist der hohe lineare Energietransfer zu nennen. Der Effekt auf biologisches Gewebe wird durch die relative biologische Wirksamkeit, kurz RBE (englisch: relative biological effectiveness) ausgedrückt. Der RBE-Faktor ist definiert als Quotient der Dosis einer Bezugsstrahlung und der Dosis der zu vergleichenden Strahlung. Da der hohe LET des Lithiumions und des Alphapartikels eine große Wirkung auf biologisches Material besitzt, ist die relative biologische Wirksamkeit im Falle der BNCT sehr hoch, wodurch ein großer therapeutischer Effekt erzielt werden kann.⁴⁴

Ein weiterer Vorteil der Tumorbehandlung mittels BNCT ist die geringe Anzahl wiederholter Bestrahlungen. Während bei der BNCT die Anzahl der Fraktionen mit eins bis drei sehr gering ist, werden bei einer konventionellen Strahlentherapie oft mehr als 50 Fraktionen benötigt.⁴⁸ Dies bringt für den ohnehin schon geschwächten Patienten eine Erhöhung der Lebensqualität, da er geringere Nebenwirkungen der Bestrahlungen erfährt und nur eine im Vergleich zur konventionellen Strahlentherapie kurze Zeit im Krankenhaus behandelt werden muss. Aus diesen Gründen ist die BNCT eine gute Alternative zur konventionellen Strahlentherapie, auch bei Tumorarten, bei denen die Lebenszeit des Tumorerkrankten nicht entscheidend verlängert werden kann, da dessen Lebensqualität gesteigert wird.⁴⁹

Da der bestmögliche Bestrahlungszeitpunkt und die resultierende Strahlendosis für den Patienten anhand der Borkonzentration im Tumor bestimmt werden, welche nicht frei zugänglich ist, wird die ^{10}B -Konzentration im Patientenblut hierfür verwendet. Es werden vor Beginn der Infusion des Borpharmakons und während dieser in Abständen von 15-20 Minuten Vollblutproben dem Patienten entnommen und der zeitliche Verlauf der ^{10}B -Konzentration aufgezeichnet. Nach Erreichen der angestrebten Borkonzentration von 30 mg/L Bor^2 im Vollblut darf nicht zu lange bis zum Beginn der Bestrahlung mit thermischen Neutronen gewartet werden, da sich die Bormedikamente BPA sowie BSH im Körper innerhalb weniger Minuten wieder abbauen bzw. über die Nieren ausgespült werden und nach ca. 2-3 Stunden nach Beendigung der Infusion die Ausgangskonzentration von Bor im Blut wieder erreicht wird.² Daher ist die Wahl einer geeigneten analytischen Methode zur Quantifizierung von Bor in Vollblut während der Infusion des Borcarriers entscheidend für den erfolgreichen Verlauf der BNCT-Behandlung.

Eine mögliche Technik zur Bestimmung der Borkonzentration ist die Prompt-Gamma-Neutronenaktivierungsanalyse (PGAA). Hier wird die Intensität eines γ -Quantes, das von einem angeregten ^7Li -Ion emittiert wird (siehe Abbildung 2), zur Quantifizierung der Borkonzentration verwendet. Diese γ -Strahlung entsteht in ca. 94% aller Kernreaktionen, bei denen das Li^+ -Ion zuerst in einen angeregten Zwischenzustand übergeht. Bei anschließender Relaxation in den ionischen Grundzustand wird diese Energie in Form von Strahlung frei. Für die PGAA werden allerdings Reaktoren mit speziellen Detektoren und Vorrichtungen benötigt, die nur selten zugänglich sind. Ebenfalls ist die Analysezeit dieser Technik abhängig von der jeweiligen Borkonzentration in der Probe. Dementsprechend ist die PGAA nur beschränkt in der BNCT einsetzbar.⁵⁰

Da die Borkonzentration im Blut für die BNCT relativ schnell bestimmt werden muss, kommen nur schnelle Routinemethoden, wie beispielsweise auf Basis der Elementmassenspektrometrie mit dem induktiv gekoppelten Plasma (ICP-MS) sowie der Atomemissionsspektroskopie mit dem induktiv gekoppelten Plasma (ICP-OES) in Frage. Die ICP-MS bietet gegenüber der ICP-OES einige Vorteile, wie zum Beispiel eine höhere Nachweisstärke, eine höhere Empfindlichkeit und die Möglichkeit zur isotopenspezifischen Detektion.^{51,52} *Probst et al.*⁵³ verglich 1997 die ICP-MS mit der ICP-OES hinsichtlich ihrer Anwendbarkeit in der BNCT. Die von ihm publizierten Nachweisgrenzen lagen bei der ICP-OES bei $30\text{ }\mu\text{g/L}$ und mit der ICP-MS bei $0,3\text{ }\mu\text{g/L}$ Bor in Vollblut. *Tamat et al.*⁵⁴ erreichte eine Nachweisgrenze von $10\text{ }\mu\text{g/L}$ Bor in Vollblut unter Verwendung der ICP-OES. Da die Borkonzentration im Vollblut während der Infusion des Borcarriers im mg/L -Bereich liegt, ist der Nachweisgrenze für Bor der Methode keine

entscheidende Rolle für die Anwendung in der BNCT zuzuschreiben. Vielmehr ist die Robustheit der Methode von entscheidendem Interesse, da die Quantifizierung möglichst schnell, d.h. ohne große Probenvorbereitung in Vollblut erfolgen muss und somit Matrixeffekte einen eher geringen Einfluss nehmen dürfen. *Probst et al.*⁵³ fand ebenfalls heraus, dass sich Matrixeffekte in der ICP-MS stärker auswirken, als bei Verwendung der ICP-OES. Bei biologischen Proben, wie Vollblut, sind störende Matrixinterferenzen aufgrund der hohen Elektrolytkonzentrationen zu erwarten.⁵⁵ Da die ICP-OES in den Anschaffungskosten günstiger ist, als die ICP-MS und ebenfalls einfacher in der Handhabung für das Klinikpersonal ist, sollte die Atomemissionsspektroskopie die Technik der Wahl für die Quantifizierung von Bor in Vollblut für die BNCT-Anwendung sein.

2.2 Quantifizierung von Bor in Vollblut

Seit 1926 ist bereits bestätigt, dass Bor ein essentielles Spurenelement im menschlichen Körper, sowie für Pflanzen darstellt.^{56,57} Obwohl sein biologisches und physiologisches Potential zurzeit noch nicht vollständig geklärt ist, spielt Bor ebenfalls eine wichtige Rolle in den Life Sciences. So konnte in Tiermodellen beispielsweise gezeigt werden, dass Bor im Zusammenhang mit oxidativem Stress einem fulminanten Leberversagen entgegenwirkt.⁵⁸

Aufgrund einer potentiellen Toxizität von Bor im Grundwasser wurden bestimmte Grenzwerte durch die Weltgesundheitsorganisation (WHO) und die Europäische Union (EU) festgelegt, weshalb die Quantifizierung von Bor in Wasser eine Routineaufgabe geworden ist.^{59,60} Durch die Verwendung von Bor als Neutronenfänger in den Nuklearwissenschaften ist die Spurenanalyse von Bor im Kühlwasser von Kernkraftwerken ebenfalls von großem Interesse, wobei dies in der vorliegenden Arbeit nicht weiter diskutiert werden soll.

2.2.1 Methoden für die Quantifizierung von Bor

Aufgrund der großen Bedeutung von Bor in den Biowissenschaften und der Onkologie sind Analysemethoden für Bor in biologischem Material, wie beispielsweise Gewebe, Blut und Zellen von großer Wichtigkeit. Die in der Elementspurenanalyse am häufigsten verwendeten Techniken sind die ICP-MS und ICP-OES. Mit diesen beiden Analysetechniken in Kombination mit einer pneumatischen Zerstäubung nach vorherigem Aufschluss kann jedoch nur die Durchschnittskonzentration an Bor in größeren Gewebeproben (mit einem Volumen von einigen cm^3) bestimmt werden, wohingegen durch Verwendung der Laserablation als Probenzuführungstechnik zelluläre und subzelluläre Borverteilungen ermittelt werden können.⁶¹

Da in biologischen Systemen die Borverteilung oft zeitabhängig ist, ist es vor allem in der BNCT wichtig, dass die gewählte analytische Methode eine kurze Analysendauer aufweist, um somit den zeitlichen Konzentrationsverlauf des Bors im Blut mit möglichst hoher zeitlicher Auflösung bestimmen zu können. Der Zeitpunkt der Probenentnahme ist ebenfalls bei der Anwendung der BNCT von großer Relevanz, denn der verwendete Borcarrier kann eventuell metabolisieren oder durch die Nieren aus dem Organismus ausgespült werden. Aus diesem Grund ist es für die BNCT sehr wichtig möglichst viele Blutproben in einem engen Zeitfenster während der Infusion des Borpharmakons zu entnehmen und zeitnah die Borkonzentration zu analysieren.¹

Vor der Analyse des Borgehaltes steht meist die Probenvorbereitung. Diese ist äußerst sorgfältig zu planen, da Bor in der Natur allgegenwärtig ist und so immer ein Kontaminationsrisiko besteht. Insgesamt enthält die kontinentale Erdkruste durchschnittlich 10 mg Bor/ kg Boden. Der Masseanteil an Bor in der Erdkruste beträgt 0,0016% - somit steht Bor an der 37. Stelle der Elementhäufigkeit.⁶² Desweiteren bestehen viele Laborgeräte aus Borosilikatglas, was ebenfalls eine Kontaminationsquelle darstellt. Zusätzlich gibt es viele flüchtige Borverbindungen, welche durch die Probenvorbereitung entstehen könnten und so zu Analytverlusten führen, wodurch das Analyseergebnis verfälscht wird.⁶³ Die Probenvorbereitung dient im Allgemeinen zur Separation vom Analyten (hier Bor) von der Probenmatrix oder zur Zersetzung der Probenmatrix. Letzteres ist der Fall, wenn beispielsweise eine Gewebeprobe, welche ursprünglich in fester Form vorliegt, durch verschiedene Aufschlusstechniken verflüssigt wird, falls die Analysenmethode nur für flüssige Proben zugänglich ist. Hierzu werden häufig offene Aufschlüsse im sauren pH-Bereich⁶⁴⁻⁶⁶ oder unter basischen Bedingungen⁶⁷, trockene Veraschung⁶⁴, nasse Veraschung², die Verbrennung in Sauerstoffatmosphäre⁶⁸, die Flüssigextraktion mit heißem Wasser⁶⁹ oder Salpetersäure⁷⁰ und mikrowellenassistierte Druckaufschlüsse^{65,71,72,73} verwendet. Während für Gewebeproben häufig die obengenannten Methoden zur Zersetzung der Probenmatrix verwendet werden, so können Blutproben neben dem am häufigsten verwendeten mikrowellenassistenten Druckaufschluss mit verschiedenen Mischungen aus Salpetersäure und Wasserstoffperoxid^{2,74,74-77} oder Phosphorsäure⁷⁸ auch durch Verdünnung mittels Elementmassenspektrometrie oder optischer Atomemissionsspektroskopie mit dem induktiv gekoppelten Plasma analysiert werden.^{79,80} Hier werden in der Literatur verschiedene Lösungen vorgeschlagen, um das Ausfällen von Proteinen oder das Gerinnen des Blutes zu verhindern. Durch dieses relativ einfache Verdünnen des Vollblutes, kann die Probenvorbereitungszeit sehr stark verkürzt werden, was für die Ermittlung der zeitlichen Verteilung von Bor im Kontext der BNCT äußerst wichtig ist. So berichtet *Heitland et.al* dass Bor in heparinstabilisiertem Vollblut mit einer Lösung aus 0,1% (v/v) Triton X-100 im basischen Milieu (0,5% (v/v) NH₄OH) mittels ICP-MS bei einer Verdünnung von 1:100 mit einer

Nachweisgrenze von 0,04-0,8 µg/L quantifizierbar ist.⁸⁰ *Lu et. al.* verdünnt das gerinnungsstabilisierte Vollblut mit einer Lösung bestehend aus 2% (w/v) Butanol, 0,05% (w/v) Ethylendiamintetraacetat (EDTA), 0,05% (w/v) Triton X-100 und 1% (w/v) Ammoniumhydroxidlösung in einem Verhältnis von 1:25 und kann so eine Nachweisgrenze von 0,30-0,57 µg/L für Bor mittels ICP-MS erzielen.⁷⁹ Da die Verdünnung des Vollblutes als alleiniger Vorbereitungsschritt die Zeit der Probenvorbereitung auf ein Minimum reduziert, soll dies in der vorliegenden Arbeit auf die Anwendung mit BPA und BSH mittels ICP-MS bzw. ICP-OES untersucht werden.

2.2.2 Radioanalytische Methoden

Falls für die Bestimmung des Borgehaltes der Probe eine Hochflussneutronenquelle wie beispielsweise ein Kernreaktor zugänglich ist, so können ebenfalls radioanalytische Techniken angewendet werden. Diese Techniken werden als zerstörungsfrei angesehen, da die Probe durch die Probenvorbereitung und die Analyse nicht zerstört werden, wozu die Prompt-Gamma-Aktivierungsanalyse (PGAA) zählt. Wie bereits in Abschnitt 2.1 erwähnt, emittiert das bei der Neutroneneinfangsreaktion des Bors zu ca. 94% gebildete Lithiumion ein Gammaphoton mit einer Energie von 478 keV. Die spektroskopische Erfassung des Gammaskpektrums stellt somit eine indirekte Methode dar, den integralen Borgehalt der Probe zu bestimmen.^{81,82} Da bei dieser Methode nur die Energie des Gammaphotons gemessen wird, ist diese Analysenmethode nicht ortsauflösend. Jedoch kann die Herkunft des Gammaphotons in einem gegebenen Volumen bestimmt werden, wenn ein zweidimensionales Detektorsystem verwendet wird und die räumliche Verteilung des Bors im Gewebe von Bedeutung ist.

Eine weitere radioanalytische Technik stellt die Neutroneneinfang Radiographie (QNCR) dar.^{83,84} Die QNCR ist die quantitative Anwendung der Neutronen-Einfang-Radiographie (NCR), die für die quantitative Analyse von Materialien verwendet wird, welche geladene Partikel beim Neutroneneinfang emittiert.^{85,86} Hier werden Festkörper-Kernspurendetektoren (SSNTD) verwendet, welche eine räumliche Auflösung der Borverteilung in der Probe ermöglicht.

Die Positronenemissionstomographie (PET) und die Einzelphotonenemissionscomputertomographie (SPECT) stellen zwei Analysetechniken dar, welche nicht-invasiv sind und die Borverteilung während des Stoffwechsels von Tieren oder Menschen aufzeigt. Beide Techniken können sowohl für die qualitative als auch für die quantitative Analyse verwendet werden. Vor allem PET wird in mehreren etablierten BNCT-Zentren als semi-quantitative Methode zur Behandlungs- und Dosisplanung verwendet, da mit dieser Technik der Koeffizient zwischen Tumor und tumorfreiem Gewebe bestimmt werden kann.⁸⁷ Hier finden vor allem ¹¹C oder ¹⁸F

markierte Tracer Verwendung. Es sollten jedoch erstere bevorzugt verwendet werden, da sie dieselben chemischen Eigenschaften aufweisen, wie das später in der BNCT verwendete Trägermolekül⁸⁸. Diese sind jedoch aufgrund ihrer kurzen Halbwertszeit nicht einfach zu handhaben, sodass häufig ¹⁸F-BPA für die PET oder SPECT Analyse verwendet wird.^{89,90,91}

2.3 Probenzuführungstechniken in der Atomspektrometrie

Die analytische Plasmaspektrometrie (ICP-MS und ICP-OES) ist sowohl für feste, flüssige sowie gasförmige Proben zugänglich. Es wurden daher verschiedene Probenzuführungssysteme entwickelt, welche auf die unterschiedlichen Aggregatzustände abgestimmt sind und nachfolgend vorgestellt werden.

Bei der Analyse von Feststoffen muss zunächst unterschieden werden, ob diese in Pulverform oder in kompakter Form vorliegen. Für die Analyse von Pulvern kann die sogenannte Suspensionstechnik oder auch Slurry-Technik verwendet werden.⁹² Bei dieser Technik wird die pulverförmige Probe in einer Flüssigkeit suspendiert und unter kontinuierlichem Rühren oder Einwirkung von Ultraschall pneumatisch zerstäubt.⁹³ Zur direkten Analyse kompakter fester Proben können Abtragungsmethoden eingesetzt werden, wie beispielsweise durch Einwirken eines elektrischen Funkens⁹⁴ oder fokussierter Laserstrahlung⁹⁵ an dem Probengut. Durch die Abtragung wird ein Aerosol erzeugt und mit Hilfe eines Gasstroms in das ICP überführt. Sowohl bei der Verwendung von elektrischen Funken als auch bei der Probenabtragung durch hochenergetische Laserstrahlung ist die Kalibrierung äußerst schwierig, da nur wenige feste zertifizierte Standardproben zur Verfügung stehen. Ebenso ist die Verwendung eines internen Standards zur Quantifizierung notwendig um den Einfluss der Schwankungen beim Probenabtrag zu reduzieren.^{96,97}

Eine weitere Möglichkeit des Probeneintrags fester sowie flüssiger Proben in das ICP stellt die elektrothermische Verdampfung (ETV - Electrothermal Vaporization) dar. Hier wird die Probe auf ein elektrisch leitendes Material (meist Graphit) gegeben und dieses anschließend erhitzt, sodass es zur Verdampfung des Probenmaterials kommt. Dieses Aerosol wird mittels eines Trägergasstroms dem ICP zugeführt. Durch Verwendung eines speziellen Temperaturprogramms kann die Probenmatrix vom Analyten selektiv abgetrennt werden, wodurch Matrixeffekte verhindert werden können.^{98,99,100}

Gasförmige Proben können direkt in das Plasma eingeleitet werden. Hier ist die Verwendung der Hydrid- oder Kaltdampftechnik zu nennen, welche aus der Atomabsorptionsspektrometrie (AAS) bekannt ist.¹⁰¹ Die Hydrid-Technik wird vor allem für Arsen, Zinn, Selen, Thallium, Cadmium und

Kupfer verwendet, da diese Elemente im sauren Milieu in Anwesenheit eines Reduktionsmittels wie beispielsweise Natriumtetrahydroborat oder Zinn(II)chlorid mit naszierendem Wasserstoff leicht flüchtige Hydride bilden, welche mittels Argon als Trägergas in das Plasma überführt werden können. Somit sind matrixbedingte Interferenzen deutlich reduziert.^{102,103,104}

Da die Hydrid-Technik nur für einige wenige Elemente zugänglich ist, welche flüchtige Hydride bilden und die Probenzuführung fester Proben mittels der Laserablation unter Umständen schwer zu kalibrieren ist, werden in der Plasmaspektrometrie oft die Proben in Lösung gebracht und als flüssige Proben analysiert. Daher wurden verschiedene Systeme entwickelt, um aus Flüssigkeiten Aerosole zu erzeugen, welche dem Plasma zugeführt werden können. Der gebräuchlichste Weg ist die Zerstäubung. Diese kann mit Hilfe von Gasen durchgeführt werden (pneumatische Zerstäubung) oder es kann ein unter hohem Druck gebildeter Flüssigkeitsstrom an einer Prallkugel zu einer Aerosolwolke aufgeweitet werden (hydraulische Hochdruckzerstäubung).¹⁰¹ Hierbei muss sich die Wahl des Zerstäubers an der jeweiligen Aufgabenstellung orientieren.

Da in der vorliegenden Arbeit ausschließlich mit flüssigen Proben gearbeitet wurde, sollen im nachfolgenden Abschnitt die gebräuchlichsten pneumatischen Zerstäubungssysteme näher erläutert werden.

2.3.1 Pneumatische Zerstäubung

Die pneumatische Zerstäubung ist die am weitesten verbreitete Art der Aerosolerzeugung flüssiger Proben. Dies lässt sich auf die robuste Bauweise und die einfache Handhabung zurückführen. Bei dieser Zerstäubung wird kinetische Energie vom Zerstäubergas auf die Flüssigkeit übertragen, wobei es an der Zerstäuberspitze aufgrund des Mitreißeffektes der Flüssigkeit zur Tropfenbildung kommt. Das verwendete Gas fungiert gleichzeitig als Trägergas und überführt das Aerosol in das Plasma. Dies führt dazu, dass der Transport und die Bildung des Aerosols nicht unabhängig voneinander betrachtet und optimiert werden können. Da das Zerstäubergas axial in das Plasma eingetragen wird, sollte der gewählte Gasfluss möglichst moderat (0,25 - 1,2 L/min, abhängig vom verwendeten Lösungsmittel) gehalten werden, damit das Plasma nicht in der Geometrie verändert wird.¹⁰⁵ Weiterhin sollte der Analyt ausreichend Zeit zur Interaktion mit den heißen Plasmagasen haben und der Zerstäuber sollte eine zeitlich konstante Aerosolbildung aufweisen, welche möglichst matrixunabhängig ist, um Signalschwankungen durch Änderung der Probenmatrix zu vermeiden. In der Plasmaspektrometrie werden meist Zerstäuber in Kombination mit Zerstäuberkammern, auch Sprühkammern genannt, verwendet. Diese Zerstäuberkammer ist in der Regel auf den

Zerstäuber optimiert und wodurch diese beiden Bauteile eine untrennbare Einheit darstellen. In der folgenden Tabelle werden die Anforderungen an das System, bestehend aus Zerstäuberkammer und Zerstäuber gegenübergestellt.

Tabelle 2: Anforderungen an Zerstäuber und Zerstäuberkammer zum Probeneintrag in der Atomspektrometrie^{105,106}

Zerstäuber	Zerstäuberkammer
<ul style="list-style-type: none"> • Geringer Zerstäubergasstrom • Hohe Aerosolkonzentration • Zeitlich konstante Aerosolbildung, welche matrixunabhängig ist • Zugänglich für hohe Salzlasten 	<ul style="list-style-type: none"> • Dämpfung der turbulenten Gasströmung • Dissipation der Energie des Zerstäubergases • Homogenität des Aerosols • Aufweitung des primären Aerosols in sekundäres und tertiäres Aerosol • Impaktion von größeren Aerosoltropfen • Trocknung des Aerosols

Die meisten pneumatischen Zerstäuber, erzeugen ein Aerosol, welches durch eine breite Tropfengrößenverteilung gekennzeichnet ist. Für plasmabasierte Ionenquellen ist die Wasserbeladung durch das Aerosol jedoch eine kritische Größe, da für die Verdampfung und Ionisation nur eine begrenzte Energiemenge zur Verfügung steht. Untersuchungen haben gezeigt, dass bei einem Probenfluss von 60 µL/min bis 70 µL/min nur Tropfen bis zu einem Sauter-Durchmesser von $D_{2,3} < 10 \mu\text{m}$ effektiv desolvatisiert werden.¹⁰⁰ Aus diesem Grund werden Sprühkammern eingesetzt, die das primäre Aerosol, welches vom Zerstäuber erzeugt wird, in das feinere sekundäre und tertiäre Aerosol aufweiten und so nur die kleinsten Aerosoltöpfchen in die Ionenquelle gelangen lassen. Des weiteren besitzen Zerstäuberkammern die Aufgabe turbulente Gasströmungen, welche durch die Zerstäubung herrühren, zu dämpfen. Zerstäuber und Zerstäuberkammer sollten ebenfalls eine gute chemische und mechanische Stabilität sowie ein geringes Totvolumen aufweisen.¹⁰⁶

Bei der pneumatischen Zerstäubung kommt es zur Bildung eines Aerosols, indem die von der Oberflächenspannung hervorgerufene Kraft kleiner ist, als die durch das Zerstäubergas übertragene Kraft.¹⁰⁷ Bei den in der Plasmaspektrometrie verwendeten Zerstäubern bestehen

die Zerstäuberdüsen meist aus Kapillaren mit relativ kleinen Innendurchmessern. Wird eine solche Kapillare von einem Gas, dem Zerstäubergas, angeströmt, so bildet sich an der Kapillare ein Überdruck aus. Hieraus resultiert an der nicht angeströmten Seite der Kapillare ein Unterdruck, durch den der Flüssigkeitsstrom angesaugt wird. Ist die Strömung der Flüssigkeit linear, so gilt das Hagen Poiseuille'sche Gesetz und der angesaugte Volumenstrom ist proportional zu dem Druckgradienten:

$$P_z = \frac{\pi r^4 \Delta p}{8 \eta L} \quad (1)$$

In der Gleichung (1) stellt P_z die Probenzufuhrrate, r der Radius der Flüssigkeitskapillare, Δp die Druckdifferenz, η die Viskosität des Lösungsmittels und L die Länge der Kapillare dar. Herrscht zwischen dem Flüssigkeitsstrom und dem Zerstäubergas ein Geschwindigkeitsunterschied von v_{rel} , so stellt sich im Staupunkt der angeströmten Kapillarseite der Druck p_s ein. Ist dieser größer als der Innendruck in der Flüssigkeit, so dringt das Zerstäubergas in die Flüssigkeit ein und der Flüssigkeitsfilm wird in viele kleine Aerosoltröpfchen zerrissen.¹⁰⁵

Im folgenden wird der Aufbau sowie die Funktionsweise der gängigsten pneumatischen Zerstäubern näher erläutert.

Der konzentrische Zerstäuber

Der konzentrische Zerstäuber, auch Meinhardzerstäuber genannt, ist der älteste und am häufigsten verwandte Zerstäuber in der Plasmaspektrometrie.^{106,108,109} Er wurde miniaturisiert, d.h. er ist für verschiedenste Probenflussraten, sowie für verschiedenste Anwendungen in unterschiedlichen Materialien (Borosilikatglas, Quarz, Polymere) kommerziell erhältlich. Bei dem konzentrischen Zerstäuber wird die Probenlösung durch eine Glaskapillare gepumpt, während der Trägergasstrom konzentrisch an der Spitze der Austrittskapillare vorbeiströmt und dabei die Flüssigkeit zerstäubt. Um ein möglichst feines Aerosol zu erzeugen, muss die Kontaktfläche zwischen Trägergas und Probe möglichst groß sein, um so eine bestmögliche Energieübertragung zu gewährleisten. Die Geometrie des konzentrischen Zerstäubers ist hierfür nicht optimal, da bei dem Austreten des Trägergases an der Zerstäuberspitze nicht das komplette Gas in Wechselwirkung mit der Probenflüssigkeit tritt. Jedoch ist dieser Zerstäuber einfach in der Handhabung und in verschiedenen Ausführungen (unterschiedliche Geometrien der Probenkapillare an der Zerstäuberspitze), je nach analytischer Fragestellung, erhältlich.¹⁰⁵ Ein großer Nachteil des konzentrischen Zerstäubers liegt darin, dass aufgrund des kleinen Kapillardurchmessers von meist nur 250 μm die Konzentration an festen Matrixbestandteilen in

der Probe kleiner 0,2% liegen sollte, da es sonst eventuell zum Verstopfen der probenführenden Kapillare oder zu Salzablagerungen an der Zerstäuberspitze kommen kann.¹⁰⁹ Daher sind viskose Proben, Proben mit hoher Matrix- bzw. Salzlast, wie sie in der BNCT vorliegen, oder Suspensionen nicht für die Anwendung eines konzentrischen Zerstäubers geeignet.^{110,111} Durch das Zurücksetzen der Flüssigkeitskapillare gegenüber der Zerstäuberspitze kann jedoch die Gefahr des Verstopfens minimiert werden.¹¹²

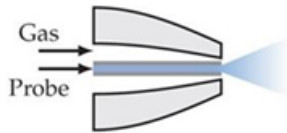


Abbildung 4 Aufbau eines konzentrischen Zerstäubers (nach Orlandini von Nissen¹¹³, modifiziert)

Die Probenflussrate bei den klassischen Typen des konzentrischen Zerstäubers liegen im Bereich von 0,5-4,0 mL/min, was deutlich oberhalb des Flusses liegt, welcher einem ICP zugeführt werden kann (20-40 μ L/min).¹⁰⁹ Um die Lösungsmittelfracht, welche bei diesen Probenflussraten sehr hoch ist, sowie die sehr breite Tröpfchengrößenverteilung des vom Zerstäuber erzeugten Aerosols zu reduzieren, wird der konzentrische Zerstäuber mit einer Sprühkammer kombiniert, wodurch eine geringere Transporteffizienz entsteht. Diese recht starke Filterung des Aerosols führt zu guten Rauschcharakteristika, wodurch im Allgemeinen niedrige Nachweisgrenzen erzielt werden können.¹⁰⁸

Aufgrund des Venturi-Effektes sind einige konzentrische Zerstäuber selbstansaugend und können daher ohne Verwendung einer Pumpe verwendet werden. Der Flüssigkeitsstrom kann jedoch auch mit Hilfe einer peristaltischen Schlauchpumpe erfolgen. Hierbei muss jedoch die Förderrate der Pumpe auf die Zerstäuberleistung angepasst werden. Zum einen darf nicht zu wenig Flüssigkeit zum Zerstäuber gepumpt werden, da in diesem Fall die Aerosolerzeugung aussetzt und zum anderen darf nicht zu viel Flüssigkeit zum Zerstäuber gefördert werden, da dies zur Tropfenbildung an der Zerstäuberspitze führt und dies wiederum die weitere Zerstäubung behindert. Der optimale Probenflussbereich eines konzentrischen Zerstäubers wird durch den Durchmesser der probenführenden Kapillare bestimmt. In Abbildung 4 ist ein schematischer Aufbau eines konzentrischen Zerstäubers dargestellt. In der vorliegenden Arbeit wurden ein "MicroMist", welcher aus Quarz gefertigt ist, sowie ein "Meinhard-Zerstäuber" aus Borosilikatglas verwendet. Letzterer besitzt einen vergrößerten Kapillarinne Durchmesser und ist daher für Proben mit erhöhter Salzlast, wie sie in der Anwendung der BNCT vorliegen, konzipiert.

Der Cross-Flow-Zerstäuber

Der Cross-Flow-Zerstäuber ist aufgrund seiner Robustheit und Resistenz gegenüber einem Verstopfen der Zerstäuberspitze im Vergleich zum konzentrischen Zerstäuber ein häufig eingesetzter Zerstäuber in der Atomspektrometrie. Er besteht aus zwei Kapillaren, die im rechten Winkel zueinander angeordnet sind (siehe Abbildung 5). Die Kapillaren sind oft einzeln austauschbar, wodurch der Zerstäuber durch eine geeignete Materialauswahl auch für HF-haltige Probenlösungen verwendet werden kann. Aufgrund der Tatsache, dass die Kapillaren meist einen größeren Innendurchmesser besitzen, als bei einem konzentrischen Zerstäuber, können Cross-Flow-Zerstäuber auch für stark salzhaltigen und viskosen Lösungen verwendet werden.^{106,108}

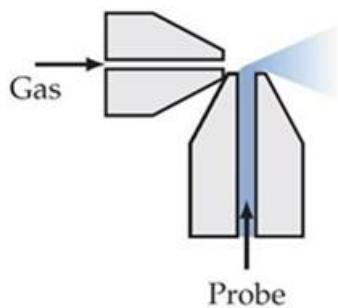


Abbildung 5: Aufbau eines Cross-Flow-Zerstäubers (nach Orlandini von Nissen¹¹³, modifiziert)

Als größter Nachteil dieser Zerstäuberart ist die Problematik der richtigen Justierung der beiden Kapillaren zueinander zu nennen. Die beiden Kapillaren müssen im richtigen Winkel zu einander angeordnet sein, um eine möglichst effiziente Zerstäubung zu gewährleisten, da das Aerosol durch einen Cross-Flow-Zerstäuber horizontal gebildet wird.^{114,115} Jankowski *et al.* modifizierte den Cross-Flow-Zerstäuber in seinem Aufbau in der Form, dass die Kapillare des Zerstäubergases nicht mehr aus einer einzelnen Düse besteht, sondern aus mehreren Tausenden. Dieser Zerstäuber ist analog zum kommerziell erhältlichen Cross-Flow-Zerstäuber zerlegbar, d.h. die Kapillaren und Düsen sind austauschbar. Der Vorteil dieser modifizierten Art ist die Tatsache, dass die genaue Justage der Kapillaren eine geringere Relevanz hat, verglichen mit den kommerziell erhältlichen Cross-Flow-Zerstäubern.¹¹⁶ Abschließend ist eine weitere Modifikation zu nennen, welche drei Kapillaren verwendet. Hier sind eine Kapillare für den Zerstäubergasstrom und zwei sich gegenüberstehende Kapillaren verbaut, jeweils für die Probe bzw. den Standard. Durch Verwendung dieses modifizierten Cross-Flow-Zerstäubers ist es möglich eine Online-Standardaddition oder eine online interne Standardisierung durchzuführen.¹¹⁷

Der V-Spalt-Zerstäuber

Beim V-Spalt-Zerstäuber wird die Probenlösung in eine V-förmige Rinne gefördert und der erzeugte Flüssigkeitsstrom wird durch einen senkrecht dazu austretenden Gasstrom zerstäubt. Da bei diesem Zerstäubertyp die Probenlösung nicht durch enge Kapillaren gefördert wird, können mit diesem Zerstäuber auch Proben mit hohem Salzgehalt und ungelösten Partikeln, wie es bei der Slurry-Technik der Fall ist, zerstäubt werden. In der praktischen Anwendung des V-Spalt-Zerstäubers ergeben sich jedoch häufig Probleme beim Probentransport aufgrund von Segregationseffekten bei der Zerstäubung von Suspensionen.^{105,111}

Der Parallelpfad-Zerstäuber

Ein seit 1995 bekannter Zerstäuber ist der Parallelpfad-Zerstäuber. Bei diesem Zerstäuber sind Proben- und Zerstäubergaskapillare parallel zu einander angeordnet. Die Position der beiden parallelen Kapillaren ist so konzipiert, dass es an der Öffnung des Zerstäubers zu Wechselwirkungen zwischen dem schnellen, tangential fließenden Zerstäubergas und der flüssigen Probe kommt. Aufgrund der hohen Strömungsgeschwindigkeit des Zerstäubergases herrscht in der Nähe der Gasaustrittsöffnung ein Unterdruck. Da die Flüssigkeitskapillare an der Austrittsöffnung etwas verbreitert ist und sich die Probenflüssigkeit aufgrund ihrer Oberflächenspannung nach außen wölbt, wird sie durch den Unterdruck des Gasstromes angesaugt und dabei in feine Tropfen zerrissen. Aufgrund dieses Zerstäubungsmechanismus ist der Parallelpfad-Zerstäuber nicht selbstansaugend und muss mit einer Pumpe betrieben werden.^{105,111} In der nachfolgenden Abbildung 6 ist ein schematischer Aufbau eines Parallelpfad-Zerstäubers dargestellt.

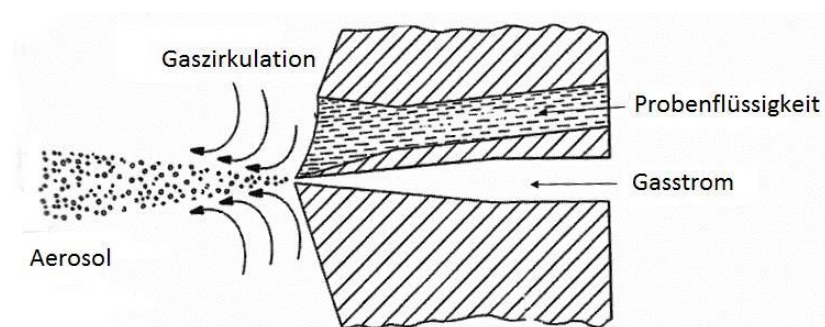


Abbildung 6: Schematischer Aufbau eines Parallelpfad-Zerstäubers; Modifiziert nach¹⁰⁵

Parallelpfad-Zerstäuber sind kommerziell für verschiedene Probenflussratenbereiche aus PTFE oder PEEK verfügbar. Daher ist die Verwendung eines Parallelpfad-Zerstäubers für die Quantifizierung von Bor in Vollblut möglich, da Memory-Effekte (vgl. Kapitel 3.3), welche bei Bor sehr ausgeprägt sind, reduziert werden können. Ebenfalls ist bei dieser Art von Zerstäuber keine Verengung der Probenkapillare erforderlich, wodurch das Verstopfungsrisiko des Zerstäubers minimiert werden kann.¹⁰⁵ In dieser Arbeit wurden drei verschiedene Parallelpfad-Zerstäuber hinsichtlich ihrer Anwendung für die Quantifizierung von Bor in Vollblut untersucht. Da die Probenmenge bei der Anwendung der BNCT nur minimal ist, wurde der "EnyaMist", welcher eine Innendurchmesser von 60 µm der probenführenden Kapillare aufweist und für Probenflussraten zwischen 0,2-50 µL/min konzipiert ist, verwendet. Dieser Zerstäuber sollte aufgrund der sehr dünnen Probenkapillare immer mit einem Spritzenvorsatzfilter betrieben werden, um ein Verstopfen zu verhindern. Weiterhin wurde der seit 2013 kommerziell erhältliche Parallelpfad-Zerstäuber "PFA 250" verwendet, welcher einen Kapillarinnendurchmesser von 250 µm besitzt und für einen Probenflussratenbereich von 50-1000 µL/min gedacht ist. Durch die breitere flüssigkeitsführende Kapillare ist das Risiko einer Verstopfung des Zerstäubers reduziert und dieser Zerstäuber ist ohne vorgeschalteten Spritzenvorsatzfilter verwendbar. Der dritte verwendete Parallelpfad-Zerstäuber in der vorliegenden Arbeit ist der "MiraMist", welcher aus PEEK gefertigt ist. Dieser besitzt eine flüssigkeitsführende Kapillare von 500 µm Durchmesser und ist für einen Probenfluss zwischen 200-2500 µL/min konzipiert (vgl. Tabelle 6 in Kapitel 3.1.1).

Der Flow-Focusing-/ Flow-Blurring-Zerstäuber

Ein seit 1998 bekanntes Zerstäubungsprinzip ist das Flow-Focussing- bzw. Flow-Blurring-Prinzip, welches erstmals von *Ganán-Calvo* beschrieben wurde.¹¹⁸ Dieser Zerstäuber ist in der Lage eine Flüssigkeitssäule von geringem Querschnitt zu erzeugen, obwohl Kapillaren mit großem Innendurchmesser verwendet werden. Dies ermöglicht die Erzeugung feiner Aerosole bei geringen Probenflussraten. Der äußere Gasfluss wird bei dieser Zerstäubungsart durch eine Druckkammer zur Kapillaröffnung geführt. Diese ist deutlich hinter der Öffnung der Druckkammer angeordnet, durch welche die Flüssigkeitssäule nun mit Hilfe des Gases hindurch gepresst wird. Dabei wird diese unter Beschleunigung gestreckt und letztlich verjüngt. In Abbildung 7 ist der Aufbau eines Flow-Focusing- bzw. Flow-Blurring-Zerstäubers schematisch aufgezeigt.

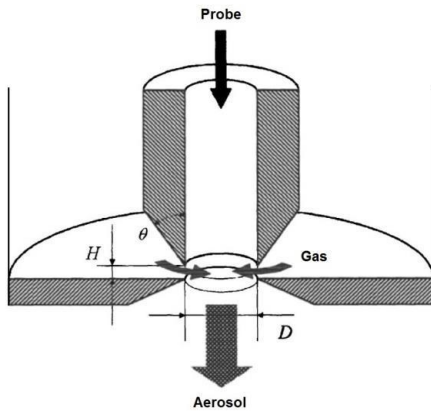


Abbildung 7: Schematischer Aufbau eines Flow-Focusing-/ Flow-Blurring-Zerstäubers; Modifiziert nach¹¹⁸

Eine Besonderheit dieses Zerstäubungsprinzips liegt darin, dass durch Variation bestimmter Parameter zwischen dem Flow-Focusing- und dem Flow-Blurring-Prinzip gewählt werden kann. Maßgeblich verantwortlich sind hier sowohl das Verhältnis von Öffnungsdurchmesser zum Versatz der Kapillare, als auch die Weber-Zahl. Diese ist proportional zur Geschwindigkeit und der Dichte des Gasflusses und reziprok zur Probenflussrate.¹¹⁸

Die beiden genannten Zerstäubungsprinzipien unterscheiden sich hinsichtlich ihrer generierten Aerosole. Während das Flow-Focusing-Prinzip meist zu verhältnismäßig großen aber gleichförmigen Aerosoltropfen führt, generiert das meist turbulente Flow-Blurring-Prinzip feinere Tropfen.¹¹⁹ Weder die Zerstäuber nach dem Flow-Focusing- noch die nach dem Flow-Blurring-Prinzip sind selbstansaugend, sodass die Verwendung einer Schlauchpumpe unumgänglich ist.¹¹⁸ In dieser Arbeit wurde der "OneNeb" Zerstäuber, welcher vollständig aus PTFE gefertigt ist, für die Anwendung der Quantifizierung von Bor in Blut untersucht. Dieser Zerstäuber beruht auf dem Flow-Blurring-Prinzip und wurde stets mit einer Spritzenpumpe betrieben.

Erzeugung diskreter Tropfen

Eine weitere Art ein feines Aerosol für das ICP zu erzeugen, ist die Erzeugung diskreter Tropfen. Einzelne Tropfen können gezielt erzeugt werden und ebenfalls zum Probeneintrag in der Plasmaspektrometrie verwendet werden. Die Herausforderung liegt hierbei zum einen in der Erzeugung von reproduzierbaren Tropfen mit einer möglichst schmalen Größenverteilung und zum anderen darin, den Tropfenerzeugungsprozess so zu steuern, dass ein gleichmäßiges Aerosol generiert wird. Ein möglicher Ansatz stellt hier das thermische Tintenstrahldruckverfahren dar.

In den Untersuchungen von *Fittschen et al.*¹²⁰ wurden handelsübliche thermische Tintenstrahldrucker aus verschiedenen Serien des Herstellers Hewlett-Packard zur Aerosolerzeugung eingesetzt. Das zentrale Bauteil dieser Drucker ist die Druckerpatrone, die den Druckkopf und das Flüssigkeitsreservoir beinhaltet. *Orlandini von Nissen et al.*¹²¹ konzentrierte sich in seinen Untersuchungen auf den Umbau der HP 45 Patrone, sodass diese als Probenzuführungssystem in der Plasmaspektrometrie verwendet werden kann. Als größten Vorteil der Zerstäubung unter Verwendung des thermischen Druckverfahrens ist die Unabhängigkeit der Zerstäubung von dem Gasstrom zu nennen. Der Gasstrom dient hierbei lediglich dem Transport des Aerosols in das ICP.

Da in der vorliegenden Arbeit nur pneumatische Zerstäuber zur Aerosolerzeugung Verwendung fanden, soll hier nicht näher auf die Erzeugung diskreter Tropfen eingegangen werden.

Zerstäuberammern

Wie aus Tabelle 2 hervorgeht, sollten die Aerosoltropfen sowohl bezüglich ihrer Größe, ihrer Bewegungsrichtung, als auch ihrer Geschwindigkeit, möglichst einheitlich sein. Darüber hinaus sollten die Aerosoltropfen möglichst klein und eine geringe Geschwindigkeit aufweisen.^{108,122} Die Aerosole pneumatischer Zerstäuber erfüllen jedoch meist diese Anforderungen nicht. Daher müssen Zerstäuberammern, auch Sprühkammern genannt, eingesetzt werden, um die Aerosoleigenschaften entsprechend den Anforderungen des ICPs anzupassen.¹⁰⁸ Diese agieren als eine Art aerodynamischer Filter, d.h. sie scheiden Tropfen nach ihrem aerodynamischen Durchmesser an der Sprühkammerwand ab. Das tertiäre Aerosol, welches die Sprühkammer in Richtung des ICPs verlässt, weist eine deutlich schmalere Tropfengrößenverteilung und kleinere mittlere Tropfendurchmesser auf, als das primäre Aerosol, welches vom Zerstäuber erzeugt wird.^{105,106,108} In Abbildung 8 sind alle ablaufenden Prozesse innerhalb einer Sprühkammer, während der Überführung des primären Aerosols in das tertiäre Aerosol zu erkennen.

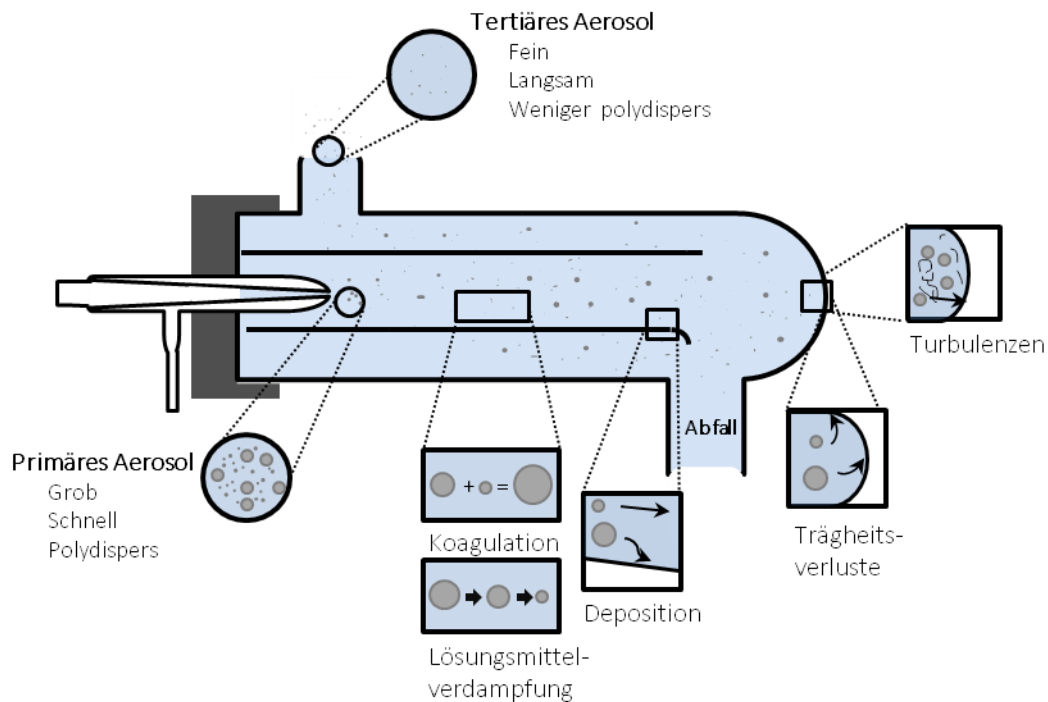


Abbildung 8: Prozesse in einer Sprühkammer zur Erzeugung geeigneter Aerosole in der Atomspektrometrie; Reproduziert nach¹⁰⁵

In der Sprühkammer wird das primäre Aerosol auf verschiedene Arten, welche im Folgenden näher erläutert werden, modifiziert, wodurch das sekundäre Aerosol entsteht. Der wichtigste Prozess ist hierbei die Abtrennung großer, träger Tropfen durch den Zusammenprall mit der Sprühkammerwand. Da sich im Laufe der Zerstäubung ein Flüssigkeitsfilm an den Sprühkammerwänden bildet, erzeugt der Zusammenprall des Aerosols mit dem Flüssigkeitsfilm

wiederum neue, kleinere Aerosoltröpfchen.¹⁰⁵ Ebenfalls kann es zur sogenannten Koagulation kommen. Hierbei vereinigen sich Tropfen aufgrund von Kollisionen mit anderen Tropfen. Hierdurch sinkt nicht nur die Tropfendichte, sondern die deutlich größeren und somit trägeren Tropfen können dem Gastrom nicht mehr folgen und treffen auf die Sprühkammerwand.

Eine temperierte Sprühkammer bietet die Möglichkeit die Effizienz der Aerosolbildung und die Transporteffizienz in das ICP zu erhöhen, da mit steigender Sprühkammertemperatur das Lösungsmittel verdampft und so die Tropfengröße des Aerosols reduziert wird.^{123,124} Hierbei darf jedoch die Temperatur der Sprühkammer nicht zu hoch gewählt werden, da sonst die Gefahr der Plasmaüberladung durch das Lösungsmittel besteht. Um dies zu verhindern, kann ein Kondensator an die temperierbare Sprühkammer angeschlossen werden, in welchem der Lösungsmitteldampf kondensiert und so nicht in das ICP weitergeleitet wird. Ein Vorteil dieses Aufbaus ist die Tatsache, dass durch die Trocknung des Aerosols dem Plasma mehr Energie für die Verdampfung, Atomisierung und Anregung bzw. Ionisation des Analyten zur Verfügung steht.^{123,125} Bei Verwendung leichtflüchtiger organischer Lösemittel ist es hingegen ratsam die Sprühkammertemperatur zu reduzieren und so die Menge des organischen Lösungsmittels, die sich in der Gasphase befindet zu reduzieren. Eine weitere Möglichkeit wäre die Verwendung eines Kondensators zwischen beheizter Sprühkammer und Ionenquelle. Organische Lösemittel reduzieren nicht nur die Anregungseigenschaften des ICPs, sondern können ebenfalls zu Kohlenstoffablagerungen an den Cones (vgl. Abbildung 13) vor allem im ICP-MS führen.^{126–128}

Eine weitere Möglichkeit die Transporteffizienz des Aerosols zu erhöhen, liegt darin, die Sprühkammeroberfläche durch Behandlung mit Säuren, wie beispielsweise Fluorwasserstoff, anzurauen, da durch die aufgeraute Oberfläche Tropfen als Flüssigkeitsfilm leichter abfließen können. In geringen Mengen der Probe zugesetzte Netzmittel, wie beispielsweise Triton X-100, setzen die Oberflächenspannung der Flüssigkeit herab und verhindern so die Tropfenbildung an der Oberfläche der Zerstäuberkammer, wodurch der Memory-Effekt, welcher bei Bor sehr ausgeprägt ist (vgl. Kapitel 3.3), reduziert wird.

Die Überführung des primären in das tertiäre Aerosol ist hauptsächlich verantwortlich für die geringe Transporteffizienz konventioneller pneumatischer Zerstäuber. Da die großen Aerosoltropfen, welche an der Sprühkammerwand abgeschieden werden, einen überproportionalen Volumenanteil des primären Aerosols tragen, werden ca. 98 Vol-% der Probe auf diesem Wege dem Abfluss zugeführt und nur ca. 2 Vol-% der Probe in die Ionenquelle weitergeleitet.^{100,105,106} Basierend auf der pneumatischen Probenzuführung lassen sich mehrere Nachteile nennen, wie beispielsweise der geringe Wirkungsgrad. Weiterhin können Proben und deren Bestandteile durch die permanente Benetzung der Sprühkammeroberfläche

vergleichsweise lange in der Sprühkammer verbleiben, wodurch sehr lange Auswaschzeiten zwischen den Proben resultieren und so die Analysezeit pro Probe erheblich erhöht wird. Der sogenannte Memory-Effekt (vgl. Kapitel 3.3), welcher bei Bor sehr ausgeprägt ist, kann zu Fehlern in der Analyse führen, wenn nicht ausreichend lange das Probenzuführungssystem gereinigt wurde.^{105,106} Bor adsorbiert bevorzugt an den OH-Gruppen des Glases des Probenzuführungssystems, was zu einer Verlängerung der Ausspülzeiten zwischen den Proben führt.^{70,129} Daher sollte für die Quantifizierung von Bor ein Probenzuführungssystem, welches aus Kunststoffen wie beispielsweise PTFE oder PEEK besteht, verwendet werden.

Am häufigsten werden Doppelpass-Sprühkammern nach Scott sowie Zyklonsprühkammern in der Plasmaspektrometrie verwendet, welche in Abbildung 9 schematisch dargestellt sind.^{105,106} Die Doppelpass-Sprühkammer nach Scott besteht im Wesentlichen aus zwei konzentrischen Rohren, von denen das äußere etwas länger ist, als das innere Rohr. Das äußere Rohr mit einem Durchmesser von typischerweise 3 cm wird an einem Ende durch eine konkave Wölbung begrenzt, am anderen Ende wird die Endkappe, die den Zerstäuber aufnimmt, aufgesteckt. Das im Zerstäuber erzeugte Aerosol wird im inneren Rohr gebündelt und mit dem Trägergas an das konkave Ende herangetragen. Dort wird der Gasstrom um 180° umgelenkt, wobei die größeren Aerosoltröpfchen aufgrund ihrer Trägheit abgeschieden werden.¹⁰⁵ Das Innenvolumen einer Doppelpass-Sprühkammer nach Scott beträgt typischerweise ca. 100 cm³. Diese Art von Sprühkammern sind sowohl aus Glas als auch aus Polymeren kommerziell erhältlich.^{105,106}

Die Zyklonsprühkammer nutzt zum Abtrennen der großen Aerosoltröpfchen die Zentrifugalkraft. Der Zerstäuber wird in die Zyklonsprühkammer so eingeführt, dass die zerstäubte Probe mitsamt dem Trägergas tangential in die Kammer einströmt. Die zu großen Aerosoltröpfchen können aufgrund ihrer Trägheit dem Gasstrom nicht folgen, prallen gegen die Sprühkammerwand und laufen nach unten in den Ablauf. Einige Zyklonsprühkammern besitzen ein Tauchrohr, welches das tertiäre Aerosol nochmals hinsichtlich dessen aerodynamischen Durchmessers filtert und nur noch feinste Aerosoltröpfchen in die Ionenquelle überführt. Auf Grund der Tatsache, dass Zyklonsprühkammern ein Innenvolumen von ca. 40 cm³ aufweisen, sind die Ausspülzeiten zwischen den Proben verkürzt im Vergleich zur Doppelpass Sprühkammer nach Scott. Zyklonsprühkammern sind sowohl aus Glas als auch aus Polymeren wie beispielsweise PFA, PTFE und PEEK kommerziell erhältlich. Um die Ausspülzeit weiter zu reduzieren sind ebenfalls miniaturisierte Zyklonsprühkammern mit einem Innenvolumen von ca. 20 cm³ seit einiger Zeit ebenfalls verfügbar.¹⁰⁶

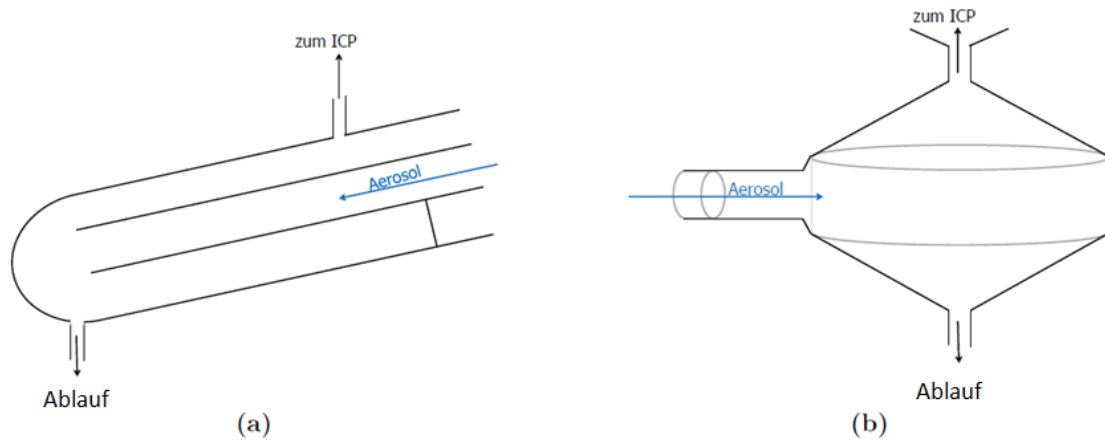


Abbildung 9: Sprühkammer für den Einsatz in der ICP-MS/OES, (a) Doppelpass-Sprühkammer nach Scott, (b) Zyklonsprühkammer (modifiziert nach ¹⁰⁶)

Für Zerstäuber, welche eine sehr geringe Probenflussrate, sowie eine enge Tröpfchenverteilung des Aerosols aufweisen, kann eine Transportkammer verwendet werden. Als Beispiel sei hier der Parallelpfad-Zerstäuber "EnyaMist" genannt, der für Probenflussraten $\leq 10 \mu\text{L}/\text{min}$ als "total consumption" gilt, d.h., dass das erzeugte Aerosol eine enge Tröpfchenverteilung aufweist, sodass dieses vollständig in die Ionenquelle überführt werden kann. Transportkammern sind ihrem Namen nach nur noch für den Transport des Aerosols in die Ionenquelle verantwortlich und müssen nicht als aerodynamischer Filter agieren. Transportkammern werden oft für die Kopplung von CE (Kapillarelektrophorese) und ICP-MS verwendet und haben ein Innenvolumen von ca. $5\text{-}8 \text{ cm}^3$.^{105,106}

In der vorliegenden Arbeit wurden vor allem Zyklonsprühkammern aus unterschiedlichen Materialien wie beispielsweise Glas oder PTFE verwendet, da diese Sprühkammern in der Regel ein kleineres Innenvolumen aufweisen als Doppelpass-Sprühkammern nach Scott. Daher wird die Ausspülzeit zwischen den einzelnen Proben, welche aufgrund des sehr ausgeprägten Memory-Effektes von Bor schon lange sind, verkürzt.

2.4 Das Induktiv gekoppelte Plasma als Anregungs- und Ionisationsquelle

Der Plasmazustand wird oft als vierter Aggregatzustand bezeichnet, da er durch weitere Energiezufuhr aus dem gasförmigen Aggregatzustand erzeugt werden kann. Ein Plasma wird als ein elektrisch leitendes, gasförmiges System aus Atomen, Molekülen, negativ und positiv geladenen Ionen sowie Elektronen definiert. Die elektrisch geladenen Teilchen stehen in Wechselwirkung zu den Atomen und Molekülen, jedoch nicht in einem thermodynamischen Gleichgewicht. Nach außen ist ein Plasma elektrisch neutral. Die dünne Materie im Weltraum zwischen Himmelskörpern, etwa der Sonnenwind oder die interstellare Materie sowie die Sonne befinden sich zum Teil im Plasmazustand. Auf der Erde ist der Plasmazustand in Blitzen sowie den Nordlichtern zu finden.¹⁰⁰

2.4.1 Eigenschaften von Plasmen

Die in einem Plasma vorliegenden Atome können sich im elektronischen Grundzustand oder in einem angeregten Zustand befinden. Übergänge zwischen diesen Zuständen sind durch Energieübertragung möglich, wobei hier sowohl Stoßprozesse, als auch Absorption und Emission von Strahlung berücksichtigt werden müssen. Befinden sich alle in einem Plasma ablaufenden Prozesse der Energieaufnahme und Energieabgabe im Gleichgewicht, so befindet sich das Plasma im thermischen Gleichgewicht. Unter dieser Voraussetzung lassen sich die Vorgänge in einem Plasma durch Verteilungsfunktionen für die einzelnen Spezies angeben, auf welche im Folgenden näher eingegangen werden soll.¹³⁰

Die Geschwindigkeit der sich im Plasma bewegend Teilchen in Abhängigkeit von ihrer jeweiligen kinetischen Gastemperatur und Masse lässt sich durch die Maxwell'sche Geschwindigkeitsverteilung beschreiben, welche in Gleichung (2) wiedergegeben ist.

$$f(x) = 4\pi v^2 \left(\frac{m}{2\pi k T_{kin}} \right)^{3/2} \exp\left(-\frac{mv^2}{2k T_{kin}} \right) \quad (2)$$

$f(x)$ ist hier die Geschwindigkeitsverteilungsfunktion, u die Geschwindigkeit der Teilchen, m deren Masse, k die Boltzmann-Konstante und T_{kin} die kinetische Gastemperatur. Zur Beschreibung der Besetzungsdichte von Grund- und angeregtem Zustand von Atomen in Abhängigkeit der herrschenden Anregungstemperatur kann die Boltzmann-Verteilung (Gleichung (3)) herangezogen werden.

$$\frac{n_p}{n_q} = \frac{g_p}{g_q} \exp\left(-\frac{E_p - E_q}{kT_{\text{exc}}}\right) \quad (3)$$

Hier stehen $n_{p,q}$ für die Besetzungsdichten, $g_{p,q}$ für die statistischen Gewichte, $E_{p,q}$ für die Anregungsenergie der beiden betrachteten Zustände p und q , k für die Boltzmann-Konstante und T_{exc} für die Anregungstemperatur.

Eine weitere mathematische Beziehung, die Saha-Eggert-Gleichung, beschreibt den Zusammenhang zwischen Ionisationsgleichgewicht, Ionisierungstemperatur und Ionisierungsenergie und ist wie folgend gegeben.

$$S = \frac{n_p^+ n_e}{n_q} = \frac{2g_p^+}{g_q} \left(\frac{2\pi m_e k T_i}{h^2}\right)^{3/2} \exp\left(-\frac{\Delta E_{p,q}}{k T_i}\right) \quad (4)$$

Hier ist S die Saha-Eggert-Konstante, $n_{p,q}$ die Teilchendichte, $g_{p,q}$ die statistischen Gewichte der beiden Ionisierungszustände, n_e die Elektronendichte, m_e die Masse des Elektrons, h die Planck-Konstante, $\Delta E_{p,q}$ die Energiedifferenz der beiden Zustände p bzw. q und T_i die Ionisierungstemperatur. Die Saha-Eggert-Gleichung gilt allerdings nur für Plasmen, die sich im sogenannten lokalen thermischen Gleichgewicht befinden, d.h. für Plasmen, bei denen alle Prozesse mit ihrem Umkehrprozess im Gleichgewicht stehen. Hiervon ausgenommen sind Vorgänge, bei denen Strahlenemission oder -absorption auftritt.

Wichtig ist jedoch auch die Dissoziation der Moleküle in ihre atomaren Bestandteile, da erst bei freien Atomen Atomemission oder -absorption auftreten kann. Wird die Dissoziation eines Moleküls AB in seine Atome A und B betrachtet, so kann folgender Ausdruck hergeleitet werden:

$$\frac{n_A n_B}{n_{AB}} = \frac{{}^A Q(T) {}^B Q(T)}{{}^{AB} Q(T)} \left(\frac{m_A m_B}{m_A + m_B}\right)^{3/2} \left(\frac{2\pi k T_D}{h^2}\right)^{3/2} \exp\left(-\frac{E_{AB}}{k T_D}\right) \quad (5)$$

Hier ist $n_{A,B,AB}$ die Teilchendichte der Spezies A , B bzw. AB , ${}^{A,B}Q(T)$ sind die internen Verteilungsfunktionen, $m_{A,B}$ die Massen der beiden Spezies A und B , k die Boltzmann-Konstante, T_D die Dissoziationstemperatur, h die Planck-Konstante und E_{AB} die Dissoziationsenergie des Moleküls AB .

Ein vollständiges thermisches Gleichgewicht in einem Plasma liegt dann vor, wenn alle oben genannten Temperaturen aller Spezies identisch sind, was bedeutet:

$$T = T_{kin} = T_{exc} = T_i = T_D \quad (6)$$

Bei analytischen Plasmen kann nicht von einem vollständigen thermischen Gleichgewicht ausgegangen werden, da sie starke Temperaturgradienten aufweisen und in der Regel optisch dünn sind. Dies bedeutet, dass es zu einem Energieverlust durch Strahlungsemission kommt, da die Absorption von Strahlung nicht im Gleichgewicht mit der Emission steht. Ebenfalls weisen Plasmen aufgrund ihrer räumlichen Ausdehnung einen Temperaturgradienten $d(T)/d(x)$ auf. Weiterhin kommt es infolge äußerlich angelegter Hochfrequenzfelder zu einer Beschleunigung von Elektronen. Das Plasma gelangt hierdurch in einen anisotropen und nicht isothermen Zustand, der durch das kontinuierlich von außen wirkende Hochfrequenzfeld aufrechterhalten wird. Unter der Annahme, dass der Energieverlust durch Strahlung vernachlässigbar ist und die Temperaturen innerhalb eines begrenzten Volumenelements übereinstimmen, kann in einem infinitesimalen Bereich eines Plasmas von einem lokalen thermischen Gleichgewicht (LTG) gesprochen werden.^{131,132,133}

In der modernen analytischen Chemie hat sich neben dem Gleichstrom-Plasma (DCP) und dem mikrowelleninduzierten Plasma (MIP) vor allem das induktiv gekoppelte Plasma (ICP) durchgesetzt. Das ICP wird im folgenden Abschnitt als Anregungs- bzw. Ionisationsquelle näher beschrieben.

2.4.2 Das induktive gekoppelte Plasma

In der modernen analytischen Chemie ist das induktiv gekoppelte Plasma (ICP) das bedeutendste, da es als Ionisationsquelle für die Elementmassenspektrometrie (ICP-MS) sowie als leistungsfähige Anregungsquelle für die optische Atomemissionsspektroskopie (ICP-OES) verwendet wird.^{100,108,134} Aufgrund der hohen Temperaturen eines elektrischen Plasmas wird dieses nahezu ausschließlich zur qualitativen und quantitativen Bestimmung von Elementen und Isotopen verwendet. Zur Erzeugung eines induktiv gekoppelten Plasmas wird eine Plasmafackel, eine Hochfrequenzinduktionsspule sowie ein Hochfrequenzgenerator benötigt. Die Plasmafackel basiert bis heute auf den 1965 von *Greenfield* und *Fassel* entwickelten Geometrie (siehe Abbildung 10).^{100,108} Drei konzentrisch angeordnete Quarzröhrchen werden von einem Gas durchströmt, wobei die innerste Röhre dazu verwendet wird, den Analyten in das Plasma einzubringen^{135,136} und der Gasfluss in der mittleren Röhre (ca. 1 L/min), welches Hilfsgas oder

Auxiliarygas genannt wird, dient hauptsächlich zur Aufrechterhaltung der Plasmaentladung.^{135,137}

Der äußere Gasstrom (ca. 16 L/min) dient hauptsächlich zur Wärmeabführung.

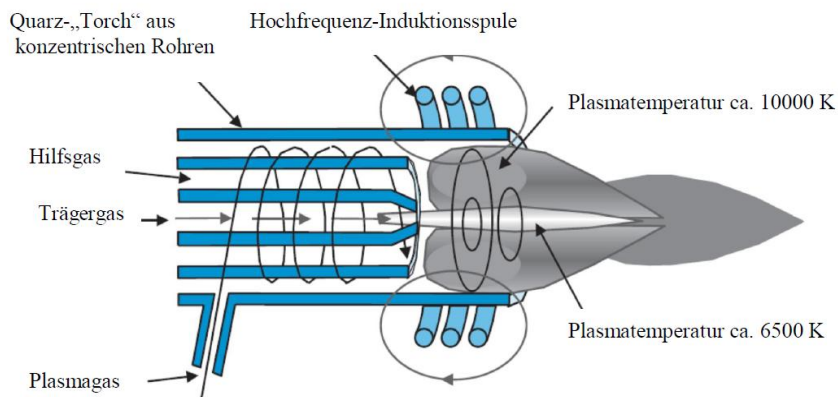


Abbildung 10: Schematische Darstellung eines induktiv gekoppelten Plasmas¹²⁵

Der obere Teil der Plasmafackel ist von einer Induktionsspule umgeben, welche ein oszillierendes Magnetfeld im Innern der Fackel induziert. Zur Zündung des Plasmas wird ein Teslafunken erzeugt, der zu einer Anfangsionisation des Plasmagases führt. Das so ionisierte Gas enthält folglich freie Ladungsträger (Elektronen und Kationen) in beträchtlicher Zahl. Diese Ladungsträger werden durch das fluktuierende Magnetfeld der Induktionsspule beschleunigt und auf eine geschlossene Kreisbahn gezwungen. Durch die immer wiederkehrende Beschleunigung nehmen die Ladungsträger somit immer mehr Energie auf. Bei einer ausreichenden Anzahl an Ladungsträgern wird ein stabiler Plasmazustand erreicht, d.h. der Verlust eines Elektrons durch Rekombination mit einem Kation wird durch das bei einer Kollision eines anderen Elektrons mit einem Atom erzeugte Elektron und Kation ausgeglichen. Die Ladungsträger weisen einen elektrischen Widerstand gegenüber dem durch die Spule induzierten elektrischen Hochfrequenzfeld auf. Dieser elektrische Widerstand führt zu einer Aufheizung des ionisierten Gases. Durch Rekombination eines Elektrons mit einem Kation wird Strahlung emittiert, was zu einem Energieverlust führt, welcher ausgeglichen werden muss. Über eine Verstärkung der Amplitude des angelegten äußeren Feldes wird Energie in das Plasma eingekoppelt, die sowohl den Energieverlust kompensiert, als auch über die Zunahme der kinetischen Energie der Teilchen zu einem Temperaturanstieg führt.¹⁰⁰

Die Hochfrequenzleistung wird von einem Generator bereit gestellt. Für das induktiv gekoppelte Plasma wurden die beiden Frequenzen von 27,12 MHz und 40,68 MHz freigegeben.¹⁰⁸ Eine höhere Frequenz der Wechselspannung führt dazu, dass der Strom eher an der Oberfläche eines elektrischen Leiters fließt. Dies bedeutet dass in den zentralen Probenkanal weniger Energie eingekoppelt wird, als in die äußere Schichten des Plasmas. Dieser Effekt wird "skin effect"

genannt.¹⁰⁰ Um eine möglichst verlustfreie Energieübertragung vom Generator in das Plasma zu erzielen, ist eine exakte Übereinstimmung der Impedanz des Generators und des Plasmas nötig. Eine Herausforderung für den Generator stellt insbesondere der Zündvorgang des Plasmas dar, da sich die Impedanz innerhalb kurzer Zeit drastisch ändert. Je nach Generatorfunktionsweise wird diese Angleichung auf unterschiedliche Art und Weise erreicht. Der sogenannte "freilaufende Generator" passt seine Schwingfrequenz innerhalb bestimmter Grenzen dem Plasmaschwingkreis an und bedarf daher weniger elektronischer Komponenten zur Steuerung. Ein Generator, dessen Primärschwingkreis durch die Oszillation eines Piezokristalls erzeugt wird, kann seine Schwingfrequenz nicht dem Plasmaschwingkreis anpassen. Daher muss die Impedanzabstimmung über ein Impedanznetzwerk erfolgen, das zwischen Generator und Plasma geschaltet wird. Beide genannten Generatorarten benötigen neben dem eigentlichen Schwingkreis noch eine Verstärkerstufe, um die gewünschte Leistung von 1 kW bis 2 kW zu erzielen.^{100,108}

Für das induktiv gekoppelte Plasma sind nahezu alle unter Normalbedingungen gasförmigen, natürlich vorkommenden Elemente geeignet. Um in der analytischen Chemie als effiziente Anregungs- und Ionisationsquelle verwendbar zu sein, muss im Innern des Plasmas eine möglichst hohe Energie (Temperatur) herrschen, damit der Verdampfungs-, Anregungs- und Ionisationsprozess des Analyten effizient ablaufen kann. Je höher das Ionisationspotential des eingesetzten Plasmagases ist, desto höher ist die Temperatur des Plasmas.¹⁰⁰ Demnach wäre Helium mit einer Ionisationsenergie von 24,59 eV als Plasmagas besonders geeignet. Da jedoch aus konstruktiven Gründen ein und das selbe Gas zur Plasmaerzeugung (Hilfsgas, ca. 1 L/min) und zur Kühlung der Plasmafackel (ca. 16 L/min) verwendet wird, ist die Verwendung von Helium als Plasmagas wirtschaftlich nicht sinnvoll. Das Edelgas Argon besitzt eine Ionisierungsenergie von 15,76 eV und ist deutlich preiswerter als Helium.¹³⁸ Daher wird in nahezu allen kommerziell erhältlichen Geräten Argon sowohl als Plasma- als auch als Kühl- und Zerstäubergas verwendet. Für spezielle Anwendungen, für die die Ionisierungsenergie von 15,76 eV nicht ausreichend ist, kann dem Plasmagas zur Erhöhung der Temperatur eine gewisse Menge an Helium zugesetzt und so das Ionisationspotential erhöht werden.^{108,134}

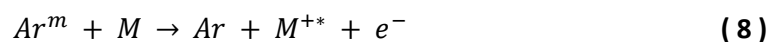
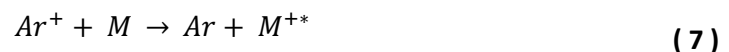
Da im Innern eines ICPs sehr hohe Temperaturen herrschen, ist das ICP prädestiniert als Ionenquelle für die anorganische Massenspektrometrie, denn die Ionisationsenergie von Argon (15,76 eV) liegt sowohl über der Bindungsenergie der allermeisten Verbindungen als auch über dem Ionisationspotential der meisten, durch Dissoziation der Moleküle freigesetzten Elemente. Dies ist in der sehr hohen Dichte an Teilchen, die zudem größtenteils eine Ladung tragen begründet. Durch die makroskopische Ausdehnung des Plasmas kommt es folglich sehr häufig zu

einem Zusammenstoß und einem Energieübertrag. Somit ist eine effiziente Atomisierung von chemischen Verbindungen und die Ionisation der daraus entstehenden Elemente gewährleistet. Ein Großteil der Elemente des Periodensystems, etwa bis zu einer gedachten Linie von Kohlenstoff bis Iod, wird in einem ICP mit einer Ionisationseffizienz von über 70% ionisiert. Auch die Übergangsmetalle und Halogene weisen noch eine Ionisationseffizienz von bis zu 30% auf.^{100,108}

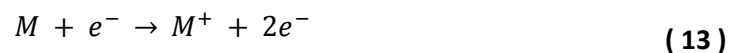
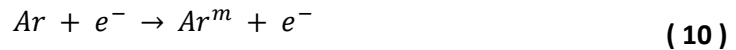
Das ICP kann aufgrund seiner hohen Energie ebenfalls als Anregungsquelle für die Atomemissionsspektroskopie verwendet werden, da für die Anregung der Atome weniger Energie zugeführt werden muss, als für die Ionisation.¹³⁴

2.4.3 Anregungsprozesse im ICP

Die wichtigsten Prozesse, die zu einer Anregung (ICP-OES) oder Ionisation (ICP-MS) der Atome führen, lassen sich in drei Klassen einteilen. Es handelt sich erstens um Stöße zwischen Atomen, Ionen und angeregten bzw. nicht angeregten Neutralteilchen (Gleichung (7)) und um Stöße mit freien Elektronen, welche im ICP existieren. Ein wichtiger Anregungsprozess stellt die sogenannte Penning-Ionisation dar, welche durch Stöße mit metastabilen Argonatomen (Ar^m) erfolgt. Als metastabiler Zustand wird ein Zustand definiert, der eine höhere Energie bzw. freie Enthalpie aufweist, als der stabile Zustand bei gleicher Temperatur und Druck. Ein metastabiles Atom / Ion kann jedoch nicht durch spontane Emission von Photonen in den Grundzustand zurückkehren, weil dieser Übergang den Auswahlregeln widerspricht.¹³⁹ Die Penning-Ionisation trägt nicht nur zur Anregung, sondern auch zu der Produktion freier Elektronen bei. Verschiedene Autoren führen die hohe Elektronendichte im ICP, sowie die überproportionale Anregung von Ionenlinien in der ICP-OES teilweise auf die Penning-Ionisation (Gleichung (8)) zurück.¹⁴⁰



Die zweite Prozessklasse beinhaltet Stöße mit Elektronen. Durch Stöße mit schnellen Elektronen und Übertragung derer Energie, kann es zur Anregung und Ionisation der Atome kommen (vgl. Gleichung (9)-(13)). Ebenfalls kann ein Charge-Transfer (Gleichung (14)) zwischen Atomen und Argonionen stattfinden.



Die dritte und letzte Prozessklasse beinhaltet die Emission bzw. Absorption von Strahlung:



Hier sind Ar Argonatome, M Analytatom, M^{+} Analytation, Ar^{+} Argonionen, M^{+*} angeregte Analytation, e^{-} Elektronen und Ar^{m} metastabile Argonatome.

Im nachfolgenden Abschnitt werden die ablaufenden Prozesse im Plasma mit dem Analyten erläutert.

2.4.4 Ionisationsprozesse in einem analytischen Plasma

Wird eine flüssige Probe mit Hilfe eines Zerstäubers, welcher bereits in Abschnitt 2.3.1 näher erläutert wurde, in ein feines Aerosol überführt und in das Plasma eingetragen, so werden die Aerosoltröpfchen zunächst getrocknet und anschließend verdampft (siehe Abbildung 11). Anschließend erfolgt die Atomisierung, Anregung und Ionisierung.⁵⁵

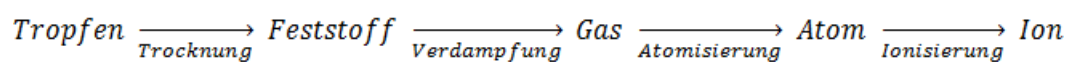


Abbildung 11 Übersicht der im Plasma ablaufenden Prozesse nach Eintrag eines feuchten Aerosols

Da die Verweildauer des Aerosols bzw. der Probe im Plasma jedoch aufgrund der schnellen Gasflüsse sehr kurz ist, muss das System gewissenhaft optimiert werden, um die einzelnen Schritte hinsichtlich ihrer Effizienz zu maximieren und so das höchst mögliche Signal zu Untergrund Verhältnis zu erzielen. Hierbei spielt ebenfalls der Anteil an organischem Lösungsmittel, die Probenmatrix sowie die Analytspezies eine entscheidende Rolle.

2.5 Massenspektrometrie mit dem induktiv gekoppelten Plasma

Eine der leistungsstärksten Techniken der instrumentellen Analytik ist die Massenspektrometrie. Zum einen wird sie aufgrund der hohen Empfindlichkeit und des hohen Nachweisvermögens für nahezu alle Stoffklassen verwendet, zum anderen wegen der hohen Selektivität, die mit dieser Technik erzielt werden kann. Grundvoraussetzung für massenspektrometrische Analysen ist die Überführung des Analyten in Ionen, da sie entsprechend ihres Masse/Ladungsverhältnisses (m/z) aufgetrennt werden und so eine Masseninformation des Analyten erzeugt wird.

Ein Massenspektrometer besteht aus fünf Kernkomponenten: Die Probe wird durch ein Probeneinlasssystem in das Massenspektrometer eingebracht, anschließend in der Ionenquelle, welche bei der Massenspektrometrie mit dem induktiv gekoppelten Plasma das ICP darstellt (vgl. Kapitel 2.4), in die Gasphase überführt (sofern die Probe nicht von vorneherein gasförmig vorliegt) und ionisiert. Die entstandenen Ionen werden im Massenanalysator nach ihrem m/z Verhältnis aufgetrennt. Im Detektor wird anschließend aus den dort auftreffenden Ionen ein elektronisches Signal erzeugt, welches schlussendlich in einem Datensystem verarbeitet wird. Damit die mittlere freie Weglänge der Ionen groß genug ist, sowie Zusammenstöße mit Gasmolekülen auf ein Minimum reduziert werden, ist bei allen Arten von Massenanalysatoren ein Vakuum bzw. Hochvakuum erforderlich. Ohne dieses Vakuum würden die gebildeten Ionen mit Gasatomen und -molekülen aus der Atmosphäre kollidieren, was zum Verlust ihrer Ladung und in einer Änderung ihrer Flugbahn resultieren würde. Diese Ionen bzw. Atome würden anschließend vom Detektor nicht mehr detektiert werden und so zu einer Reduzierung der Empfindlichkeit führen. In der nachfolgenden Abbildung 12 ist ein schematischer Aufbau eines Massenspektrometers mit induktiv gekoppeltem Plasma aufgezeigt.

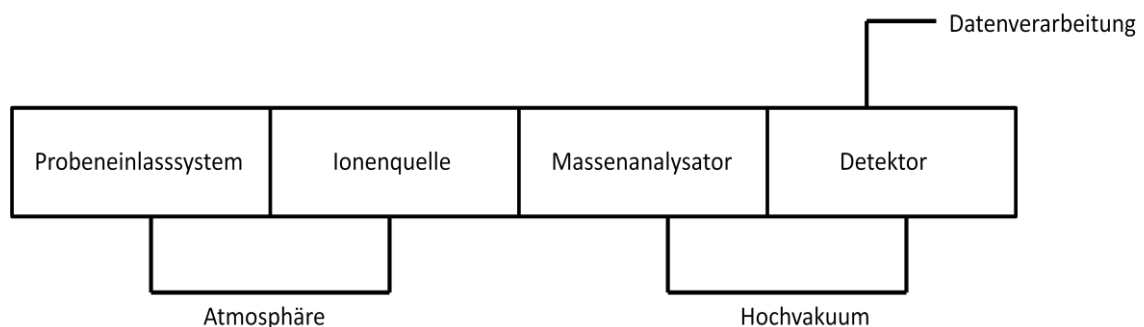


Abbildung 12: Schematischer Aufbau eines Massenspektrometers mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-MS)

In der Elementmassenspektrometrie ist das induktiv gekoppelte Plasma eine der am häufigsten eingesetzten Ionenquellen. Diese Ionenquelle wird sehr häufig mit einem Quadrupol als Massenanalysator verwendet, wobei für bestimmte Fragestellungen auch hochauflösende Sektorfeldmassenspektrometer oder Flugzeitmassenspektrometer (TOF) (vgl. Kapitel 2.5.2) verwendet werden.

2.5.1 Interface und Ionoptik

Die Aufgabe des 1980 von *Houk* entwickelten und seitdem in diesem Prinzip nur gering veränderten Interfaces ist es, einen geeigneten Übergang zwischen Atmosphärendruck und Temperaturen des Plasmas (bis zu 10.000 K) sowie den Bedingungen des Massenanalysators, welcher bei Raumtemperatur und Hochvakuum arbeitet, zu schaffen. Eine weitere Aufgabe des Interfaces ist eine repräsentative Beprobung der Ionenquelle zu ermöglichen und die dort gebildeten Ionen in den Massenanalysator zu überführen. Das Interface stellt somit einen kritischen Punkt im gesamten Aufbau des ICP-MS dar.

Da der Übergang von Atmosphärendruck ins Hochvakuum des Massenanalysators nicht mit einem einzigen Schritt erreicht werden kann, wird ein differentielles Vakuumsystem benötigt. Die gebildete Ionenwolke trifft zunächst auf einen wassergekühlten Cone (vgl. Sampler Cone in Abbildung 13) dessen Bohrung ca. ein Millimeter beträgt. Der Bereich hinter dem Sampler Cone wird mittels einer Drehschieber- oder Ölpumpe bis auf wenige mbar ($< 2 \times 10^{-3}$ bar) evakuiert. Durch diesen plötzlichen Druckabfall kommt es zu einer Überschallexpansion des Ionenstrahls, welcher anschließend auf einen weiteren wassergekühlten Konus (Skimmer Cone) trifft. Dieser zweite Konus hat eine Bohrung von ca. 0,6 mm und befindet sich unmittelbar am Ende der sich ausdehnenden Schockwelle (Mach-Kegel). Hierdurch kann das Auffächern des Ionenstrahls und die damit verbundenen Streuverluste minimiert werden. In der Praxis beträgt der Abstand zwischen Sampler- und Skimmer Cone weniger als 10 mm und die Flugzeit der Ionen nur wenige μ s. Aus diesem Grund können im Interface kaum Reaktionen der Gasphasenspezies untereinander auftreten, sodass sich die Zusammensetzung der Probe hier nur geringfügig verändern kann. Der Skimmer Cone stellt den Übergang zwischen Vorvakuum (2×10^{-7} bar) und Hochvakuum dar, welches meist durch eine oder mehrere Turbopumpen aufrechterhalten wird.¹⁰⁸ Sampler- und Skimmer Cone sind meist aus hochreinem Nickel gefertigt. Für bestimmte Anwendungen können diese jedoch auch aus Platin gefertigt sein.¹⁰⁸ Das oben beschriebene Interface, welches in dem in dieser Arbeit verwendeten Gerätes (HP 4500 der Firma Hewlett Packard ,jetzt Agilent Technologies) verwendet wird, ist in Abbildung 13 zur Veranschaulichung skizziert.

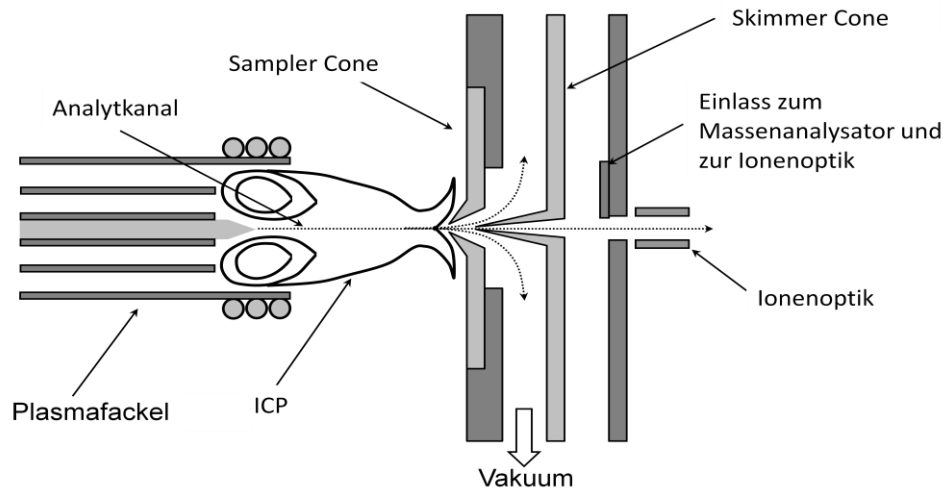


Abbildung 13: Schematische Darstellung des Interfacebereiches

Häufig wird hinter dem Skimmer Cone ein zweiter ähnlicher Konus verbaut, welcher ein elektrisches Potential besitzt und so beschleunigend bzw. fokussierend auf positive Ionen wirkt und gleichzeitig verbleibende Elektronen abfängt.¹⁰⁸ Nach den Extraktionslinsen sorgt eine weitere Linsenordnung für die sichere Entfernung von Anionen und Elektronen.¹⁰⁸ Da diese Linsen jedoch keinen Effekt auf Neutralteilchen besitzen, werden diese grundsätzlich leichter vom Vakuumsystem entfernt, als Kationen derselben Masse. Um Photonen aus dem Ionenstrahl zu entfernen, welche ein erhöhtes Untergrundsignal am Detektor hervorrufen würden, wird der Ionenstrahl um ein Hindernis (Photon-Stop) herum gelenkt. Photonen und Neutralteilchen können dieser Umlenkung nicht folgen und werden so effektiv von den Analytionen abgetrennt, welche anschließend in den Massenfilter eintreten, welcher sich in der dritten Vakuumstufe (Hochvakuum, $<5 \times 10^{-9}$ bar) befindet.¹⁰⁸

2.5.2 Massenanalytoren

Prinzipiell kann zwischen drei Typen von Massenfiltern bzw. -analytoren unterschieden werden. Der Flugzeitanalysator (engl. time-of-flight, TOF), der Sektorfeldanalysator (engl. sector field, SF), sowie der Quadrupol-Massenfilter.¹⁰⁸ Sowohl TOF als auch SF-Geräte gelten als echte Massenanalytoren, d.h. sie erlauben prinzipiell und je nach Bauart die Auftrennung verschiedener m/z Verhältnisse und prinzipiell deren (quasi-) simultane Detektion. Der Quadrupol arbeitet im Gegensatz hierzu als Massenfilter, d.h. nur ein bestimmter Bereich (meist eine atomare Masseneinheit) passiert den Filter, während die anderen Ionen mit den Quadrupolstäben kollidieren und so neutralisiert werden. Daher gilt der Quadrupol-Massenfilter als ein sequentiell arbeitendes System.¹⁰⁸

Der Quadrupol-Massenfilter

Der Quadrupol als Massenfilter wurde 1953 von *Paul* und *Raether* entwickelt und besteht aus vier gegenüberliegenden Stabelektroden, wobei die gegenüberliegenden Stäbe elektrisch parallel geschaltet sind. An ein Paar wird ein positives Gleichspannungspotential $+U$ angelegt, an das andere Stabelektrodenpaar ein negatives Gleichspannungspotential $(-U)$. Beide Paare werden darüber hinaus mit einem hochfrequenten Wechselfeld ($\omega = 2 \text{ MHz}$) der Spannung V überlagert, jedoch an beiden Paaren mit gegengleicher Phase. Dadurch bildet sich ein oszillierendes hyperbolisches Feld im Zwischenraum der Stabelektroden aus. Um nun bestimmte m/z -Verhältnisse passieren zu lassen, andere aber zu filtern, müssen U , V sowie ω kontrolliert werden.^{100,108}

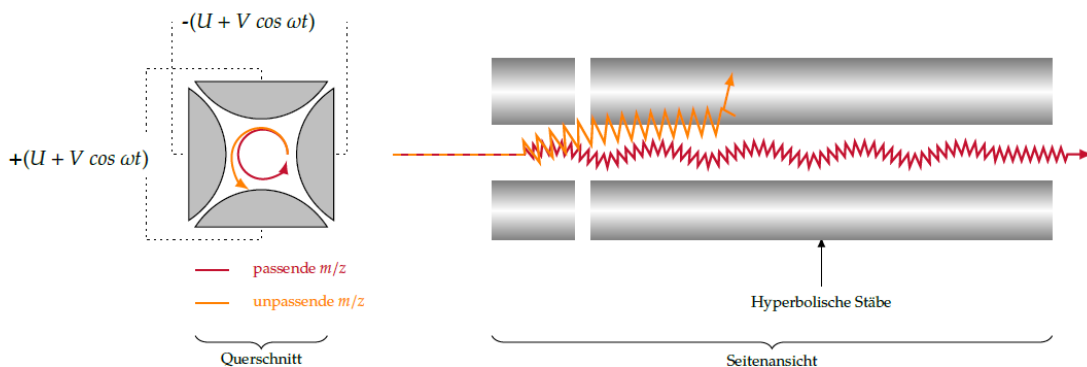


Abbildung 14: Funktionsweise eines Quadrupolmassenfilters in Quer- und Längsschnitt¹¹³

Wäre an den Stabelektroden nur das Gleichspannungspotential U angelegt, so würden Ionen von den gleichgeladenen Stäben abgestoßen und bei entgegengesetzten Ladungen angezogen werden. Somit würde das eine Stabelektrodenpaar die Ionen entlang der z -Achse fokussieren während das andere Stabelektrodenpaar destabilisierend wirken würde. Wäre nur das Wechselfeld ω aktiv, würden diese Kräfte über die Zeit wechseln, sowohl in x - z als auch in y - z Ebene. Diese Kräfte wiederum sind jedoch eine Funktion des m/z -Verhältnisses, da kleinere m/z -Verhältnisse leichter aus der Mitte abgelenkt werden und dies umso stärker, je länger eine Halbwelle des Wechselfeldes dauert. Die Hochpassfunktion eines Quadrupolmassenfilters wird von der Spannung V sowie der Wechselspannung ω eingestellt.^{108,141–143}

Wird nun das Gleichspannungsfeld hinzu geschaltet, so sind die wirkende Kräfte des Wechselfeldes nicht mehr identisch für beide Stabelektrodenpaare. In der Ebene der Stäbe mit $+U$ agiert der Quadrupol weiterhin als Hochpassfilter. In der Ebene mit $-U$ jedoch kehrt sich die Wirkung durch die permanente Anziehung um, wodurch das Wechselfeld hier die stabilisierende Komponente ist. Eine stabile Flugbahn in dieser Ebene haben somit nur m/z -Verhältnisse, die

den wechselnden Kräften des Hochfrequenzfeldes schnell genug folgen können. Dieses Paar agiert somit als Tiefpassfilter. Hochpass- und Tiefpassfilter zusammen arbeiten als Schmalbandfilter, bei dem U die obere und V die untere Filterflanke definiert.^{108,141–143} Daher werden Quadrupolfilter üblicherweise bei konstantem U/V-Verhältnis betrieben, um eine gleichbleibende Auflösung über den einstellbaren Massenbereich zu erzielen.¹⁰⁰ In Abbildung 15 ist das Filtersystem auf Basis eines Tiefpass- und Hochpassmassenfilters sowie eines Schmalbandfilters schematisch dargestellt.

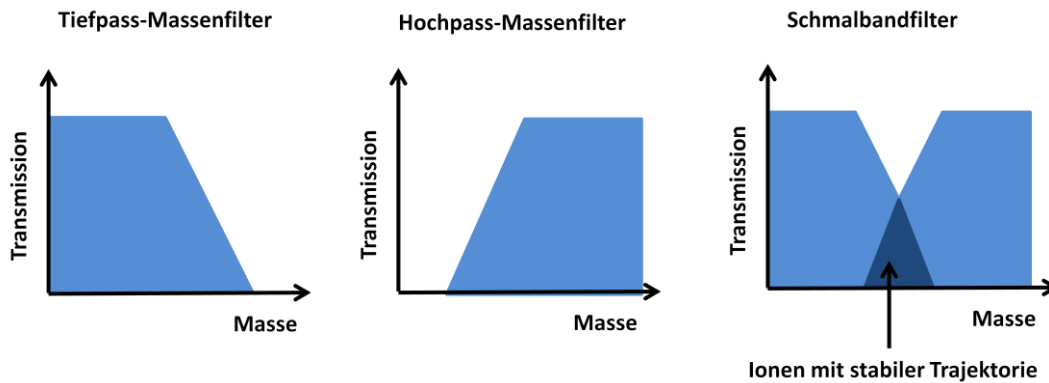


Abbildung 15: Schematische Darstellung der Filtersysteme auf Basis eines Tiefpass- und Hochpass-Massenfilters sowie eines Schmalbandfilters bei Verwendung eines Hochpass- und Tiefpassfilters; Reproduziert nach¹⁴⁴

Der Quadrupolmassenfilter besitzt im Vergleich zu anderen Systemen Vor- aber auch Nachteile. So besitzt er deutlich kleinere Abmessungen und ermöglicht daher kurze Wegstrecken, welche zu weniger komplexen Geräten und Vakuumsystemen führen. Ebenfalls sind Quadrupolmassenfilter relativ preiswert und einfach in der Bedienung. Als größter Nachteil des Quadrupolmassenfilters ist seine rein sequentielle Arbeitsweise zu nennen.¹⁴²

Der Quadrupolmassenfilter ist mit Abstand der am häufigsten verwendete Massenanalysator. Begründet liegt dies neben dem im Vergleich zu anderen Massenanalysatoren recht geringen Preis auch im Fortschritt hinsichtlich Kollisionszellen sowie der Mikroelektronik, die durch präzise und schnelle Spannungsversorgungen wesentlich gesteigerte Scanraten erlaubt, sowie eine schnellere Detektion. Durch die verbesserte Mikroelektronik sind Scanraten von bis zu 3000 m/z pro Sekunde möglich, womit neue Quadrupol-Massenspektrometer durchaus mit manchen TOF-Geräten, welche im nachfolgenden Abschnitt näher erläutert werden, hinsichtlich ihrer Scanraten konkurrieren können.¹⁰⁸ Das in der vorliegenden Arbeit verwendete HP 4500 ICP-MS verwendet einen Quadrupolmassenfilter zur Ionenselektion des Ionenstrahls.

Das Flugzeitmassenspektrometer (TOF)

Das Prinzip der Flugzeitmassenspektrometrie ist der einfachste Ansatz um Ionen unterschiedlicher Masse voneinander zu trennen, da die Separation hier auf der unterschiedlichen Fluggeschwindigkeit verschiedener Massen bei gleicher kinetischer Energie basiert. Die in der Ionenquelle kontinuierlich gebildeten Ionen werden in einen Extraktionsraum gelenkt. Dort ist ein gepulstes, starkes elektromagnetisches Feld angelegt, welches die Ionen beschleunigt. Anschließend wird die Flugzeit der Ionen in einem feldfreien Raum bis zum Detektor bestimmt. Da alle Ionen bei Eintritt in die Röhre idealerweise die gleiche kinetische Energie besitzen, variieren ihre Geschwindigkeiten umgekehrt proportional zu ihren Massen, wobei die Ionen mit kleinem m/z -Verhältnis den Detektor eher erreichen als Ionen mit größerem m/z -Verhältnis. Da der Startpunkt für die Flugzeitmessung bekannt ist, sollten die Ionen gepulst vorliegen, um die am Detektor aufgenommenen Signale auch einem bestimmten Ion zuweisen zu können. Für die Anwendung der Flugzeitmassenspektrometrie für kontinuierliche Ionenstrahlen, müssen Pulser verwendet werden, die den kontinuierlichen Ionenstrahl in einen gepulsten Ionenstrahl überführen. Die Ionen, welche sich zwischen zwei Beschleunigungspulsen im Extraktionsraum befinden, gehen in der Analyse verloren und werden somit nicht detektiert. Die Flugzeitunterschiede bewegen sich unter gängigen Bedingungen in der Größenordnung von wenigen μs . Daher stellt die TOF-Massenspektrometrie hohe Anforderungen an die Gerätekonstruktion dar, da insbesondere das Detektorsystem hinreichend schnell Daten erfassen können muss.¹⁴⁴

Als größten Vorteil der TOF-MS ist die unlimitierte Multielementfähigkeit bei der Detektion von transienten Signalen mit einer Dauer von wenigen Mikrosekunden bis Sekunden zu nennen, da im Gegensatz zum sequentiell arbeitenden Quadrupol die Detektion eines TOF-MS quasi-simultan verläuft. Die Detektion wird als quasi-simultan beschrieben, da die Ionen eines aus einem Ionenstrahl extrahierten Ionenpakets simultan beschleunigt werden, jedoch sequentiell am Detektor registriert werden. Daher wirken sich eventuelle Schwankungen der Ionenquelle auf alle Massen gleichermaßen aus, was sich bei der Bildung von Isotopenverhältnissen in einer gegenüber sequenzieller Messweise verbesserten Präzision zeigt.^{108,144} Ein weiterer Massenanalysator, welcher häufig in der Massenspektrometrie Anwendung findet, ist der Sektorfeldanalysator, welcher im Folgenden näher erläutert wird.

Der Sektorfeldanalysator

Kernstück eines hochauflösenden Sektorfeldmassenspektrometers ist die Doppelfokussierung des Ionenstrahls durch ein Magnetfeld und ein elektrisches Feld, welche aufeinanderfolgen angeordnet sind.¹⁴⁴ In Abbildung 16 ist der schematische Aufbau eines Sektorfeldmassenspektrometers aufgezeigt.

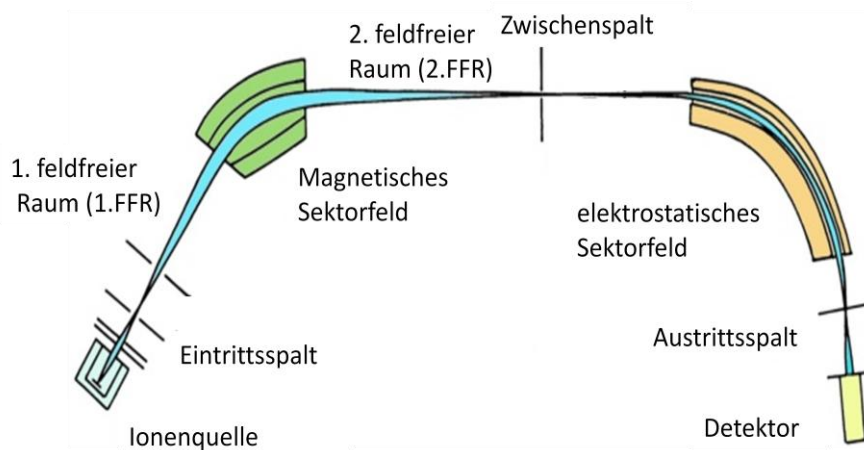


Abbildung 16: Schematischer Aufbau eines Sektorfeldmassenspektrometers; Modifiziert nach¹⁴⁵

Nach Austritt der Ionen aus der Ionenquelle ist deren kinetische Energie proportional zum angelegten Beschleunigungspotential. Der Ionenstrahl gelangt zunächst in das Magnetfeld, welches senkrecht zu der Bewegungsrichtung der Ionen angelegt ist. Durch die Lorentzkraft werden die Ionen auf eine Kreisbahn abgelenkt, wobei der Ablenkradius abhängig ist vom m/z -Verhältnis des Ions und sich wie folgend berechnen lässt:

$$R_B = \frac{mv}{zeB} \quad (17)$$

Wobei R_B der Bahnradius, m die Masse des Ions, v die Geschwindigkeit des Ions, e die Ladung des Ions, z die Anzahl der Ladungen und B die Magnetfeldstärke darstellt. Aus der obigen Gleichung (17) wird ersichtlich, dass der Ablenkradius R_B vom m/z -Verhältnis abhängig ist. Das Magnetfeld bewirkt jedoch nicht nur eine Auftrennung der Ionen nach ihrem m/z -Verhältnis, sondern auch eine Richtungsfokussierung divergenter Ionenbündel, so dass in Analogie zur geometrischen Strahlenoptik der Eintrittsspalt auf den Austrittsspalt abgebildet wird. Da die Ionen bei ihrer Bildung jedoch nicht in Ruhe sondern in zufälliger, statistischer Bewegung sind, erfährt ein in m/z homogener Ionenstrahl eine Verbreiterung (Energiedispersion des Magnetfelds), die das Auflösungsvermögen einfach fokussierender Sektorfeldmassenspektrometer auf 1000-2000 begrenzen. Bei festem Ablenkradius R_B , werden Massenspektren in der Regel durch Veränderung des Magnetfeldes (Magnet-Scan), in speziellen

Fällen durch Veränderung der Beschleunigungsspannung (elektrischer Scan) dadurch erhalten, dass die Ionenstrahlen verschiedener m/z -Werte den Detektorspalt nacheinander beim jeweilig zugehörigen Magnetfeld bzw. Beschleunigungsspannungswert erreichen.

Doppelfokussierende Sektorfeldmassenspektrometer besitzen als weiteres ionenoptisches Element das elektrische Radialfeld E_R eines zylindrischen Kondensators, dessen Segment den elektrostatischen Analysator (ESA) bildet. Der Ionenstrahl durchläuft das elektrische Feld, dessen Feldrichtung sowohl orthogonal zum Magnetfeld als auch senkrecht zum Ionenstrahl gerichtet ist. Es findet daher eine Fokussierung statt, bei der die Ionen nach ihrer kinetischen Energie und unabhängig von ihrem m/z -Verhältnis getrennt werden. Im elektrischen Feld gilt folgende Gleichung für den Ablenkradius:

$$R_E = \frac{mv^2}{eE} \quad (18)$$

Wobei R_E der Ablenkradius durch das elektrische Feld, m die Masse des Ions, v die Geschwindigkeit des Ions, e die Ladung des Ions und E die elektrische Feldstärke beschreibt.^{108,146}

Der ESA besitzt also keinen Massentrenneffekt, erzielt jedoch wie der Magnet eine Richtungsfokussierung divergenter Ionenstrahlen und führt darüber hinaus zu einer Energiedispersion. Das elektrische Radialfeld wird somit als Energieanalysator verwendet. Die Kombination der Energiedispersion des ESA und des Magneten resultiert in einer Energiefokussierung. Doppelfokussierende Massenspektrometer fokussieren Ionenstrahlen somit bezüglich der Richtung und der Energie. Das Auflösungsvermögen solcher Geräte ist durch Veränderung der Spaltweiten kontinuierlich einstellbar. In der Praxis werden gewöhnlich Spektren bei Auflösungen von 1000-2000 (niedrigauflösend, hohe Ionentransmission) und exakte Massenbestimmungen bei 5000-15.000 (hochauflösend, geringe Ionentransmission) erhalten.^{100,147} Die Doppelfokussierung ist jedoch nicht von der Reihenfolge der Anordnung von ESA (E) und Magnetfeld (B) abhängig. Es sind doppelfokussierende Massenspektrometer in der Nier-Johnson Geometrie (EB-Anordnung) und in der inversen Nier-Johnson Geometrie (BE-Anordnung) bekannt. Ebenfalls existieren Sektorfeldmassenspektrometer in der EBE-Geometrie.^{108,148}

Als Nachteil für das doppelfokussierende Sektorfeldmassenspektrometer ist neben dem hohen Anschaffungspreis ein erhöhter Zeitbedarf für den Wechsel zwischen zwei Massen zu nennen. Ein Quadrupolmassenfilter kann deutlich schneller zwischen zwei Massen springen, auch wenn sie weit auseinander liegen, da sich die Spannungen an den Quadrupolstäben schnell stabilisieren. Der Elektromagnet benötigt deutlich länger, um das Magnetfeld zu stabilisieren.^{100,108}

2.5.3 Detektoren

Um die in der Ionenquelle erzeugten und durch den Massenanalysator selektierte Ionen zu detektieren, können im einfachsten Fall Photoplatten oder ein Fluoreszenzschirm verwendet werden. Diese beiden Detektoren sind jedoch nicht einfach elektronisch auslesbar und kommen daher zur heutigen Zeit nur noch äußerst selten zum Einsatz.¹⁰⁸ Der in der Massenspektrometrie gebräuchlichste Detektor stellt der Sekundärelektronenvervielfacher (SEV) dar. Ein SEV mit diskreten Dynoden für die Massenspektrometrie besteht aus einer Konversionsdynode und mehreren hintereinander angeordneten Dynoden, an welche ein steigendes elektrisches Potential angelegt ist. Die Konversionsdynode hat eine Oberflächenbeschichtung aus einem Material, welches eine relativ geringe Austrittsarbeit für Elektronen erlaubt, d.h. das Material besitzt ein niedriges Ionisierungspotential. Ein auf die Konversionsdynode auftreffendes Ion wird entladen und kann durch seine kinetische Energie ein oder mehrere Elektron(en) aus der Konversionsschicht herauslösen. Jedes dieser Elektronen wird in Richtung der zweiten Dynode beschleunigt, wo es aufgrund seiner nun höheren kinetischen Energie weitere Elektronen herauslöst, die wiederum zur dritten Dynode beschleunigt werden. Dort werden erneut mehrere Elektronen aus dem Dynodenmaterial herausgelöst und in Richtung der vierten Dynode beschleunigt usw.. Auf diese Weise entsteht eine lawinenartige Verstärkung des von einem eingefallenen Ladungsträger ausgelösten Elektrons, die schließlich an der Anode zu einem Stromfluss führt. Dieser Stromfluss hat einen Spannungsabfall über einem Widerstand zur Folge, der das Messsignal darstellt, welches letztendlich im sogenannten analogen Modus registriert wird.^{100,108}

Da die Ionisierungsenergie des Oberflächenmaterials der Konversionsdynode sehr gering ist, können auch Neutralteilchen und gegebenenfalls Photonen, falls sie eine ausreichend hohe kinetische Energie bzw. geringe Wellenlänge besitzen, Elektronen aus der Dynode herauslösen, was zu einem erhöhten Untergrundsignal beiträgt und gegebenenfalls das Messergebnis verfälschen würde. Aus diesem Grund kommt der Ionenstrahlführung (siehe Kapitel 2.5.1;

Photon-Stop) im Massenspektrometer eine erhebliche Bedeutung zu, da so Neutralteilchen und Photonen aus dem Ionenstrahl selektiv abgetrennt werden und nur das vom Massenfilter selektierte m/z -Verhältnis am Detektor aufgezeichnet wird.

Treffen die selektierten Ionen nicht zu schnell aufeinander folgend auf die Konversionsdynode, so können die entstandenen Strompulse gezählt werden. Dieser Detektionsmodus wird Pulsmodus genannt und erhöht die Empfindlichkeit und den dynamischen Bereich des Detektors, da hier einzelne Ionen detektiert werden, die einen für die Messung ausreichenden Spannungsabfall erzeugen.¹⁰⁰ In Abbildung 17 ist der SEV schematisch zur besseren Verständlichkeit nochmals dargestellt.

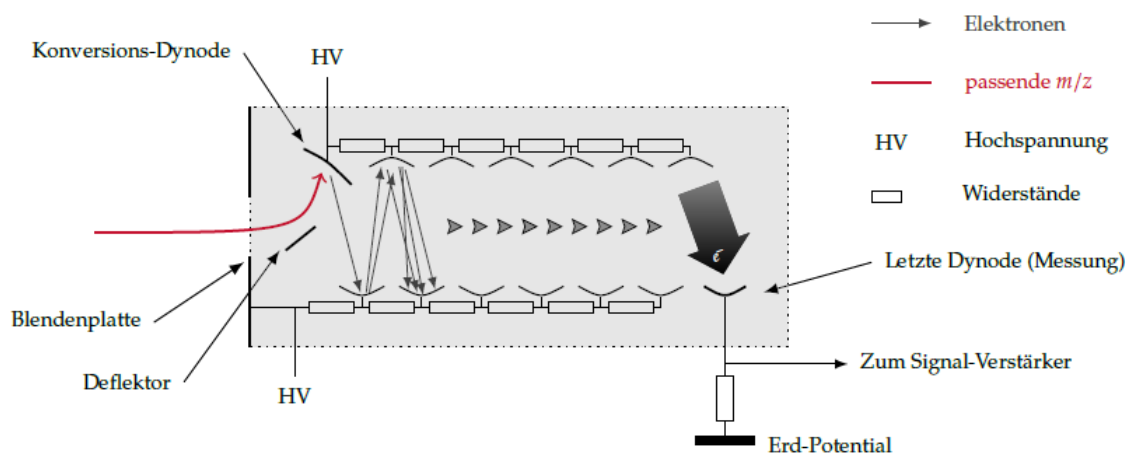


Abbildung 17: Schemazeichnung eines Sekundärelektronenvervielfachers mit diskreten Dynoden für die Messung von Ionenzählraten und Strömen¹¹³

Da die kinetische Energie des auf die Konversionsdynode auftreffenden Ions maßgeblich dafür verantwortlich ist, wie viele Elektronen aus dem Dynodenmaterial herausgelöst werden, können Ionen einer höheren Masse eventuell mehr als ein Elektron aus der Konversionsdynode herauslösen. Hieraus würde ein höherer Spannungsabfall resultieren. Daher kann auch bei der Detektion von Ionen mit einem SEV eine Unterdrückung von leichteren Ionen und damit eine Massendiskriminierung einhergehen. Je nach Hersteller wird mit einem dem Massenfilter nachgeschalteten variablen Beschleuniger versucht, alle Ionen auf näherungsweise dieselbe kinetische Energie zu bringen, um eine Massendiskriminierung bei der Detektion möglichst zu vermeiden.^{100,108} In der hier vorliegenden Arbeit wurde ein HP 4500 ICP-MS verwendet, welches einen SEV als Detektor verwendet und sowohl im Analog- sowie im Pulsmodus betrieben werden kann.

Eine Variation des SEVs, die sogenannte Multikanalplatte (MCP) besteht aus sehr vielen, eng beieinander liegenden parallelen Kanälen, welche einen Durchmesser besitzen, der im sub- μm Bereich liegt. Beim Anlegen einer Potentialdifferenz zwischen Vorder- und Rückseite dieser halbleitenden Platte wirkt jeder dieser elektrisch halbleitenden Kanäle wie ein einzelner SEV. Die Elektronen und der aus ihnen resultierende Strompuls werden auf der Rückseite des MCPs über eine Sammelanode registriert. Da die Detektorfläche eines MCPs im Vergleich zu einem SEV deutlich größer ist, wird ein großer Teil der Fokalebene abgedeckt und der MCP kann als Detektor beispielsweise auch in der orthogonal beschleunigten TOF-MS verwendet werden.^{100,108}

2.5.4 Polyatomare und isobare Interferenzen und deren Beseitigung

Ein ernstzunehmendes Problem bei der ICP-MS sind Interferenzen im Massenspektrum. Es wird hierbei zwischen isobaren Interferenzen, Interferenzen durch doppelt geladene Ionen und polyatomaren Interferenzen unterschieden. Isobare Interferenzen entstehen durch Isotope der gleichen Massenzahl bzw. desselben m/z -Verhältnisses eines anderen Elements. Zu ihrer Korrektur kann wie auch bei den polyatomaren Interferenzen ein anderes Isotop des Analyten zur Analyse herangezogen werden. Zusätzlich kann bei isobaren Interferenzen ein anderes Isotop des interferierenden Elements detektiert werden und anhand der natürlichen Häufigkeit der Signalbeitrag des interferierenden Isotopes bei der Quantifizierung des Analyten korrigiert werden.¹⁰⁸

Polyatomare Störungen weisen dasselbe m/z -Verhältnis wie ein einatomiges Analytkation auf und können prinzipiell aus allen vorhandenen Elementen gebildet werden. Sie können aus Matrixbestandteilen, aus Argon und Gasen aus der Atmosphäre (ArN^+ , ArO^+), aber auch aus Matrix-Argon-Addukten bestehen.^{108,149,150} So stört beispielsweise $^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}^+$ die Detektion von $^{56}\text{Fe}^+$ und verhindert eine richtige Quantifizierung des Analyten. Beide Spezies können von konventionellen Quadrupol-Massenfiltern nicht aufgelöst werden, da diese lediglich ganzzahlige m/z Verhältnisse voneinander unterscheiden können. Das Vorkommen dieser Interferenzen ist zu großen Teilen von den gewählten Betriebsbedingungen des ICPs abhängig, aber auch von dem Vorhandensein leicht ionisierbarer Elemente, sowie der allgemeinen Probenbeladung.^{149–152} Daher können derartige Störungen in gewissen Grenzen durch Änderungen der Betriebsbedingungen der Ionenquelle kontrolliert werden. So wurden Kalt-Plasmabedingungen erfolgreich angewandt, um die Störungen bei der Bestimmung von $^{56}\text{Fe}^+$ zu minimieren.¹⁵³ Durch Wahl eines Massenspektrometers mit geeigneter Auflösung können Interferenzen ebenfalls vom Analyt getrennt werden, da die Massen nur nominell identisch sind, sich jedoch die exakten

Atommassen sehr wohl voneinander unterscheiden. Hier könnte ein hochauflösendes Sektorfeldmassenspektrometer verwendet werden.

Handelt es sich im Falle der Störung um eine polyatomare Spezies, so kann diese häufig durch Kollisionen zum Zerfall in ihre Bestandteile gebracht werden.¹⁵⁴ Dies wird in Kollisions- und Reaktionszellen angewandt, welche in heutigen Quadrupolmassenspektrometern zwischen Extraktionslinsen und Filtereinheit eingebaut ist.¹⁰⁸ Diese Zelle besteht meist aus einem Quadrupol oder Oktopol, welcher mit einem Hochfrequenzfeld arbeitet. Dies dient der Ionenfokussierung während ein Kollisionsgas, welches häufig Wasserstoff oder Helium (4-6 mL/min) ist, eingebracht wird.¹⁵⁵

Generell kann zwischen zwei verschiedene Betriebsmöglichkeiten, den Reaktionsbetrieb (reaction mode) und die kollisions-induzierte Dissoziation (collision mode), welche vom verwendeten Gas abhängig ist, unterschieden werden. Wasserstoff wird vorwiegend für die Entfernung von argonbasierten polyatomaren Spezies über einen Reaktionsweg verwendet, während Helium hingegen bei Lösungsmittel und Matrix bedingten Interferenzen verwendet wird. Es wird hierbei eine Kombination aus einer kollisions-induzierten Dissoziation und kinetischer Energiediskriminierung verwendet.

Eine kinetische Energiediskriminierung polyatomarer Clusterionen und die damit verbundene Reduzierung störender Interferenzen ist auf die Kollision im Innern der Reaktionszelle und auf die Potentialdifferenzen im Ionenpfad des Massenspektrometers mit dem induktiv gekoppelten Plasma zurückzuführen. In dieser Anordnung werden somit die kinetischen Energien aller stoßenden Ionen reduziert, wobei dies jedoch abhängig ist von der Masse und dem Stoßquerschnitt des Reaktionszellgases. Zusätzlich stoßen interferierende Polyatome aufgrund ihres höheren Stoßquerschnittes häufiger mit dem Kollisionsgas, als die Analytione, zusammen. Dies führt zu einer überproportionalen Reduzierung der kinetischen Energie der polyatomaren Ionen. Daraus ergibt sich wiederum, dass polyatomare Ionen im Gegensatz zu den betrachteten Analytione gleicher m/z -Verhältnisse nach dem Passieren der Kollisionszelle nicht mehr genügend kinetische Energie aufweisen, um die angelegte Potentialdifferenz zwischen Kollisionszelle und dem Massenanalysator zu überwinden. Auf diese Weise können viele der typischen polyatomaren Ionenspezies beseitigt werden.¹⁵⁶

Bei der Quantifizierung von Bor in Blut mittels ICP-MS sind in der Literatur keine isobaren Interferenzen bekannt.^{76,157} Mit einer mittleren Masse von 10,8 zählt Bor zu den leichten Elementen mit einer geringen Ionisierungseffizienz im Argon Plasma. Daher kann davon ausgegangen werden, dass nicht spektrale Interferenzen, welche von der Probenmatrix herrühren, für Störungen bei der Quantifizierung von Bor ausschlaggebend sein werden.^{158,159}

Da für die Anwendung der BNCT die Borkonzentration in Vollblut bestimmt wird, ist die für diese Arbeit wichtigste Interferenz die spektrale Überlappung des ¹²C Signals mit dem des ¹¹B, welche in organischen Matrices überwiegt.^{76,157} Diese Interferenz ist vor allem für die Methodenentwicklung von großer Bedeutung, da hier meist mit natürlichem Bor gearbeitet wird, welches zu ca. 19,9% aus ¹⁰B und zu ca. 80,1% aus ¹¹B besteht.⁶² Bei der Methodenentwicklung werden daher beide Borisotope betrachtet. Bei der realen Anwendung der BNCT wird jedoch nur das klinisch relevante ¹⁰B-Isotop betrachtet, bei dem die spektrale Überlappung des ¹²C Signals keine relevante Rolle spielt. Um bei der geschilderten Überlappung die resultierende Interferenz zu eliminieren wird in der ICP-MS, sofern nötig, eine Kollisions/Reaktionszelle oder ein hochauflösendes Massenspektrometer verwendet.^{160,161}

2.5.5 Oxidraten und zweifache Ionisierung

Obwohl der Begriff der Plasmarobustheit von *Mermet* für die ICP-OES durch das Verhältnis der beiden Magnesiumlinien Mg(II) 280,270 nm/Mg(I) 285,213 nm definiert wurde,¹⁶² sind in der ICP-MS die Oxidrate und die Bildungsrate doppelt geladener Ionen als ähnliche Maße für die Robustheit des Plasmas zu verwenden. Sowohl die Oxidrate, sowie die Bildungsrate an doppelt geladenen Ionen können zu Interferenzen führen und die Intensität des Analyten negativ beeinflussen und so zu erhöhten Nachweisgrenzen führen. Beide Werte sind ebenfalls wie die Plasmarobustheit in der Atomemissionsspektroskopie mit dem induktiv gekoppelten Plasma von der Optimierung der Betriebsbedingungen der Ionenquelle (eingekoppelte Leistung, Zerstäubergasfluss, Aufenthaltsdauer des Analyten im Plasma und Verwendung von Hilfsgasen) abhängig.

Oxide werden vor allem von Elementen gebildet, welche eine stabile Sauerstoffbindung besitzen. Diese Moleküle bilden sich hinter dem Plasma und dem Interface, da dort niedrigere Temperaturen als im Plasma herrschen und der Druck noch hoch genug ist, dass es zum Zusammenstoß der relevanten Teilchen kommen kann. Im Hochvakuum, welches sich hinter dem Skimmer Cone befindet, sind weitere reaktionsinitiierende Stöße sehr unwahrscheinlich. Im Unterschied zum eben geschilderten Prozess ist bei Refraktärverbindungen die Bindungsenergie so groß, dass die Metall-Sauerstoff-Bindung, welche schon in der Probe vorliegt, im ICP nicht

vollständig aufgebrochen werden kann.¹⁶³ Hier kann ein Ausweichen auf ein anderes m/z-Verhältnis Abhilfe schaffen. In den meisten Fällen kann durch Verwendung eines Massenspektrometers mit höherer Auflösung, wie beispielsweise durch Sektorfeldmassenspektrometer isobare Interferenzen, welche durch die Bildung von Oxiden herrühren, reduziert werden. Weiterhin kann die Oxidrate durch sorgfältige Optimierung der Betriebsbedingungen des ICPs auf kleiner 2% verringert, jedoch nie vollständig vermieden werden. Einen großen Einfluss auf die Oxidrate haben vor allem der Zustand von Sampler- und Skimmer Cone, deren Bauform und deren Abstand voneinander.^{164,165} Der Einsatz eines trockenen Aerosols oder zumindest eine ausreichende Desolvatisierung, welche beispielsweise durch Kühlung der Sprühkammer oder Verwendung einer Desolvatisierungseinheit realisiert werden kann, reduziert die Bildung von Molekülionen. Eine weitere Möglichkeit zur Reduzierung der Oxidrate, ist die Verwendung einer Probenzuführung, welche trockene Aerosole generiert. Hier wäre die Laserablation oder die elektrothermische Verdampfung zu nennen. Eine andere Möglichkeit zur Reduzierung der Oxidbildung ist die Erhöhung der Plasmatemperatur, welche durch Erhöhung der eingekoppelten Leistung oder durch Addition eines Hilfsgases, welches eine höhere Ionisationsenergie (z.B. He) oder eine höhere thermische Leitfähigkeit (H₂) besitzt.¹⁶⁶

Eine weitere Störung bei der ICP-MS, welche die Empfindlichkeit reduziert sowie zu Interferenzen führt, ist die Bildung doppelt geladener Ionen. Voraussetzung für deren Bildung ist eine zweite Ionisierungsenergie, welche kleiner als die erste Ionisierungsenergie des Plasmagases Argon (15,76 eV) ist. Auch stellt eine genaue Optimierung der Betriebsbedingungen der Ionenquelle und der einwandfreie Zustand von Sampler- und Skimmer Cone eine Möglichkeit dar, die zweifache Ionisierung zu reduzieren.^{167,168} Weiterhin spielt die eingekoppelte Leistung ebenfalls eine sehr wichtige Rolle für die Bildung doppelt geladener Ionen. Hier wird durch Erhöhung der Plasmatemperatur die Bildung zweifach geladener Ionen begünstigt.¹⁰⁸

Da sowohl die Oxidbildung als auch die zweifache Ionisierung so gering wie möglich gehalten werden sollten, sind diese immer Bestandteil des Optimierungsprozesses und ein Kompromiss zwischen niedriger Oxidrate und niedriger Rate zweifach geladener Ionen sollte gefunden werden. In der Praxis wird die Oxidrate während der Optimierung der Betriebsbedingungen des ICPs mit Hilfe des Verhältnisses zwischen Cer und Ceroxid (m/z=140/156) und die Bildung doppelt geladener Ionen durch das Verhältnis Ce⁺/Ce²⁺ (m/z=140/70) bestimmt, da Cer eine hohe Affinität zu Sauerstoff sowie eine relativ geringe zweite Ionisierungsenergie aufweist.⁶² Somit ist durch Zugabe von geringen Mengen an Cer zur Lösung, welche für die Optimierung der Betriebsbedingungen des ICPs verwendet wird, so auch im Rahmen dieser Arbeit die Grundlage für eine zielgerichtete Optimierung geschaffen worden.

2.6 Grundlagen der optischen Emissionsspektroskopie

Nachdem im vorherigen Kapitel die Elementmassenspektrometrie mit dem induktiv gekoppelten Plasma näher erläutert wurde, wird nun auf die Atomemissionsspektroskopie mit dem induktiv gekoppelten Plasma eingegangen, die ebenfalls im Rahmen dieser Arbeit Anwendung fand.

Atome und Ionen können durch Absorption von Energie in einen angeregten Zustand übergehen, in dem ein Valenzelektron vom Grundzustand auf ein höheres Energieniveau angehoben wird. Kehrt das Atom oder Ion vom angeregten Zustand wieder in den Grundzustand zurück, so wird Strahlung in alle Raumrichtungen emittiert. Diese Strahlung ist nach dem Planck'schen Gesetz für jeden Energieübergang und somit für das Element charakteristisch.¹⁰¹ Mit der Wellenlänge und der Intensität der emittierten Strahlung können sowohl qualitative als auch quantitative Rückschlüsse auf die Zusammensetzung der Probe geschlossen werden.¹³⁵

Ein Emissionsspektrometer mit dem induktiv gekoppelten Plasma besteht aus vier Komponenten, dem Probenzuführungssystem, der Anregungseinheit (Plasmafackel, ICP), dem Wellenlängenanalysator (Mono-/Polychromator) und dem Detektor. Ein schematischer Aufbau ist in der nachfolgenden Abbildung dargestellt.

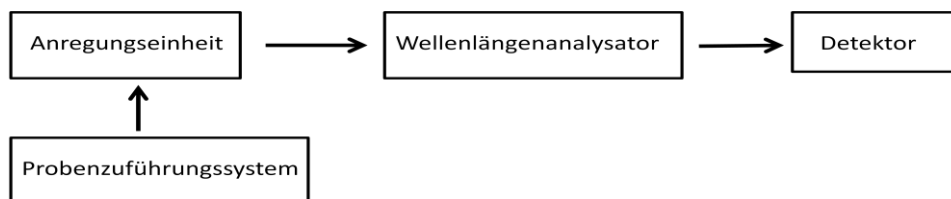


Abbildung 18: Schematischer Aufbau eines Emissionsspektrometers; Reproduziert nach¹⁶⁹

Die Probe gelangt über das Probenzuführungssystem, auf welches bereits in Kapitel 2.3 näher eingegangen wurde, in die Anregungseinheit, das ICP (vgl. Kapitel 2.4). Dort wird die Probe atomisiert und angeregt bzw. ionisiert und angeregt. Die emittierte elementcharakteristische Strahlung, die bei der Rückkehr aus dem angeregten Zustand in den Grundzustand emittiert wird, wird mit Hilfe des Wellenlängenanalysators (siehe Kapitel 2.6.2) dispergiert und zu dem Detektor (vergleiche Kapitel 2.6.3) weiter geleitet.

Auch wenn in der optischen Emissionsspektroskopie von spektralen Linien gesprochen wird, so ist dieser Begriff nicht ganz zutreffend, da diese "Linien" eher einer Gaußkurve ähneln. Diese Linienverbreiterung hat verschiedene Gründe. Ein Grund ist die Tatsache, dass sich das angeregte Atom oder Ion nur kurze Zeit im angeregten Zustand befindet, bevor es wieder in einen energetisch niedrigeren Zustand übergeht, worin die natürliche Linienbreite begründet liegt. Wird nun die Heisenberg'sche Unschärferelation herangezogen, so können die

Energieniveaus des angeregten Zustandes nur mit einer Unsicherheit ΔE bestimmt werden, die wie folgend mit der Beobachtungszeit Δt zusammenhängen:

$$\Delta E * \Delta t = \frac{h}{2\pi} \quad (19)$$

Hierbei stellen h die Planck-Konstante, Δt die Unschärfe der Beobachtungszeit und ΔE die Unsicherheit der Energieniveaus dar. Hieraus wird ersichtlich, dass je kürzer die Lebensdauer des angeregten Zustandes ist, desto größer wird ΔE und damit steigt die natürliche Linienbreite.¹⁰¹

Als weiterer wichtiger Grund für die Linienverbreiterung ist der Doppler-Effekt zu nennen. Die angeregten Atome bzw. Ionen bewegen sich im ICP in alle Raumrichtungen. Bewegt sich ein Atom oder Ion in Richtung Detektor während es ein Photon emittiert, so erscheint die Emission aufgrund der Frequenzverschiebung bei einer kürzeren Wellenlänge. Bewegt sich das angeregte Atom oder Ion hingegen vom Detektor weg, so verschiebt sich die detektierte Wellenlänge zu größeren Werten. Da die Bewegungsrichtung der Teilchen über alle Raumrichtungen nahezu gleich verteilt ist, ist der Doppler-Effekt als generelle Linienverbreiterung zu beobachten.¹⁶⁹ Mithilfe der Maxwell'schen Geschwindigkeitsverteilung können die Geschwindigkeiten der Atome, Ionen und Elektronen beschrieben werden. Mit steigender Temperatur kommt es zu einer Verschiebung zu höheren Geschwindigkeiten und somit zu einer Verstärkung des Doppler-Effektes.^{101,126}

Als dritter und letzter Grund der Linienverbreiterung ist die Stoßverbreiterung durch Kollision der Atome bzw. Ionen zu nennen. Unelastische Stöße der Teilchen führen zu einem strahlungslosen Übergang, bei dem die Anregungsenergie teilweise oder vollständig auf einen Stoßpartner übertragen werden kann. Hieraus rührt allerdings eine stoßinduzierte Veränderung der Lebensdauer des betrachteten jeweiligen angeregten Zustandes, was nach Heisenberg in einer Veränderung der Linienbreite resultieren muss.^{101,126}

2.6.1 Radiale und axiale Beobachtungsweise des Plasmas

Das ICP kann prinzipiell aus zwei geometrischen Richtungen beobachtet werden; radial und axial. Die radiale Beobachtungsweise des Plasmas besitzt den Vorteil, dass Anregungsstörungen minimiert werden, da bei dieser Beobachtungsweise nur ein kleiner Winkelabschnitt des ICPs beobachtet wird. Im Gegensatz zur radialen Beobachtungsweise, bei der die im Analytkanal gebildete Strahlung zuerst das umgebene Plasma passieren muss, bevor sie in die Optik eintritt, wird bei der axialen Beobachtungsweise der Analytkanal direkt beobachtet. Hierdurch fällt ein

großer Teil der Untergrundemission weg. Ein weiterer Vorteil der axialen Beobachtungsweise liegt in der höheren Strahlungsdichte und der daraus resultierenden Verbesserung des Signal/Untergrundverhältnisses. Da bei dieser Beobachtungsweise des Plasmas die optische Wegstrecke vergrößert ist, resultiert eine größere Empfindlichkeit. Das Nachweisvermögen nimmt daher ebenfalls bei axialer Beobachtungsweise des Plasmas zu. Dem Vorteil des gesteigerten Nachweisvermögens, bei Verwendung der axialen Beobachtungsweise in der ICP-OES, steht eine Reihe von Nachteilen gegenüber. Als die beiden wichtigsten Nachteile sind die vermehrt auftretenden spektralen Störungen und die Zunahme von Matrixeffekten zu nennen.¹⁷⁰ Matrixeffekte treten bei dieser Beobachtungsart des Plasmas vermehrt auf, da hier das gesamte Plasma, also alle Temperaturbereiche des Plasmas beobachtet werden. Ebenfalls verstärkt die Rekombinationszone des Plasmas die Matrixeffekte, da diese Zone wie eine Absorptionsschicht dient, welche wiederum von der Matrixzusammensetzung abhängig ist. Durch technische Maßnahmen können die genannten Nachteile jedoch in den meisten Fällen reduziert werden.

In vielen Fällen wird daher bei Verwendung der axialen Beobachtungsweise die Spitze des Plasmas mit Hilfe eines im rechten Winkel zum Plasma angeordneten Schergasstromes oder durch Verwendung einer Art Konus, wie sie beim ICP-MS (Sampler/Skimmer Cone) zu finden sind, entfernt. Dies hat mehrere Vorteile: Zum einen wird hierdurch die Optik geschützt, die sonst den heißen Arbeitsgasen ausgesetzt wäre und zum anderen wird die kühlere Zone des Plasmas entfernt. Letzteres hat den entscheidenden Vorteil, dass die Zone, in der sonst Rekombinationen und Selbstabsorptionen stattfinden, nicht abgebildet wird. Dies führt zu einer Zunahme des linearen Arbeitsbereiches bei höheren Analytkonzentrationen.¹⁷¹⁻¹⁷³

Bei axialer Beobachtung wird nicht nur die Empfindlichkeit der Analyten sondern auch die der Matrix und des Untergrundes deutlich erhöht. Weiterhin treten bei der axialen Beobachtungsweise Anregungsstörungen, verglichen zur radialen Beobachtung des Plasmas in verstärktem Maße auf.¹⁷¹ Diese wirken sich insbesondere auf die leicht anregbaren Übergänge (z.B. Alkalimetalle) aus. Daher ist für die Quantifizierung von Alkalimetallen die radiale Beobachtungsweise der axialen vorzuziehen.¹⁷²

2.6.2 Mono- und Polychromatoren

Ein zentrales Bauteil eines optischen Emissionsspektrometers ist der Mono- bzw. Polychromator. Dieser hat die Aufgabe die einfallende, polychromatische elektromagnetische Strahlung, welche von den angeregten Atomen oder Ionen bei ihrem Übergang in den Grundzustand emittiert wird, hinsichtlich ihrer Wellenlänge aufzutrennen. Während der Monochromator nur für die Auswahl einer Wellenlänge geeignet ist, also für eine sequentielle Messweise, erlaubt der Polychromator eine simultane Messweise.¹⁶⁹ Monochromatoren sind aus einem Ein- und Austrittsspalt, Linsen oder Spiegeln und einem dispergierenden Element (Prisma oder Gitter) aufgebaut. Die Arbeitsweise hängt vom Dispersionselement ab: An einem Prisma findet eine Lichtbrechung an der Grenze zweier Medien statt, welche eine unterschiedliche optische Dichte besitzen. An einem Reflexionsgitter wird die elektromagnetische Strahlung aufgrund der unterschiedlich zurückgelegten Wegstrecke gebeugt. Die meist verwendeten Monochromatoren folgen dem Aufbau nach *Czerny-Turner*¹³⁴, welcher in der nachfolgenden Abbildung gezeigt ist.

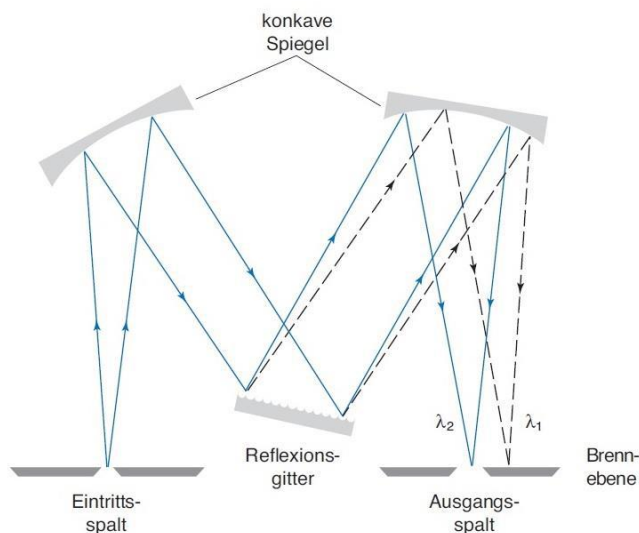


Abbildung 19: Schematischer Aufbau eines Monochromators nach Czerny-Turner¹⁷⁴

Die einfallende polychromatische Strahlung trifft hier durch den Eintrittsspalt auf einen konkaven Spiegel. Dieser parallelisiert die elektromagnetische Strahlung, welche anschließend auf das Dispersionselement (Reflexionsgitter) trifft. Dort wird die Strahlung durch Beugung in ihre verschiedenen Wellenlängen aufgeteilt, welche über einen zweiten Hohlspiegel auf den Ausgangsspalt, der sogenannten Brennebene des Spektrometers, fokussiert wird. Jede auf der Brennebene auftreffende Wellenlänge wird auf einen anderen Punkt fokussiert, sodass nur ein kleiner Wellenlängenbereich, welcher die interessierende Wellenlänge des Analyten beinhaltet, auf den Austrittsspalt und auf den sich dahinter befindenden Detektor trifft. Das

Dispersionselement kann mit Hilfe eines elektrischen Schrittmotors gedreht werden, so dass der gewünschte Wellenlängenbereich selektiert werden kann. Dies ist der Grund für die sequentielle Arbeitsweise eines Monochromators.^{134,174}

Aufgrund des besseren spektralen Auflösungsvermögens werden mittlerweile anstelle von Prismen hauptsächlich optische Gitter mit einer hohen Furchenzahl als Dispersionselemente verwendet, sofern nicht hochauflösende Echelle-Spektrometer verwendet werden.¹⁶⁹ Hier wird ein Gitter mit geringer Furchendichte und großem Vorzugswinkel (ca. 60°) eingesetzt, das für die Erzeugung von Spektren hoher Ordnung verwendet wird, wobei die Dispersion des Echellegitters und eines gewöhnlichen Gitters oder Prismas gekreuzt sind.^{101,134,175} Weitere Grundlagen sollen hier allerdings nicht näher erläutert werden.

Als wichtige analytische Kennzahl wird in der Atomemissionsspektroskopie das spektrale Auflösungsvermögen der eingesetzten Optik herangezogen. Es erlaubt die Charakterisierung des Systems hinsichtlich der Möglichkeit nahe beieinander liegende Wellenlängen voneinander zu trennen. Aus der nachfolgenden Gleichung (20) wird ersichtlich, dass die Auflösung (R) umso größer wird, je kleiner der Wellenlängenbereich $\Delta\lambda$ um die Wellenlänge λ ist.¹³⁴

$$R = \frac{\lambda}{\Delta\lambda} \quad (20)$$

Je nach Problemstellung muss das optische System in der Lage sein, simultan mehrere Analyten detektieren zu können, wenn beispielsweise ein transientes Signal vorliegt oder nur ein geringes Probenvolumen zugänglich ist. Für diese Anwendung werden Polychromatoren verwendet, die aus einem konkaven Reflexionsgitter und mehreren Dioden-Arrays oder mehreren Arrays von CCD-Chips (Charge-Coupled-Device), die auf dem sogenannten Rowland-Kreis angeordnet sind, bestehen.¹⁴⁴ Mit dieser Anordnung kann unter Umständen der gesamte relevante Wellenlängenbereich abgedeckt werden. Daher werden keine Ausgangsspalte wie beim Einsatz von Photomultipliern mehr benötigt. Das Auflösungsvermögen wird daher seitens des verwendeten Detektors durch die Pixelzahl pro Detektoroberfläche bestimmt und ist oftmals schlechter als bei sequenziellen Geräten oder bei Verwendung von Photomultipliern.¹³⁴ Da der Sauerstoff der Atmosphäre Strahlung im ultravioletten Bereich absorbiert, sollte die Optik eines Emissionsspektrometers mit einem Inertgas, wie beispielsweise Stickstoff gespült werden, wenn Emissionslinien des Analyten im UV-Bereich liegen.¹³⁴

2.6.3 Detektoren

Um die aus dem Mono- oder Polychromator austretende elektromagnetische Strahlung in ein messbares elektrisches Signal umzuwandeln, werden verschiedene Arten von Detektoren in der Atomemissionsspektroskopie verwendet. Die gebräuchlichsten Detektoren sind hierbei der Photomultiplier und der Charge-Coupled-Device (CCD).

Photomultiplier

Der Photomultiplier besteht aus zwei Hauptbestandteilen, einer Photokathode und einem nachgeschalteten Sekundär-Elektronenvervielfacher (vgl. Kapitel 2.5.3). Die Photokathode ist ein Detektor für Photonen, der den photoelektrischen Effekt ausnutzt und aus einer dünnen Halbleiter- oder Metallschicht, welche eine geringe Austrittsarbeit für Elektronen erlaubt, besteht. Die typische Schichtdicke beträgt typischerweise einige 10 nm, sodass die Schichten halbtransparent sind.¹³⁴

Die Verwendung eines Photomultipliers ermöglicht zwar die Umwandlung von Strahlung in ein messbares elektrisches Signal, doch wird aufgrund der recht geringen erzeugten Photonenströme meist ein Verstärker benötigt. Ebenso ist die Existenz des sogenannten Dunkelstroms zu beachten, welcher die Empfindlichkeit des Detektors und das Nachweisvermögen negativ beeinflusst. Der Dunkelstrom entsteht durch die Freisetzung thermischer Elektronen in Abwesenheit von elektromagnetischer Strahlung und ist daher temperaturabhängig.^{176,177,178}

Charge-Coupled-Device (CCD)

Ein weiterer Detektor der häufig seine Anwendung in der ICP-OES findet, ist der Charge-Coupled-Device (CCD). Dieser zweidimensionale Halbleiterdetektor weist eine relativ hohe Quantenausbeute auf und ist damit für die Quantifizierung von sehr geringen Analytkonzentrationen zugänglich.¹⁷⁹ Er besteht aus einem Siliziumchip auf dem lichtempfindliche Halbleiterkondensatoren zeilenweise angeordnet sind. Diese Halbleiterkondensatoren bestehen aus p-dotiertem Silizium, auf welches eine dünne Siliziumdioxidschicht aufgedampft wurde. Auf dieser Schicht befindet sich ein Netz transparenter Elektroden aus Aluminium oder polykristallinem Silizium. Diese sogenannten Gates sind rasterförmig auf der Isolationsschicht aus Siliziumdioxid angeordnet und bilden die Reihe der

Bildelemente, sogenannte Pixel. Ein Ausgangsverstärker befindet sich ebenfalls auf dem Chip, welcher von allen freien Ladungsträgern durchlaufen wird.^{169,174} In Abbildung 20 ist der schematische Aufbau eines CCD-Detektors graphisch verdeutlicht.

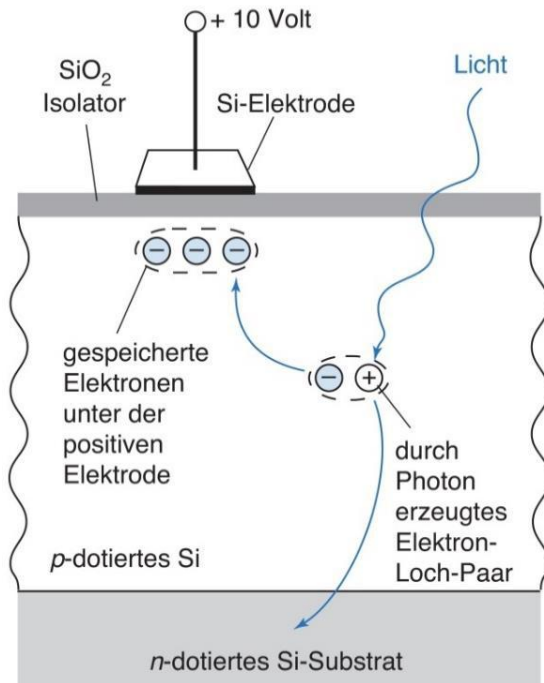


Abbildung 20: Schematischer Aufbau eines Charge-Coupled-Device¹⁷⁴

Das Funktionsprinzip eines CCDs basiert auf dem inneren photoelektrischen Effekt. Die in den Halbleiter eintretenden Photonen können bei ausreichend hoher Energie Elektronen vom Valenzband in das Leitungsband des Halbleiters verschieben, wodurch der Halbleiter elektrisch leitend wird. Während der Belichtung wird eine positive Spannung an das Gate angelegt. Daher kann die Strahlung durch die oberen beiden Schichten durchdringen und aufgrund ihrer Energie die kovalenten Bindungen des Kristallgitters der p-dotierten Siliziumschicht aufbrechen. Ein Elektron tritt in das Leitungsband des p-dotierten Siliziums und ein positiv geladenes "Loch" entsteht im Valenzband. Es bildet sich also ein sogenanntes Elektronen-Loch-Paar. Zwischen dem Siliziumdioxid und dem Silizium entsteht eine Potentialmulde, welche eine Zone ohne freie Ladungsträger darstellt. Die während der Belichtungszeit freigesetzten Elektronen wandern in die Potentialmulde während die Detektorelektronen in das n-dotierte Silizium gedrängt werden.^{169,174}

Die Anzahl der gebildeten freien Ladungsträger ist direkt proportional zur Intensität der elektromagnetischen Strahlung. Der Vorteil des CCDs liegt darin, dass die Elektronen während der gesamten Belichtungszeit in der Potentialmulde gesammelt werden, wodurch die Pixel wie Kondensatoren wirken. Daher können noch geringe Analytkonzentrationen mittels CCD

detektiert werden. So können noch 0,2-0,3 Photonen pro Sekunde pro Detektorelement mit dem CCD detektiert werden.¹³⁴ Ein weiterer Vorteil eines CCD-Detektors im Vergleich zum Photomultiplier besteht darin, dass er nicht nur die Messung einer einzelnen Linie ermöglicht, sondern das Erfassen einer ganzen spektralen Region in der Nachbarschaft der Linie. Somit können mit einem CCD mehrere Analyten, sofern sie im selben Wellenlängenbereich emittieren, simultan detektiert werden.¹³⁴

Erst nach Beendigung der Belichtung werden die in den Potentialmulden gebildeten Ladungspakete ausgelesen. Mit Hilfe eines Potentialgefälles zwischen den Elektroden können die freien Elektronen von Pixel zu Pixel innerhalb einer Zeile zur Ausleseelektronik verschoben werden. Dort werden die Elektronen Zeile für Zeile nach einer Signalverstärkung in elektrische Signale umgewandelt und vom Computer ausgelesen. Wird der CCD jedoch zu lange belichtet, kann es zum sogenannten "Blooming" kommen. Hierbei werden umliegende Pixel belichtet, sofern die einfallende elektromagnetische Strahlung die Speicherkapazität der Potentialmulde für die resultierenden Elektronen übersteigt. Die überschüssigen Elektronen wandern nun zur benachbarten Zeile in deren Potentialmulde.^{169,179}

Auch die Umgebungstemperatur hat einen Einfluss auf den CCD. So können freie Elektronen durch die thermische Eigenbewegung erzeugt werden, welche von der Materialtemperatur abhängig ist. Dieser sogenannte Dunkelstrom lässt sich durch Kühlung des CCD zwar minimieren jedoch nicht vollständig eliminieren.^{134,179–181}

2.6.4 Spektrale und chemische Interferenzen und deren Beseitigung

In der Atomemissionsspektroskopie mit dem Induktiv gekoppelten Plasma kann zwischen zwei Arten von Interferenzen unterschieden werden. Die erste Unterscheidungsart sind die spektralen Interferenzen, welche durch eine vollständige oder partielle Überlappung einer Emissionslinie mit einer Linie eines störenden Atoms oder Ions entstehen. Bei sehr hohen Temperaturen, wie sie im ICP vorliegen, emittieren die meisten Elemente ein linienreiches Spektrum mit unterschiedlich intensiven Emissionslinien. Zusätzlich kommt es zur Doppler- und Druckverbreiterung aufgrund der schnellen Bewegung der Elektronen im ICP.^{126,157} Um spektrale Interferenzen zu vermeiden, kann, sofern möglich, auf eine andere Emissionslinie ausgewichen werden.¹⁰¹

Neben spektralen Interferenzen treten in der ICP-OES auch Störungen auf, die als nicht-spektrale oder chemische Interferenzen zusammengefasst werden. Während spektrale Störungen additiver Natur sind, also das Analyseergebnis positiv verfälschen, zeichnen sich nicht-spektrale Störungen durch eine Änderung der Steigung der Kalibrierfunktion, welche die Empfindlichkeit der Methode darstellt, aus. Nicht-spektrale Störungen entstehen durch Änderungen der physikalischen Eigenschaften der Probe (Änderung der Viskosität, Dichte, Oberflächenspannung), was zu einer Änderungen des Probentransportes und somit zu einer Änderung der Zerstäubungseigenschaften führen kann. Chemische Interferenzen können reduziert oder eliminiert werden, indem eine Anpassung der Matrix der Kalibrierstandards an die der Probe erfolgt. Eine weitere Möglichkeit zur Reduzierung nicht-spektraler Störungen sind die Verwendung eines Internen Standards (siehe Kapitel 2.7.4), die Durchführung einer Standardaddition oder die Abtrennung der Matrix.^{55,182}

Die wichtigste Interferenz für die Quantifizierung von Bor in Blut wird durch Eisen hervorgerufen. Die beiden empfindlichsten Atomlinien B(I) 249,773 nm und B(I) 249,677 nm werden durch die beiden Eisenlinien Fe(II) 249,782 nm und Fe(I) 249,653 nm interferiert.⁷³ Weiterhin wird die Bestimmung von Bor durch Silizium gestört, aus dem der ICP-Brenner gefertigt ist und somit bei jeder ICP-OES Analyse all gegenwertig ist.^{183,184} Es sind jedoch noch andere Elemente laut Literatur relevant, welche die Quantifizierung von Bor mittels ICP-OES stören können. Hierzu zählen Nickel, Chrom, Aluminium, Vanadium, Mangan, Titan und Molybdän.^{185,186} Da die Interferenz meist von der Konzentration des Analyten und des störenden Elementes, sowie von der Auflösung des verwendeten Emissionsspektrometers abhängig ist, muss für jede Matrix individuell getestet werden, ob eine Interferenz vorliegt oder nicht. Eine Möglichkeit der Eliminierung der Eiseninterferenz bei der Quantifizierung von Bor in Vollblut ist die Abtrennung des Eisens bzw. der Probenmatrix. *Din* schlägt hier die Verwendung von Kaliumdihydrogenphosphat und Kaliumhydroxid vor, um im Falle geologischer Proben die beiden empfindlichen Atomlinien B(I) 249,773 nm und B(I) 249,677 nm für die Analyse von Bor zugänglich zu machen.¹⁸⁴

2.6.5 Robustheit des analytischen Plasmas

In der Atomemissionsspektroskopie mit dem induktiv gekoppelten Plasma kommt es, wie im letzten Kapitel beschrieben, häufig zu Interferenzen. Diese können entweder durch ineffizienten Energietransfer vom Plasmagas auf den Analyten oder durch Änderungen in der Probenzuführung herrühren.¹⁶² Da die Dauer des Atomisierungsschrittes in derselben Größenordnung wie die Aufenthaltsdauer des Analyten im Plasma ist (einige Millisekunden), sollte eine vollständige Atomisierung und eine effiziente Ionisierung im Plasma stattfinden. Die Atomisierung und Ionisierung sind jedoch von den Betriebsparametern des ICPs abhängig. Hier ist vor allem die Wahl des Zerstäubers wichtig. Je nach verwendetem Zerstäubertyp unterliegt das erzeugte Aerosol einer unterschiedlichen Tröpfchengrößenverteilung. Die vollständige Atomisierung und Ionisierung im ICP ist demnach abhängig von der Tröpfchengrößenverteilung des Aerosols. Größere Aerosoltröpfchen benötigen eine längere Zeit im Plasma um vollständig desolvatisiert und anschließend atomisiert bzw. ionisiert zu werden als kleinere Aerosoltröpfchen. Desweiteren spielt die Flussrate des Zerstäubergases eine entscheidende Rolle für eine effiziente Atomisierung bzw. Ionisierung, da die Flussrate des Zerstäubergases die Effizienz der Zerstäubung beeinflusst. Desweiteren darf die Flussrate des Zerstäubergases nicht zu hoch gewählt werden, da sonst das Plasma durch diesen Gasfluss gekühlt wird und somit im Plasma weniger Energie für die Atomisierung bzw. Ionisierung des Analyten zur Verfügung steht. Eine weitere Größe, die die Atomisierung bzw. Ionisierung des Analyten im Plasma beeinflusst, ist die Flussrate des Plasmagases. Ist diese zu hoch gewählt, wird die Aufenthaltsdauer des Analyten im Plasma verkürzt und damit die Zeit für die Desolvatisierung und Atomisierung bzw. Ionisierung ebenfalls reduziert. Die eingekoppelte Leistung in das ICP hat ebenfalls einen großen Einfluss auf die Atomisierungs- bzw. Ionisierungseffizienz. Je mehr Leistung vom Generator in das ICP eingekoppelt wird, desto mehr Energie steht für die Desolvatisierung, Atomisierung bzw. Ionisierung zur Verfügung.^{105,134,162}

Eine Möglichkeit zur Ermittlung des Energietransfers vom Plasmagas auf den Analyten ist die Bestimmung eines Quotienten, der aus der Intensität einer Ionenlinie zur Intensität einer Atomlinie desselben Elementes gebildet wird. Wenn sich das System in einem lokalen thermischen Gleichgewicht befindet, kann mit Hilfe der Saha-Gleichung (siehe Kapitel 2.4.1) der Ionisierungsgrad aus diesem Intensitätsverhältnis berechnet werden. Hier wird die Tatsache ausgenutzt, dass die Intensität der meisten Atomlinien kaum von der Wahl der Betriebsparametern des ICPs abhängen, jedoch die Intensitäten von Ionenlinien sehr stark von der Wahl der Betriebsparametern der Ionenquelle abhängig sind.^{108,134} Dies liegt vor allem daran, dass der Analyt im Plasma zuerst desolvatisiert, dann atomisiert und zum Schluss ionisiert wird.

Da die Aufenthaltsdauer im Plasma sowie die Energie des Plasmas von den Betriebsparametern des ICPs abhängig ist, ist vor allem der letzte Schritt, die Ionisierung, von der Wahl dieser Parametern abhängig. Daher werden Atomlinien auch als harte und Ionenlinien als weiche Linien bezeichnet. So ist es möglich durch Bestimmung des Quotienten aus den Intensitäten der Ionenlinie/Atomlinie das Vorliegen eines lokalen thermischen Gleichgewichtes und die optimalen Betriebsbedingungen der Ionenquelle zu bestimmen.¹⁶² Da diese Vorgehensweise relativ einfach ist und das Intensitätsverhältnis ein Zahlenwert darstellt, welcher leicht zwischen verschiedenen Systemen oder auch Betriebsparametern der Ionenquelle verglichen werden kann, wird dieses Verfahren in der Praxis sehr häufig angewendet, wobei sich Magnesium als Element hierfür aufgrund der ähnlichen Anregungsenergien der Mg(II) 280,270 nm und Mg(I) 285,213 nm Linien bewährt hat. Ist der Quotient Mg(II)/Mg(I) größer oder gleich zehn, so wird das Plasma als robust angesehen und Interferenzen von leicht ionisierbaren Elementen, wie beispielsweise Natrium, Kalium und Lithium sind reduziert.¹⁶² Da in der vorliegenden Arbeit eine Methode zur Quantifizierung von Bor in Vollblut entwickelt und optimiert werden soll, ist die Plasmarobustheit äußerst wichtig, da im Vollblut hohe Konzentrationen an Natrium, Kalium und Kalzium vorliegen und so mögliche Interferenzen für die Quantifizierung von Bor reduziert werden können. *Mermet* konnte zeigen, dass bei Verwendung eines größeren Injektorrohres (2 mm) die Plasmarobustheit bei gleicher eingekoppelter Leistung und gleichen Gasströmen um einen Faktor 2 erhöht werden kann.¹⁸⁷ Da bei Erhöhung der Plasmaleistung die Atomisierung und Ionisierung effizienter ablaufen, kann die Plasmarobustheit ebenfalls durch Erhöhung der eingekoppelten Leistung optimiert werden.¹³³ *Carré et al.* konnte zeigen, dass die Flussrate des Zerstäubergases ebenfalls einen großen Einfluss auf die Plasmarobustheit besitzt.¹⁶² So kann durch Reduktion des Zerstäubergasflusses von 1 L/min auf 0,6 L/min die Robustheit des analytischen Plasmas um einen Faktor von 2 erhöht werden. Hier ist jedoch zu beachten, dass der Zerstäubergasfluss für jeden Zerstäuber optimal und individuell ist und die meisten kommerziell erhältlichen pneumatischen Zerstäuber bei einem Zerstäubergasfluss zwischen 0,8 und 1 L/min am effizientesten arbeiten.^{105,106} Eine Möglichkeit zur Reduzierung des Zerstäubergases stellt die Verwendung eines Ultraschallzerstäubers dar, welcher mit Zerstäubergasflüssen kleiner 0,6 L/min arbeitet.¹⁸⁸ Um mit einem pneumatischen Zerstäuber bei Zerstäubergasflüssen zwischen 0,8-1,0 L/min robuste Betriebsbedingungen des ICPs zu erzielen, kann die Verwendung eines laminaren Hilfsgases, welches am Ausgang der Zerstäuber kammer hinzugefügt wird, in Betracht gezogen werden. Hier wird häufig Stickstoff oder Wasserstoff verwendet, wobei die Verwendung von Wasserstoff aufgrund der höheren thermischen Leitfähigkeit bevorzugt ist.¹⁶⁶

2.7 Analytische Güteziffern und Statistik

In diesem Kapitel sollen die in dieser Arbeit verwendeten analytischen Güteziffern, die verwendete Statistik, sowie die verschiedenen Kalibriermethoden näher erläutert und diskutiert werden.

2.7.1 Analytische Güteziffern

Um unterschiedliche Untersuchungsmethoden vergleichen bzw. eine möglichst objektive Beurteilung durchführen zu können, werden analytische Güteziffern verwendet. Objektivität wird jedoch nur erzielt, wenn nicht nur die Güteziffer als solche, sondern auch deren Berechnungsweg offen gelegt werden, da in der Literatur verschiedene Methoden zur Berechnung erwähnt werden. Zu den wichtigsten analytischen Güteziffern zählt die Nachweisgrenze (NWG). Diese gibt die minimale Konzentration bzw. Masse an Analyt an, die mit einer zuvor festgelegten statistischen Sicherheit noch nachgewiesen werden kann.^{189,190} Üblicherweise wird die Nachweisgrenze (c_{NWG}) anhand der Standardabweichung des Blindwertes (σ_B) und der Steigung der Kalibrierfunktion (m) nach folgender Gleichung berechnet:

$$c_{NWG} = \frac{3\sigma_B}{m} \quad (21)$$

Die obige Gleichung der NWG setzt voraus, dass sowohl das Rauschen des Untergrundes als auch die Messergebnisse normalverteilt sind und eine Blindwertkorrektur durchgeführt wurde. Hierbei existieren mehrere Beziehungen für einen Blindwert, die unter anderem noch zwischen einem Reagenzienblindwert und einem Methodenblindwert unterscheiden. In dieser Arbeit soll der aus allen diesen Faktoren zusammengesetzte Blindwert verstanden werden, d.h. dasjenige Messsignal, welches bei Abwesenheit des Analyten vorliegt. Die Nachweisgrenze hängt nach obiger Gleichung von der Empfindlichkeit der Methode, welche durch die Steigung der Kalibrierfunktion gegeben ist, sowie vom Rauschen des Blindwertes ab. Das beobachtete Signal (S_i) setzt sich aus dem Blindwert (B) und dem eigentlichen Messsignal (S) wie folgt zusammen:

$$S_i = (S + B) \quad (22)$$

Für die Standardabweichung des beobachteten Signals (σ_{si}) gilt daher folgender mathematischer Zusammenhang:

$$\sigma_{si} = \sqrt{(\sigma_{S+B}^2 + \sigma_B^2)} \quad (23)$$

Wobei hier σ_{S+B} die Standardabweichung des Messsignals und σ_B die Standardabweichung des Blindwertes darstellen.

An der Nachweisgrenze kann angenommen werden, dass das gemessene Signal mit dem Blindwertsignal identisch ist, womit folgt:

$$\sigma_{S+B} = \sigma_B \quad (24)$$

Wird Gleichung (24) in Gleichung (23) eingesetzt, ergibt sich folglich für die Standardabweichung folgender vereinfachter Ausdruck:

$$\sigma_{si} = \sqrt{2}\sigma_B \quad (25)$$

Wird bei der Analyse keine Blindwertkorrektur durchgeführt, so muss Formel (21) um den Faktor $\sqrt{2}$ ergänzt werden.¹⁹⁰ Daraus ergibt sich folgende Gleichung für die Nachweisgrenze, welche in dieser Arbeit stets verwendet wurde:

$$c_{NWG} = \frac{3\sqrt{2}\sigma_B}{m} \quad (26)$$

Wobei hier c_{NWG} für die Nachweisgrenze, σ_B für die Standardabweichung des Blindwertes und m für die Steigung der Kalibrierfunktion stehen. Der verwendete Faktor drei in der obigen dargestellten Gleichung ergibt sich aus der geforderten statistischen Sicherheit, mit der ein Signal noch vom Untergrund unterscheidbar sein soll. Üblich ist hier eine Wahrscheinlichkeit von einem Prozent anzunehmen, mit der fälschlicherweise ein Untergrundsignal noch für ein Analytsignal gehalten werden darf.¹⁸⁹ Dies entspricht einer Sicherheit von 99,7% mit der ein Signal erkannt wird, und ergibt anhand der statistischen Berechnung einen Faktor von drei.

Eine weitere wichtige analytische Gütezahl stellt die Untergrundäquivalenzkonzentration (c_{BEC}) dar. Sie beschreibt welcher Messuntergrund einer bestimmten Spezieskonzentration entspricht und ergibt sich aus der Kalibrierfunktion wie folgt:

$$c_{BEC} = \frac{x_B}{m} \quad (27)$$

In dieser Gleichung stellt x_B das Signal des Blindwertes und m die Steigung der Kalibrierfunktion dar. Die Empfindlichkeit einer analytischen Methode als analytische Gütezahl kann immer dann direkt verglichen werden, wenn die beiden zu vergleichenden Messsysteme Ergebnisse in den gleichen physikalischen Einheiten liefern.

Die Richtigkeit einer Messung gibt an, wie weit diese vom wahren Wert abweicht. Da der wahre Wert nicht bekannt ist, wird angenommen, dass der Mittelwert vieler Messungen an der gleichen Probe dem wahren Wert am nächsten kommt. Die Wiederholpräzision gibt an, inwieweit wiederholte Messungen, welche unter gleichen Bedingungen durchgeführt wurden, voneinander abweichen. Statistisch gesehen, wird die Wiederholpräzision durch die Standardabweichung σ beschrieben.

Als letzte analytische Gütezahl ist die Selektivität zu nennen. Diese lässt sich nicht direkt in Zahlen ausdrücken, ist jedoch ebenfalls charakteristisch für eine Untersuchungsmethode. Mit der Selektivität wird beschrieben, inwiefern die verwendete analytische Methode nahezu ausschließlich den gewünschten Analyten erfasst und andere Spezies, die ebenfalls in der Probe vorhanden sind, dessen Bestimmung nicht verfälschen.

2.7.2 Statistik

Eine analytische Messung sollte immer mehrfach durchgeführt werden, um aus den Messdaten das arithmetische Mittel (\bar{x}), welches auch Mittelwert genannt wird, bestimmen zu können. Dieser ist nach folgender Gleichung gegeben:

$$\mu = \frac{\sum_i^n x_i}{n} \quad (28)$$

Hierbei stellt μ der Mittelwert, x_i die einzelnen Messwerte der durchgeführten Analyse dar und n die Anzahl der Wiederholungsmessungen. Für die Standardabweichung ist die nachfolgende Gleichung (29) gültig:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_i^n (x_i - \mu)^2}{n - 1}} \quad (29)$$

Wobei in dieser Formel x_i für die einzelnen Messwerte, μ für den Mittelwert der einzelnen Messwerte und $n-1$ für den Freiheitsgrad stehen.

Die statistische Verteilung um den erhaltenen Mittelwert kann durch eine Gauß'sche Normalverteilung beschrieben werden, welche in Abbildung 21 dargestellt ist. Je größer σ ist, desto breiter wird die Verteilung der Kurve.^{101,126}

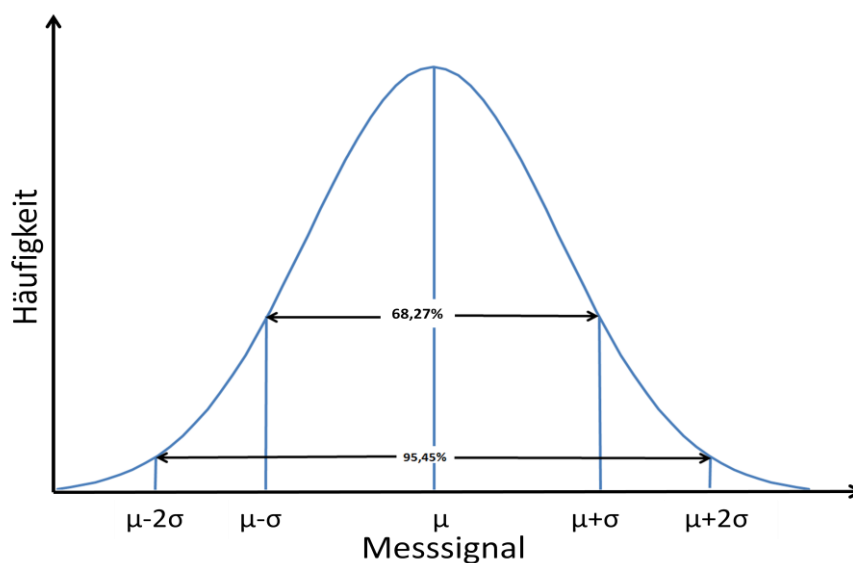


Abbildung 21: Gauß'sche Normalverteilung

Sofern nicht anders angegeben wurden alle in dieser Arbeit durchgeführten Messungen jeweils drei Mal durchgeführt und hieraus sowohl der Mittelwert, sowie die Standardabweichung nach den oben aufgeführten Gleichungen (28) und (29) berechnet.

Werden für die Berechnung eines Wertes z mehrere fehlerbehaftete Größen x_i verwendet, so setzt sich der resultierende Fehler für z (Δz) aus den Fehlern der Einzelgrößen Δx_i wie folgt zusammen^{144,174}:

$$\Delta z = \sqrt{\sum_i^n \left(\frac{\partial z}{\partial x_i} \Delta x_i \right)^2} \quad (30)$$

Die obige Formel (30) ist ebenfalls unter dem Namen der Gauß'schen Fehlerfortpflanzung bekannt.

2.7.3 Unsicherheit von Konzentrationsangaben

Für die Betrachtung der Unsicherheit einer Quantifizierung wurde die kombinierte Unsicherheit (u_c) des Messergebnisses aus der Standardabweichung der Wiederholungsmessungen (σ) sowie die Unsicherheiten der zur Umrechnung des Messsignals in die entsprechende Konzentration verwendeten Kalibrierfunktion genutzt. Alle Einzelbeträge wurden dann nach der Gauß'schen Fehlerfortpflanzung zur Ermittlung der Unsicherheit der Konzentrationsangabe zusammengefasst. Für die Prüfung der Übereinstimmung eines durch einer Messung ermittelten Konzentrationswertes mit einer Referenzangabe wurde zunächst die kombinierte Unsicherheit u_c ermittelt (vgl. Gleichung (31)). Diese setzt sich aus der Quadratsumme der Unsicherheit des Mess- (u_m) und des Referenzwertes (u_r) zusammen. Anschließend wird die erweiterte Unsicherheit U einer Bestimmung aus der kombinierten Unsicherheit u_c und einem Erweiterungsfaktor $k=2$ berechnet.

$$u_c = \sqrt{u_m^2 + u_r^2} \quad (31)$$

$$U = k u_c \quad (32)$$

Mess- und Referenzwert stimmen dann miteinander überein, wenn die Differenz aus Mess- und Referenzwert kleiner oder gleich der kombinierten Unsicherheit U ist.

2.7.4 Kalibriermethoden

In der analytischen Chemie handelt es sich bei den meisten instrumentellen Methoden um Relativmethoden.¹²⁶ Daher ist eine geeignete Kalibriermethode essentiell für die Bestimmung der jeweiligen Analytkonzentration in der zu untersuchenden Probe. Kalibrierungen müssen regelmäßig, je nach analytischer Fragestellung, mit neu angesetzten Kalibrierlösungen wiederholt werden, um Schwankungen durch äußere Einflüsse entgegen zu wirken. Je nach verwendetem Gerät und Art der Probe kann zwischen verschiedenen Kalibriermethoden gewählt werden, wobei in dieser Arbeit nur auf die drei häufigsten verwendeten eingegangen werden soll.

Die externe Kalibrierung

Die externe Kalibrierung stellt hierbei die am häufigsten verwendete Kalibriermethode dar. Hierbei werden vom Analyten verschieden konzentrierte Lösungen mit bekannter Analytkonzentration hergestellt, die als Standardproben dienen. Sie werden nach aufsteigender Konzentration analysiert und durch Auftragung der bekannten Analytkonzentration gegen das resultierende Messsignal wird eine Kalibrierfunktion ermittelt. Die Probe wird anschließend unter denselben Bedingungen, wie die Standards analysiert und durch Umstellen der Kalibrierfunktion die resultierende Analytkonzentration in der Probe ermittelt. Die Kalibrierung mit externen Standardlösungen wird bevorzugt verwendet, wenn viele Proben mit ähnlicher Matrix analysiert werden sollen und Standardlösungen mit ähnlichen Eigenschaften der Probenmatrix vorhanden sind oder Matrixeffekte aufgrund des Analyten und der Probenmatrix ausgeschlossen werden können. Durch eine Anpassung der Kalibrierproben an die Probenmatrix können durch Verwendung der externen Kalibrierung ebenfalls Matrixeffekte reduziert werden.^{144,169}

Der Interner Standard

Wenn Verluste von Probenbestandteilen sowie andere systematische Fehler während der Probenvorbereitung oder der Analyse zu erwarten sind, wird die Anwendung eines Internen Standards notwendig.

Die Substanz, die als Interner Standard Verwendung findet, sollte eine probenfremde Komponente sein, die dem Analyten chemisch und physikalisch ähnlich ist, sodass dieser sich im ICP ähnlich dem Analyten verhält. Zusätzlich sollte der Interne Standard bei Verwendung der ICP-MS ein dem Analyten ähnliches m/z -Verhältnis und eine ähnliche erste Ionisierungsenergie besitzen. *Al-Ammar et al.* schlägt als Internen Standard für die Quantifizierung von Bor mittels ICP-MS Beryllium vor, da es eine ähnliche erste Ionisierungsenergie aufweist und mit einem m/z -Verhältnis von 9 eine ähnliche Masse wie Bor ($m/z = 10$ bzw. 11) aufweist.^{191,192} Bei Verwendung in der ICP-OES sollte der Interne Standard eine dem Analyten ähnliche Anregungsenergie besitzen, was sich in der zu beobachteten Wellenlänge niederschlägt. Der Interne Standard wird in bekannter und fester Konzentration zu jeder Probe und jedem Kalibrierstandard hinzugefügt und dient so als relative Bezugsgröße. Der Interne Standard kann Auskünfte über vorliegende Matrixinterferenzen oder andere Störungen geben. Dies ist der Fall, falls die Signale von Internem Standard und Analyt in gleichem Maße steigen. Steigt hingegen das Signal des Analyten und das Signal des Internen Standards hingegen nicht, liegen keine Störungen aufgrund der Probenmatrix vor. Eine weitere Aufgabe des Internen Standards ist das Aufdecken von Analytverlusten während der Probenvorbereitung. Wird der Interne Standard schon am Anfang der Probenvorbereitung zur Probe hinzugegeben, kann er systematische Fehler aufdecken. Systematische Fehler liegen vor, falls das Signal des Internen Standards während der Analyse beispielsweise nur bei vereinzelt Proben sinkt. Desweiteren ist bei Verwendung eines Internen Standards eine halbquantitative Bestimmung möglich.¹²⁶

Die Standardaddition

Für die Standardaddition wird die Probe in mehrere Aliquote aufgeteilt und mit jeweils verschiedenen bekannten Mengen eines Standards versetzt, wobei die verschiedenen Aliquote auf dasselbe Endvolumen aufgefüllt werden. Die einzelnen Probenaliquote werden mit aufsteigender Standardzugabe analysiert und die detektierten Signale gegen die zugegebene Standardkonzentration aufgetragen. Der Betrag des Schnittpunktes der Kalibrierfunktion mit der Abszisse entspricht hierbei der Analytkonzentration in der Probe. Da die Probenmatrix in jeder Probe enthalten ist, können durch die Verwendung der Standardadditionsmethode eventuell auftretende Matrixeffekte eliminiert werden. Als Nachteil der Standardaddition ist der relativ hohe Probenverbrauch, der aus den verschiedenen Probenaliquoten herrührt und der hohe Arbeitsaufwand zu nennen, da für jede Probe eine neue Kalibrierfunktion aufgenommen werden muss.^{144,169}

3 Experimenteller Teil

Das vorliegende Kapitel ist in vier Unterkapitel aufgeteilt, wobei sich das erste mit den verwendeten Geräten und Chemikalien befasst. Hier werden alle in dieser Arbeit verwendete Geräte, deren Gerätehersteller und genaue Bezeichnungen sowie die H- und P-Sätze der verwendeten Chemikalien aufgelistet. In dem darauf folgenden Unterkapitel wird ein ausführlicher Zerstäuber und Sprühkammervergleich am ICP-MS sowie am ICP-OES vorgestellt. Dieser ist wichtig, da in der BNCT nur ein begrenztes Probenvolumen vorliegt und so ein Zerstäuber für das ICP-MS sowie ICP-OES gefunden werden muss, welcher in einem geeigneten Probenflussratenbereich arbeitet sowie eine ausreichende Empfindlichkeit für Bor erzielt wird. Wie schon in Kapitel 2.3.1 erläutert werden Zerstäuber, welche nicht im *total consumption mode* arbeiten immer mit Sprühkammern kombiniert, wobei Zerstäuber und Sprühkammer immer eine feste Einheit bilden. Das bedeutet, dass nicht jeder Zerstäuber mit jeder Sprühkammer gleich effizient arbeitet. Da Bor eine hohe Affinität zur Adsorption an Glasoberflächen besitzt (Memory-Effekt) wurden hier bevorzugt Zerstäuber verwendet, welche aus PTFE oder PEEK gefertigt sind.¹⁹³ Das dritte Unterkapitel befasst sich mit der Entwicklung einer geeigneten Reinigungslösung um Bor möglichst effizient und schnell aus dem Probenzuführungssystem zu entfernen und so einen höheren Probendurchsatz zu ermöglichen. Hier wurde mit einem konzentrischen Glaszerstäuber in Kombination mit einer Glaszyklonsprühkammer mit der Fließinjektion gearbeitet und durch Aufzeichnung eines transienten Signals die Zeit bestimmt, welche benötigt wird um nach Injektion von 50 µL einer 100 µg/L ¹⁰B Lösung für die ICP-MS und 50 µL einer 1000 µg/L Borstandardlösung am ICP-OES wieder zum Untergrundsignal zurück zukehren. Im letzten Unterkapitel dieses Abschnittes, welches das Hauptthema der vorliegenden Arbeit darstellt, wird die Quantifizierung von Bor, welches sowohl als Borsäure, BPA und BSH vorliegt, in Vollblut untersucht. Hier wurden verschiedene Kalibrierstrategien, wie die externe Kalibrierung, die Online-Standardaddition sowie die externe Online- Kalibrierung angewendet und die erzielten Wiederfindungsraten in Bezug zur Analysezeit, welche bei der klinischen Anwendung der BNCT von großer Wichtigkeit ist, miteinander verglichen.

3.1 Verwendetes Instrumentarium

In diesem Abschnitt sollen alle in dieser Arbeit verwendeten Gerätschaften mit genauer Bezeichnung und deren Herstellern sowie die verwendeten Chemikalien und deren H- und P-Sätze aufgelistet werden.

3.1.1 Verwendete Geräte

In der vorliegenden Arbeit wurde ein ICP-QMS HP4500 der Firma Hewlett Packard (jetzt Agilent Technologies (Santa Clara; USA)) mit ShieldTorch SystemTM verwendet. Das System wurde jeweils vor Beginn der Experimente sowie bei Variation der Probenflussrate bzw. Austausch des Zerstäubers/der Sprühkammer neu für den Massenbereich von Bor ($m/z=10$ bzw. 11) optimiert. Hierbei wurde sowohl auf ein möglichst hohes Signal/Untergrundverhältnis, einen möglichst niedrigen RSD (<2,5%), sowie möglichst niedrige Oxidrate und Raten an zweifachionisierten Ionen (jeweils <2%, vgl. Kapitel 2.5.5) geachtet. Als Arbeitsgas wurde Argon mit einer Reinheit von 99,996% verwendet. In der nachfolgenden Tabelle sind die Betriebsparameter des HP4500 ICP-MS wiedergegeben.

Tabelle 3: Optimale Betriebsparameter des HP 4500 ICP-QMS

ICP		Linsen	Quadrupol/Datenaquisition
RF-Leistung:	1300 W	Extract 1: -150 V	Integrationszeit: 100 ms
Plasmagas:	15 L/min	Extract 2: -38 V	
Hilfsgas:	0,9 L/min	Einzel 1,3: -138 V	
Zerstäubergas:	0,70-1,10 L/min	Einzel 2: 7 V	
Zusatzgas:	0-0,30 L/min		
Beobachtungstiefe:	5,5-7,3 mm		

Weiterhin wurden zwei verschiedene Atomemissionsspektrometer mit dem induktiv gekoppelten Plasma (JY 238 Ultrace und Activa) der Firma Horiba Jobin Yvon GmbH (Longjumeau Cedex, Frankreich) verwendet. In der nachfolgenden Tabelle werden die Eigenschaften der beiden verwendeten Atomemissionsspektrometer aufgezeigt.

Tabelle 4: Vergleich der beiden verwendeten ICP-OES Spektrometer

	JY 238 Ultrace¹⁹⁴	Activa¹⁹⁵
Wellenlängenbereich	120-800 nm	165-800 nm
Generator	Frequenzstabilisiert	Frequenzstabilisiert
Generatorfrequenz	40,68 MHz	40,68 MHz
RF-Leistung (maximal)	2600 W	2600 W
Monochromator	1 m Czerny-Turner	640 mm Czerny-Turner
Gitter	110 x 110 mm; 2400 g/mm in 1. und 2. Ordnung	80 x 110 mm; 3600 g/mm in 1. Ordnung (160-510 nm) und 2400 g/mm in 2. Ordnung (160-800 nm)
Detektor	Photomultiplier	2048 x 512 Pixel back- illuminated CCD
Steuersoftware	ActivAnalyst V.5.2	ActivAnalyst V.5.4

Arbeitstäglich wurden die Betriebsparameter des ICP-Emissionsspektrometers für die Atomlinie B(I) 249,773 nm im transienten Betriebsmodus optimiert, wobei sich die Betriebsparameter der beiden verwendeten Spektrometer nicht stark voneinander unterschieden. Bei der Optimierung wurde sowohl auf das Signal/Untergrundverhältnis der Atomlinie B(I) 249,773 nm, einen möglichst niedrigen RSD (<2%), sowie auf eine ausreichende Plasmarobustheit (Verhältnis Mg(II) 280,270 nm/Mg(I) 285,213 nm ≥ 10 ; vgl. Kapitel 2.6.5) geachtet. In der nachfolgenden Tabelle sind die hierzu ermittelten Betriebsbedingungen der beiden verwendeten Emissionsspektrometer aufgelistet.

Tabelle 5: Optimale Betriebsparameter der beiden verwendeten Emissionsspektrometer JY 238 Ultrace und Activa der Firma Horiba Jobin Yvon

Parameter	JY 238 Ultrace	Activa
RF-Leistung	1240 W	1250 W
Beobachtungsweise	Radial	Radial
Plasmagas	12 L/min	12 L/min
Hilfsgas	0 L/min	0 L/min
Zerstäubergas	0,95-1,30 L/min	0,90-1,10 L/min
Hüllgas	0,1-0,3 L/min	0,2 L/min
Integrationszeit	100 ms	100 ms
Verstärkung	-990 V	-

Da in dieser Arbeit verschiedene Zerstäuber, welche aufgrund des sehr ausgeprägten Memory-Effektes von Bor bevorzugt aus Polymeren gefertigt sind, auf die erzielbare Empfindlichkeit für Bor untersucht wurden, sollen in Tabelle 6 alle verwendeten Zerstäuber, sowie deren optimalen Probenflussratenbereich und der Innendurchmesser der probenführenden Kapillare genannt werden. Dieser Innendurchmesser ist von großer Bedeutung für die klinische Anwendung der BNCT, da kleinere Kapillarinnendurchmesser ein Verstopfen des Zerstäubers bei Verwendung von Vollblut wahrscheinlicher machen.

Tabelle 6: Verwendete Zerstäuber in Verbindung mit der ICP-MS und ICP-OES

Name	Zerstäuberart	Material	ID_{Probenkapillare}	Probenflussrate	Hersteller
EnyaMist	Parallelpfad	PTFE	60 µm	0,2-50 µL/min	Burgener Research, Mississauga, Kanada
MircoMist	Konzentrisch	Quarz	80 µm	0,2 mL/min	Glasexpansion, Melbourne, Australien
PFA250	Parallelpfad	PFA	250 µm	0,050-1,0 mL/min	Burgener Research, Mississauga, Kanada
Meinhardzerstäuber	Konzentrisch	Borosilikat	280 µm	1,0 mL/min	Glasexpansion, Melbourne, Australien
MiraMist	Parallelpfad	PEEK	500 µm	0,2-2,5 mL/min	Burgener Research, Mississauga, Kanada
OneNeb	Flow-Blurring	PTFE	500 µm	0,005-2,0 mL/min	Agilent Technologies; Santa Clara; USA

Die oben aufgelisteten Zerstäuber wurden in Kombination mit verschiedenen Sprühkammern hinsichtlich der erzielbaren Empfindlichkeit für Bor untersucht. Die untersuchten Zerstäuber- und Sprühkammern sind in der nachfolgenden Tabelle aufgelistet.

Tabelle 7: Verwendete Sprühkammern in Verbindung mit der ICP-MS und ICP-OES

Name	Material	Innenvolumen	Hersteller
Glaszyklonkammer mit Anschluss für Zusatzgas	Borosilikat	15 mL	Glasexpansion, Melbourne, Australien
Glaszyklonkammer	Borosilikat	40 mL	Glasexpansion, Melbourne, Australien
Zyklonkammer "Tracey TFE" für Mircromass	TFE	50 mL	Glasexpansion, Melbourne, Australien
PFA Zykonsprühkammer mit Tauchrohr	PFA	50 mL	Savillex, Eden Prairie, USA

Für die vorliegende Arbeit wurden noch diverse andere Gerätschaften wie beispielsweise peristaltische Schlauchpumpen und Spritzen zur Probenzuführung verwendet, die in Tabelle 8 näher aufgelistet werden.

Tabelle 8: Verwendetes Instrumentarium für die Probenvorbereitung sowie für die Probenzuführung

Gerät	Beschreibung	Hersteller
Peristaltische Pumpe	Minipuls 3	Gilson Inc., Middleton, USA
Einkanalspritzenpumpe	Modelnummer: 78-9100I	Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA
Pumpenschläuche	Grün/orange: ID 0,381 mm Gelb/orange: ID 0,508 mm Violett/violett: ID 2,057 mm	Spetec GmbH Erding, Deutschland
Spritzen	Series 1000 GASTIGHT® Volumen: 0,5 mL, 1,0 mL, 5,0 mL und 10 mL	Hamilton CO., Reno, USA
PP-Kolben	10±0,08 mL, 25±0,08 mL, 50±0,12 mL, 100±0,20 mL, 250±0,30 mL bei 20°C	Vitlab, Großostheim, Deutschland
Spritzenvorsatzfilter	Porengröße: 0,45 µm	Rotilabo®-Spritzenfilter
Mikrowellenaufschluss- gerät	Milestone MLS Ethos Plus	MLS GmbH, Leutkirch, Deutschland
Thermostat	HAAKE K15 und HAAKE C10	PSL Systemtechnik GmbH, Osterode am Harz, Deutschland

3.1.2 Verwendete Chemikalien

In diesem Abschnitt werden alle verwendeten Chemikalien sowie deren Gefährdungs- und Sicherheitshinweise (H- und P-Sätze) aufgeführt.

Tabelle 9: Verwendete Standardlösungen, Chemikalien und Gase

	Hersteller	H- Sätze	P-Sätze
Be ($\text{Be}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2$), 1000±2 mg/L in 2% HNO_3	Merck,	H: 350-330-301-	P: 201-260-273-
	Darmstadt,	372-319-335-	280-284-
	Deutschland	315-317-411	301+310
B (H_3BO_3), 1000±2 mg/L in H_2O	Merck,	H: 360	P: 201-308+312
	Darmstadt,		
	Deutschland		
ICP-Standards			
Mg 1000±2 mg/L in 2% HNO_3	Merck,	Keine	Keine
	Darmstadt,		
	Deutschland		
Ce 1000±2 mg/L in 2-3% HNO_3	Merck,	H: 272-302-315-	P: 220-261-
	Darmstadt,	319-335	305+351+338
	Deutschland		
HNO_3 , 66% (p.a.)	Sigma Aldrich,	H: 272-314	P: 2280-280-
	München,		305+351+338-
	Deutschland		310
H_3PO_4 , >85% (p.a.)	Sigma Aldrich,	H: 314-290	P: 280-
	München,		301+330+331-
	Deutschland		305+351+338-
Chemikalien			
1-Butanol	Sigma Aldrich,	H: 226-302-318-	P: 280-302+332-
	München,	315-333-336	305+351+338-
	Deutschland		313

	Hersteller	H- Sätze	P-Sätze
	NH ₄ OH, 28-30%	Sigma Aldrich, München, Deutschland	H:314-400 P: 273-280- 305+351+338- 309+310
	Triton X-100, 25%	Sigma Aldrich, München, Deutschland	H: 302-318-411 P: 273-280- 305+351+338
	BPA, zu 99,999% ¹⁰ B angereicht	Hammercap, Medical AB, Stockholm, Schweden	Keine Keine
Chemikalien	BSH, natürliches Bor	Katchem Ltd., Praha, Tschechien	Keine Keine
	D-Mannitol, ≥98%	Sigma Aldrich, München, Deutschland	Keine Keine
	CuSO ₄ (p.a.)	Sigma Aldrich, München, Deutschland	H: 302-319-315- 410 P: 273- 305+351+338- 302+352
	CaCO ₃	Sigma Aldrich, München, Deutschland	Keine Keine
	NaCl (p.a.)	Merck, Darmstadt, Deutschland	Keine Keine

Experimenteller Teil

	Hersteller	H- Sätze	P-Sätze
Chemikalien	FeSO ₄ •7H ₂ O	Merck, Darmstadt, Deutschland	H: 302-319-315
	EDTA, 94-100%	Sigma Aldrich, München, Deutschland	H: 319
Gas	Argon, 99,996% Reinheit	Westfalen, Münster, Deutschland	H: 280

3.2 Vergleich verschiedener Zerstäuber- und Sprühkammer-Systeme

Dieses Kapitel befasst sich mit dem Vergleich verschiedener Zerstäuber/Sprühkammerkombinationen, welche sowohl am ICP-MS als auch am ICP-OES hinsichtlich ihrer erzielbaren Empfindlichkeit für Bor in wässrigen Proben untersucht wurden. Das vorliegende Kapitel gliedert sich in drei Abschnitte. Im ersten Unterkapitel werden die in dieser Arbeit untersuchten Zerstäuber/Sprühkammern hinsichtlich der erzielbaren Empfindlichkeit für die Detektion von Bor am ICP-MS vorgestellt. Im anschließenden Unterkapitel werden die Untersuchungen am ICP-OES beschrieben wobei im letzten Abschnitt alle Ergebnisse aus den vorhergehenden Unterkapiteln zusammengefasst und Schlussfolgerungen gezogen werden.

Da der bestmögliche Bestrahlungszeitpunkt sowie die resultierende Strahlendosis für den Patienten durch die Borkonzentration, welche nur im Vollblut zugänglich ist, bestimmt wird, ist es nötig eine Quantifizierungsmethode für Bor in Vollblut zu finden, welche möglichst schnell und präzise arbeitet sowie in einer Klinik durchführbar sein sollte (vgl. Kapitel 2.1).¹ Hier eignen sich vor allem die Elementmassenspektrometrie und die Atomemissionsspektroskopie mit dem induktiv gekoppelten Plasma. In beiden Fällen wird mittels eines Zerstäubers die flüssige Probe in ein feines Aerosol überführt. Daher werden in diesem Kapitel mögliche Zerstäuber/Sprühkammerkombinationen sowohl am ICP-MS also auch am ICP-OES hinsichtlich ihrer erzielbaren Empfindlichkeiten für Bor, sowie der Rate an doppelt geladenen Ionen und der Oxidrate (ICP-MS) und die Plasmarobustheit nach *Mermet*¹⁶² (ICP-OES) verglichen. Aufgrund der Tatsache, dass Bor eine hohe Affinität zur Adsorption an Glasoberflächen aufweist (Memory-Effekt), wurden in der vorliegenden Arbeit bevorzugt Zerstäuber verwendet, welche aus Kunststoffen wie beispielsweise PTFE, PEEK und PFA gefertigt sind.^{70,129} Wie bereits in Kapitel 2.3.1 näher erläutert, wirken Zerstäuber- und Sprühkammern als aerodynamische Filter. Diese Eigenschaft ist nicht nur auf die Geometrie der Sprühkammer zurückzuführen, sondern auch auf die Wechselwirkung des primären Aerosols mit der Sprühkammerwand (vgl. Abbildung 8). Daher ist das Material, aus welchem die Zerstäuber- und Sprühkammer gefertigt ist ebenfalls relevant für die Filterung des Aerosols und damit einhergehend für das resultierende Analytsignal. Kommerziell sind vor allem Sprühkammern, welche aus Glas gefertigt sind, für verschiedene Innenvolumina zugänglich. Dahingegen sind Sprühkammern, welche aus Polymer gefertigt sind, nur wenige auf dem Markt verfügbar. Dies ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, dass Polymere eine hydrophobe Oberfläche aufweisen, welche zu einer schlechteren Wechselwirkung der meist wässrigen Proben in der Plasmaspektrometrie führt. Daher werden Sprühkammern, welche aus

Polymer gefertigt sind, häufig oberflächenbeschichtet oder -behandelt.¹⁰⁵ Diese Beschichtung lässt das Sprühkammermaterial hydrophiler werden, wodurch eine bessere Wechselwirkung des Aerosols mit der Sprühkammerwand resultiert. Die Oberflächenbeschichtung /-behandlung besitzt jedoch nur eine begrenzte Lebensdauer, sodass die Sprühkammer entweder vom Hersteller regelmäßig neu behandelt oder eine neue Sprühkammer erworben werden muss. Aufgrund der Tatsache, dass Sprühkammern, welche aus Polymer gefertigt sind, im Vergleich zu Gassprühkammern, in der Anschaffung teurer sind und nur eine begrenzte Lebensdauer aufweisen, wurden in der vorliegenden Arbeit sowohl Sprühkammern aus Glas sowie aus Polymeren verwendet. Um die Auswaschzeiten für Bor trotz des Memory-Effektes gering zu halten, wurden ausschließlich Zykloprühkammern verwendet, da diese ein kleineres Innenvolumen aufweisen als Doppelpass-Sprühkammern nach Scott¹⁰⁵.

3.2.1 Detektion mittels ICP-MS

Für den Zerstäuber/Sprühkammervergleich am ICP-MS wurde durch Verdünnung des Bor ICP-Standards eine Stammlösung der Konzentration 100 mg/L Bor in 2% Salpetersäure hergestellt. Das gleiche Vorgehen wurde mit dem Beryllium ICP-Standard durchgeführt. Durch Verdünnung der Bor-Stammlösung wurden Konzentrationen von 10, 25, 50, 100 und 200 µg/L Bor hergestellt, wobei diese Lösungen ebenfalls mit 2% Salpetersäure zur Stabilisierung versetzt wurden. Zu jeder der fünf Kalibrationsproben wurden 50 µg/L Beryllium als Interner Standard hinzugefügt.¹⁹⁶ Um eine Untergrundkorrektur durchführen zu können wurde eine Blindprobe, welche 2% Salpetersäure und 50 µg/L Beryllium enthielt, ebenfalls analysiert und die hieraus erhaltenen Intensitäten für ¹⁰B und ¹¹B von den Kalibrationsproben subtrahiert. Das HP4500 ICP-MS wurde mittels einer Lösung bestehend aus 10 µg/L B (natürliches Isotopenverhältnis), Be und Ce auf höchstes Signal/Untergrundverhältnis und eine möglichst niedrige relative Standardabweichung (RSD ≤ 2,5%) für ⁹Be, ¹⁰B und ¹¹B optimiert, wobei die Oxidrate und die Rate an doppelt geladenen Ionen (vgl. Kapitel 2.5.5) ebenfalls so gering wie möglich (≤ 2,5%) gehalten wurde. Da die meisten der in dieser Arbeit untersuchten Zerstäuber in einem breiten Probenflussratenbereich (von einigen µL/min bis hin zu mL/min) arbeiten, wurde die Probenflussrate für jeden Zerstäuber ebenfalls innerhalb der Herstellerangaben variiert und das ICP-MS nach jeder Variation der Probenflussrate auf höchstes Signal/Untergrundverhältnis und möglichst niedrigen RDS optimiert. Als Zerstäuber kammer diente am ICP-MS ausschließlich eine Zykloprühkammer aus Borosilikatglas mit einem Anschluss für eine Zusatzgasversorgung und einem Innenvolumen von 15 mL. Die Probenzuführung erfolgte stets mittels Einkanalsspritzenpumpe und GASTIGHT® Spitzen (1 bzw. 5 mL Volumen) um mögliche Pulsationen gerade bei niedrigen Probenflussraten zu verhindern und eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse

sicher stellen zu können. Es wurden insgesamt fünf verschiedene Zerstäuber mit drei unterschiedlichen Zerstäubungstechniken untersucht, auf die im Folgenden näher eingegangen werden soll.

Parallelpfad-Zerstäuber "PFA 250"

Der erst seit 2014 kommerziell erhältliche Parallelpfad-Zerstäuber "PFA 250" ist vollständig aus PFA gefertigt und somit für alle Proben (auch HF-haltige Proben) zugänglich. Dieser Zerstäuber ist für einen Probenflussratenbereich von 50 µL/min bis 1,00 mL/min unter Verwendung von 1,0 L/min Zerstäubergas optimiert und bevorzugt für den Einsatz in der Elementmassenspektrometrie mit dem Induktiv gekoppelten Plasma entwickelt worden. Der Innendurchmesser der probenführenden Kapillare beträgt bei diesem Zerstäuber 250 µm. Unter Verwendung dieses Zerstäubers wurden Kalibriergeraden bei unterschiedlichen Probenflussraten zur Ermittlung der Empfindlichkeiten für die Isotope ¹⁰B und ¹¹B ermittelt, wobei Beryllium als Interner Standard diente. In Abbildung 22 sind die ermittelten Empfindlichkeiten für Bor (m/z= 10 bzw. 11) in Abhängigkeit zur Probenflussrate dargestellt. Der angegebene Fehler ergibt sich hier aus den Standardabweichungen der einzelnen Messwerte, welche, wenn nicht anders angegeben, dreimal ermittelt wurden und anschließend einer linearen Regression unter Einbeziehung der Fehler unterzogen wurden.

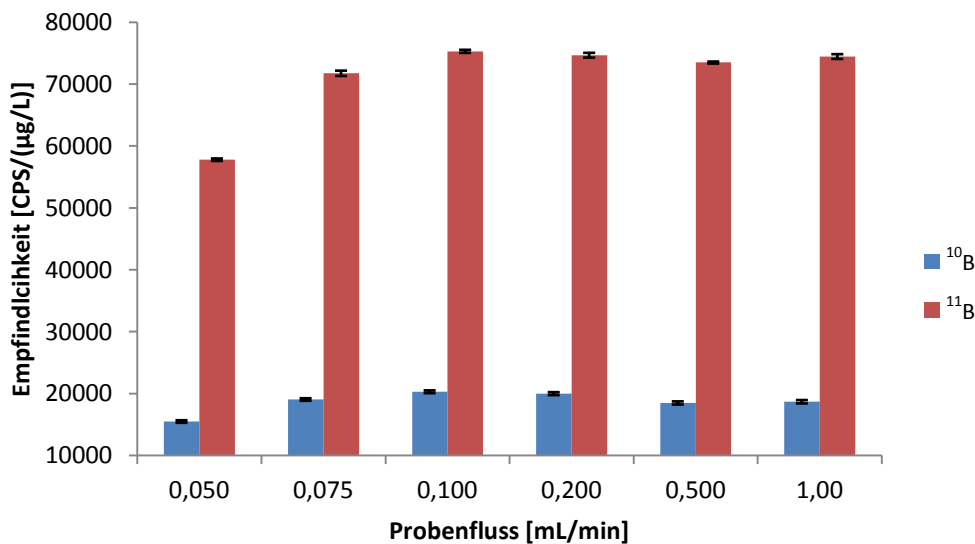


Abbildung 22: Erzielte Empfindlichkeiten für die Isotope ¹⁰B und ¹¹B unter Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "PFA250" bei unterschiedlichen Probenflussraten.

Es ist zu erkennen, dass die Empfindlichkeit der ICP-MS basierten Methode für beide Borisotope unter Verwendung des "PFA 250" Parallelpfad-Zerstäubers mit Erhöhung der Probenflussrate zuerst ansteigt und ab einer Probenflussrate von 0,100 mL/min ein Empfindlichkeitsplateau für Bor erreicht wird. Die erzielten Empfindlichkeiten für die beiden Isotope ^{10}B und ^{11}B stehen im Einklang mit deren natürlicher Häufigkeit (ca. 80,1% ^{11}B und 19,9% ^{10}B).⁶² Die ermittelte Oxidrate lag bei Verwendung dieses Zerstäubers im Bereich von 1,5-2,0% und die Rate an doppelt geladenen Ionen im Bereich von 1,3-2,1%.

Flow-Blurring-Zerstäuber "OneNeb"

Der "OneNeb" Zerstäuber ist ein Zerstäuber der die Flow Blurring Technik zur Zerstäubung nutzt (vgl. Kapitel 2.3.1). Dieser seit 2009 kommerziell erhältliche Zerstäuber ist für einen Probenflussratenbereich von 0,005-2,00 mL/min bei einem Zerstäubergasfluss von 1 L/min optimiert. Durch seinen sehr großen Probenflussratenbereich ist dieser Zerstäuber für den Einsatz in der Elementmassenspektrometrie sowie der Atomemissionsspektroskopie mit dem induktiv gekoppelten Plasma geeignet. Dieser Zerstäuber ist vollständig aus PTFE gefertigt und weist eine probenführende Kapillare mit einem Innendurchmesser von 500 μm auf. Dieser im Vergleich zum Parallelpfad-Zerstäuber "PFA 250" vergrößerte Innendurchmesser der probenführenden Kapillare reduziert das Risiko eines möglichen Verstopfens bei Verwendung von Vollblut, wie es in der klinischen Anwendung der BNCT der Fall ist. Eine weitere charakteristische Eigenschaft ist die Resistenz gegenüber Säuren und Basen, da er vollständig aus PTFE gefertigt ist und dieses Material nur von starken Reduktionsmitteln angegriffen wird.¹⁹⁷ Ebenfalls erzeugt dieser Zerstäuber ein Aerosol, welches laut Spezifikation des Herstellers kleinere Tropfen und somit eine engere Tropfengrößenverteilung (Maximum 10 μm ; Vergleich Meinhardzerstäuber $\approx 30 \mu\text{m}$) aufweist.¹⁹⁷ Dieser Zerstäuber wurde hinsichtlich seiner erzielbaren Empfindlichkeit für Bor am ICP-MS für Probenflussraten von 10 $\mu\text{L}/\text{min}$ bis hin zu 2,00 mL/min in Kombination mit der Glaszyklonsprühkammer, welche einen Anschluss für ein Zusatzgas aufweist, untersucht. In Abbildung 23 sind die erzielten Empfindlichkeiten für die beiden Isotope ^{10}B und ^{11}B in Abhängigkeit zur Probenflussrate unter Verwendung des "OneNeb" Zerstäubers dargestellt. Der angegebene Fehler ergibt sich hier ebenfalls aus den Standardabweichungen der einzelnen Messwerte, welche wenn nicht anders angegeben, dreimal ermittelt wurden und anschließender linearen Regression.

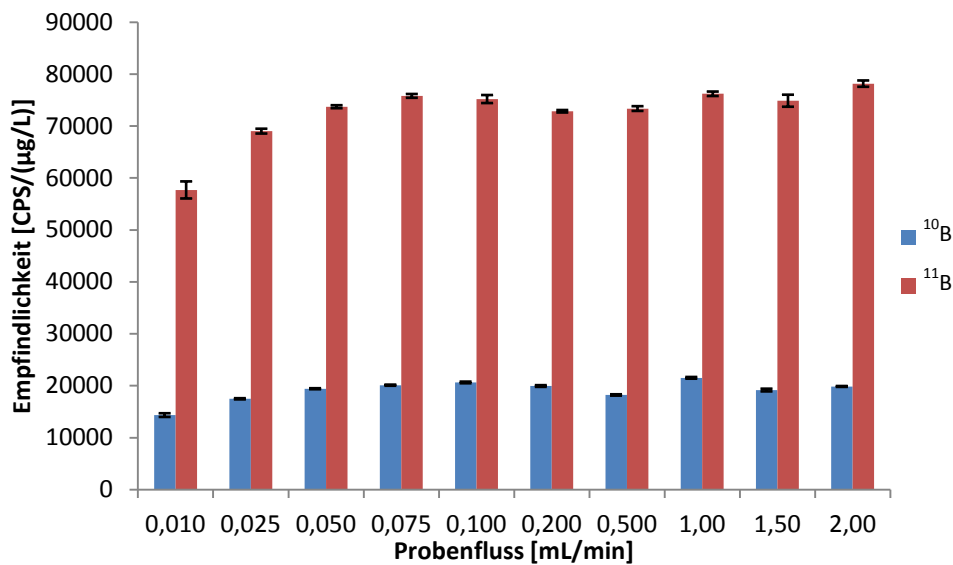


Abbildung 23: Erzielte Empfindlichkeiten der beiden Isotope ¹⁰B und ¹¹B unter Verwendung des Flow-Blurring-Zerstäubers "OneNeb" bei unterschiedlichen Probenflussraten.

Es ist zu erkennen, dass die Empfindlichkeit der beiden Isotope ¹⁰B und ¹¹B mit steigender Probenflussrate zunächst steigt und ein Empfindlichkeitsplateau ab einer Probenflussrate von 0,050 mL/min erreicht wird. Ebenfalls ist die Standardabweichung bzw. der Fehler der Empfindlichkeit für Bor bei der niedrigsten untersuchten Probenflussrate (0,010 mL/min) am größten. Hier ist ebenfalls die relative Standardabweichung bei der Geräteoptimierung bei ca. 4%, was auf die sehr niedrige Probenflussrate zurückzuführen ist. Weiterhin ist in Abbildung 23 zu erkennen, dass die maximal erzielbare Empfindlichkeit für ¹⁰B nur ca. 20% der Empfindlichkeit des ¹¹B entspricht. Dies ist auf die natürliche Häufigkeit der beiden Borisotope zurückzuführen.⁶² Bei Verwendung des "OneNeb" Zerstäubers in Kombination mit der Glaszyklonsprühkammer mit Zusatzgasanschluss beläuft sich die relative Standardabweichung bei der Geräteoptimierung auf ≤ 2,5%, bis auf die bereits oben erwähnte Ausnahme. Die Oxidrate beläuft sich jedoch auf einen Bereich von 3,0-4,5% und die Rate an doppelt geladenen Ionen lag abhängig von der Probenflussrate bei 3-5%. Dies kann auf die bereits oben erwähnte Tröpfchengrößenverteilung des "OneNeb" Zerstäubers zurückgeführt werden. Da dieser Zerstäuber laut Spezifikation des Herstellers ein feineres Aerosol erzeugt, als beispielsweise im Falle des "PFA 250" und das Aerosol eine schmalere Tröpfchengrößenverteilung aufweist, laufen die Prozesse im Plasma (Trocknung, Verdampfung, Atomisierung und Ionisierung) schneller ab, so dass es zur erhöhten doppelten Ionisation geeigneter Spezies kommen könnte.

Parallelpfad-Zerstäuber "MiraMist"

Der dritte in dieser Studie untersuchte Zerstäuber ist der Parallelpfad-Zerstäuber "MiraMist". Dieser ist aus PEEK gefertigt, wobei die Proben- und Zerstäubergaskapillare aus PTFE bestehen. Der Zerstäuber hat einen Innendurchmesser der probenführenden Kapillare von 500 μm und arbeitet in einem Probenflussratenbereich von 200 $\mu\text{L}/\text{min}$ bis 2,5 mL/min , womit er bevorzugt für die Anwendung in der ICP-OES geeignet ist. Der "MiraMist" ist nicht geeignet für Proben, welche konzentrierte Säuren oder organische Lösungsmittel enthalten. Aufgrund des recht großen Innendurchmessers der probenführenden Kapillare ist dieser Zerstäuber ebenfalls für Proben mit einem hohen Anteil an Partikeln geeignet, was ihn ebenfalls für die Anwendung zur Quantifizierung von Bor in Vollblut zugänglich macht.¹⁹⁸ Unter Verwendung dieses Zerstäubers in Kombination mit der Glaszyklonsprühkammer mit Zusatzgasanschluss wurden ebenfalls Kalibriergeraden der beiden Isotope ^{10}B und ^{11}B im Konzentrationsbereich von 10-200 $\mu\text{g}/\text{L}$ Bor erstellt und hieraus die Empfindlichkeiten der Methode für die Borisotope ermittelt, die in Abbildung 24 für die untersuchten Probenflussraten von 0,200-2,50 mL/min bei einer Zerstäubergasflussrate von 1,0 L/min dargestellt sind.

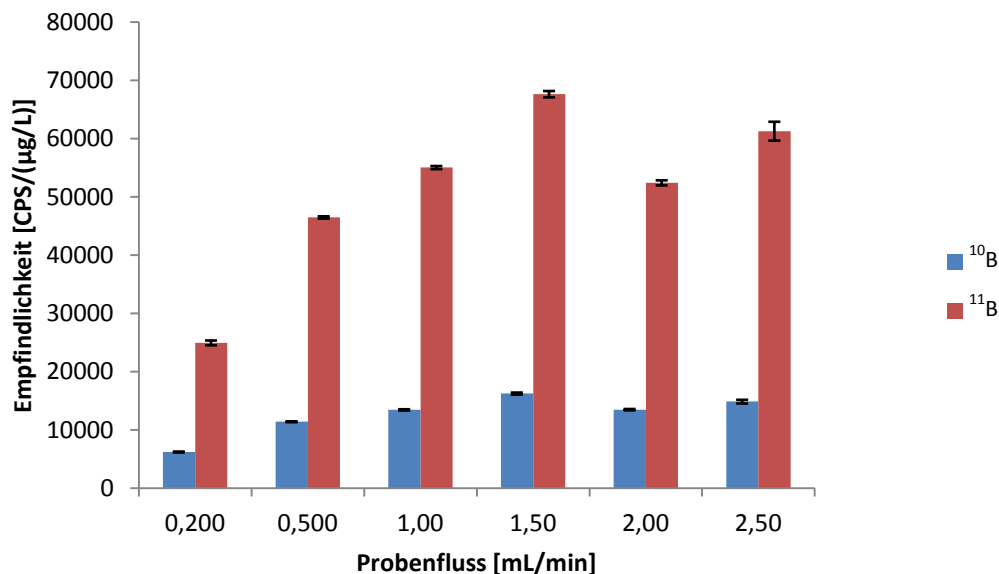


Abbildung 24: Erzielte Empfindlichkeiten der Isotope ^{10}B und ^{11}B unter Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "MiraMist" bei unterschiedlichen Probenflussraten.

Die Ergebnisse zeigen, dass für beide Borisotope die Empfindlichkeit unter Verwendung des "MiraMist" Zerstäubers mit zunehmender Probenflussrate zunimmt und ihr Maximum bei einer Probenflussrate von 1,50 mL/min erreicht wird. Mit weiterer Erhöhung der Probenflussrate sinkt die Empfindlichkeit für beide Isotope wieder ab. Das Absinken der Empfindlichkeiten für Bor bei Erhöhung der Probenflussrate < 2,00 mL/min lässt sich vermutlich auf eine Lösungsmittelüberladung (*Solvent load*) des Plasmas zurückzuführen. Hierbei steht weniger Energie für die Atomisierung und Ionisierung des Analyten zur Verfügung, was zu geringeren Empfindlichkeiten führt.

Das Isotop ^{11}B , welches zwar für die BNCT das nicht relevante Isotop darstellt, weist ein m/z-Verhältnis von 11 auf. Dieses wird durch unzureichende Auflösung der Masse 12 (m/z für ^{12}C) häufig interferiert. Daher wurde in Abbildung 25 die mit dem "MiraMist" erzielten Empfindlichkeiten für ^{10}B gegen die ermittelten Empfindlichkeiten der Methode für ^{11}B bei einer Probenflussrate von 0,200 mL/min aufgetragen, um mögliche Interferenzen zu ermitteln.⁷⁰ Es ist zu erkennen, dass die Auftragung linear ist und die Steigung der Geraden mit $y=1,0155x$ nahe der Steigung 1 ist. Daher können mögliche Interferenzen der Masse 12 (m/z für ^{12}C) auf die Masse 11 (m/z für ^{11}B) zumindest in wässriger Matrix ausgeschlossen werden.

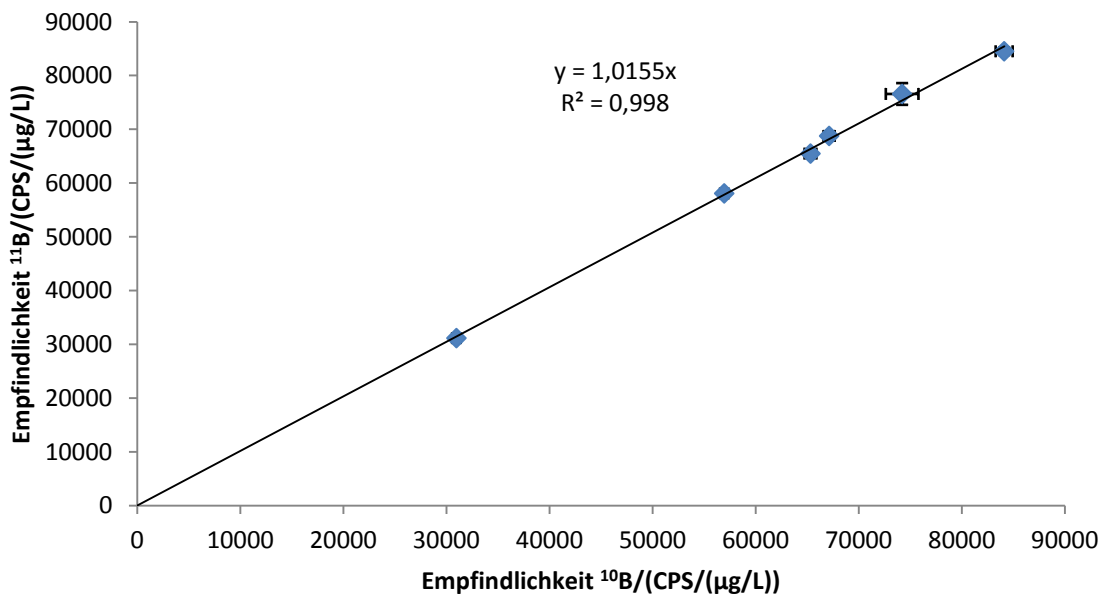


Abbildung 25: Auftragung der Empfindlichkeit für das Isotop ^{11}B gegen die Empfindlichkeit für das Isotop ^{10}B am Beispiel des Parallelpfad-Zerstäubers "MiraMist" bei einer Probenflussrate von 0,200 mL/min.

Parallelpfad-Zerstäuber "EnyaMist"

Der sogenannte "EnyaMist", welcher ein weiterer Parallelpfad-Zerstäuber darstellt, ist aus PTFE gefertigt. Die probenführende Kapillare ist aus PEEK gefertigt und weist einen Innendurchmesser von 60 μm auf. Da der "EnyaMist" aus PTFE bzw. PEEK gefertigt ist, ist er beständig gegen die in der anorganischen Spurenanalytik verwendeten Säuren und organische Lösungsmittel. Aufgrund des sehr geringen Innendurchmessers der probenführenden Kapillare ist der "EnyaMist" nicht für Proben mit hohem Partikelanteil geeignet und sollte zur Vermeidung von Verstopfungen der probenführenden Kapillare stets mit einem Spritzenvorsatzfilter mit geringer Porengröße (in dieser Arbeit 0,45 μm) betrieben werden. Der "EnyaMist" arbeitet in einem Probenflussratenbereich von 0,2-50 $\mu\text{L}/\text{min}$, wobei er im Probenflussratenbereich zwischen 0,2 $\mu\text{L}/\text{min}$ und 10 $\mu\text{L}/\text{min}$ als *total consumption* arbeitet, d.h. es wird nur eine Aerosoltransportkammer anstelle einer Zerstäuberkammer benötigt, da das in diesem Probenflussratenbereich erzeugte Aerosol sehr fein ist und zu 100% in das ICP überführt werden kann. Dies ermöglicht die Kopplung einer HPLC Einheit an das Elementmassenspektrometer mit induktiv gekoppeltem Plasma unter Verwendung des "EnyaMists".¹⁹⁸ Auch unter Verwendung dieses Zerstäubers wurden Kalibrierkurven im Konzentrationsbereich von 10-200 $\mu\text{g}/\text{L}$ Bor für beide Borisotope aufgenommen und so die Empfindlichkeit der ICP-MS basierten Methode unter Verwendung des "EnyaMist" Zerstäubers ermittelt.

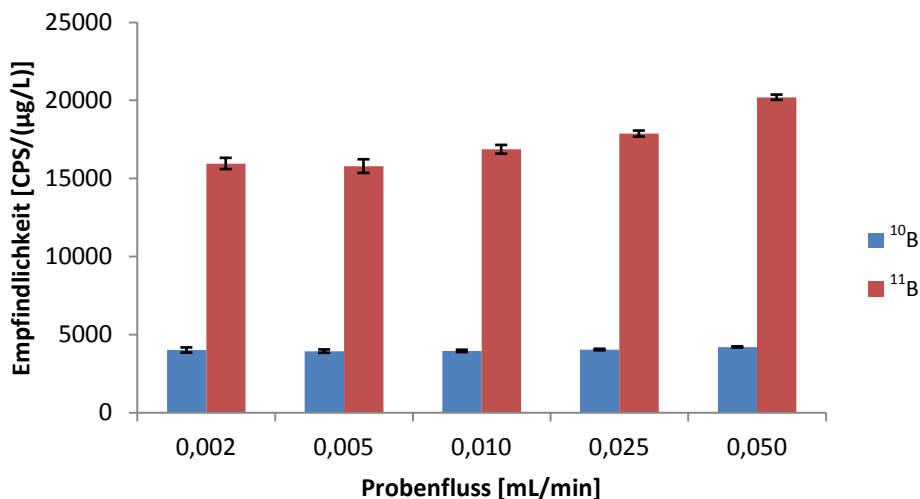


Abbildung 26: Erzielte Empfindlichkeiten für die Isotope ^{10}B und ^{11}B unter Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "EnyaMist" bei unterschiedlichen Probenflussraten.

In Abbildung 26 ist zu erkennen, dass die Empfindlichkeit der ICP-MS basierten Methode unter Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "EnyaMist" mit Erhöhung der Probenflussrate nur leicht ansteigt. Desweiteren ist ersichtlich, dass die Fehlerbalken in obiger Abbildung, welche sich aus der Standardabweichung der einzelnen Messwerte nach dreimaliger Ermittlung und anschließender linearer Regression ergeben, im Vergleich zu den anderen in dieser Arbeit untersuchten Zerstäubern größer sind. Dieses Verhalten ist auf die niedrigen Probenflussraten zurückzuführen, da die ermittelten Schwankungen der Empfindlichkeit für Bor mit Erhöhung der Probenflussrate abnehmen. Bei niedrigen Probenflussraten haben Schwankungen beispielsweise in der Zerstäubergaszufuhr oder im Aerosoltransport größere Auswirkungen auf das Analytsignal als bei höheren Probenflussraten.

Werden die erzielten Empfindlichkeiten für B^{10} und B^{11} , welche unter Verwendung des "OneNeb" Zerstäubers ermittelt wurden (siehe Abbildung 23) mit den ermittelten Empfindlichkeiten unter Verwendung des "EnyaMist" Zerstäubers (Abbildung 26) verglichen, so kann festgestellt werden, dass die Empfindlichkeiten für die beiden Borisotope unter Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "EnyaMist" um einen Faktor von 2,3-4 geringer sind, als unter Verwendung des "OneNeb" Zerstäubers. Verglichen zu den in dieser Arbeit ermittelten Empfindlichkeiten für Bor der ICP-MS basierten Methode unter Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "MiraMist" sind die Empfindlichkeiten, welche mittels "EnyaMist" erzielt werden können, ebenfalls um einen Faktor 3 niedriger. Daher lässt sich festhalten, dass vermutlich nicht die Zerstäubungstechnik ausschlaggebend zur Erhöhung der Empfindlichkeit für Bor ist, sondern wahrscheinlich der Kapillarinne Durchmesser der probenführenden Kapillare ($ID_{\text{OneNeb}}=ID_{\text{MiraMist}}=500 \mu\text{m}$).

Konzentrischer Zerstäuber "MicroMist"

Der letzte in dieser Studie untersuchte Zerstäuber ist der "MicroMist" Zerstäuber. Dieser konzentrische Zerstäuber besteht aus Quarz und arbeitet bei einer Probenflussrate von 0,200 mL/min. Da der konzentrische Zerstäuber als eine Art Standardzerstäuber in den ICP-MS sowie in der ICP-OES angesehen wird, soll er hier nur als Vergleich zu den drei untersuchten Parallelpfad-Zerstäubern und dem "OneNeb" Zerstäuber angesehen werden. Da dieser Zerstäuber nur für einen Probenfluss von 0,200 mL/min optimiert ist, wurde bei diesem Zerstäuber die Probenflussrate nicht variiert. Die erzielten Empfindlichkeiten für die Isotope ^{10}B und ^{11}B der ICP-MS basierten Methode unter Verwendung des "MicroMist" Zerstäubers sind in Abbildung 27 dargestellt.

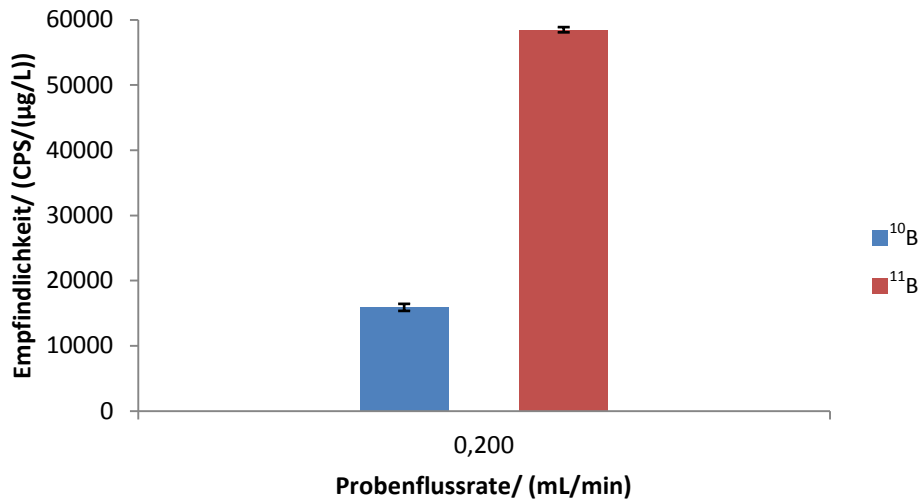


Abbildung 27: Erzielte Empfindlichkeiten der Isotope ^{10}B und ^{11}B unter Verwendung des "MicroMist" Zerstäubers bei einer Probenflussrate von 0,200 mL/min.

Auch bei diesem Zerstäuber spiegeln die erzielten Empfindlichkeiten der Methode die natürliche Häufigkeit der beiden Borisotope wieder. Im Vergleich zu den anderen in diesem Kapitel untersuchten Zerstäuberarten können unter Verwendung des "MicroMist" Zerstäubers nur ca. 80% der Empfindlichkeiten für ^{10}B und ^{11}B erzielt werden als beispielsweise unter Verwendung des "OneNeb" Zerstäubers.

3.2.2 Detektion mittels ICP-OES

Die Atomemissionsspektroskopie mit dem induktiv gekoppelten Plasma ist ebenfalls für die Quantifizierung von Bor in Vollblut geeignet, da sie präzise arbeitet, einen hohen Probendurchsatz bietet, sowie in ihren Anschaffungskosten deutlich geringer ist, als ein Elementmassenspektrometer mit induktiv gekoppeltem Plasma. In der ICP-OES ist es jedoch nicht möglich zwischen den Isotopen ^{10}B und ^{11}B zu unterscheiden. Bei der klinischen Anwendung der BNCT wird die Borkonzentration im Blut vor Start der intravenösen Infusion ermittelt. Anschließend wird die Infusion des Borpharmakons, welches zu 99,999% mit ^{10}B angereichert ist gestartet und in einem Zeitintervall von ca. 15-20 Minuten Blutproben dem Patienten entnommen um diese auf ihren ^{10}B -Gehalt zu untersuchen.² Da sich die ^{11}B -Konzentration während der Infusion des Borpharmakons nicht ändert, ist die ^{10}B -Konzentration rechnerisch aus der Gesamtborkonzentration zugänglich. Daher ist die Atomemissionsspektroskopie mit dem induktiv gekoppelten Plasma ebenfalls für die Bestimmung der ^{10}B -Konzentration in Vollblut für die BNCT anwendbar.

In diesem Abschnitt werden Zerstäuber, welche bevorzugt aus Polymeren gefertigt sind mit verschiedenen Zyklonsprühkammern kombiniert und hinsichtlich ihrer erzielbaren Empfindlichkeiten für die beiden Atomlinien B(I) 208,957 nm und B(I) 249,773 nm untersucht. Hierzu wurden Kalibrierkurven im Konzentrationsbereich von 20 bis 600 $\mu\text{g/L}$ Bor in 2% HNO_3 aufgenommen. Es wurde stets eine Untergrundkorrektur durchgeführt und die Probenzuführung erfolgte mittels einer Einkanalspritzenpumpe und GASTIGHT® Spritzen mit 1, 5 bzw. 10 mL Volumen. Als Interner Standard diente hier ebenfalls Beryllium, welches in einer Konzentration von 100 $\mu\text{g/L}$ stets in jeder Probe enthalten war und unter Verwendung der Atomlinie Be(I) 234,861 nm detektiert wurde. Es wurde das JY 238 Ultrace ICP-OES verwendet, welches für jede Zerstäuber/Sprühkammer Kombination sowie nach Variation der Probenflussrate des Zerstäubers neu hinsichtlich des Signal/Untergrundverhältnisses sowie der relativen Standardabweichung für Bor (B(I) 249,773 nm) optimiert wurde. Für den Zerstäuber/Sprühkammervergleich am ICP-OES wurden dieselben Zerstäuber (Parallelpfad-Zerstäuber "PFA 250" und "MiraMist" sowie Flow-Blurring-Zerstäuber "OneNeb") wie am ICP-MS (vgl. Kapitel 3.2.1) verwendet. Auf Grund der reduzierten Empfindlichkeit der ICP-OES im Vergleich zur ICP-MS, werden in der Atomemissionsspektroskopie mit dem induktiv gekoppelten Plasma Zerstäuber mit einem größeren Probenflussratenbereich verwendet, als in der Elementmassenspektrometrie mit dem induktiv gekoppelten Plasma.^{105,134} Daher wurde für die Ermittlung der erzielbaren Empfindlichkeiten für Bor mittels ICP-OES unter Verwendung verschiedener Zerstäuberarten der Parallelpfad-Zerstäuber, "EnyaMist", welcher aufgrund seines

niedrigen Probenflussratenbereiches (0,2-50 µL/min) ein Zerstäuber für die Elementmassenspektrometrie darstellt, am ICP-OES nicht hinsichtlich der erzielbaren Empfindlichkeiten für Bor untersucht.

Als Vergleichszerstäuber dient in der hier vorgestellten Untersuchung ein Meinhardzerstäuber, welcher aus Glas gefertigt und für eine Probenflussrate von 1,0 mL/min optimiert ist. Da für die klinische Anwendung der BNCT der Borgehalt in Vollblut bestimmt werden soll, ist die Plasmarobustheit nach *Mermet* (vgl. Abschnitt 2.6.5) von besonderem Interesse, da Vollblut eine komplexe Probenmatrix darstellt. In Vollblut liegt ein hoher Gehalt an Alkali- und Erdalkalimetallsalzen (vgl. Tabelle 10) vor, welcher zur Reduzierung der Plasmarobustheit führen kann.¹⁶² Daher wurde die Robustheit des Plasmas nach *Mermet* für jede untersuchte Zerstäuber/Sprühkammer-Kombination und die verschiedenen Probenflussraten der Zerstäuber ebenfalls untersucht. Hierzu wurde eine Lösung hergestellt, welche die mittlere Ionenkonzentration analog zu menschlichem Blutserum aufweist, jedoch keine zellulären Bestandteile beinhaltet.^{199,200} Zu dieser Lösung wurden 1,00 mg/L Bor- und 2,00 mg/L Magnesiumstandard hinzugefügt, wobei das Bor zur Optimierung der Betriebsbedingungen des ICPs und das Magnesium zur Ermittlung der Plasmarobustheit nach *Mermet* diene. In der nachfolgenden Tabelle 10 ist die Zusammensetzung der synthetischen Blutmatrix aufgeführt.

Tabelle 10: Zusammensetzung angesetzter Proben mit synthetischer Blutmatrix zur Bestimmung der Robustheit des analytischen Plasmas nach Mermet²⁰⁰

Elektrolyt	c(Elektrolyt)/ mmol/L	Verbindung	c(Verbindung)/ g/L
Na ⁺	155	NaCl	7,75
Cl ⁻	110	NaCl	7,75
Ca ²⁺	2,6	CaCO ₃	0,260
Cu ²⁺	12,2	CuSO ₄	1,95
Fe ³⁺	31	FeSO ₄ • H ₂ O	0,009
PO ₄ ³⁻	145	H ₃ PO ₄	0,112
K ⁺	5	K ₂ CO ₃	0,346
B		H ₃ BO ₃ in H ₂ O (ICP-Standard)	0,001
Mg		Mg in 2% HNO ₃ (ICP-Standard)	0,002

Nachfolgend werden die erzielten Empfindlichkeiten für Bor der ICP-OES basierten Methode unter Einsatz der untersuchten Zerstäuber in Kombination mit den unterschiedlichen Sprühkammern sowie die Plasmarobustheit nach *Mermet* bei Zerstäubung von Lösungen mit oben gezeigter synthetischer Blutmatrix diskutiert.

Parallelpfad-Zerstäuber "PFA 250"

Der Parallelpfad-Zerstäuber "PFA 250", welcher bereits im vorherigen Kapitel (3.2.1) beschrieben wurde, wurde mit verschiedenen Zyklonsprühkammern kombiniert und die so erzielbaren Empfindlichkeiten für Bor unter Verwendung der ICP-OES basierten Methode untersucht. Hierzu wurde der Zerstäuber mit einer Glaszyklonsprühkammer, welche aus Borosilikatglas gefertigt ist und ein Innenvolumen von 40 mL aufweist, kombiniert. Weiterhin wurde der "PFA 250" Zerstäuber mit der "Tracey TFE" Zyklonsprühkammer kombiniert. Diese Zyklonsprühkammer ist vollständig aus PTFE gefertigt, was den sehr ausgeprägten Memory-Effekt von Bor reduzieren sollte und weist ein Innenvolumen von 50 mL auf.^{129,192} PTFE ist sehr hydrophob was zur Tropfenbildung an den Sprühkammerwänden bei Bildung des tertiären Aerosols führen würde. Diese Tropfenbildung würde die Auswaschzeit zwischen den einzelnen Proben erhöhen und führt gleichzeitig zu einer Erhöhung der relativen Standardabweichung des Signals durch Vibrationen dieser Tropfen. Daher ist diese Sprühkammer auf ihrer Innenseite vom Hersteller oberflächenbeschichtet, wodurch die Oberfläche der Sprühkammer hydrophiler wird und auf diese Weise die Tröpfchenbildung an den Gefäßwänden reduziert wird. Die dritte Sprühkammer, welche mit dem Parallelpfad-Zerstäuber "PFA 250" in dieser Arbeit untersucht wurde ist die "PFA Zyklonsprühkammer". Diese Sprühkammer ist vollständig aus PFA gefertigt, besitzt ein Innenvolumen von 50 mL und ein Tauchrohr, wodurch das gebildete tertiäre Aerosol nochmals gefiltert wird und so nur die kleinsten Tropfen des Aerosols weiter zum ICP geleitet werden.¹⁰⁵ Da PFA ebenfalls wie PTFE ein sehr hydrophobes Material darstellt, ist diese Sprühkammer sowohl oberflächenbehandelt, wodurch die Innenfläche der Sprühkammer hydrophiler wird, als auch nicht oberflächenbehandelt, kommerziell erhältlich. Des Weiteren ist es möglich das Tauchrohr dieser Sprühkammer zu entfernen. In der vorliegenden Arbeit wurde jedoch nur eine "PFA Zyklonsprühkammer" mit Tauchrohr verwendet, welche nicht oberflächenbehandelt ist. In der nachfolgenden Abbildung 28 sind die ermittelten Empfindlichkeiten für die Atomlinie B(I) 249,773 nm der ICP-OES basierten Methode unter Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "PFA 250" in Kombination mit den drei beschriebenen Zerstäuberkammern für Probenflussraten zwischen 0,100 $\mu\text{L}/\text{min}$ und 1,00 mL/min dargestellt.

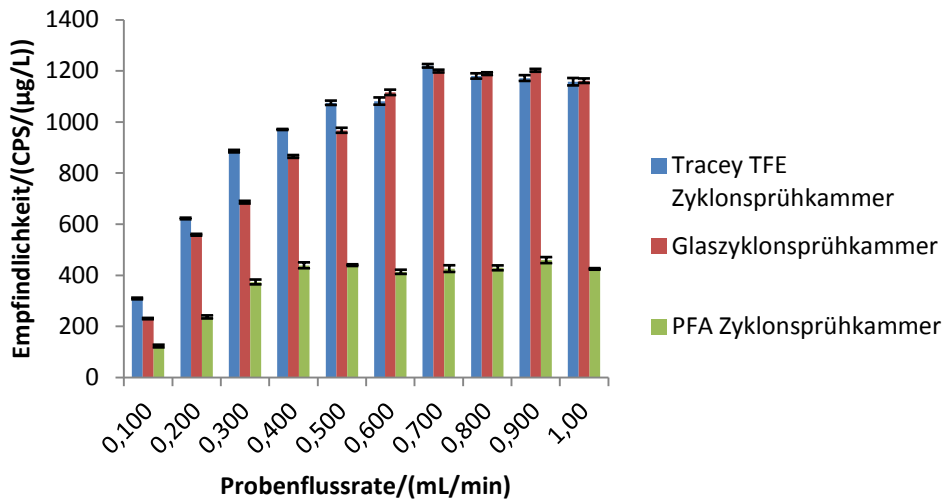


Abbildung 28: Erzielbare Empfindlichkeiten für die Atomlinie B(I) 249,772 nm unter Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "PFA 250" in Kombination mit der "Tracey TFE"-, Glas- und "PFA Zyklonsprühkammer" bei unterschiedlichen Probenflussraten.

Die Probenflussrate des Parallelpfad-Zerstäubers "PFA 250" wurde von 0,100 mL bis 1,00 mL für alle drei in dieser Arbeit untersuchten Zerstäuberkammern variiert, wobei die Geräteparameter jeweils auf höchstes Signal/Untergrundverhältnis sowie möglichst niedrige relative Standardabweichung für die Atomlinie B(I) 249,773 nm optimiert wurden. In Abbildung 28 ist zu erkennen, dass die Empfindlichkeit für die Atomlinie B(I) 249,773 nm mit steigender Probenflussrate für alle drei hier untersuchten Zerstäuberkammern ansteigt. Unter Verwendung der Glas- sowie der "Tracey TFE" Zyklonsprühkammer wird ein Empfindlichkeitsplateau ab einer Probenflussrate von 0,700 mL/min erreicht. Weiterhin ist in obiger Abbildung zu erkennen, dass durch Kombination des "PFA 250" Parallelpfad-Zerstäubers mit der Glas- (in Abbildung 28 rot dargestellt), sowie der "Tracey TFE" Zyklonsprühkammer (blau) ab einer Probenflussrate von 0,600 mL/min ähnliche Empfindlichkeiten für die Atomlinie B(I) 249,773 nm erzielt werden konnten. Bei Probenflussraten kleiner 0,600 mL/min können durch Verwendung des "PFA 250" mit der "Tracey TFE" Zyklonsprühkammer höhere Empfindlichkeit für die gewählte Boratomlinie erzielt werden.

Durch Kombination des Parallelpfad-Zerstäubers "PFA 250" mit der "PFA Zyklonsprühkammer" können nur Empfindlichkeiten für die Atomlinie B(I) 249,773 nm erzielt werden, die um ca. Faktor 3 niedriger sind, als durch Verwendung der beiden anderen hier untersuchten Zerstäuberkammern. Dies ist vor allem auf die nicht vorhandene Oberflächenbehandlung zurückzuführen. Durch deren Fehlen bilden sich bevorzugt Tropfen an der Sprühkammerwand und die Bildung des tertiären Aerosols wird reduziert was zu einer Empfindlichkeitsreduzierung führt. Durch die Verwendung des Tauchrohres wird das Aerosol, welches zum ICP weitergeleitet

wird nochmals hinsichtlich seines aerodynamischen Radius gefiltert, sodass nur die kleinsten Aerosoltröpfchen ins ICP gelangen. Dies bewirkt ebenfalls eine Reduzierung der Empfindlichkeit der Methode.

Die Atomlinie B(I) 249,773 nm ist zwar die Emissionslinie von Bor, welche laut Literatur die höchste Empfindlichkeit aufweist, jedoch wird diese Atomlinie häufig durch die Ionenlinie Fe(II) 249,782 nm aufgrund unzureichender Auflösung interferiert.^{73,76,157} Daher wurde in dieser Arbeit ebenfalls die Empfindlichkeit für die Atomlinie B(I) 208,957 nm unter Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "PFA 250" mit den drei untersuchten Zerstäuberkammern im Probenflussratenbereich von 0,100-1,00 mL/min untersucht. Hierzu sind die Ergebnisse in Abbildung 29 graphisch dargestellt.

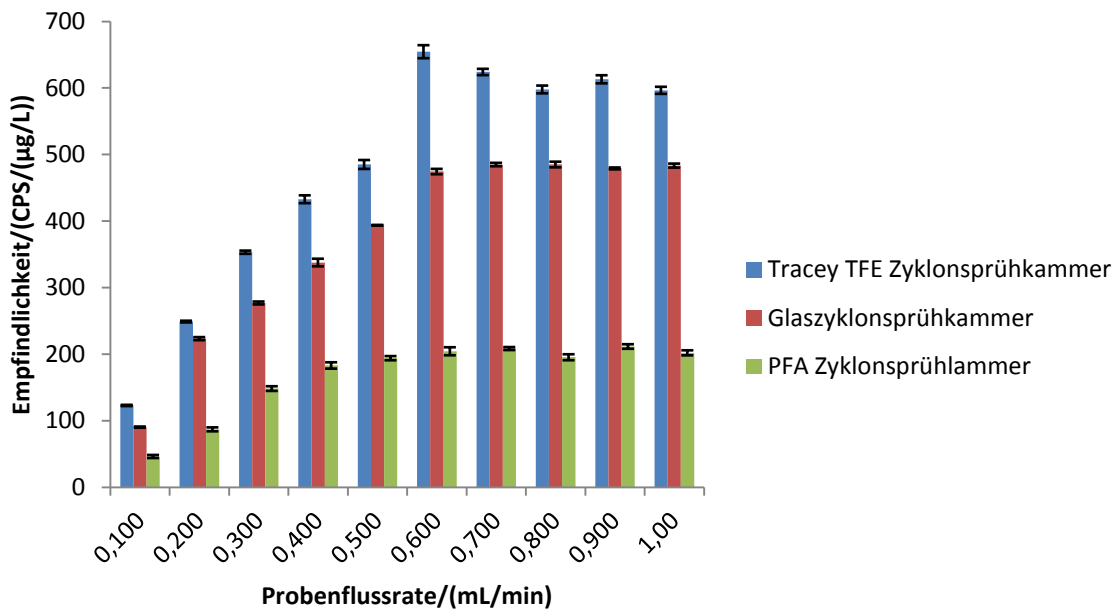


Abbildung 29: Erzielbare Empfindlichkeiten der Atomlinie B(I) 208,957 nm unter Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "PFA 250" in Kombination mit der "Tracey TFE"-, Glas- und "PFA Zyklonsprühkammer" bei unterschiedlichen Probenflussraten.

Die erzielten Empfindlichkeiten für die Atomlinie B(I) 208,957 nm in Abhängigkeit zur Probenflussrate haben einen ähnlichen Verlauf wie in Abbildung 28, wobei die ermittelten Empfindlichkeiten für die Atomlinie B(I) 208,957 nm um einen Faktor von 2,5-3 niedriger sind als für die Atomlinie B(I) 249,773 nm. Diese Reduzierung der Empfindlichkeit ist auf die Wahrscheinlichkeit des Elektronenübergangs für die betrachtete Emission zurückzuführen. Die Atomemissionslinie B(I) 208,957 nm ist auf den Übergang eines Elektrons aus der Elektronenkonfiguration $2S2P^2$ (Elektronenterm 2D mit Spinzahlnzahl 5/2) in die Elektronenkonfiguration $2S^2SP$ (Elektronenterm $2P^0$ mit Spinzahlnzahl 3/2) zurückzuführen. Während die Atomlinie B(I) 249,773 nm auf den Übergang eines Valenzelektrons aus der

Elektronenkonfiguration $2S^23S$ (Elektronenterm 2S mit Spinquanzenzahl $1/2$) in die Elektronenkonfiguration $2S^22P^2$ (Elektronenterm $^2P^0$ mit Spinquanzenzahl $3/2$) zurückzuführen ist. Diese Übergänge laufen mit einer unterschiedlichen Wahrscheinlichkeit ab, was zu unterschiedlichen Empfindlichkeiten für die genannten Boratomlinien führt.²⁰¹ Aus Abbildung 29 geht weiterhin hervor, dass durch Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "PFA 250" in Kombination mit der "Tracey TFE" Zyklonsprühkammer die höchste Empfindlichkeit für die hier untersuchte Boratomlinie ermittelt werden kann. Durch Verwendung der Glaszyklonsprühkammer werden nur ca. 65% der Empfindlichkeiten für Bor erzielt, welche durch Verwendung der "Tracey TFE" Zyklonsprühkammer erzielt werden konnten. Ähnlich zu Abbildung 28 werden durch Verwendung der "PFA Zyklonsprühkammer", welche nicht oberflächenbehandelt ist und in der vorliegenden Studie mit Tauchrohr verwendet wurde, die im Vergleich zu den anderen verwendeten Zerstäuberkammern geringen Empfindlichkeiten für die Atomlinie B(I) 208,957 nm erzielt.

Da für die klinische Anwendung der BNCT Vollblut, welches eine komplexe Matrix darstellt und eine hohe Salzkonzentration aufweist, auf hinsichtlich des Borgehaltes untersucht werden muss, ist die Untersuchung der Plasmarobustheit nach *Mermet* von besonderer Wichtigkeit.^{162,187} Daher wurde für jede der hier untersuchten Zyklonsprühkammer in Kombination mit dem Parallelpfad-Zerstäuber "PFA 250" unter Variation der Probenflussraten die Plasmarobustheit durch die Bildung des Mg(II) 280,270 nm/Mg(I) 285,213 nm Verhältnisses in der hergestellten synthetischen Blutmatrix (vgl. Tabelle 10), welche eine Elektrolytkonzentration ähnlich menschlichem Blutserum enthält, ermittelt und in Abbildung 30 graphisch aufgezeigt.

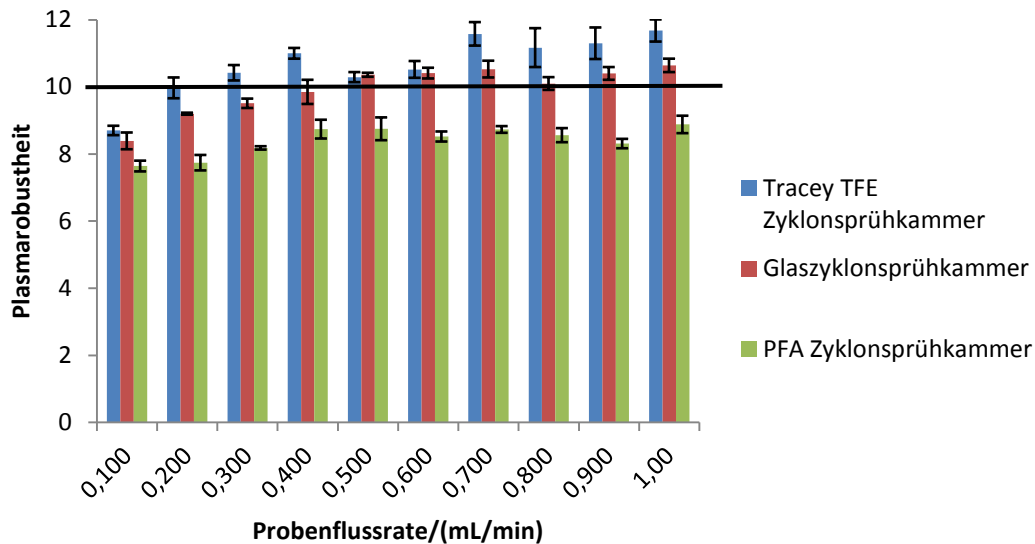


Abbildung 30: Plasmarobustheit nach *Mermet* unter der Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "PFA 250" in Kombination mit der "Tracey TFE"-, Glas- und "PFA Zyklonsprühkammer" bei unterschiedlichen Probenflussraten.

Ein Plasma gilt nach den Kriterien von *Mermet* als robust, sobald der Quotient aus der Ionenlinie Mg(II) 280,270 nm und der Atomlinie Mg(I) 285,213 nm größer oder gleich 10 ist. Für das Probenzuführungssystem bestehend aus Parallelpfad-Zerstäuber "PFA 250" und "Tracey TFE" Zyklonsprühkammer können somit unter den gewählten Betriebsbedingungen des ICPs für jede Probenflussrate größer 0,200 mL/min ein nach den Kriterien von *Mermet* robustes analytisches Plasma erhalten werden. Wird die Zerstäuber kammer durch die Glaszyklonsprühkammer ersetzt, so ist erst ab einer Probenflussrate von 0,400 mL/min das Plasma als robust anzusehen. Durch Verwendung der "PFA Zyklonsprühkammer" konnten keine robusten Betriebsbedingungen der Ionenquelle erhalten werden.

Daher ist der Parallelpfad-Zerstäuber "PFA 250" in Kombination mit der "Tracey TFE" Zyklonsprühkammer ab einer Probenflussrate von 0,200 mL/min und in Kombination mit der Glaszyklonsprühkammer ab einer Probenflussrate von 0,400 mL/min für den Einsatz in der BNCT geeignet. Die nicht oberflächenbehandelte "PFA Zyklonsprühkammer" ist unter Verwendung des "PFA 250" Zerstäubers nicht für die Quantifizierung von Bor in Vollblut geeignet, da die erzielbaren Empfindlichkeiten für Bor (vgl. Abbildung 28 und Abbildung 29) im Vergleich zu den anderen in dieser Arbeit untersuchten Zyklonsprühkammern geringer sind, sowie keine robusten Betriebsbedingungen für das ICP ermittelt werden konnten.

Flow-Blurring-Zerstäuber "OneNeb"

Der zweite Zerstäuber, der hinsichtlich seiner erzielbaren Empfindlichkeiten für Bor und der Plasmarobustheit am ICP-OES untersucht wurde, ist der Flow-Blurring-Zerstäuber "OneNeb". Dieser Zerstäuber wurde ebenfalls mit verschiedenen Probenflussraten und durch Kombination der drei Zyklonsprühkammern ("Tracey TFE"-, Glas- und "PFA Zyklonsprühkammer") auf die erzielbaren Empfindlichkeiten für Bor im Probenflussratenbereich von 0,100-2,00 mL/min untersucht. Die ermittelten Empfindlichkeiten für die Atomlinie B(I) 249,773 nm sind in Abbildung 31 dargestellt.

Da sich der Verlauf der erzielbaren Empfindlichkeiten für die beiden Atomlinien B(I) 208,957 nm und B(I) 249,773 nm unter Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "PFA 250" bei Variation der Probenflussraten ähneln (vgl. Abbildung 28 und Abbildung 29), wird im Folgenden nur noch der Verlauf der empfindlicheren Atomlinie B(I) 249,773 nm diskutiert.

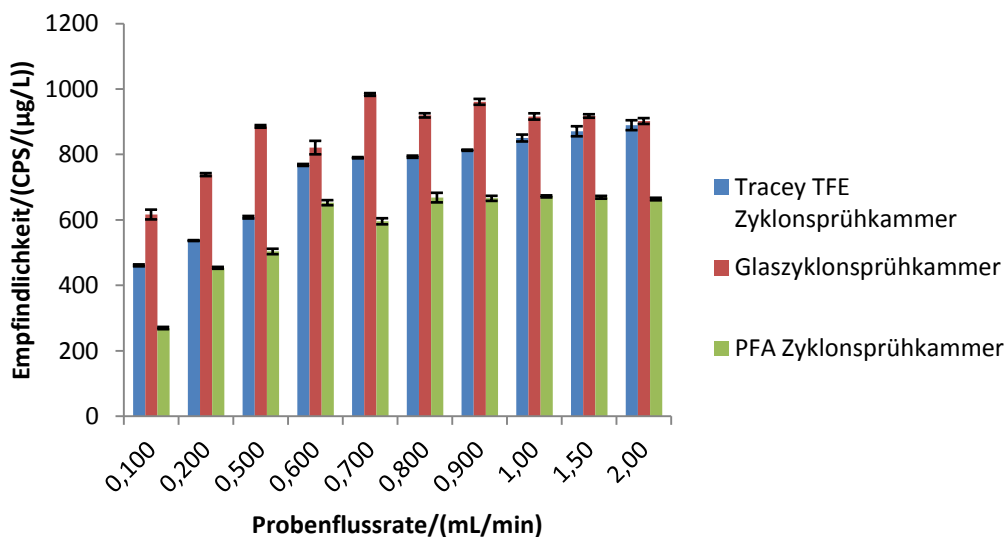


Abbildung 31: Erzielbare Empfindlichkeiten der Atomlinie B(I) 249,772 nm ICP-OES unter Verwendung des Flow-Blurring-Zerstäubers "OneNeb" in Kombination mit der "Tracey TFE"-, Glas- und "PFA Zyklonsprühkammer" bei unterschiedlichen Probenflussraten.

In Abbildung 31 sind die ermittelten Empfindlichkeiten für die Atomlinie B(I) 249,773 nm unter Verwendung des Flow-Blurring-Zerstäubers "OneNeb" in Kombination mit der "Tracey TFE"-, der Glas- und der "PFA Zyklonsprühkammer" graphisch dargestellt. Die Empfindlichkeit für die untersuchte Boratomlinie steigt unabhängig von der verwendeten Sprühkammer mit Erhöhung der Probenflussrate zunächst an, wobei ab einer Probenflussrate von 0,700 mL/min ein Empfindlichkeitsplateau erreicht wird. Es ist auffällig, dass unter Verwendung des "OneNeb" Zerstäubers in Kombination mit der Glaszyklonsprühkammer höhere Empfindlichkeiten für Bor erzielt werden können, als mit Hilfe der "Tracey TFE" Zyklonsprühkammer. Weiterhin ist

ersichtlich, dass unter Verwendung dieses Zerstäubers in Kombination mit der "PFA Zyklonsprühkammer" nur ca. 50-70% der Empfindlichkeiten für Bor erzielt werden können, welche durch Verwendung der Glaszyklonsprühkammer erzielt werden konnten. Dies ist wie bereits für den Parallelpfad-Zerstäuber "PFA 250" erläutert auf die fehlende Oberflächenbehandlung und der damit verbundenen Tropfenbildung innerhalb der Sprühkammer sowie auf die Verwendung eines Tauchrohres zurückzuführen. Durch Verwendung der "PFA Zyklonsprühkammer" konnten sowohl für den Parallelpfad-Zerstäuber "PFA 250" als auch für den Flow-Blurring-Zerstäuber "OneNeb", verglichen zu den anderen in dieser Arbeit untersuchten Zyklonsprühkammern nur deutlich geringere Empfindlichkeiten für Bor erzielt werden (maximal 671 CPS/($\mu\text{g/L}$)). Daher wurden die in dieser Studie noch folgenden Zerstäuber ("MiraMist" und Meinhardzerstäuber) nur in Kombination mit der "Tracey TFE"- sowie der Glaszyklonsprühkammer hinsichtlich ihrer erzielbaren Empfindlichkeiten für Bor untersucht.

Die Plasmarobustheit nach *Mermet*, welche durch Verwendung der synthetischen Blutmatrix (vgl. Tabelle 10) für den Flow-Blurring-Zerstäuber "OneNeb" in Kombination mit den drei untersuchten Zerstäuber-kammern im Probenflussratenbereich von 0,100-2,00 mL/min bestimmt wurde, ist in Abbildung 32 graphisch dargestellt.

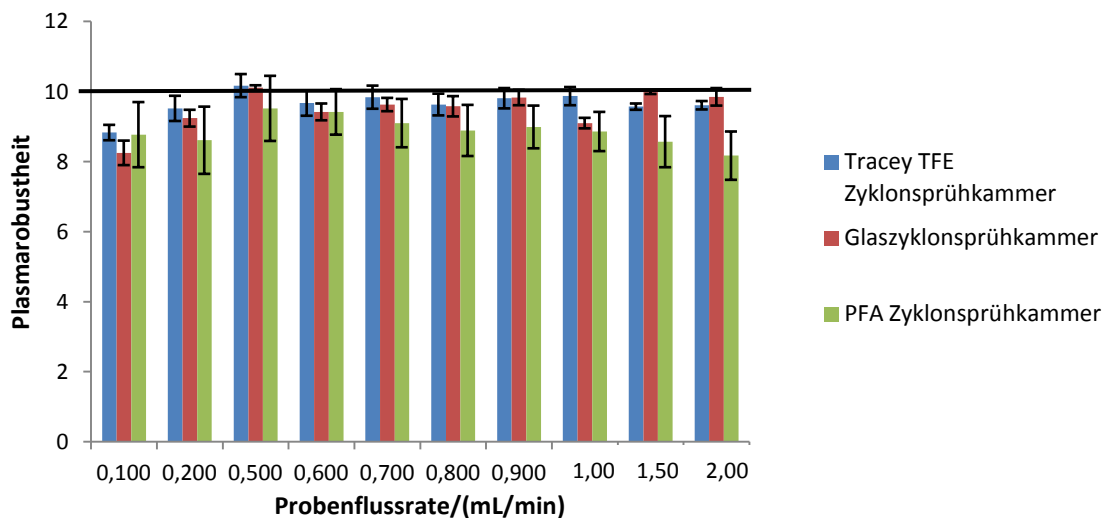


Abbildung 32: Plasmarobustheit nach *Mermet* unter Verwendung des Flow-Blurring-Zerstäubers "OneNeb" in Kombination mit der "Tracey TFE"-, Glas- und "PFA Zyklonsprühkammer" bei unterschiedlichen Probenflussraten.

Aus Abbildung 32 ist ersichtlich, dass der Flow-Blurring-Zerstäuber "OneNeb" in Kombination mit der "PFA Zyklonsprühkammer" für Proben mit hoher Matrixlast sehr hohe relative Standardabweichungen für die beiden Atomemissionslinien Mg(II) 280,270 nm und Mg(I) 285,213 nm aufweist. Dies führt nach Anwendung der Gauß'schen Fehlerfortpflanzung zu

großen Schwankungen für die Plasmarobustheit nach *Mermet*. Die Schwankungen der Robustheit des analytischen Plasmas sind ebenfalls, wie die im Vergleich zu den anderen in dieser Arbeit untersuchten Zyklonsprühkammern ermittelte geringe Empfindlichkeit für Bor, auf die fehlende Oberflächenbehandlung der "PFA Zyklonsprühkammer" zurückzuführen. Aufgrund der hydrophoben Eigenschaften von PFA bilden sich vermehrt Tropfen an der Sprühkammerwand, welche Vibrationen im Aerosolstrom verursachen. Diese Vibrationen führen zu einer erhöhten Signalschwankung und damit zu einem erhöhten RSD für das Analytsignal. Desweiteren erhöht sich die Auswaschzeit zwischen den einzelnen Proben, was zu einer erhöhten Analysezeit führt. Wird das Probenzuführungssystem zu kurz zwischen den Proben gespült, kann sich Analyt in den Tropfen an der Sprühkammerinnenwand sammeln, was ebenfalls zu Signalschwankungen führen kann.

Für die "Tracey TFE" Zyklonsprühkammer in Kombination mit dem "OneNeb" Zerstäuber konnten hingegen für Probenflussraten von 0,500-1,00 mL/min im Bereich der Signalschwankungen robuste Betriebsbedingungen für das ICP nach den Kriterien von *Mermet* erhalten werden.

Unter Verwendung der Glaszyklonsprühkammer in Kombination mit dem "OneNeb" Zerstäuber konnten für Probenflussraten von 0,500, 1,50 und 2,00 mL/min robuste Betriebsbedingungen für die Ionenquelle ermittelt werden. Da für die klinische Anwendung der BNCT aufgrund der salzhaltigen Probenmatrix die Plasmarobustheit außerordentlich wichtig ist, eignet sich der Einsatz des Flow-Blurring-Zerstäubers "OneNeb" in Kombination mit den in dieser Arbeit untersuchten Sprühkammern nur bedingt für den Einsatz in der BNCT.

Parallelpfad-Zerstäuber "MiraMist"

Der dritte in dieser Studie untersuchte Zerstäuber ist der "MiraMist", der analog zu dem "PFA 250" Zerstäuber zu den Parallelpfad-Zerstäubern zählt. Da er einen doppelt so großen Innendurchmesser der probenführenden Kapillare aufweist als der "PFA 250", ist das Risiko einer Verstopfung während der Quantifizierung von Bor in Vollblut reduziert. Daher wurde der "MiraMist" ebenfalls mit der "Tracey TFE"- und der Glaszyklonsprühkammer kombiniert und hinsichtlich der erzielbaren Empfindlichkeiten für Bor in wässrigen Proben untersucht.

In Abbildung 33 sind die ermittelten Empfindlichkeiten für die Atomlinie B(I) 249,773 nm unter Verwendung der "Tracey TFE"- und der Glaszyklonsprühkammer für einen Probenflussratenbereich zwischen 0,200-2,00 mL/min zusammengefasst.

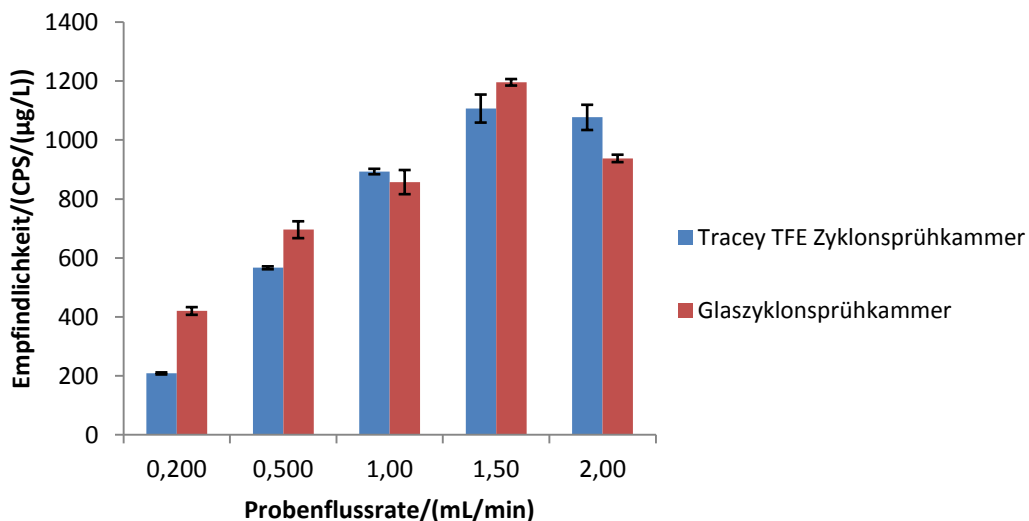


Abbildung 33: Erzielbare Empfindlichkeiten der Atomlinie B(I) 249,773 nm unter Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "MiraMist" in Kombination mit der "Tracey TFE"- und der Glaszyklonsprühkammer bei unterschiedlichen Probenflussraten.

In obiger Abbildung ist zu erkennen, dass die Empfindlichkeit für Bor (B(I) 249,773 nm) zunächst mit Erhöhung der Probenflussrate unter Verwendung der beiden untersuchten Zyklonsprühkammern ansteigt und bei einer Probenflussrate von 1,50 mL/min die maximal erzielbare Empfindlichkeit von ca. 1200 CPS/(µg/L B) (Glaszyklonsprühkammer) bzw. 1100 CPS/(µg/L B) ("Tracey TFE" Zyklonsprühkammer) erzielt wird. Bei weiterer Erhöhung der Probenflussrate sinkt die erzielbare Empfindlichkeit für Bor wieder ab. Das Sinken der Empfindlichkeit für Bor bei weiterer Erhöhung der Probenflussrate kann auf die erhöhte Lösemittelfracht (*Solvent load*) des Plasmas zurückgeführt werden. Dabei steht im Plasma weniger Energie für die Atomisierung und Ionisierung des Analyten zur Verfügung. Dies führt zu geringeren Empfindlichkeiten für den Analyten. Auch für diesen Zerstäuber können durch

Kombination mit der Glaszyklonsprühkammer eine höhere Empfindlichkeiten für Bor für die ICP-OES basierte Methode erzielt werden, als unter Verwendung der "Tracey TFE" Zyklonsprühkammer. Ein Probenzuführungssystem bestehend aus Zerstäuber und Sprühkammer bildet stets eine feste Einheit^{105,106}, das bedeutet, dass nicht jeder Zerstäuber gleich effizient mit jeder Sprühkammer arbeitet. Daher wird meist für jeden Zerstäuber eine geeignete Sprühkammer konstruiert, welche zuvor durch computergestützte Simulationen optimiert wird.^{202,203} Dies könnte ein Grund für die höheren erzielten Empfindlichkeiten für Bor unter Verwendung des "MiraMist" Zerstäubers in Kombination mit der Glaszyklonsprühkammer sein.

Auch für diesen Zerstäuber wurde die für die Anwendung der ICP-OES basierten Methode äußerst wichtige Plasmarobustheit nach den Kriterien von *Mermet* in der synthetischen Blutmatrix untersucht. Hierzu wurden die Betriebsbedingungen des ICPs auf höchstes Signal/Untergrundverhältnis und möglichst niedrige relative Standardabweichung für Bor für jede untersuchte Probenflussrate neu optimiert und die Intensitäten für Mg(II) 280,270 nm und Mg(I) 285,213 nm detektiert. In Abbildung 34 sind die hieraus resultierenden Plasmarobustheiten für den Probenflussratenbereich von 0,200-2,00 mL/min graphisch dargestellt.

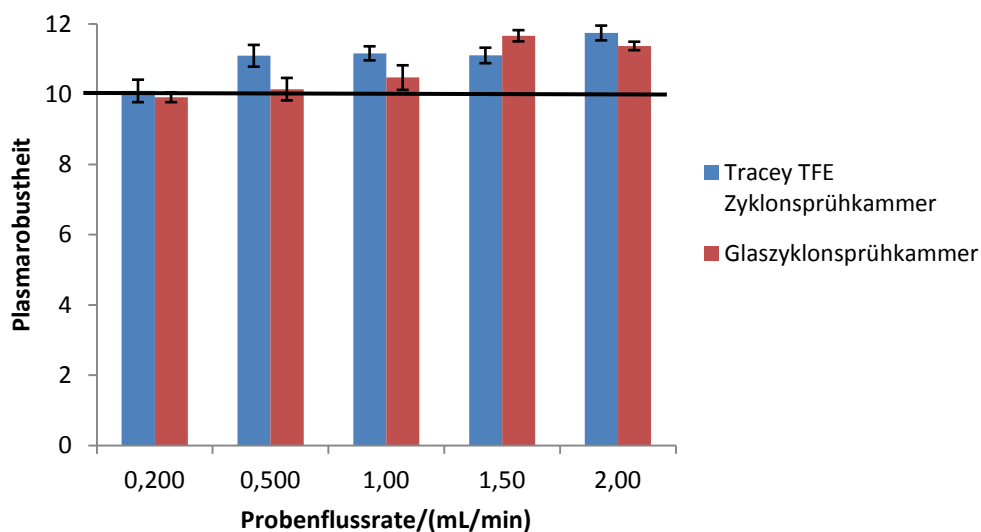


Abbildung 34: Plasmarobustheit nach *Mermet* unter Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "MiraMist" in Kombination mit der "Tracey TFE"- und der Glaszyklonsprühkammer bei unterschiedlichen Probenflussraten.

Es ist zu erkennen, dass der Parallelpfad-Zerstäuber "MiraMist" in Kombination mit den beiden in dieser Arbeit untersuchten Zyklonsprühkammern für jede untersuchte Probenflussrate robuste Plasmabedingungen erhalten werden konnten, was den Einsatz dieses Zerstäubers für die Quantifizierung von Bor in Vollblut und damit für die Anwendung in der BNCT zugänglich macht.

Meinhardzerstäuber

Der letzte in dieser Studie untersuchte Zerstäuber ist ein Meinhardzerstäuber, welcher ein konzentrischer Zerstäuber darstellt. Dieser Zerstäuber ist der einzige in dieser am ICP-OES durchgeführten Studie, welcher aus Borosilikatglas und nicht aus Polymer gefertigt ist. Er besitzt einen Innendurchmesser der probenführenden Kapillare von 280 μm und wurde für eine Probenflussrate von 1,00 mL/min bei einem Zerstäubergasfluss von 1 L/min optimiert. Da der konzentrische Zerstäuber sowohl in der ICP-OES sowie in der ICP-MS als einer der Standardzerstäuber¹⁰⁵ gilt, soll dieser in der vorliegenden Studie ebenfalls hinsichtlich der erzielbaren Empfindlichkeit für Bor untersucht werden, obwohl er aus Borosilikatglas gefertigt ist und auf Grund des ausgeprägten Memory-Effekts von Bor längere Auswaschzeiten zwischen den Proben aufweist.^{129,192}

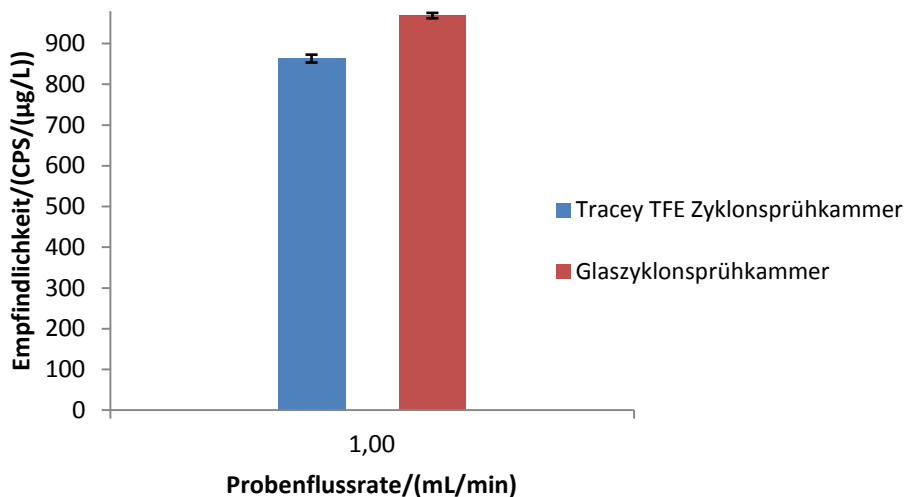


Abbildung 35: Erzielbare Empfindlichkeiten der Atomlinie B(I) 249,773 nm unter Verwendung des Meinhardzerstäubers in Kombination mit der "Tracey TFE"- und der Glaszyklonsprühkammer bei einer Probenflussrate von 1,00 mL/min.

In Abbildung 35 ist ersichtlich, dass unter Verwendung des Meinhardzerstäubers in Kombination mit der in dieser Arbeit verwendeten Glaszyklonsprühkammer eine um ca. 11% höhere Empfindlichkeit für Bor erzielt werden kann, als unter Verwendung der "Tracey TFE" Zyklonsprühkammer. Dies könnte damit begründet werden, dass die Glaszyklonsprühkammer besser auf den Meinhardzerstäuber abgestimmt ist, als auf die verwendete "Tracey TFE" Zyklonsprühkammer.¹⁰⁵

Auch für den Meinhardzerstäuber wurde die Plasmarobustheit nach *Mermet* in der synthetischen Blutmatrix untersucht, welche analog zu den bereits untersuchten Zerstäubern ermittelt wurde und in Abbildung 36 graphisch dargestellt ist.

Es ist zu erkennen, dass für beide untersuchten Zerstäuberkammern robuste Betriebsbedingungen für das ICP erhalten werden konnten, was für die Anwendung dieses Zerstäubers zur Quantifizierung von Bor in Vollblut spricht.

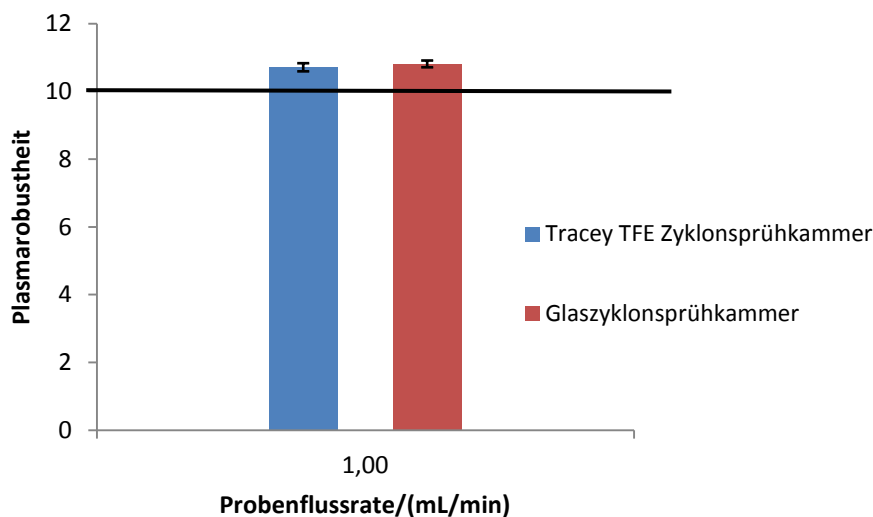


Abbildung 36: Plasmarobustheit nach *Mermet* unter Verwendung des Meinhardzerstäubers in Kombination mit der "Tracey TFE"- und der Glaszyklonsprühkammer bei einer Probenflussrate von 1,0 mL/min.

3.2.3 Vergleich der Ergebnisse und Schlussfolgerungen

In diesem Abschnitt werden die ermittelten Empfindlichkeiten, welche unter Verwendung verschiedener Zerstäuber- und Sprühkammersysteme durch Detektion am ICP-MS sowie am ICP-OES erzielt werden konnten, zusammengefasst und Schlussfolgerungen aus den ermittelten Ergebnissen gezogen. Da das Probenvolumen für die klinische Anwendung der BNCT möglichst gering sein sollte, wurden in der vorliegenden Arbeit zunächst Untersuchungen zu verschiedenen Probenzuführungssystemen durchgeführt und die erzielbaren Empfindlichkeiten für Bor am ICP-MS sowie am ICP-OES untersucht. Hier lag der Fokus auf der pneumatischen Zerstäubung. Da Bor eine hohe Affinität zur Adsorption an Glasoberflächen besitzt (Memory-Effekt), was zu einer erhöhten Auswaschzeit der einzelnen Proben im Probenzuführungssystem führt und dies den Probendurchsatz der Methode reduziert, wurden bevorzugt Zerstäuber für die Untersuchung ausgewählt, welche aus Polymer gefertigt. In Abbildung 37 sind die erzielten Empfindlichkeiten für das in der BNCT relevante Borisotop ^{10}B der drei Parallelpfad-Zerstäuber "MiraMist", "PFA 250" und "EnyaMist", sowie für den Flow-Blurring-Zerstäuber "OneNeb" in Kombination mit der Glaszyklonsprühkammer mit einem Anschluss für die Zusatzgasversorgung und einem Innenvolumen von 15 mL graphisch zusammengefasst. Als Vergleich wurde die erzielbare Empfindlichkeit für das Isotop ^{10}B durch Verwendung eines aus Glas gefertigten konzentrischen Zerstäuber, den "MicroMist", ebenfalls untersucht und in Abbildung 37 aufgezeigt.

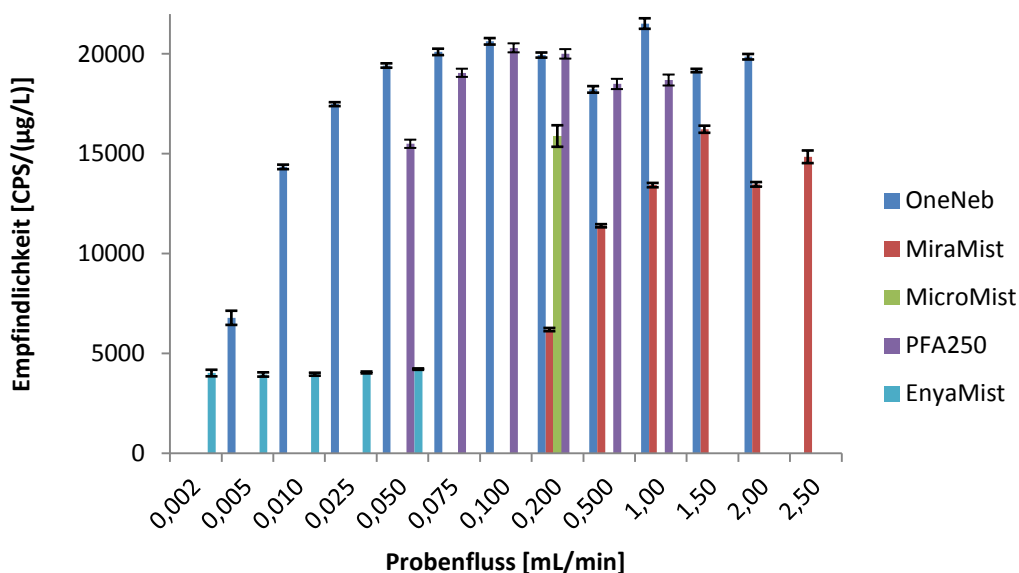


Abbildung 37: Zusammenfassung der erzielbaren Empfindlichkeiten für das Isotop ^{10}B unter Verwendung verschiedener Zerstäuber durch Detektion am ICP-MS.

Alle in dieser Arbeit untersuchten Zerstäuber, welche mit verschiedenen Probenflussraten arbeiten, wurden im Bereich der vom Hersteller angegebenen Probenflussratenbereiche variiert, wobei die Geräteparameter nach Variation der Probenflussrate stets neu auf höchstes Signals/Untergrundverhältnis und möglichst geringer relativen Standardabweichung für die Isotope ^{10}B und ^{11}B optimiert wurden. Als Interner Standard diente Beryllium aufgrund seines zum Analyten ähnlichen m/z -Verhältnisses und der ähnlichen ersten Ionisierungsenergie.¹⁹⁶ Die erzielbaren Empfindlichkeiten für ^{10}B wurden durch Aufnahme von Kalibrierkurven im Konzentrationsbereich von 10-200 $\mu\text{g/L}$ B in wässrigen Proben ermittelt, wobei stets eine Untergrundkorrektur durchgeführt wurde. In der obigen Abbildung ist zu erkennen, dass sowohl für die beiden Parallelpfad-Zerstäuber "PFA 250" und "MiraMist" sowie für den Flow-Blurring-Zerstäuber "OneNeb" die erzielten Empfindlichkeiten für das Isotop ^{10}B zunächst mit Erhöhung der Probenflussrate ansteigt und anschließend ein Empfindlichkeitsplateau für ^{10}B erreicht wird. Durch Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "EnyaMist" steigt die erzielbare Empfindlichkeit für ^{10}B durch Erhöhung der Probenflussrate leicht an, wobei die maximal erzielbare Empfindlichkeit für ^{10}B bei einer Probenflussrate von 0,050 mL/min ermittelt wurde. Diese Probenflussrate entspricht der vom Hersteller maximalen Probenflussrate, welche für diesen Zerstäuber angegeben ist.¹⁹⁸

Des Weiteren ist in Abbildung 37 zu erkennen, dass durch Verwendung des Flow-Blurring-Zerstäubers "OneNeb" in Kombination mit der untersuchten Zyklonsprühkammer am ICP-MS die höchste Empfindlichkeit für das Isotop ^{10}B in wässrigen Proben (19400 CPS/ $(\mu\text{g/L B})$) bei kleinstmöglicher Probenflussrate von 0,050 mL/min erzielt werden konnte. Durch Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "PFA 250" kann zwar eine leicht höhere Empfindlichkeit für das Isotop ^{10}B (20300 CPS/ $(\mu\text{g/L B})$) erzielt werden, jedoch wird hierzu eine im Vergleich zum "OneNeb" Zerstäuber höhere Probenflussrate (0,100 mL/min) benötigt. Durch Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "EnyaMist" unter Verwendung der untersuchten Glaszyklonsprühkammer, welche einen Anschluss für die Zusatzgaszufuhr aufweist, kann nur eine maximale Empfindlichkeit von ca. 4200 CPS/ $(\mu\text{g/L})$ für das Isotop ^{10}B bei einer Probenflussrate von 0,050 mL/min ermittelt werden. Da dieser Zerstäuber einen Innendurchmesser der probenführenden Kapillare von 60 μm aufweist, sollte dieser Zerstäuber stets mit Spritzenvorfiltern betrieben werden, um ein Verstopfen der Kapillare zu vermeiden. Daher ist der Parallelpfad-Zerstäuber "EnyaMist" aufgrund der im Vergleich der in dieser Arbeit untersuchten Zerstäubern niedrigen Empfindlichkeiten für das Isotop ^{10}B für die Quantifizierung von Bor in Vollblut nicht geeignet, da der Spritzenvorsatzfilter aufgrund der zellulären Bestandteile im Vollblut schnell verstopfen wird.

Durch Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "MiraMist", welcher einen Innendurchmesser der probenführenden Kapillare von 500 µm aufweist, konnte in Kombination mit der in dieser Arbeit untersuchten Glaszyklonsprühkammer eine maximale Empfindlichkeit von ca. 16200 CPS/(µg/L) für das Isotop ^{10}B bei einer Probenflussrate von 1,50 mL/min ermittelt werden. Diese Empfindlichkeit für das Isotop ^{10}B befindet sich in derselben Größenordnung wie die erzielten Empfindlichkeiten durch Verwendung des "OneNeb" bzw. "PFA 250" Zerstäubers, jedoch ist die benötigte Probenflussrate um einen Faktor 30 ("OneNeb") bzw. 15 ("PFA 250") höher. Da für die klinische Anwendung der BNCT ein limitiertes Probenvolumen vorliegt, ist der Parallelpfad-Zerstäuber "PFA250" sowie der Flow-Blurring-Zerstäuber "OneNeb" für die Anwendung in der BNCT dem Parallelpfad-Zerstäuber "MiraMist" vorzuziehen.

Der "MicroMist" Zerstäuber, welcher ein konzentrischer Zerstäuber und aus Quarz gefertigt ist, ist für einen Probenfluss von 0,200 mL/min laut Herstellerangaben optimiert. Durch Verwendung dieses Zerstäubers in Kombination mit der untersuchten Zyklonsprühkammer kann eine Empfindlichkeit von ca. 15900 CPS/(µg/L) für das Isotop ^{10}B erzielt werden. Aufgrund der im Vergleich zu den in dieser Arbeit untersuchten Zerstäubern reduzierten Empfindlichkeit für das Isotop ^{10}B bei einer erhöhten Probenflussrate und der Tatsache, dass dieser Zerstäuber aus Quarz gefertigt ist, was durch den ausgeprägten Memory-Effekt von Bor zu erhöhten Auswaschzeiten und somit zu einer Reduzierung des Probendurchsatzes führt, ist dieser Zerstäuber ebenfalls für die Quantifizierung von Bor in Vollblut für die klinische Anwendung der BNCT nicht geeignet.

Somit ist für die Quantifizierung von Bor durch Detektion am ICP-MS von den in dieser Studie untersuchten fünf Zerstäubern in Kombination mit der verwendeten Glaszyklonsprühkammer aufgrund der höchsten erzielbaren Empfindlichkeit für das Isotop ^{10}B bei gleichzeitig möglichst niedriger Probenflussrate der Flow-Blurring-Zerstäuber "OneNeb" am geeignetsten anzusehen.

Die ICP-MS ist zwar hinsichtlich der erzielbaren Empfindlichkeiten und Nachweisgrenzen für die meisten Analyten der ICP-OES überlegen, jedoch treten in der Massenspektrometrie bevorzugt Interferenzen gerade bei komplexen Matrices, wie es Vollblut darstellt, auf.¹⁰⁸ Daher wurden die verschiedenen untersuchten Zerstäuber ebenfalls am ICP-OES hinsichtlich ihrer erzielbaren Empfindlichkeiten für Bor in Kombination mit einer Glaszyklonsprühkammer untersucht. Aufgrund des ausgeprägten Memory-Effektes von Bor, welcher durch Adsorption an Glasoberflächen herrührt, wurden am ICP-OES alle untersuchten Zerstäuber ebenfalls mit einer Zyklonsprühkammer kombiniert, welche vollständig aus PTFE gefertigt ist. Die "Tracey TFE" Zyklonsprühkammer ist oberflächenbeschichtet, um die Hydrophilie der Sprühkammerinnenseite zu erhöhen und so die Bildung des tertiären Aerosols zu erhöhen. Zusätzlich wurden die beiden

untersuchten Zerstäuber "OneNeb" und "PFA 250" mit einer Zyklonsprühkammer kombiniert, welche vollständig aus PFA gefertigt ist und mit einem Tauchrohr verwendet wurde. Mit dieser Sprühkammer konnten nur sehr geringe Empfindlichkeiten für Bor mittels ICP-OES in Verbindung mit den beiden untersuchten Zerstäubern erzielt werden. Zusätzlich konnten unter Verwendung dieser Zyklonsprühkammer in Kombination mit dem "PFA 250" bzw. dem "OneNeb" Zerstäuber keine robusten Betriebsbedingungen des ICPs erzielt werden, welche für die Anwendung in der BNCT aufgrund der hohen Matrixkonzentration in den Proben erforderlich ist. Daher wurde diese Zerstäuberkammer in Kombination mit dem "PFA 250" und "OneNeb" Zerstäuber für die Verwendung zur Quantifizierung von Bor in Vollblut als unzureichend eingestuft und nicht mit dem Parallelpfadzerstäuber "MiraMist" und dem Meinhardzerstäuber kombiniert.

Da sich die Empfindlichkeiten der untersuchten Zerstäuber in Abhängigkeit der Probenflussrate für die Glas- sowie die "Tracey TFE" Zyklonsprühkammer ähneln (vgl. Abbildung 28, Abbildung 31, Abbildung 33 und Abbildung 35), wurden zur Erhöhung der Übersichtlichkeit in Abbildung 38 ausschließlich die erzielten Empfindlichkeiten für die Atomlinie B(I) 249,773 nm unter Verwendung der "Tracey TFE" Zyklonsprühkammer für die untersuchten Zerstäuber durch Variation der Probenflussrate graphisch dargestellt.

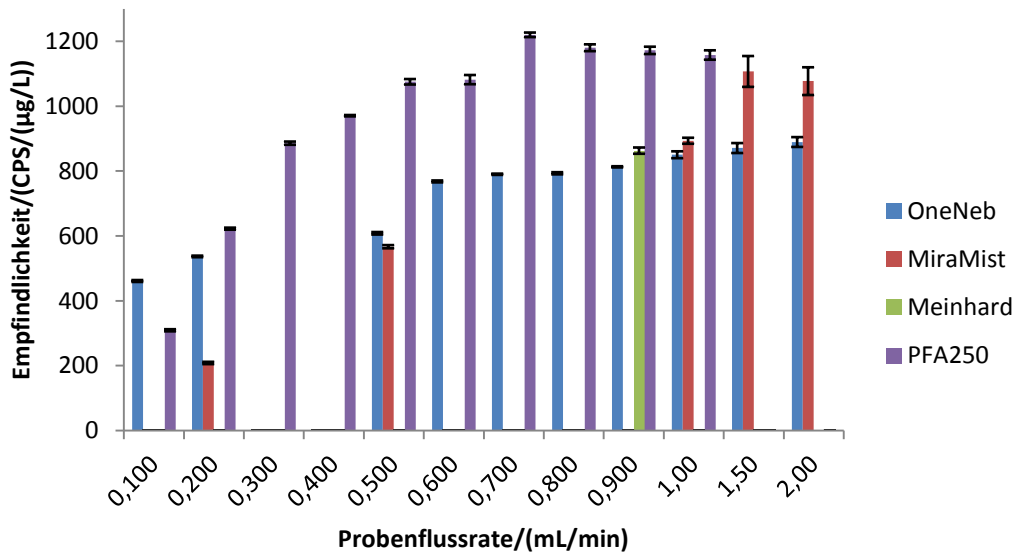


Abbildung 38: Zusammenfassung der erzielten Empfindlichkeiten der Atomlinie B(I) 249,773 nm unter Verwendung der verschiedenen Zerstäubern in Kombination mit der "Tracey TFE" Zyklonsprühkammer bei verschiedenen Probenflussraten.

In Abbildung 38 wird ersichtlich, dass für alle untersuchten Zerstäubern die erzielbare Empfindlichkeit für die Atomlinie B(I) 249,773 nm mit Erhöhung der Probenflussrate zunächst ansteigt und anschließend ein Empfindlichkeitsplateau erreicht wird, wobei dieses bei unterschiedlichen Probenflussraten für die untersuchten Zerstäubern ermittelt werden konnte.

So wird für den Flow-Blurring-Zerstäuber "OneNeb" ein Empfindlichkeitsplateau von ca. 980 CPS/($\mu\text{g/L}$) für die Atomlinie B(I) 249,773 nm ab einer Probenflussrate von 0,700 mL/min erreicht. Für den Parallelpfad-Zerstäuber "MiraMist" hingegen wird ab einer Probenflussrate von 1,50 mL/min ein Empfindlichkeitsplateau für die Atomlinielinie B(I) 249,773 nm von ca. 1200 CPS/($\mu\text{g/L}$) erzielt. Durch Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "PFA 250" in Verbindung mit der "Tracey TFE" Zyklonsprühkammer kann ab einer Probenflussrate von 0,700 mL/min ein Plateau der Empfindlichkeit für Bor von ca. 1200 CPS/($\mu\text{g/L}$) ermittelt werden. Eine Ausnahme stellt der Meinhardzerstäuber dar. Da dieser Zerstäuber nur für eine Probenflussrate von 1,00 mL/min optimiert ist, wurde dieser in der vorliegenden Studie nur für diese Probenflussrate untersucht, wobei eine Empfindlichkeit von ca. 970 CPS/($\mu\text{g/L}$) für die untersuchte Boratomlinie ermittelt werden konnte.

Ziel der durchgeführten Studie war es, eine Zerstäuber/Sprühkammer Kombination zu ermitteln, welche eine möglichst hohe Empfindlichkeit für Bor bei gleichzeitig möglichst geringem Probenvolumen ermöglicht. Durch Vergleich der erzielten Empfindlichkeiten für die Boratomlinie in Abbildung 38 lässt sich erkennen, dass unter Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "PFA 250" in Kombination mit der "Tracey TFE" Zyklonsprühkammer die höchste Empfindlichkeit für Bor (1200 CPS/($\mu\text{g/L}$)) bei gleichzeitig geringster Probenflussrate (0,700 mL/min) erzielt werden konnte. Unter Verwendung des Flow-Blurring-Zerstäubers "OneNeb", der einen um Faktor 2 größeren Innendurchmesser der probenführenden Kapillare aufweist und daher nicht so anfällig für mögliche Verstopfungen bei der Verwendung von Vollblut sein sollte, kann bei gleicher Probenflussrate eine um ca. 18% niedrigere Empfindlichkeit für Bor im Vergleich zum "PFA 250" Parallelpfad-Zerstäuber erzielt werden. Daher sind die beiden Zerstäuber "PFA 250" und "OneNeb" hinsichtlich der erzielbaren Empfindlichkeiten für Bor durch Detektion am ICP-OES den anderen hier untersuchten Zerstäubern vorzuziehen.

Da in der klinischen Anwendung der BNCT der Analyt Bor in Vollblut quantifiziert werden muss, welches eine komplexe Probenmatrix darstellt, ist nicht nur die erzielbare Empfindlichkeit der Methode von Interesse, sondern auch die Robustheit des analytischen Plasmas. Daher wurde eine Lösung hergestellt, welche die mittlere Elektrolytkonzentration wie menschliches Blutserum enthält, jedoch keine zellulären Bestandteile aufweist. Zu dieser Lösung wurden 1,00 mg/L Bor zur Optimierung der Betriebsbedingungen der Ionenquelle sowie 2,00 mg/L Magnesium zur Bestimmung der Plasmarobustheit nach *Mermet* (vgl. Kapitel 3.2.2) hinzugefügt. Die mittels dieser Lösung ermittelten Plasmarobustheiten sind in Abbildung 30 für den Parallelpfad-Zerstäuber "PFA 250" und in Abbildung 32 für den Flow-Blurring-Zerstäuber "OneNeb" unter Verwendung der "Tracey TFE" Zyklonsprühkammer bei unterschiedlichen Probenflussraten

aufgezeigt. Es ist ersichtlich, dass für den Parallelpfad-Zerstäuber in Kombination mit der "Tracey TFE" Zyklonsprühkammer mit Ausnahme der niedrigsten untersuchten Probenflussrate von 0,100 mL/min stets das Kriterium von *Mermet* hinsichtlich Plasmarobustheit erfüllt wurde. Wohingegen für den Flow Bluring Zerstäuber "OneNeb" nur im Probenflussratenbereich zwischen 0,500 - 1,00 mL/min robuste Betriebsbedingungen des ICPs unter Einbeziehung des Fehlers erhalten werden konnten. Aufgrund der durchgeführten Untersuchungen ist der "PFA 250" Parallelpfad-Zerstäuber den anderen in dieser Studie untersuchten Zerstäubern vorzuziehen, da er die in dieser Studie höchste erzielbare Empfindlichkeit für Bor in Kombination mit der "Tracey TFE" Zyklonsprühkammer bei gleichzeitig niedrigstem Probenfluss unter robusten Betriebsbedingungen des ICPs aufweist.

3.3 Bor-bedingter Memory-Effekt der ICP-MS und ICP-OES

Borsäure, welche eine ähnliche Strukturformel zu BPA aufweist und sich daher chemisch ähnlich zu diesem verhält, besitzt eine hohe Affinität zur Adsorption an Glasoberflächen, was unter dem Namen Memory-Effekt in der Literatur beschrieben wird.^{129,192} Da das Probenzuführungssystem sowie die ICP-Fackel in der Regel aus Glas bzw. Quarz gefertigt sind,^{105,108} spielt der Memory-Effekt bei der Analyse von Bor mittels ICP-MS und ICP-OES eine entscheidende Rolle. Ein weiterer Grund für den Bor-bedingten Memory-Effekt wird auf der Flüchtigkeit von einigen Borverbindungen wie beispielsweise Borsäure vermutet.²⁰⁴ Die leicht flüchtige Borsäure verdampft in der Sprühkammer und wird so nur sehr schwer wieder aus dieser durch Auswaschen entfernt. Da beide Tatsachen zu einer erhöhten Auswaschzeit zwischen den Proben führen und so den Probendurchsatz, welcher bei der klinischen Anwendung der BNCT eine wichtige Rolle spielt, reduziert, wird in dem vorliegenden Kapitel untersucht, ob der Bor-bedingte Memory-Effekt durch Wahl einer geeigneten Spüllösung zwischen den einzelnen Proben am ICP-MS bzw. ICP-OES reduziert und so der Probendurchsatz erhöht werden kann.

Zur Bestimmung des Bor-bedingten Memory-Effekts und zur Untersuchung der unterschiedlichen Lösungen zum möglichst schnellen Ausspülen des Bors wurde eine Fließinjektion (FIA), unter Verwendung eines Sechs-Wegeventils in Kombination mit einer pneumatischer Zerstäubung (MicroMist, 200 µL/min, Quarz in Kombination mit einer Glaszyklonsprühkammer mit einem Anschluss für ein Zusatzgas am ICP-MS; Meinhardzertsäuber, 1000 µL/min, Borosilikatglas in Kombination mit einer Gaszyklonsprühkammer am ICP-OES) gewählt, da durch Verwendung der FIA transiente Signale detektiert werden können. Die Flussrate der untersuchten Spüllösungen wurde an die optimale Probenflussrate des verwendeten Zerstäubers angepasst (vgl. Kapitel 3.1). Das Volumen der verwendeten Probenschleife betrug sowohl am ICP-MS als auch am ICP-OES 50 µL und die Borkonzentration betrug 100 µg/L am ICP-MS bzw. 1000 µg/L am ICP-OES. In der nachfolgenden Abbildung 39 sind die Einstellungen des Sechs-Wegeventils für das Befüllen sowie das Injizieren der Probenschleife dargestellt.

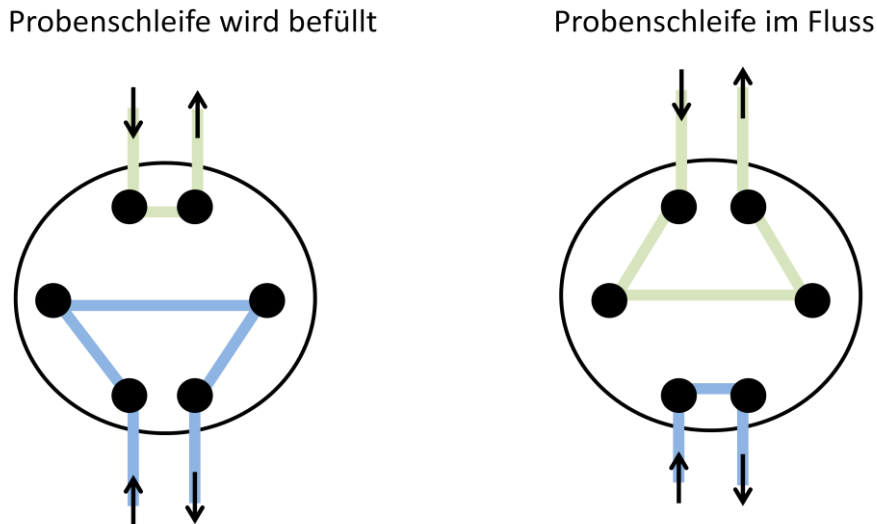
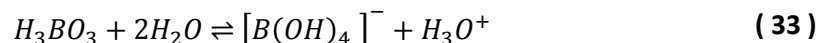


Abbildung 39: Fließmuster der Probenschleife beim Befüllen und im Durchfluss der Probenschleife.

Um den Bor-bedingten Memory-Effekt zu untersuchen bzw. zu reduzieren, wurden Lösungen mit verschiedenen pH-Werten (sauer, neutral und basisch) hergestellt. Hierzu sind in der Literatur bereits Untersuchungen durchgeführt worden und es stellte sich heraus, dass 0,14 M HNO_3 sowie 0,1 M NH_4OH besonders geeignet zur Reduktion der Ausspülzeit von Bor aus dem Probenzuführungssystem am ICP-MS sind.³ Da in wässrigen Lösungen ein pH abhängiges Gleichgewicht zwischen Borsäure (H_3BO_3) und dem nicht flüchtigen Tetrahydroxoborat-Ion ($[\text{B}(\text{OH})_4]^-$) existiert, welches in Gleichung (33) dargestellt ist,^{62,205} wurde in der vorliegenden Studie ebenfalls das Auswaschverhalten von Bor unter Verwendung von Reinstwasser untersucht, so dass ein weiterer pH-Wertbereich untersucht wurde.



Borsäure ist ein schwacher Elektrolyt mit einem pK_a -Wert von 9,25. Daher liegt Borsäure in oben dargestellter Gleichung (33) nur in verdünnten Lösungen bei einem pH-Wert < 9 vor. In wässrigen Lösungen mit einem pH-Wert > 9 dissoziiert die Orthoborsäure unter Bildung des Tetrahydroxoborat-Ions.

Durch die Zugabe eines mehrwertigen Alkohols, wie beispielsweise D-Mannitol kann Borsäure in eine komplexe Säure, mit einer Säurestärke, die ungefähr der von Essigsäure ($\text{pK}_a=4,76$) entspricht, überführt werden: Es kommt zu einer Verschiebung des Säuregleichgewichtes (vgl: Gleichung (33)) auf die rechte Seite, wodurch sich der pK_a -Wert auf 5,15 erhöht.⁶² Aus diesem Grund wurden den oben beschriebenen Lösungen unterschiedlicher pH-Werte jeweils 0,25% (w/v) D-Mannitol zugesetzt und diese Lösungen ebenfalls hinsichtlich ihres Auswaschverhaltens für Bor am ICP-MS bzw. ICP-OES untersucht.

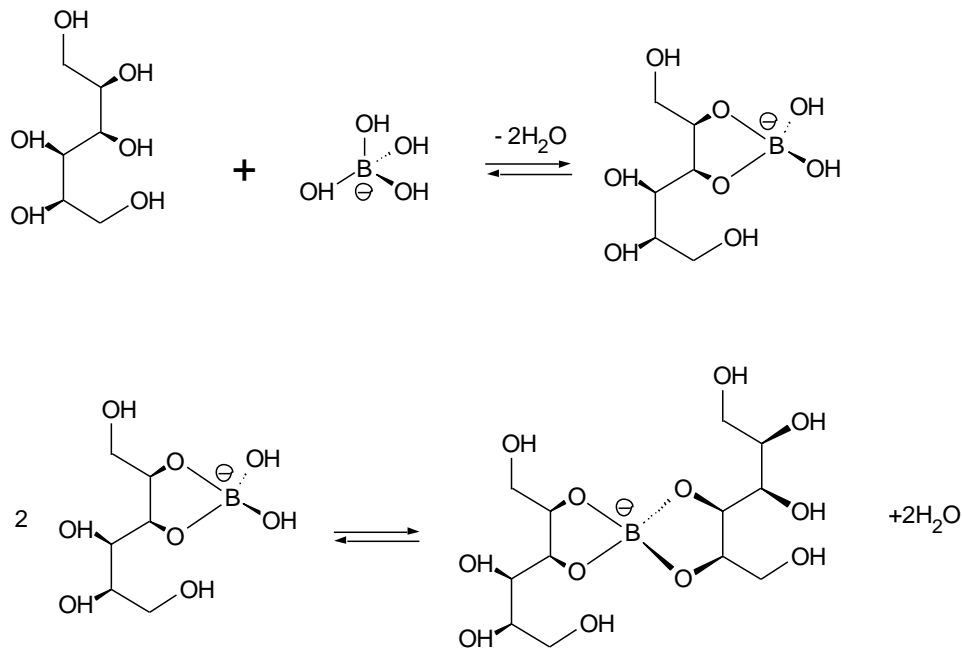
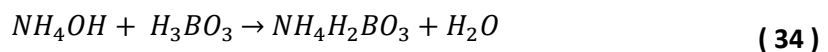


Abbildung 40: Veresterungsreaktion von D-Mannitol und Borsäure.

Abbildung 40 zeigt die Veresterung der Borsäure mit D-Mannitol, welches einen mehrwertigen Alkohol darstellt, und den daraus entstehenden Borsäureester. Damit ein mehrwertiger Alkohol als Chelatkomplexbildner für Borsäure in Frage kommt, muss dieser zwei vicinale, in cis-Stellung stehende OH-Gruppen besitzen.²⁰⁶ Wie in der obiger Abbildung zu erkennen ist, bildet Borsäure mit D-Mannitol einen Mannitol-Borat-Komplex, welcher bevorzugt im basischen pH Bereich gebildet wird. Durch dessen Bildung sind die Hydroxylgruppen der Borsäure an Mannitol gebunden, wodurch die Adsorption von Bor bzw. Borsäure an Glasoberflächen reduziert wird. Der gebildete Mannitol-Borat-Komplex besitzt eine Verdampfungstemperatur von ca. 2500 °C, wodurch dieser Komplex weniger flüchtig ist im Vergleich zu Borsäure bzw. BPA.^{204,205}

Durch die Zugabe von NH₄OH Lösung reagiert die Borsäure bzw. das BPA nach folgender Reaktionsgleichung zu Ammoniumborat:



Das so gebildete Ammoniumborat ist nicht mehr flüchtig und wird mit dem Wasser, welches ebenfalls in der Spüllösung enthalten ist, aus dem Probenzuführungssystem leichter ausgewaschen.⁶²

Ein weiteres in der vorliegenden Studie untersuchtes Additiv stellt Triton X-100 dar, welches ein oberflächenaktives Netzmittel ist und so die Benetzbarkeit der Oberflächen innerhalb der Sprühkammer erhöht. Es senkt demnach die Oberflächenspannung woraus ein reduzierter

Kohäsionsdruck innerhalb eines kondensierten Topfens resultiert. Daher wurde das Auswaschverhalten von Borsäure in 0,1% (w/v) Triton X-100 in 0,14 M HNO₃, 0,1 M NH₄OH sowie Reinstwasser untersucht.

Da der Bor-bedingte Memory-Effekt sowohl von der Adsorption von Bor an Glasoberflächen sowie der Flüchtigkeit von einigen Borverbindungen herrührt, wurde als letzte Maßnahme zur Reduzierung des Bor-bedingten Memory-Effekts die Sprühkammertemperatur im Bereich von 2-40 °C variiert und das Auswaschverhalten von Borsäure untersucht. Diese Untersuchung, unter Variation der Probenflussraten der Zerstäuber, wurde nur am ICP-OES durchgeführt.

3.3.1 Untersuchungen verschiedener Spüllösungen für Bor am ICP-MS

In diesem Kapitel wird das Auswaschverhalten von Borsäure unter Verwendung verschiedener Spüllösungen am ICP-MS untersucht. Hierzu wurde der "MicroMist" Zerstäuber, welcher nach Spezifikation des Herstellers für eine Probenflussrate von 0,200 mL/min bei einem Zerstäubergasstrom von 1,0 L/min optimiert ist, in Kombination mit der Glaszyklonsprühkammer, welche mit einem Anschluss für die Zufuhr eines Zusatzgas versehen ist, mittels Fließinjektion verwendet. Es wurden die Auswaschzeiten der in dieser Studie untersuchten Spülreagenzien für 50 µL einer 100 µg/L Borsäurelösung im wässrigen Medium bestimmt. In der vorliegenden Studie wurden insgesamt neun verschiedene Lösungen mit unterschiedlichen pH-Werten und Additiven (D-Mannitol, Triton X-100) hinsichtlich ihres Auswaschverhaltens für Borsäure untersucht. Dies gelang, indem am ICP-MS transiente Signale detektiert und mittels Microsoft Excel 2010 die Zeit berechnet wurde, die benötigt wurde, um vom detektierten Borsignal zum Untergrundsignal zu gelangen. In Abbildung 41 sind die ermittelten Auswaschzeiten für Borsäure unter Verwendung der neun verschiedenen Lösungen graphisch dargestellt (n=5). Die angegebenen Fehler resultieren aus der ermittelten Standardabweichung.

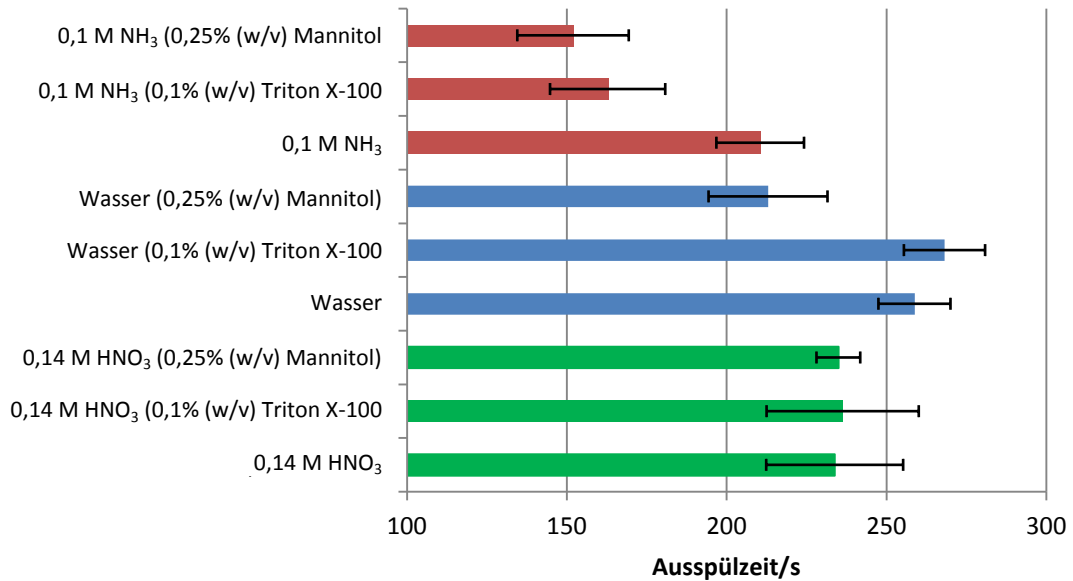


Abbildung 41: Auswaschverhalten von Bor unter Verwendung des "MicroMist" Zerstäubers und einer Glaszyklonsprühkammer am ICP-MS für Lösungen verschiedener pH-Werte und Additive.

In obiger Abbildung ist zu erkennen, dass die Auswaschzeiten für Borsäure im Bereich von 150-270 s liegen, wobei durch Verwendung der beiden alkalischen Lösungen, welche 0,25% (w/v) D-Mannitol bzw. 0,1% (w/v) Triton X-100 enthalten, die niedrigsten Ausspülzeiten von ca. 150 bzw. 160 s erzielt werden. Da sich der Mannitol-Borat-Komplex (s. Abbildung 40) bevorzugt im alkalischen pH Bereich bildet und so die Hydroxylgruppen der Borsäure nicht mehr so stark an Glasoberflächen adsorbieren können, kann hierdurch die im Vergleich zu den anderen untersuchten Lösungen recht kurze Auswaschzeit begründet werden. Weiterhin wird die Verdampfungstemperatur durch Bildung des Mannitol-Borat-Komplexes auf ca. 2500 °C erhöht.^{204,205} Daher ist der gebildete Mannitol-Borat-Komplex weniger flüchtig als Borsäure und der Bor-bedingte Memory-Effekt wird reduziert. Durch Hinzugabe von 0,1% (w/v) Triton X-100, welches ein Oberflächennetzmittel darstellt, sinkt der Kohäsionsdruck innerhalb eines kondensierten Tropfens und dieser wird schneller aus der Sprühkammer heraus gespült. Bei den neutralen Lösungen konnten Auswaschzeiten für Borsäure im Bereich von 220-270 s ermittelt werden. Hier zeigte sich, dass die Lösung, welche 0,25% (w/v) D-Mannitol in Reinstwasser enthielt die kürzere Ausspülzeit erzielte. Dies lässt sich damit begründen, dass der Mannitol-Borat-Komplex zwar bevorzugt im alkalischen pH Bereich gebildet wird, jedoch in reduzierter Form auch im neutralen pH Bereich. Das gleiche Verhalten zeigt sich auch an der im Vergleich zur alkalischen Mannitollösung ca. 47% längeren Ausspülzeit für Bor. Durch die Zugabe von 0,1% (w/v) Triton X-100 zu Reinstwasser kann kein Effekt bezüglich des Bor-bedingten Memory-Effektes abgeleitet werden. Durch Verwendung der drei Lösungen, welche einen pH-Wert < 7 aufweisen, kann eine Auswaschzeit für Borsäure von ca. 240 s ermittelt werden. Hier konnte

durch Zugabe von 0,25% (w/v) D-Mannitol bzw. 0,1% (w/v) Triton X-100 kein Effekt hinsichtlich des Auswaschverhaltens der Borsäure beobachtet werden. In Abbildung 41 wird daher deutlich, dass durch Verwendung der beiden alkalischen Lösungen, welche entweder 0,25% (w/v) D-Mannitol oder 0,1% (w/v) Triton X-100 enthalten, die kürzesten Auswaschzeiten von ca. 150 s für Borsäure am ICP-MS erzielt werden können. Daher sind diese beiden Lösungen zu bevorzugen für die Quantifizierung von Bor im wässrigen Medium mittels ICP-MS.

3.3.2 Untersuchung verschiedener Spüllösungen für Bor am ICP-OES

Die neun unterschiedlichen Lösungen mit verschiedenen pH-Werten (sauer, neutral und basisch) mit den Additiven D-Mannitol und Triton X-100 wurden ebenfalls am ICP-OES (JY 238 Ultrace) hinsichtlich ihrer Auswaschzeiten für Bor untersucht. Es wurde der analoge Aufbau, wie am ICP-MS verwendet, wobei anstelle des "MicroMist" Zerstäubers ein Meinhardzerstäuber (optimiert auf 1,00 mL/min Probenfluss bei 1 L/min Zerstäubergasfluss) in Kombination mit der Glaszyklonsprühkammer, welche bereits in Kapitel 3.2.2 zum Einsatz gekommen war, verwendet wurde. Da die ICP-OES eine niedrigere Empfindlichkeit im Vergleich zur ICP-MS für die meisten Analyten aufweist, betrug die Borkonzentration (H_3BO_3 in H_2O), welche mittels der 50 μL Probenschleife injiziert wurde, für die Untersuchungen am ICP-OES 1,00 mg/L.¹⁰⁸ In Abbildung 42 sind die auf dieselbe Weise, wie bereits in Kapitel 3.3.1 erläutert, ermittelten Auswaschzeiten für Bor in Form von Borsäure am ICP-OES graphisch dargestellt. Hierbei ist zu erkennen, dass die ermittelten Auswaschzeiten für Borsäure unabhängig von der verwendeten Spüllösung alle im Bereich von 6,5-8,5 s liegen. Auch hier wurde jeweils ein Mittelwert aus fünf Messungen gebildet, sowie als Fehler der Auswaschzeit die Standardabweichung ermittelt. Es werden daher am ICP-OES im Vergleich zum ICP-MS um einen Faktor von 25-30 kürzere Auswaschzeiten für Borsäure erhalten. Dies lässt sich anhand der reduzierten Empfindlichkeit der Atomemissionsspektroskopie im Vergleich zur Elementmassenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma erklären, welche ebenfalls in Kapitel 3.2 bereits deutlich wurde.¹⁰⁸ Hier konnte beispielsweise mit dem Flow-Blurring-Zerstäuber "OneNeb" am ICP-MS eine Empfindlichkeit für ^{10}B von ca. 18000 CPS/($\mu\text{g/L B}$) erzielt werden, wobei am ICP-OES lediglich eine um Faktor 20 niedrigere Empfindlichkeit für die Atomlinie B(I) 249,773 nm erzielt werden konnte. Ein weiteres Argument für die Reduzierung des Bor-bedingten Memory-Effektes stellt die Tatsache dar, dass die Plasmafackel des verwendeten ICP-OES ein Injektorrohr aufweist, welches aus Aluminiumoxid gefertigt ist. Das verwendete ICP-MS hingegen besitzt eine vollständig aus Quarz gefertigte Fackel. Hierdurch wird der Kontakt von Borsäure mit Glasoberflächen am verwendeten ICP-OES reduziert. Ein dritter Aspekt, der die sehr kurzen Auswaschzeiten für Borsäure am ICP-OES erklärt, ist, dass am ICP-MS die Ionen in das

Geräteinnere gelangen, wo sie eventuell Wechselwirkungen mit den Bauteilen eingehen können. Im Gegensatz hierzu gelangt der Analyt im Falle der ICP-OES nicht in das Geräteinnere, was ebenfalls einen Beitrag zur Reduzierung der Auswaschzeiten bzw. des Memory-Effekts haben könnte.

Da die Auswaschzeiten am ICP-OES für alle in dieser Arbeit untersuchten Lösungen keinen signifikanten Unterschied aufweisen, empfiehlt es sich für die Quantifizierung von Bor das Probenzuführungssystem mit Reinstwasser zu reinigen, da hierdurch der Probe bzw. dem ICP-OES keine weiteren Additive hinzugefügt werden müssen. Durch das Verdünnen der Probe mit Reinstwasser wird die Probenvorbereitung vereinfacht sowie das Kontaminationsrisiko reduziert. Weiterhin ist für die Anwendung der BNCT die ICP-OES aufgrund der weniger ausgeprägten Matrixeffekte der ICP-MS ebenfalls vorzuziehen.^{108,134} Aus diesem Grund werden im Folgenden alle weiteren getätigten Untersuchungen nur noch am ICP-OES durchgeführt.

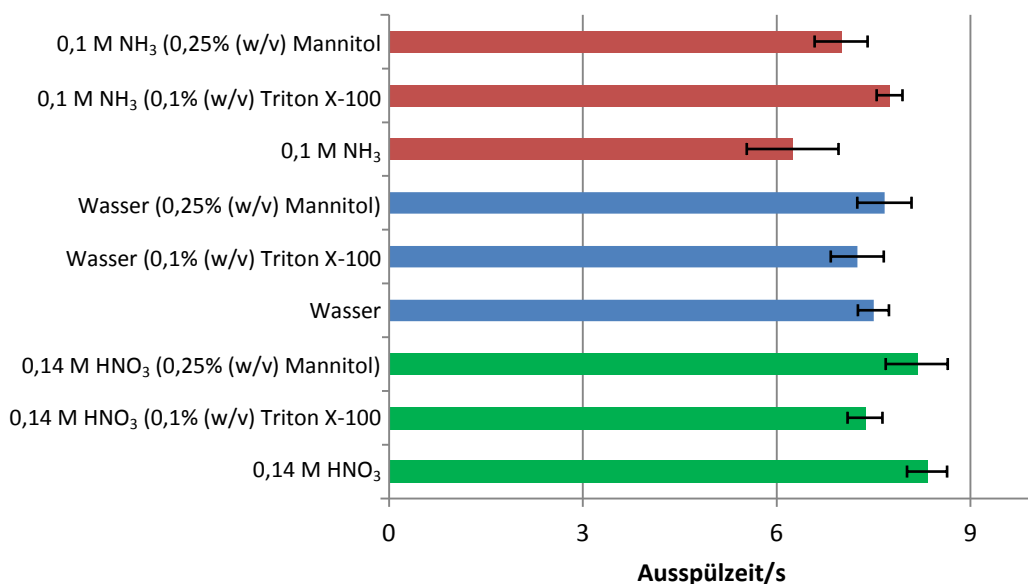


Abbildung 42: Auswaschverhalten für Bor unter Verwendung des Meinhardzerstäubers und einer Glaszyklonsprühkammer am ICP-OES für Lösungen verschiedener pH-Werte und Additive.

3.3.3 Variation der Sprühkammertemperatur am ICP-OES

Da der Bor-bedingte Memory-Effekt sowohl auf die Adsorption von Bor an Glasoberflächen sowie auf das leichte Verdampfen vieler Borverbindungen innerhalb der Sprühkammer zurückzuführen ist, soll in diesem Abschnitt der Einfluss der Sprühkammertemperatur auf das Auswaschverhalten von Borsäure untersucht werden. Da das Verdampfen der Borsäure bei reduzierter Temperatur der Sprühkammer verhindert bzw. minimiert werden kann, wird in dieser Studie die Sprühkammertemperatur im Bereich von 2 °C bis 40 °C variiert.¹²⁵ Hierzu wurde in der Feinmechanischen Werkstatt der Johannes Gutenberg-Universität Mainz ein Temperiermantel, welcher aus Messing gefertigt ist, für die schon in Kapitel 3.2.2 und 3.3.2 verwendete Glaszyklonsprühkammer angefertigt. Dieser Mantel kann mit Hilfe einer Temperiereinheit auf verschiedene Temperaturen eingestellt werden, wodurch sich auch die Temperatur im Innern der Glaszyklonsprühkammer und somit die Aerosoltemperatur variieren lässt. Nach Variation der Sprühkammertemperatur wurde die Temperatur für 10 Minuten stabilisiert und die Betriebsbedingungen der Ionenquelle erneut auf höchstes Signal/Untergrundverhältnis für die Atomlinie B(I) 249,773 nm, sowie möglichst niedrigen RSD optimiert. Für die hier beschriebene Studie wurde der Parallelpfad-Zerstäuber "PFA 250" verwendet, da durch Verwendung dieses Zerstäubers, wie in Kapitel 3.2.2 gezeigt, die höchste Empfindlichkeit für Bor bei gleichzeitig niedrigster Probenflussrate ermittelt werden konnte. Weiterhin wurde dieser Zerstäuber mit der Glaszyklonsprühkammer der vorherigen Studien kombiniert, da Glas eine höhere Wärmeleitfähigkeit als PTFE aufweist. Es wurde nicht nur die Temperatur der Sprühkammer und somit die des Aerosols variiert, sondern ebenfalls die Probenflussrate des Zerstäubers, wobei das Auswaschverhalten von 50 µL einer 1,00 mg/L wässrigen Borsäurelösung untersucht wurde. Aufgrund eines dauerhaften Defekts des bis dahin verwendeten ICP-OES wurden alle folgenden Untersuchungen an dem Activa ICP-OES der Firma Horiba Jobin Yvon (Longjumeau Cedex, Frankreich) durchgeführt. Dieses ICP-OES arbeitet ebenfalls in radialer Beobachtungsweise, besitzt jedoch einen CCD Detektor. Der verbaute Detektor besitzt seine maximale Quantenausbeute zwischen 500 und 700 nm, wodurch unter Verwendung dieses Detektor niedrigere Empfindlichkeiten für Bor im Vergleich zum Photomultiplier (JY 238 Ultrace) erzielt werden.²⁰⁷ Für die Untersuchung des Auswaschverhaltens von Borsäure wurde ausschließlich Reinstwasser als Spülreagenz verwendet, da sich aus Kapitel 3.3.2 kein signifikanter Unterschied für die in dieser Arbeit untersuchten Lösungen hinsichtlich des Auswaschverhaltens für Borsäure ermittelt werden konnten.

In Abbildung 43 sind die durch FIA ermittelten Auswaschzeiten in Abhängigkeit von der Sprühkammertemperatur und der Probenflussrate unter Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "PFA 250" dargestellt. Es ist zu erkennen, dass die ermittelten Auswaschzeiten zwischen 5,5 s und 16 s variieren. Die ermittelten Auswaschzeiten für Borsäure sind ebenfalls abhängig von der Probenflussrate. Je höher die Probenflussrate ist, desto mehr Lösungsmittel (Reinstwasser) wird in die Sprühkammer transportiert und somit der Analyt Bor schneller aus dieser wieder entfernt. Weiterhin ist ein Zusammenhang zwischen der Sprühkammertemperatur und dem Auswaschverhalten von Borsäure zu erkennen. Je niedriger die Temperatur der Sprühkammer und somit des gebildeten Aerosols ist, desto kürzer ist die Auswaschzeit für Borsäure. Für die Probenflussrate von 0,900 mL/min und einer Sprühkammertemperatur von 40 °C konnte das Auswaschverhalten in der vorliegenden Studie nicht ermittelt werden, da das ICP aufgrund der erhöhten Lösungsmittelfracht (*Solvent load*), welche durch die hohe Probenflussrate sowie die erhöhte Sprühkammertemperatur bzw. Aerosoltemperatur erzeugt wurde, frühzeitig erloschen ist. Im Vergleich zu den in Kapitel 3.3.2 ermittelten Auswaschzeiten bei einer Sprühkammertemperatur von ca. 20 °C (Raumtemperatur), welche zwischen 6,5 und 8,5 s lagen, sind die Auswaschzeiten für eine auf 40 °C beheizte Sprühkammer um einen Faktor 2 (16 s) erhöht. Werden die Auswaschzeiten bei einer Sprühkammertemperatur von 2 °C und 20 °C miteinander verglichen, so kann die Schlussfolgerung gezogen werden, dass durch Reduzierung der Sprühkammertemperatur keine signifikante Reduzierung des Bor-bedingten Memory-Effekts ermittelt werden konnte.

Alle folgenden Untersuchungen wurden daher bei einer Sprühkammertemperatur von 20 °C (Raumtemperatur) durchgeführt.

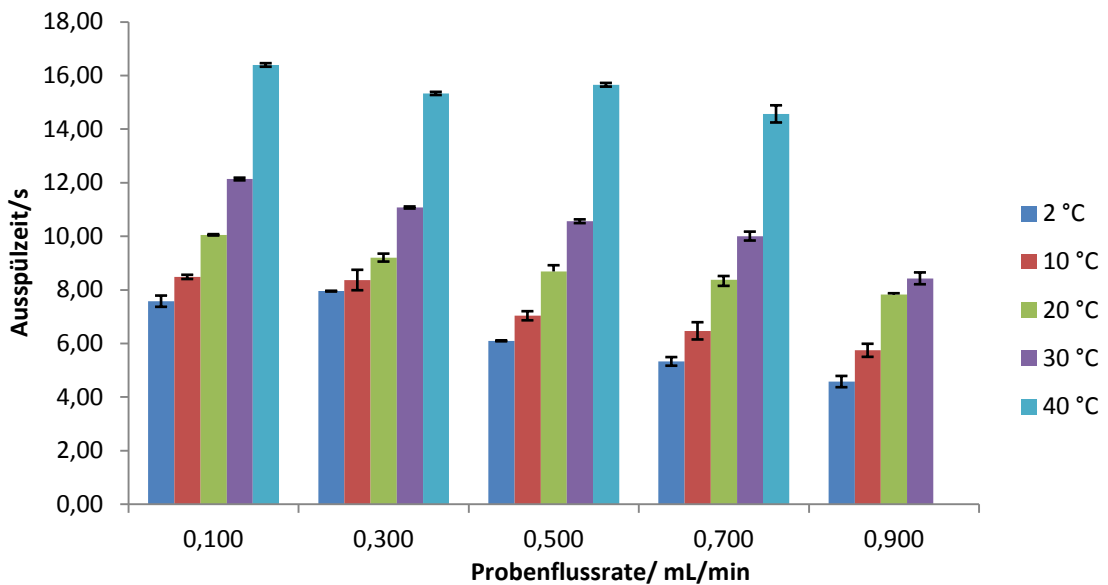


Abbildung 43: Auswaschverhalten von Borsäure unter Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "PFA 250" in Abhängigkeit zu der Sprühkammertemperatur sowie der Probenflussrate.

Durch Variation der Sprühkammertemperatur wird ebenfalls die Temperatur des Aerosols verändert. Durch Erhöhung der Temperatur des Aerosols wird dem ICP weniger Energie für die Desolvatisierung, Atomisierung und Anregung entzogen. Daher finden diese Prozesse effektiver bzw. früher im ICP statt. Dies erfordert eine Anpassung der Beobachtungshöhe und sollte in einer Erhöhung der Empfindlichkeit resultieren. Daher wurde die Empfindlichkeit für die Atomlinie B(I) 249,773 nm in Abhängigkeit zur Sprühkammertemperatur und der Probenflussrate ebenfalls in der hier beschriebenen Studie untersucht. Die ermittelten Empfindlichkeiten für die Atomlinie B(I) 249,773 nm sind in Abbildung 44 in Abhängigkeit zur Probenflussrate und der Sprühkammertemperatur graphisch dargestellt.

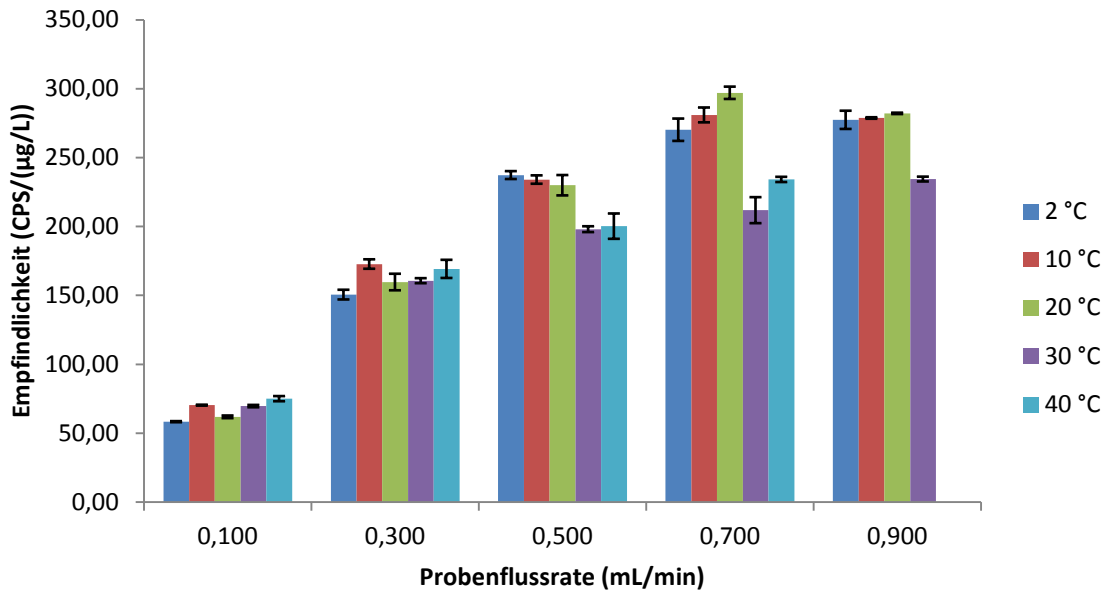


Abbildung 44: Erzielbare Empfindlichkeiten für die Atomlinie B(I) 249,773 nm unter Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "PFA 250" und der Glaszyklonsprühkammer in Abhängigkeit zu der Sprühkammertemperatur sowie der Probenflussrate.

In obiger Abbildung wird ersichtlich, dass die ermittelten Empfindlichkeiten für die dargestellte Boratomlinie im Vergleich zu den in Kapitel 3.2.2 ermittelten Empfindlichkeiten um einen Faktor 4 reduziert sind. Dies lässt sich auf die Verwendung des Activa ICP-OES zurückführen, da dieses Atomemissionsspektrometer einen CCD Detektor besitzt, welcher eine reduzierte Quantenausbeute im Wellenlängenbereich zwischen 200 und 300 nm aufweist.²⁰⁷ Weiterhin ist zu erkennen, dass die ermittelten Empfindlichkeiten für die Atomlinie B(I) 249,773 nm, wie bereits in Kapitel 3.2.2 gezeigt, mit steigender Probenflussrate ansteigen. Die Empfindlichkeit der Methode für Bor im wässrigen Medium steigt ebenfalls mit Erniedrigung der Sprühkammertemperatur an. Mit Erhöhung der Sprühkammertemperatur wird mehr Lösungsmittel in das ICP transportiert, wodurch diesem mehr Energie entzogen wird. Dies ist ebenfalls in Abbildung 44 zu erkennen, da für eine Probenflussrate von 0,900 mL/min und einer Sprühkammertemperatur von 40 °C die Empfindlichkeit für Bor nicht ermittelt werden konnte, da das ICP aufgrund der erhöhten Lösungsmittelfracht frühzeitig erloschen ist. Die Lösungsmittelfracht kann reduziert werden, indem zwischen der beheizten Sprühkammer und dem ICP ein Kondensator eingebaut wird. Dieser wird gekühlt, wodurch das Lösungsmittel kondensiert und so dem Aerosol entzogen wird.

Die Plasmarobustheit wird ebenfalls durch Variation der Sprühkammertemperatur beeinflusst. Daher wurde der Einfluss der Plasmarobustheit nach *Mermet* sowohl auf die Sprühkammertemperatur sowie auf die Probenflussrate untersucht. Nach *Mermet* liegen

robuste Betriebsbedingungen des induktiv gekoppelten Plasmas vor, wenn der Quotient aus Ionen- und Atomlinie von Magnesium ($Mg(II)/Mg(I)$) größer oder gleich zehn ist.

Zur Ermittlung der Plasmarobustheit nach *Mermet* wurde erneut die Lösung verwendet, welche dieselbe mittlere Elektrolytkonzentration wie menschliches Blutserum enthält (vgl. Kapitel 3.2.2). Diese wurde mittels Einkanalsspritzenpumpe dem "PFA 250" Parallelpfad-Zerstäuber zugeführt. Die ermittelte Plasmarobustheit für unterschiedliche Sprühkammertemperaturen und Probenflussraten ist in Abbildung 45 dargestellt, wobei ersichtlich wird, dass für die niedrigen Probenflussraten (0,100 und 0,300 mL/min) bei einer Sprühkammertemperatur von 2 °C keine robusten Betriebsbedingungen der Ionenquelle ermittelt werden konnten. Auch hier ist der Einfluss der erhöhten Lösemittelfracht zu erkennen. Bei einer Probenflussrate von 0,900 mL/min und einer Sprühkammertemperatur von 40 °C konnten ebenfalls keine robusten Betriebsbedingungen der Ionenquelle erzielt werden. Bei allen anderen Temperatur- und Probenflussraten-Kombination unter Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "PFA 250" und der Glaszyklonsprühkammer konnten robuste Betriebsbedingungen ermittelt werden.

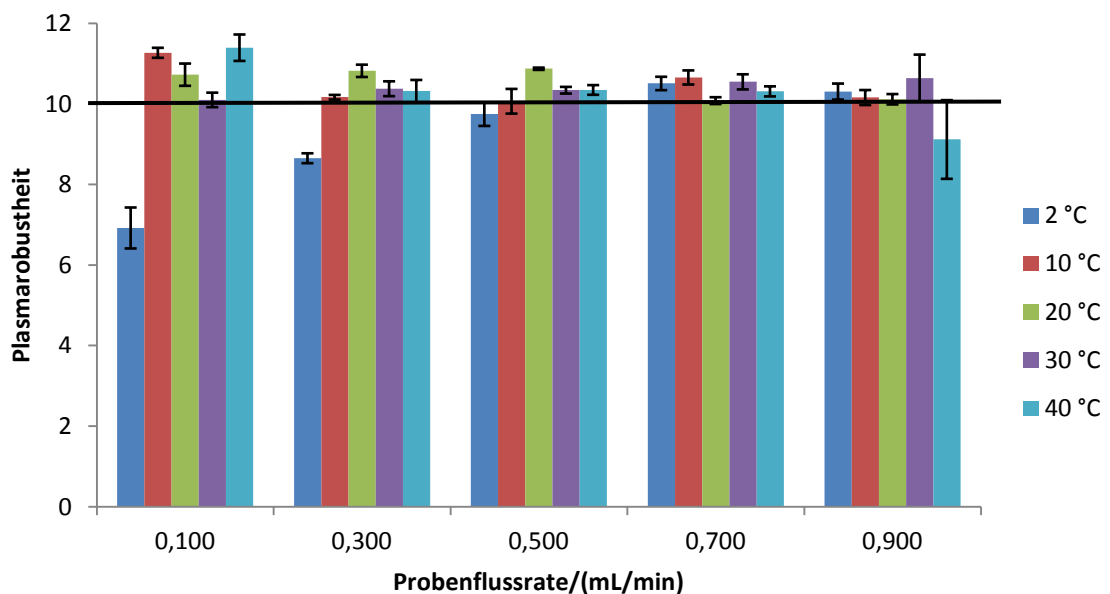


Abbildung 45: Plasmarobustheit nach *Mermet* unter Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "PFA 250" und der Glaszyklonsprühkammer unter Variation der Sprühkammertemperatur sowie der Probenflussrate.

3.3.4 Vergleich der Ergebnisse und Schlussfolgerungen

In diesem Kapitel wurden verschiedene Methoden untersucht, um die Auswaschzeit von Bor aus dem Probenzuführungssystem in der Elementmassenspektrometrie sowie in der Atomemissionsspektroskopie mit dem induktiv gekoppelten Plasma zu reduzieren. Es wurden Spülreagenzien mit verschiedenen pH-Werten (Salpetersäure, Reinstwasser und ammoniakalische Lösungen) mit verschiedenen Additiven (D-Mannitol und Triton X-100) hinsichtlich ihres Auswaschverhaltens für Borsäure untersucht. Als Borpräparat diente Borsäure, da diese strukturell ähnlich zu dem in der BNCT am häufigsten verwendeten BPA ist, sich daher ähnlich zu diesem verhalten sollte und aufgrund des natürlichen Isotopenverhältnisses von Bor preiswerter als BPA ist. Zur Probenzuführung wurde ein "MicroMist" Zerstäuber, welcher aus Quarz gefertigt ist und mit einer Probenflussrate von 0,200 mL/min in Kombination mit einer Glaszyklonsprühkammer, welche mit einem Anschluss für ein Zusatzgas versehen war, am ICP-MS verwendet. Am ICP-OES wurde ein Meinhardzerstäuber, welcher aus Glas gefertigt ist und mit einer Probenflussrate von 1,00 mL/min betrieben wurde, in Kombination mit einer Glaszyklonsprühkammer verwendet. Das Auswaschverhalten für Borsäure wurde mittels FIA untersucht. Hierzu wurde ein Sechs-Wegeventil verwendet, welches eine Probenschleife von 50 µL besaß. Für jede der untersuchten Reinigungsreagenzien wurde das Auswaschverhalten mittels transienter Signale für Bor aufgezeichnet und anschließend ein Mittelwert sowie die Standardabweichung für die Auswaschzeit von Borsäure ermittelt.

Am ICP-MS konnten Auswaschzeiten für Borsäure zwischen 160-270 s ermittelt werden, wobei die beiden kürzesten Auswaschzeiten (ca. 160 s) in ammoniakalischer Lösung erzielt wurden, welcher 0,1 % (w/v) Triton X-100 bzw. 0,25 % (w/v) D-Mannitol hinzugefügt wurde.

Am ICP-OES verhält sich das Auswaschverhalten von Borsäure unter Verwendung der in dieser Studie untersuchten Spülreagenzien anders. Hier variieren die ermittelten Auswaschzeiten für Borsäure zwischen 6,5-8,5 s (vgl. Abbildung 42), wobei kein signifikanter Unterschied zwischen den untersuchten Spülreagenzien zu erkennen ist.

Werden die beiden Abbildung 41 und Abbildung 42 vergleichend betrachtet, lässt sich daraus schließen, dass mittels Atomemissionsspektroskopie mit dem induktiv gekoppelten Plasma der Bor-bedingte Memory-Effekt um einen Faktor von 25-30 reduziert ist, im Vergleich zu den ermittelten Auswaschzeiten am ICP-MS. Da für die klinische Anwendung der BNCT eine Analyseverfahren zur Quantifizierung von Bor mit einem hohen Probendurchsatz nötig ist, ist daher die ICP-OES für die klinische Anwendung der BNCT der ICP-MS vorzuziehen ist. In Abbildung 42 ist kein signifikanter Unterschied der ermittelten Auswaschzeiten für Borsäure

unter Verwendung der hier untersuchten Spülreagenzien zu erkennen. Daher wird im Weiteren am ICP-OES zur Reduzierung der Probenzusammensetzung, welche mit Vollblut eine komplexe Matrix darstellt, das Probenzuführungssystem zwischen den einzelnen Proben mit Reinstwasser gespült. Somit werden im Folgenden alle getätigten Untersuchungen nur noch mittels ICP-OES durchgeführt, sowie als Spüllösung zwischen den einzelnen Proben, soweit nicht anders angegeben, Reinstwasser verwendet.

Eine weitere Möglichkeit zur Reduzierung des *Memory-Effektes* von Borsäure stellt die Temperierung der Sprühkammer dar. Durch Kühlung der Zerstäuberkammer wird das recht leichte Verdampfen von Borsäure verhindert.^{62,125} Die Sprühkammertemperatur wurde zwischen 2 °C und 40 °C variiert. Es wurde das Auswaschverhalten für Borsäure bei verschiedenen Sprühkammer- bzw. Aerosoltemperaturen unter Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "PFA 250" bei verschiedenen Probenflussraten für Reinstwasser untersucht. Es konnte jedoch keine signifikante Reduzierung des Bor-bedingten Memory-Effektes durch Erniedrigung der Sprühkammertemperatur ermittelt werden.

Da der Bor-bedingte Memory-Effekt durch Kühlen der Sprühkammer nur minimal reduziert werden konnte (Auswaschzeiten zwischen 6,5-8,5 s bei Raumtemperatur und 5,5-16 s durch Temperierung der Sprühkammer) wird in der vorliegenden Arbeit im Weiteren auf die Temperierung der Glaszyklonsprühkammer zur Reduzierung des Memory-Effektes verzichtet.

3.4 Quantifizierung von Bor in Blut, Vergleich der Kalibrierstrategien

Vollblut stellt jedoch aufgrund der sehr komplexen Matrix für die Quantifizierung von Bor eine Herausforderung für die Analysemethode dar, da es nicht nur zelluläre Bestandteile, sondern auch einige Elektrolyte beinhaltet, welche die Analyse von Bor stören können.^{3,73,200} Daher sollen in diesem Kapitel verschiedene Möglichkeiten für die Quantifizierung von Bor in menschlichem Vollblut aufgezeigt und hinsichtlich ihrer Anwendbarkeit in der BNCT miteinander verglichen werden. Hierzu wurden von der Transfusionszentrale der Universitätsmedizin Mainz gerinnungsgehemmtes Erythrozytenkonzentrat, Blutplasma sowie Vollblut mit verschiedenen gerinnungshemmenden Reagenzien (Heparin, Citrat sowie EDTA) mit bekannten Mengen an Borsäure, BPA bzw. BSH versetzt und die Wiederfindungsrate für Bor mittels ICP-OES ermittelt.

3.4.1 Externe Kalibrierung

In diesem ersten Abschnitt dieses Kapitels werden verschiedene Arten der Probenvorbereitung von Erythrozytenkonzentrat (Erythrozytenkonzentrat in PAGGS-M, Blutgruppe 0+), Blutplasma (gefrorenes Frischplasma, CPD-Stabilisator, Blutgruppe 0+) sowie Vollblutproben (Blutgruppe B+) mit verschiedenen gerinnungshemmenden Reagenzien (Heparin, Citrat bzw. EDTA) mittels externer Kalibrierung hinsichtlich der Wiederfindungsrate von Bor untersucht. Hierzu wurde das Erythrozytenkonzentrat, sowie das Blutplasma, welches von der Transfusionszentrale der Universitätsmedizin Mainz zur Verfügung gestellt wurde, mit 100 µg/L Bor (Borsäure), sowie 100 µg/L Beryllium, welches als Interner Standard diente, versetzt. Die Wiederfindungsrate für Bor für die ICP-OES basierte Methode wurde für Proben, welche mittels mikrowellenassistierten Druckaufschluss aufgeschlossen wurden, sowie für Proben, welche mit Reinstwasser verdünnt wurden, unter Verwendung der externen Kalibrierung untersucht.

Blutkomponentenmischung nach mikrowellenassistiertem Aufschluss

Vollblut besteht zu ca. 45% (v/v) aus Erythrozytenkonzentrat und zu ca. 55% (v/v) aus Blutplasma.²⁰⁰ Daher wurde das von der Transfusionszentrale der Universitätsmedizin Mainz für diese Arbeit zur Verfügung gestellte gerinnungsstabilisierte Erythrozytenkonzentrat sowie das gerinnungsstabilisierte Blutplasma in diesem Verhältnis miteinander gemischt und bekannte Konzentrationen an Bor, welches als Borsäure vorlag, hinzugegeben. Die Proben wurden zunächst mikrowellenassistiert aufgeschlossen, um alle zellulären Bestandteile aus der Probe zu

entfernen. Da die Quantifizierung von Bor in Vollblut mittels ICP-OES hauptsächlich durch Eisen (Fe(II) 249,782 nm)⁷³ interferiert wird und die höchste Eisenkonzentration im Vollblut im Erythrozytenkonzentrat in Form von Hämoglobin vorkommt, wurde das gerinnungsstabilisierte Erythrozytenkonzentrat ebenfalls nach Zugabe bekannter Konzentrationen an Bor mikrowellenassistent aufgeschlossen und hinsichtlich der Wiederfindungsrate für Bor untersucht.^{73,200} Hierzu wurde das Erythrozytenkonzentrat sowie das Gemisch aus Erythrozytenkonzentrat und Blutplasma mit den in Tabelle 11 aufgeführten Chemikalien versetzt und in PTFE-Gefäßen mikrowellenassistent aufgeschlossen.^{53,208}

Tabelle 11: Aufschlussreihe für die mikrowellenassistenten Druckaufschlüsse für eine Verdünnung auf 100 mL

Komponente	Menge
Blutkomponentenmischung	1 mL / 2 mL / 4 mL für Verdünnungen 1:100, 1:50, 1:25
Salpetersäure (65%)	7,5 mL
Phosphorsäure (85%)	1,25 mL
Be-Standardlösung (100 mg/L)	0,1 mL
B-Standardlösung (100 mg/L, H₃BO₃)	0 µL, 50 µL, 100 µL, 200 µL, 400 µL für Konzentrationen von 0-400 µg/L Bor

Für den mikrowellenassistenten Druckaufschluss wurden die verschlossenen PTFE-Behälter in dem Mikrowellensystem Milestone MLS Ethos Plus platziert und für fünf Minuten auf 70 °C erwärmt. Anschließend wurde innerhalb von weiteren fünf Minuten die Temperatur auf 140 °C und anschließend erneut innerhalb von fünf Minuten auf 200 °C erhöht. Die Probengefäße wurden für weitere 30 Minuten auf 200 °C temperiert und anschließend auf Raumtemperatur abgekühlt. Die Lösungen wurden in 100 mL Polypropylenmesskolben überführt und mit Reinstwasser aufgefüllt. Die so erhaltenen Proben wurden am JY 238 Ultrace ICP-OES hinsichtlich ihres Borgehalts untersucht. Es wurde hierzu der Parallelpfad-Zerstäuber "PFA 250" bei einer Probenflussrate von 0,7 mL/min in Kombination mit der "Tracey TFE" Zyklonsprühkammer verwendet, da mit diesem Probenzuführungssystem die höchstmögliche Empfindlichkeit für Bor, sowie robuste Plasmabedingungen nach den Kriterien von *Mermet* erzielt werden konnten (vgl. Kapitel 3.2.2). Um die Wiederfindungsrate von Bor in den unterschiedlich verdünnten Blutkomponentenmischungen zu ermitteln, wurden ebenfalls wässrige Borstandards im Konzentrationsbereich von 50-400 µg/L Bor hergestellt und die ermittelten Intensitäten der Blutkomponentenmischungen bzw. des Erythrozytenkonzentrates mit diesen Werten verglichen.

Hierzu wurden alle Proben in Triplikaten hergestellt und mittels ICP-OES hinsichtlich des Borgehaltes analysiert. Anschließend wurde der Mittelwert sowie die Standardabweichung für die beiden Atomlinien B(I) 208,957 nm und B(I) 249,773 nm ermittelt. Die auf diese Weise ermittelten Wiederfindungsraten für Bor der ICP-OES basierten Methode sind in Abbildung 46 graphisch dargestellt.

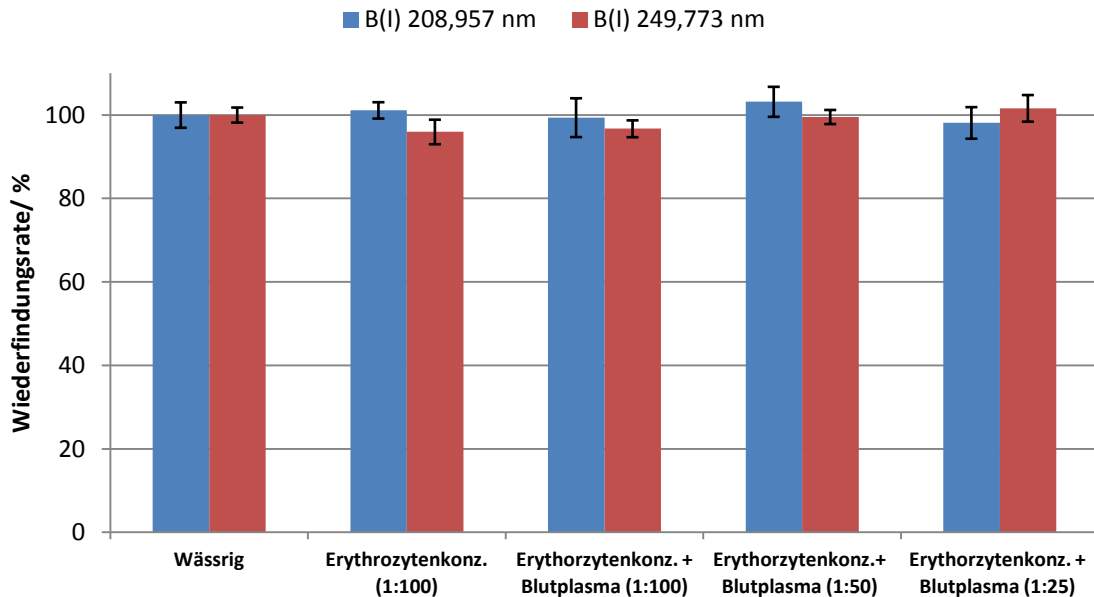


Abbildung 46: Wiederfindungsrate für Bor in Blutkomponentenmischungen unterschiedlicher Verdünnungen nach mikrowellenassistiertem Druckaufschluss mittels ICP-OES unter Verwendung des PFA 250 Zerstäubers (0,7 mL/min) in Kombination mit der "Tracey TFE" Zyklonsprühkammer.

In Abbildung 46 sind die gemittelten Wiederfindungsraten für die beiden untersuchten Atomlinien B(I) 208,957 nm und B(I) 249,773 nm unter Verwendung unterschiedlicher Verdünnungen der Blutkomponentenlösungen dargestellt. Die Wiederfindungsrate der wässrigen Borstandards wurde als Referenzwert auf 100% festgelegt und die ermittelten Wiederfindungsraten für Bor in den Blutkomponentenlösungen mit diesem Referenzwert verglichen. Es ist zu erkennen, dass für alle untersuchten Verdünnungen (1:100, 1:50 und 1:25) der Blutkomponentenmischung, bestehend aus 45% (v/v) gerinnungsstabilisiertem Erythrozytenkonzentrat und 55% (v/v) gerinnungsstabilisiertem Blutplasma, sowie für das gerinnungsstabilisierte Erythrozytenkonzentrat in einer Verdünnung von 1:100 für die beiden untersuchten Atomlinien (B(I) 208,957 nm und B(I) 249,773 nm) Wiederfindungsraten zwischen 96-103% ermittelt werden konnten. Somit können Matrixeffekte sowie Interferenzen durch beispielsweise Eisen^{3,73} in den Proben, welche mikrowellenassistiert aufgeschlossen wurden, ausgeschlossen werden.

Erythrozytenkonzentrat ohne mikrowellenassistenten Druckaufschluss

Da die Probenvorbereitung mittels mikrowellenassistenten Druckaufschluss sehr zeitintensiv ist (ca. 1,5-2 h) und die Quantifizierung von Bor in Vollblut für die klinische Anwendung in der BNCT möglichst zeitnah zur Probenahme erfolgen sollte, soll nun untersucht werden, ob auf die Probenvorbereitung mittels mikrowellenassistenten Druckaufschluss verzichtet werden kann. Da im verwendeten Blutplasma Schwebstoffe enthalten waren, welche den Zerstäuber verstopfen würden, wurde für die in diesem Unterkapitel vorgestellten Untersuchungen ausschließlich das gerinnungsstabilisierte Erythrozytenkonzentrat ohne mikrowellenassistenten Druckaufschluss hinsichtlich der Wiederfindungsrate für Bor untersucht. Das Erythrozytenkonzentrat wurde mit Borsäure in den Konzentrationsbereich von 50-400 µg/L Bor versetzt und mit Reinstwasser im Verhältnis von 1:10 verdünnt. Als Interner Standard wurde jede Probe mit 100 µg/L Beryllium versetzt. Die Wiederfindungsraten für Bor (B(I) 208,957 nm und B(I) 249,773 nm) wurden mittels JY 238 Ultrace ICP-OES unter Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "PFA 250" (Probenflussrate: 0,7 mL/min) und der "Tracey TFE" Zyklonsprühkammer ermittelt. Als Referenzwert dienten hier ebenfalls wässrige Borstandards im Konzentrationsbereich von 50-400 µg/L Bor, welches in Form von Borsäure vorlag. Die wässrigen Borstandards enthielten ebenfalls 100 µg/L Beryllium als Internen Standard.

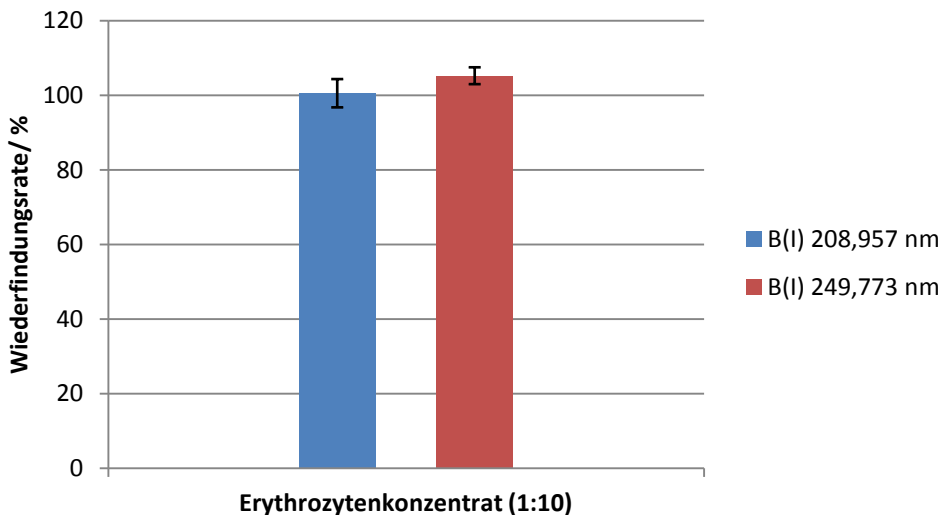


Abbildung 47: Mittels ICP-OES ermittelte Wiederfindungsrate für Bor in menschlichem Erythrozytenkonzentrat in einer Verdünnung von 1:10 ohne vorangehenden mikrowellenassistenten Druckaufschluss.

In Abbildung 47 sind die beiden ermittelten Wiederfindungsraten für die beiden Atomlinien B(I) 208,957 nm und B(I) 249,773 nm für gerinnungsstabilisiertes Erythrozytenkonzentrat in einer Verdünnung von 1:10 visualisiert (n=3). Die dargestellte Wiederfindungsrate für Bor, welche zwischen 99 und 103% liegt, wurde in Bezug zu den wässrigen Borstandards ermittelt. Da sich die Wiederfindungsraten für Borsäure auf nahezu 100% belaufen, kann auf den sehr zeitintensiven mikrowellenassistierten Druckaufschluss für die Probenvorbereitung verzichtet werden, da keine Matrixeffekte in Abbildung 47 zu erkennen sind. Daher kann die Probenvorbereitung für gerinnungsstabilisiertes Erythrozytenkonzentrat auf eine Verdünnung mit Reinstwasser reduziert werden, wodurch sich die Probenvorbereitungszeit pro Probe deutlich reduziert. Somit ist die entwickelte ICP-OES basierte Methode zur Quantifizierung von Bor in gerinnungsstabilisiertem Erythrozytenkonzentrat für die klinische Anwendung der BNCT geeignet.

Vollblut mit verschiedenen Blutstabilisatoren

Da in der BNCT jedoch Vollblutproben vorliegen, welche zentrifugiert werden müssen, um das Vollblut in seine Bestandteile - Blutplasma und Blutserum - aufzutrennen, was wiederum Zeit in der Probenvorbereitung in Anspruch nimmt, soll nun die Wiederfindungsrate für Bor in menschlichem Vollblut durch unterschiedliche Verdünnungen untersucht werden.²⁰⁰ Hierzu wurde Eigenblut (Blutgruppe B+, Hämoglobin-Wert: 15,1-15,4 g/dL), welches ebenfalls von der Transfusionszentrale der Universitätsmedizin Mainz entnommen wurde, verwendet. Um das Gerinnen des Blutes bei Sauerstoffkontakt zu verhindern, wurden dem Blut verschiedene in der Medizin verwendete gerinnungshemmende Reagenzien (Heparin, Citrat bzw. ETDA) zugesetzt. Es wurden alle in der Medizin gängigen Substanzen in der vorliegenden Arbeit untersucht, um einen möglichen Einfluss der gerinnungshemmenden Substanz auf die Wiederfindungsrate für Bor zu ermitteln. Weiterhin wurden verschiedene Verdünnungen des gerinnungsstabilisierten Vollblutes untersucht. Hierzu wurden den verschiedenen Blutproben Borstandard (Borsäure) im Konzentrationsbereich von 50-400 µg/L Bor, sowie 100 µg/L Beryllium, welches als Interner Standard diente, hinzugefügt. Die Vollblutproben wurden mit einer Lösung, welche aus 0,1% (v/v) Triton X-100 in Reinstwasser bestand, verdünnt.^{51,80} Diese Lösung ist notwendig um ein Ausfallen von Proteinen im Vollblut zu verhindern, was bei Verwendung von Reinstwasser der Fall wäre.²⁰⁹

Auf Grund eines dauerhaften Gerätedefektes wurden alle folgenden Untersuchungen am Activa ICP-OES der Firma Horiba Jobin Yvon durchgeführt, welches einen CCD Detektor aufweist, dessen maximale Quantenausbeute zwischen 500-700 nm liegt.²⁰⁷ Da alle bekannten Borlinien unterhalb dieses Wellenlängenbereiches liegen, sind die ermittelten Empfindlichkeiten für Bor unter Verwendung des Activa ICP-OES reduziert im Vergleich zu den ermittelten Empfindlichkeiten für Bor unter Verwendung des JY 238 Ultrace ICP-OES. Daher wurde zur Untersuchung möglicher Matrixeffekte bei der Quantifizierung von Bor in Vollblut und zur Bestimmung der Wiederfindungsrate von Bor eine dritte Atomlinie B(I) 249,677 nm für die folgenden Untersuchungen mit berücksichtigt.

Die verschiedenen Vollblutproben wurden unter Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "PFA 250" bei einer konstanten Probenflussrate von 0,7 mL/min in Kombination mit der "Tracey TFE" Zyklonsprühkammer hinsichtlich der Wiederfindungsrate für Bor analysiert. Auch hier wurden wässrige Borstandards im Konzentrationsbereich von 50-400 µg/L als Referenzwerte verwendet, wobei diesen Proben ebenfalls 0,1% (v/v) Triton X-100 zugesetzt wurde, um mögliche Kontaminationen oder Matrixinterferenzen durch das Triton X-100 ausschließen zu können. In den Abbildung 48-50 sind die ermittelten Wiederfindungen für Bor in Vollblut, welches mittels Heparin, Citrat bzw. EDTA gerinnungsstabilisiert wurde, graphisch dargestellt. Das Vollblut wurde mittels 0,1% (v/v) Triton X-100 in Reinstwasser 1:100, 1:50 sowie 1:25 verdünnt und die Wiederfindungsraten für Bor für die drei Atomlinien B(I) 208,957 nm, B(I) 249,677 nm und B(I) 249,773 nm ermittelt. Die Proben wurden in Triplikaten hinsichtlich ihres Borgehaltes untersucht. Die in den Abbildungen dargestellten Fehlern ergeben sich aus den ermittelten Standardabweichungen.

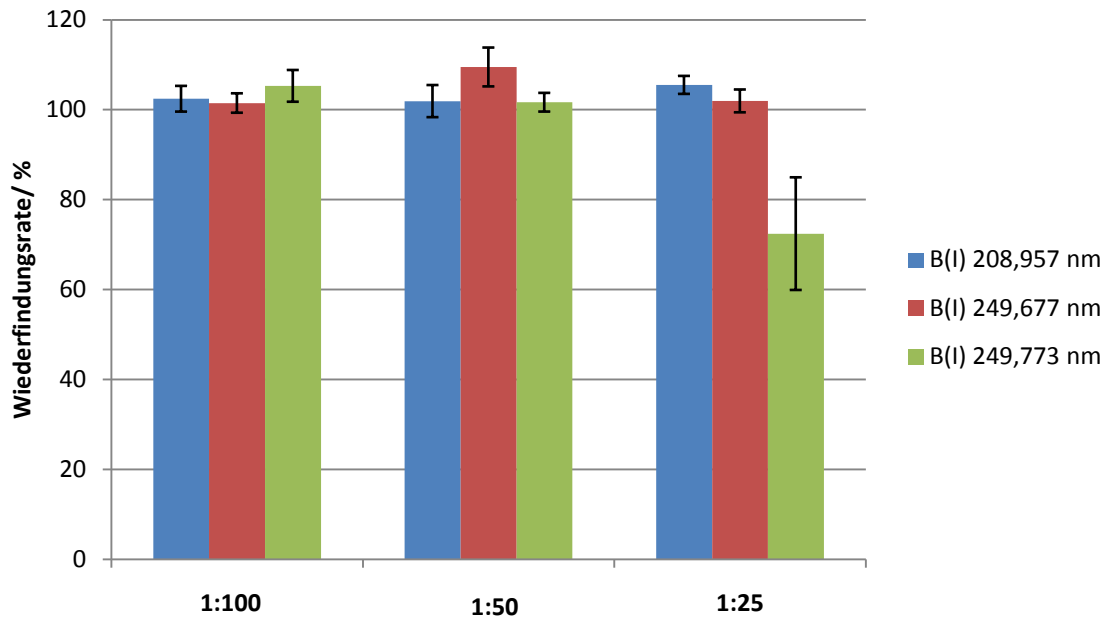


Abbildung 48: Mittels ICP-OES ermittelte Wiederfindungsraten für Bor in Vollblut (heparinstabilisiert) in verschiedenen Verdünnungen unter Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "PFA 250" (0,7 mL/min) in Kombination mit der "Tracey TFE" Zyklonsprühkammer.

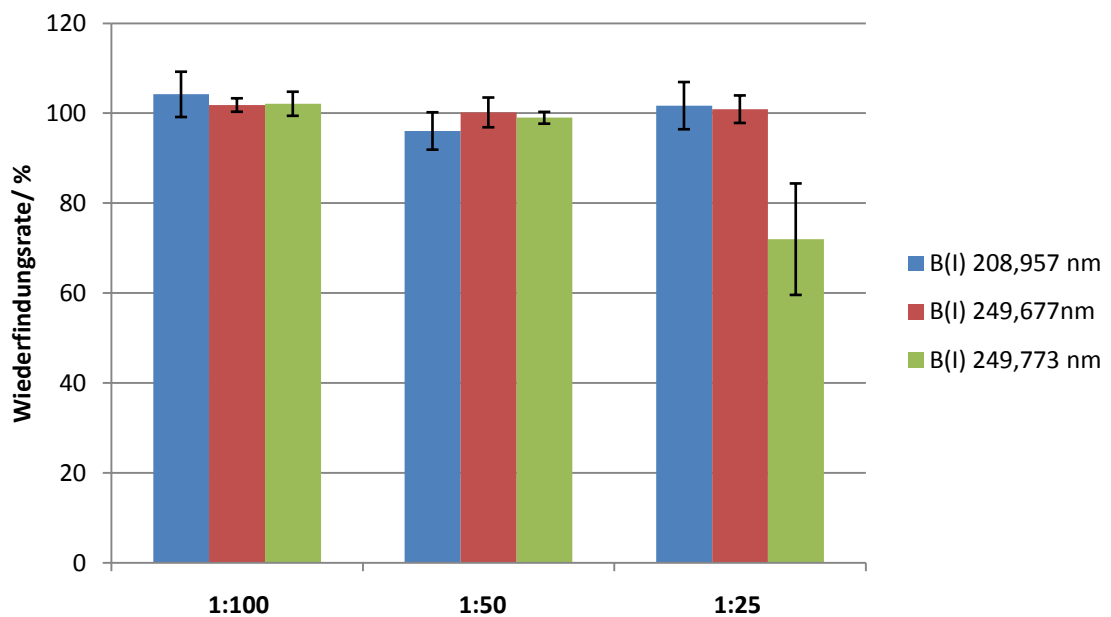


Abbildung 49: Mittels ICP-OES ermittelte Wiederfindungsraten für Bor in Vollblut (citratstabilisiert) in verschiedenen Verdünnungen unter Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "PFA 250" (0,7 mL/min) in Kombination mit der "Tracey TFE" Zyklonsprühkammer.

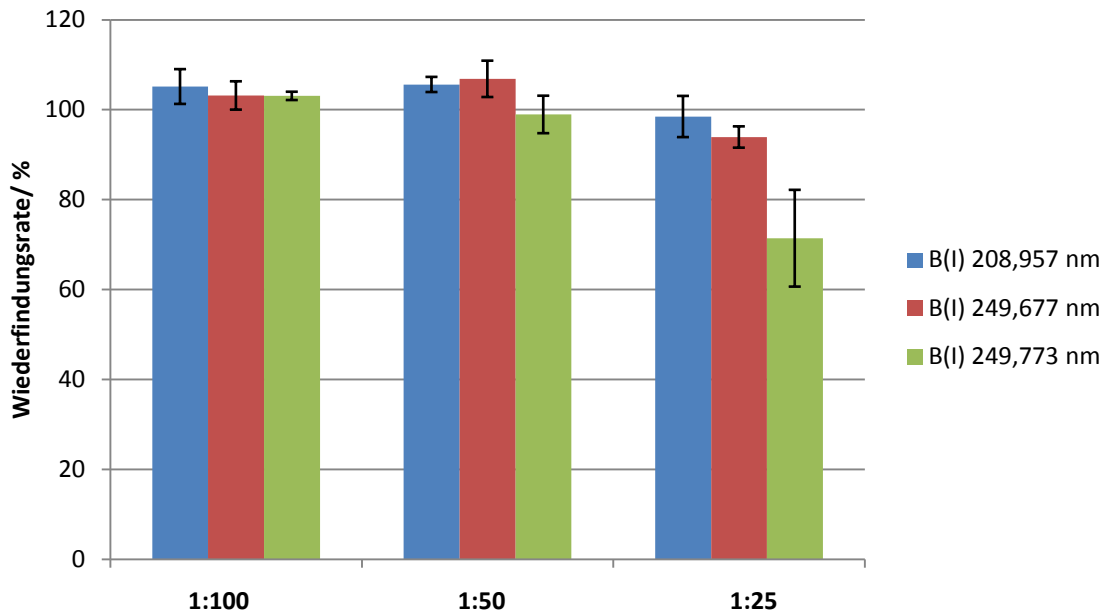


Abbildung 50: Mittels ICP-OES ermittelte Wiederfindungsraten für Bor in Vollblut (EDTA-stabilisiert) in verschiedenen Verdünnungen unter Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "PFA 250" (0,7 mL/min) in Kombination mit der "Tracey TFE" Zyklonsprühkammer.

Für alle drei untersuchten gerinnungsstabilisierenden Substanzen (Heparin, Citrat bzw. EDTA) konnten für die hier untersuchten Boratomlinien Wiederfindungsraten im Bereich von 96-106% für Verdünnungen des Vollblutes mit 0,1% (v/v) Triton X-100 in Reinstwasser im Verhältnis von 1:100 und 1:50 ermittelt werden. Lediglich bei einer Verdünnung des gerinnungsstabilisierten Vollblutes von 1:25 konnten unter Verwendung der Atomlinie B(I) 249,773 nm Matrixinterferenzen identifiziert werden, welche zu einer reduzierten Wiederfindungsrate für Bor (ca. 70%) führen. Hier konnte kein Zusammenhang zu den gerinnungsstabilisierenden Substanzen ermittelt werden. Für die beiden Atomlinien B(I) 208,957 nm sowie B(I) 249,677 nm konnten bei einer Verdünnung des gerinnungsstabilisierten Vollblutes von 1:25 Wiederfindungsraten für Bor zwischen 95% und 103% ermittelt werden. Die reduzierte Wiederfindungsrate für Bor unter Verwendung der Atomlinie B(I) 249,773 nm kann auf eine in der Literatur bekannte Interferenz der Ionenlinie Fe(II) 249,782 nm zurückgeführt werden.^{73,76} Durch die verringerte Verdünnung der Vollblutproben, ist die Eisenkonzentration in den Proben erhöht. Ein Großteil des Eisens ist an Hämoglobinmoleküle im Vollblut gebunden. Das in dieser Arbeit verwendete Vollblut weist einen Hämoglobinwert von 15,1-15,4 g/dL auf. Der mittlere Hämoglobinwert liegt bei Frauen zwischen 12,3-15,3 g/dL und bei Männern bei 14,0-17,5 g/dL.²⁰⁰ Damit liegt der Hämoglobinwert des in dieser Arbeit verwendeten Vollblutes an der oberen Grenze für Frauen jedoch im mittleren Bereich für Männer und ist somit für mögliche Rückschlüsse für die BNCT repräsentativ. Der Hämoglobinwert im Vollblut kann als ein Richtwert für die Eisenkonzentration in dem in dieser Arbeit verwendeten Vollblut angesehen werden.²⁰⁰

Für alle drei untersuchten gerinnungshemmenden Substanzen, sowie für die hier untersuchten Verdünnungsfaktoren des Vollblutes im Verhältnis von 1:100, 1:50 und 1:25 konnten Nachweisgrenzen im Bereich von 0,4-3,8 µg/L Bor ermittelt werden, welche alle im für die BNCT relevanten Bereich (50-200 µg/L je nach Verdünnung) liegen.²¹⁰ Da nur bei einer Verdünnung im Verhältnis von 1:25 des Vollblutes unabhängig von der verwendeten gerinnungshemmenden Substanz Matrixeffekte für die Atomlinie B(I) 249,773 nm ermittelt wurden, kann die Methode der externen Kalibrierung nach Verdünnung des Vollblutes mit einer Lösung bestehend aus 0,1% (v/v) Triton X-100 in Reinstwasser im Verhältnis von 1:100 und 1:50 für alle drei untersuchten Boratomlinien verwendet werden. Für eine Verdünnung des Vollblutes im Verhältnis 1:25 sind aufgrund einer Eiseninterferenz nur die beiden Atomlinien B(I) 208,957 nm und B(I) 249,677 nm für die Quantifizierung von Bor in Vollblut für die BNCT verwendbar. Die Probenvorbereitung durch Verdünnung des Vollblutes konnte reduziert werden, wodurch die von der BNCT geforderte kurze Probenvorbereitung bzw. kurze Analysezeit und damit verbunden der hohe Probendurchsatz gegeben ist.¹

3.4.2 Online-Kalibrierung, Standardaddition

Da die höchste Empfindlichkeit der ICP-OES basierten Methode unter Verwendung der Atomlinie B(I) 249,773 nm gegeben ist, diese jedoch wie bereits skizziert von der Ionenlinie Fe(II) 249,782 nm ab einer Verdünnung des Vollblutes von 1:25 interferiert wird, soll in diesem Kapitel untersucht werden, ob durch Verwendung der Standardaddition als Kalibriermethode, diese Interferenz eliminiert werden kann und so die empfindlichere Boratomlinie für die Quantifizierung von Bor in Vollblut zugänglich ist. Wie bereits in Kapitel 2.7.4 aufgeführt, enthält bei der Standardaddition jede Kalibrierprobe einen konstanten Probenanteil. Daher besitzen Kalibrierproben sowie die Probe dieselbe Probenmatrix, wodurch mögliche Interferenzen bzw. Matrixeffekte eliminiert werden. Da für die Kalibrierung mittels Standardaddition für jede Probe neue Kalibrierproben hergestellt werden müssen, entsteht ein hoher Probenvorbereitungsaufwand, wodurch sehr viel Zeit zwischen Probenahme und Analyse vergeht. Die klinische Anwendung der BNCT fordert jedoch eine möglichst geringe Probenvorbereitung so dass möglichst wenig Zeit zwischen Probenahme und Analyse verstreicht, sowie eine Analysemethode mit möglichst hohem Probendurchsatz. Daher soll in der vorliegenden Arbeit die Kalibriermethode der Online-Standardaddition für die Quantifizierung von Bor in Vollblut untersucht werden. Bei der Online-Standardaddition erfolgt die Herstellung der Kalibrierproben, sowie die Verdünnung der Probe online, wodurch die Zeit der Probenvorbereitung eingespart wird.⁴ Der apparative Aufbau der hier verwendeten Online-Standardaddition ist in Abbildung 51 graphisch dargestellt.

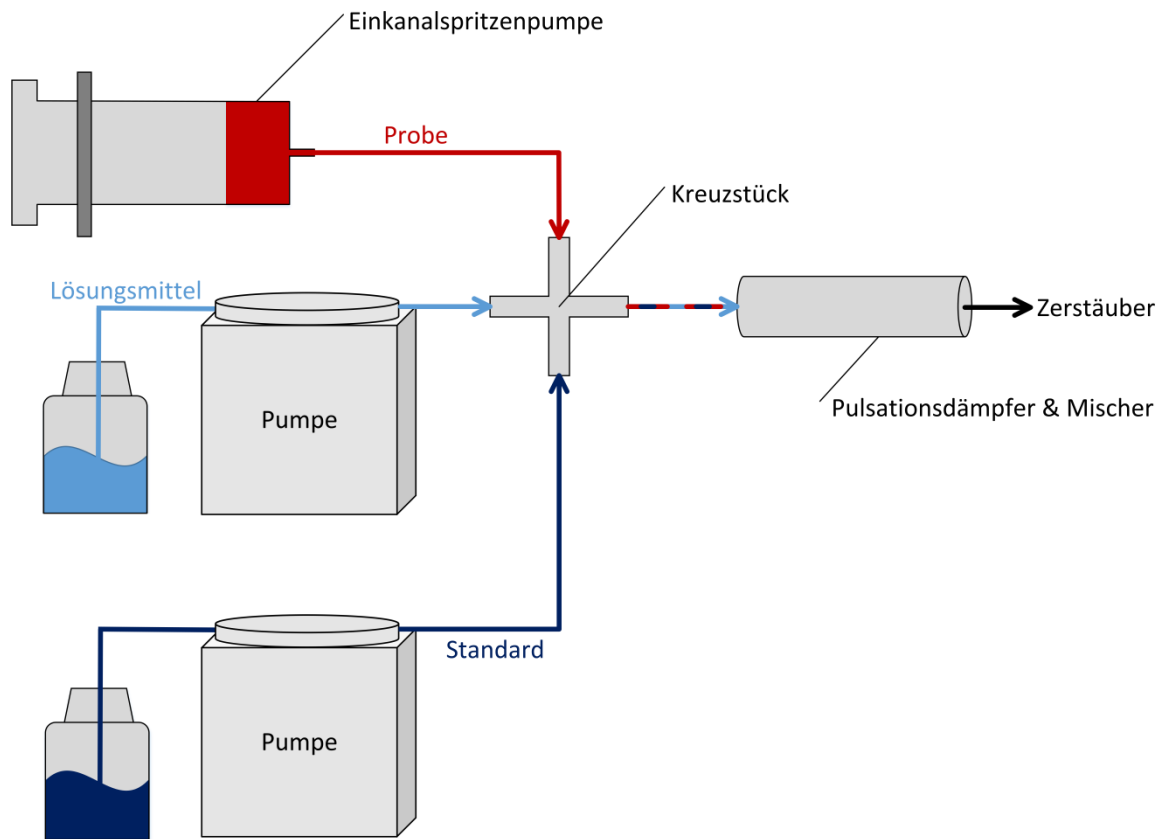


Abbildung 51: Apparativer Aufbau für die online-Kalibrierung mittels Standardaddition

Es werden peristaltische Schlauchpumpen jeweils für den Borstandard (400 $\mu\text{g/L}$ B in 0,1% (v/v) Triton X-100 in Reinstwasser), sowie für das Lösungsmittel (0,1% (v/v) Triton X-100 in Reinstwasser) verwendet. Die Schlauchpumpen wurden hinsichtlich ihrer Probenflussrate gravimetrisch kalibriert. Aufgrund der Ausdehnung und des Verschleißes der Pumpenschläuche ist diese Kalibrierung alle 2-3 Tage nötig, damit die Pumpförderrate konstant bleibt und so der Verdünnungsfaktor der Probe, sowie die Konzentration der online hergestellten Kalibrierproben bekannt sind und bleiben. Die Probe wird aufgrund der sehr geringen Probenflussrate von 28 $\mu\text{L}/\text{min}$ (Verdünnung des Vollblutes 1:25 bei einer Probenflussrate des Zerstäubers von 0,7 mL/min) mittels Einkanalspritzenpumpe unter Verwendung einer 1 mL GASTIGHT®-Spritze injiziert. Alle drei Flüsse (Probe, Borstandard sowie Lösungsmittel) werden ein in der Feinmechanischen Werkstatt der Johannes Gutenberg-Universität Mainz hergestelltes Kreuzstück vereint. Bei der Fertigung des Kreuzstückes, welches aus POM gefertigt ist, wurde auf ein möglichst geringes Totvolumen geachtet, wobei die Bohrungen im Kreuzstück ungefähr den Innendurchmesser der verwendeten Pumpenschläuche entspricht ($ID_{\text{Lösungsmittel}}=0,4$ mm; $ID_{\text{B-Standard}}=0,4$ mm; $ID_{\text{Probe}}=0,3$ mm; $ID_{\text{Mischer}}=0,5$ mm). Um alle drei Lösungen zu durchmischen, sowie das Pulsieren der peristaltischen Schlauchpumpen zu reduzieren, wurde ein Pulsationsdämpfer und Mischer, welcher durch einen verdrehten Pumpenschlauch umgesetzt

wurde, mit dem vierten Ausgang des Kreuzstückes verbunden. Auf den Pulsationsdämpfer und Mischer folgt einer der bereits in Kapitel 3.2.2 untersuchten Zerstäuber in Kombination mit der "Tracey TFE" Zyklonsprühkammer. Um die Methode hinsichtlich ihrer erzielbaren Wiederfindungsrate für Bor, welches sowohl als Borsäure, BPA sowie als BSH vorlag, zu untersuchen, wurde zunächst die Wiederfindungsrate im wässrigen Medium, gefolgt von der synthetischen Blutmatrix, welche dieselbe Elektrolytkonzentration wie menschliches Blutserum ausweist (vgl. Kapitel 3.2.2), ermittelt. Anschließend wurde die Wiederfindungsrate von Bor (BPA bzw. BSH) in Vollblut unter Verwendung verschiedener Zerstäuber (Parallelpfad-Zerstäuber "PFA 250" bzw. "MiraMist" und Meinhardzerstäuber jeweils in Kombination mit der "Tracey TFE" Zyklonsprühkammer) untersucht.

Online-Standardaddition im wässrigen Medium

Um die Methode der Online-Standardaddition hinsichtlich der erzielbaren Wiederfindungsraten für Bor in Vollblut zu untersuchen, wurde zunächst im wässrigen Medium anstelle von Vollblut gearbeitet. Da sich die Borkonzentration im Vollblut während der BNCT auf 5-30 mg/L beläuft, wurde eine wässrige Probe mit 5 mg/L Bor, welches in Form von Borsäure, BPA bzw. BSH vorlag, hergestellt. Dieser wässrigen Probe wurde 0,1% (v/v) Triton X-100 zugesetzt, da dieses für die Vollblutproben ebenfalls nötig ist, um ein Ausfallen der Proteine zu verhindern. Zur online Herstellung der Kalibrierproben diente ein Borstandard, welcher 400 µg/L Bor (in Form von Borsäure, BPA bzw. BSH) sowie 0,1% (v/v) Triton X-100 enthielt. Zum Verdünnen der Kalibrierproben bzw. der Probe diente eine wässrige Lösung, welche ebenfalls mit 0,1% (v/v) Triton X-100 enthielt. Durch Variation der Förderrate der zuvor gravimetrisch kalibrierten peristaltischen Schlauchpumpen bei gleichzeitig konstanter Probenflussrate des Zerstäubers (0,7 mL/min), können die Kalibrierproben für die Standardaddition online hergestellt werden. In Abbildung 52 sind die gemittelten Wiederfindungsraten (n=3) unter Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "PFA 250" bei einer Probenflussrate von 0,7 mL/min in Kombination mit der "Tracey TFE" Zyklonsprühkammer dargestellt.

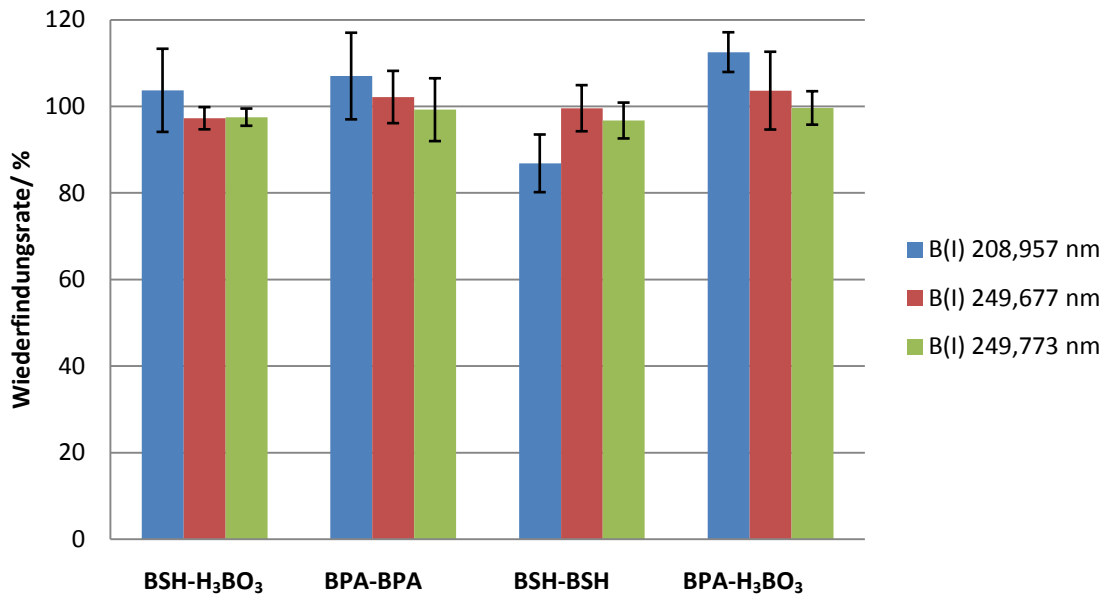


Abbildung 52: Mittels ICP-OES ermittelte Wiederfindungsraten von Bor in Form von BPA bzw. BSH im wässrigen Medium durch Online-Standardaddition ohne vorherigen mikrowellenassistenten Druckaufschluss; Kalibriert jeweils mit H₃BO₃, BPA bzw. BSH.

Die Wiederfindungsraten variieren im Bereich von 87-112% für die drei untersuchten Atomlinien B(I) 208,957 nm, B(I) 249,677 nm sowie B(I) 249,773 nm. Da das verwendete Activa ICP-OES aufgrund des verbauten CCD Detektors eine sehr geringe Empfindlichkeit (ca. 7-10 CPS/($\mu\text{g/L B}$)) für die Atomlinie B(I) 208,957 nm aufweist, variiert die ermittelte Wiederfindungsrate für Bor unter Verwendung dieser Atomlinie sehr stark. Für die beiden empfindlicheren Atomlinien bei B(I) 249,677 nm bzw. B(I) 249,773 nm konnten hingegen Wiederfindungsraten zwischen 97-103% ermittelt werden. In Abbildung 52 ist ebenfalls ersichtlich, dass kein signifikanter Unterschied hinsichtlich der ermittelten Wiederfindungsraten für Bor in Form von BPA und BSH durch Kalibrierung mit Borsäure besteht. Es ist daher möglich BPA bzw. BSH Proben, wie sie in der BNCT vorkommen, mittels Online-Standardaddition mit Borsäure zu kalibrieren, welche aufgrund der fehlenden ¹⁰B-Anreicherung preiswerter ist, als die BNCT Borcarrier. Mit der hier beschriebenen Online-Standardadditionsmethode konnten Nachweisgrenzen im Bereich von 0,7-3,3 $\mu\text{g/L Bor}$ im wässrigen Medium ermittelt werden.

Online-Standardaddition in synthetischer Blutmatrix

Um die Matrix schrittweise dem Vollblut anzunähern, wurde die Quantifizierung von Bor in Form von Borsäure, BPA bzw. BSH mittels Online-Standardaddition in einer Lösung untersucht, welche dieselbe Elektrolytzusammensetzung wie menschliches Blutserum aufweist (vgl. Kapitel 3.2.2). Hierzu wurde der gleiche Aufbau, wie bereits bei der Online-Standardaddition im wässrigen Medium verwendet (vgl. Abbildung 51). Die synthetische Blutmatrix wurde mit 5 mg/L Bor in Form von H_3BO_3 , BPA bzw. BSH versetzt. Für die Untersuchung der Wiederfindungsrate von Bor mittels Online-Standardaddition wurde eine Bor-Standardlösung (H_3BO_3 , 0,1% (v/v) Triton X-100 in Reinstwasser) in einer Konzentration von 400 $\mu\text{g/L}$ verwendet, da kein signifikanter Unterschied in den ermittelten Wiederfindungsraten für BPA bzw. BSH-Proben bei der Verwendung von Borsäure als Standardlösung ermittelt werden konnte (vgl. Abbildung 52). Der Verdünnungsfaktor der synthetischen Blutmatrix-Probe betrug stets 25 und die Probenzuführung in das ICP-OES erfolgte mittels Parallelpfad-Zerstäuber "PFA 250" bei einer Probenflussrate von 0,7 mL/min in Kombination mit der Zykloonsprühkammer "Tracey TFE".

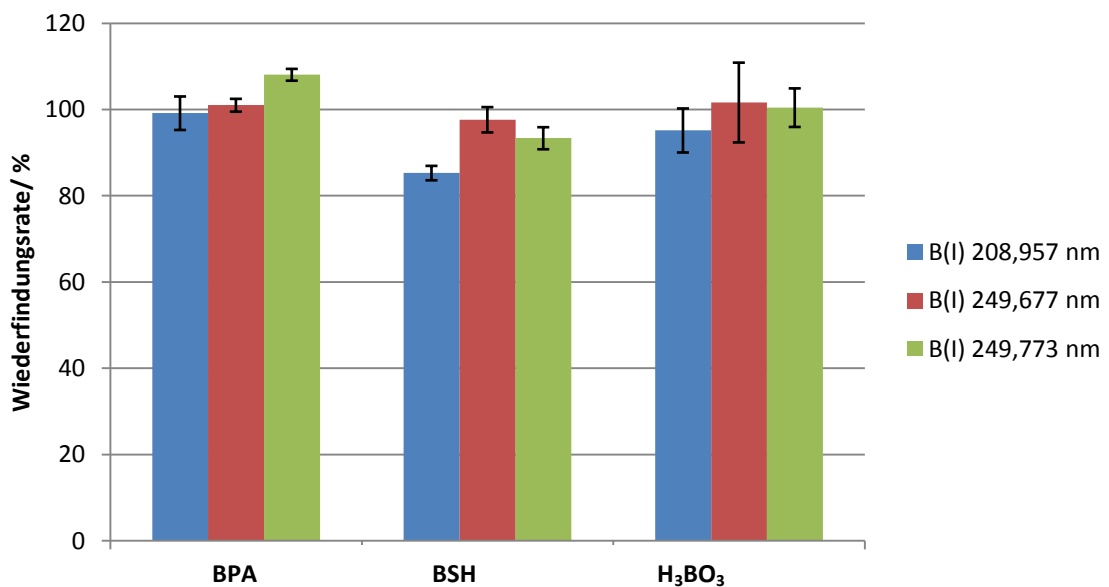


Abbildung 53: Mittels ICP-OES ermittelte Wiederfindungsraten von Bor (H_3BO_3 , BPA bzw. BSH) in einer Lösung, die dieselbe Elektrolytkonzentration wie menschliches Blutserum aufweist, durch Online-Standardaddition mit H_3BO_3 ohne vorherigen mikrowellenassistenten Druckaufschluss.

In Abbildung 53 sind die durch Online-Standardaddition ermittelten Wiederfindungsraten in synthetischer Blutmatrix für die untersuchten Boratomlinien jeweils für die drei verschiedenen Borverbindungen BPA, BSH bzw. H_3BO_3 zusammengefasst. Die ermittelten Wiederfindungsraten für Bor liegen im Bereich von 85-108%, wobei kein signifikanter Unterschied zwischen den verwendeten Borverbindungen zu erkennen ist. Da das in dieser Arbeit verwendete ICP-OES (Activa) einen CCD Detektor aufweist, dessen maximale Quantenausbeute im Wellenlängenbereich zwischen 500 und 700 nm liegt, sind die für die Atomlinie B(I) 208,957 nm gemittelten Empfindlichkeiten sehr gering (ca. 8-10 CPS/($\mu\text{g/L}$)). Daher sollte diese Boratomlinie nur unter Vorbehalt für die Quantifizierung von Bor verwendet werden. Ohne Berücksichtigung dieser Linie ergeben sich Wiederfindungsraten für Bor von 95-108% und Nachweisgrenzen von 1,5-4,2 $\mu\text{g/L}$ Bor unter Verwendung der Online-Standardaddition.

Online-Standardaddition in Vollblut

Abschließend soll die Methode der Online-Standardaddition für die Quantifizierung von Bor in Vollblut untersucht werden. Da in kein signifikanter Unterschied in den Wiederfindungsraten für Bor in Abhängigkeit zu der verwendeten gerinnungsstabilisierenden Substanzen (Heparin, Citrat bzw. EDTA) ermittelt werden konnte (vgl. Kapitel 3.4.1), wurde in dieser Studie nur citratstabilisiertes Vollblut (Blutgruppe: B+, vgl. Kapitel 3.4.1) verwendet. Der Aufbau ist identisch zu dem in Abbildung 51 skizzierten Vorgehen. Für die Analyse mittels Online-Standardaddition ist nur ein sehr geringes Probenvolumen von ca. 0,7 mL pro Analyse nötig. Jede Analyse wurde dreimal durchgeführt. Die mit Borsäure, BSH bzw. BPA gespickten Vollblutproben wurden gravimetrisch hergestellt. Hierzu wurde die exakte Menge an zugesetzter Borlösung (BSH bzw. BPA je 100 mg/L B in wässriger 0,1% (v/v) Triton X-100 Lösung gelöst), sowie die Menge an Vollblut bestimmt. Mittels experimentell ermittelter Dichte des Vollblutes ($1,037 \text{ g/cm}^3$) wurde die exakte Borkonzentration in den Vollblutproben berechnet, welche für die Bestimmung der Wiederfindungsrate benötigt wurde. Um in einem vergleichbaren Konzentrationsbereich für die BNCT zu sein, wurde dem Vollblut ca. 5 mg/L Bor zugesetzt. Zur online Herstellung der Kalibrierproben wurde ein Borstandard (H_3BO_3) mit einer Konzentration von 400 $\mu\text{g/L}$ Bor in Reinstwasser verwendet. Dieser Lösung wurde 0,1% (v/v) Triton X-100 zugesetzt, um ein Ausfallen der Proteinen im Vollblut zu verhindern.²⁰⁹ Als Lösemittel diente ebenfalls eine Lösung bestehend aus 0,1% (v/v) Triton X-100 in Reinstwasser. Es wurde der Parallelpfad-Zerstäuber "PFA 250" mit einer Probenflussrate von 0,7 mL/min als Probenzuführungssystem verwendet, da unter Verwendung dieses Zerstäubers die höchste Empfindlichkeit für Bor bei gleichzeitig geringstem Probenvolumen ermittelt wurde

(vgl. Kapitel 3.2.2.). Da dieser Zerstäuber einen Probenkapillarenndurchmesser von 250 µm aufweist und während der online Verdünnung eventuell Proteine ausfallen könnten, was zur Verstopfung des Zerstäubers führt, wurden in dieser Studie zwei weitere Zerstäuber für die Anwendung der Online-Standardaddition in Vollblut zur Quantifizierung von Bor untersucht. Zum einen sollte der Parallelpfad-Zerstäuber "MiraMist", welcher mit einer Probenflussrate von 1,5 mL/min Probenflussrate (höchste erzielte Empfindlichkeit für Bor bei dieser Probenflussrate vgl. Kapitel 3.2.2) und einen Innendurchmesser der Probenkapillare von 500 µm aufweist in dieser Studie auf dessen Anwendbarkeit in der BNCT untersucht werden. Zum anderen wurde der Meinhardzerstäuber bei einer Probenflussrate von 1,0 mL/min untersucht, der eine Probenkapillare von 280 µm aufweist. Alle drei untersuchten Zerstäuber wurden in Kombination mit der Zyklonsprühkammer "Tracey TFE" am Activa ICP-OES verwendet. Weiterhin sollte untersucht werden, ob ein Unterschied bezüglich der Wiederfindungsrate für Bor in Vollblut mittels Online-Standardaddition bei Verwendung unterschiedlicher Borverbindungen existiert. Hierzu wurde unter Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "MiraMist" je eine Vollblutprobe mit BSH bzw. BPA hinsichtlich der Wiederfindungsrate für Bor untersucht. Das Vollblut wurde stets online im Verhältnis von 1:25 verdünnt wobei die in Abbildung 54 dargestellten Wiederfindungsraten für Bor ermittelt werden konnten. Es ist zu erkennen, dass die ermittelten Wiederfindungsraten für die drei untersuchten Zerstäuber im Bereich von 95% bis 102% variieren. Hierbei ist kein signifikanter Unterschied zwischen den drei untersuchten Boratomlinien zu erkennen. Es konnte ebenfalls kein signifikanter Unterschied hinsichtlich der ermittelten Wiederfindungsrate für Bor unter Verwendung der Online-Standardaddition in Vollblut bei Variation des Borcarriers identifiziert werden. Die durch Online-Standardaddition ermittelten Nachweisgrenzen befinden sich im Bereich von 0,3-6,8 µg/L Bor in Vollblut, wobei diese für die BNCT ausreichend sind.²¹⁰

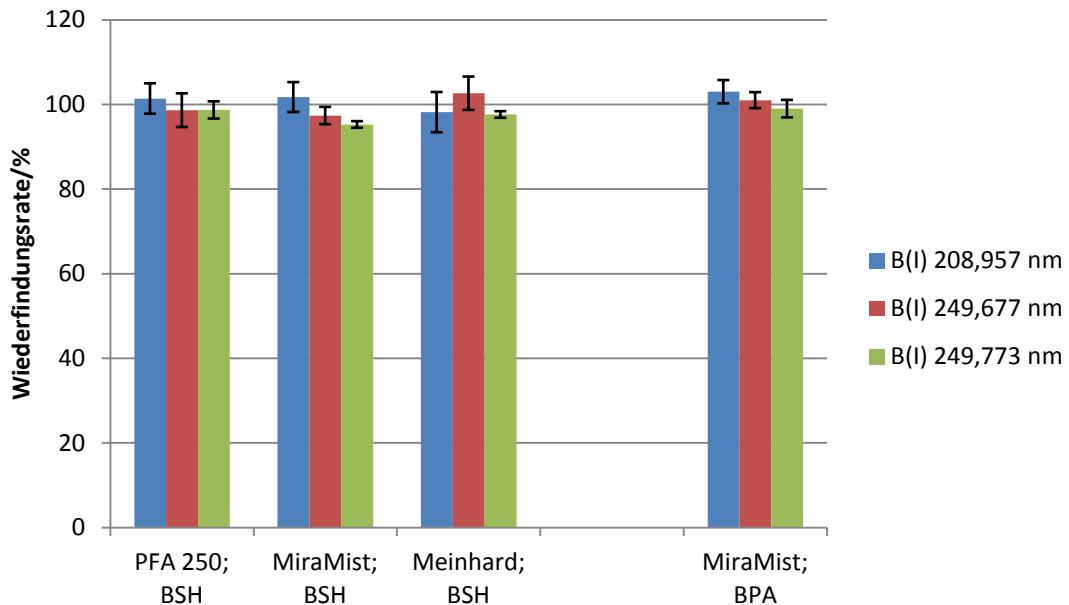


Abbildung 54: Mittel ICP-OES ermittelte Wiederfindungsraten von Bor in Form von BPA bzw. BSH in Vollblut durch Online-Standardaddition mit H_3BO_3 unter Verwendung des "MiraMist"-, "PFA 250"- bzw. Meinhardzerstäubers in Kombination mit der "Tracey TFE" Zyklo sprühkammer.

Um die Online-Standardaddition für Bor in Vollblut zu validieren, wurde das Referenzmaterial der Firma Seronorm™ ("Trace Elements in Whole Blood") mittels dieser Kalibriermethode hinsichtlich dessen zertifizierten Borgehaltes analysiert. Der gefriergetrocknete Standard wurde entsprechend der Anleitung des Herstellers rekonstruiert. Das Referenzmaterial wurde mittels Online-Standardaddition im Verhältnis 1:25 online mit einer Lösung bestehend aus wässriger 0,1% (v/v) Triton X-100 Lösung verdünnt. Als Borstandard diente eine 400 $\mu\text{g/L}$ Bor (H_3BO_3) Lösung, die ebenfalls mit 0,1% (v/v) Triton X-100 versetzt war. Der Parallelpfad-Zerstäuber "PFA 250" mit einer Probenflussrate von 0,7 mL/min in Kombination mit der "Tracey TFE" Zyklo sprühkammer diente als Probenzuführungssystem. Das Referenzmaterial wurde für alle drei untersuchten Wellenlängen in einer Doppelbestimmung mittels Online-Standardaddition hinsichtlich des Borgehaltes analysiert.

Die Pumpförderrate der beiden peristaltischen Schlauchpumpen wurde gravimetrisch bestimmt. Es wird ein Fehler von 5% für die Förderrate der beiden peristaltischen Schlauchpumpen und damit für die Probenverdünnung angenommen.

Die für das Referenzmaterial ermittelten Borkonzentrationen, ihre Unsicherheit, sowie die daraus berechneten Wiederfindungsraten für die drei untersuchten Atomlinien B(I) 208,957 nm, B(I) 249,677 nm bzw. B(I) 249,773 nm sind in Tabelle 12 zusammengefasst. Die Unsicherheiten wurden mithilfe der Gauß'schen Fehlerfortpflanzung aus dem Verdünnungsfehler und der relativen Standardabweichung des Analysesignals ermittelt. Die ermittelten Borkonzentrationen

der beiden online verdünnten Proben des Referenzmaterials zeigen für alle drei untersuchten Borlinien eine geringe Standardabweichung bezogen auf die beiden durchgeführten Analysen. Unter Verwendung der beiden Atomlinien B(I) 249,677 nm sowie B(I) 249,773 nm konnten Wiederfindungsraten von 100% bzw. 101% durch Verwendung der Online-Standardaddition ermittelt werden. Unter Verwendung der Atomlinie B(I) 208,957 nm konnten lediglich nur 72% der zertifizierten Borkonzentration ermittelt werden (vgl. Tabelle 12). Diese geringe Wiederfindungsrate unter Verwendung dieser Atomlinie ist auf die geringe Empfindlichkeit der ICP-OES basierten Methode dieser Linie zurückzuführen, welche eventuell durch Verwendung eines Detektors dessen maximale Quantenausbeute im Wellenlängenbereich von 200-400 nm liegt, verbessert werden könnte.

Tabelle 12: Mittels ICP-OEs ermittelte Wiederfindungsrate für Bor mittels Online-Standardaddition des Referenzmaterials Seronorm™ ("Trace Elements Whole Blood L-2"; Lot: 1103129)

	B(I) 208,957 nm	B(I) 249,677 nm	B(I) 249,773 nm
Ermittelte B-Konz. (Probe A)	14,48 ± 0,67 µg/L	19,98 ± 0,38 µg/L	20,07 ± 0,25 µg/L
Ermittelte B-Konz. (Probe B)	14,81 ± 0,71 µg/L	20,04 ± 0,37 µg/L	20,05 ± 0,23 µg/L
Mittelwert	14,65 ± 0,69 µg/L	20,01 ± 0,38 µg/L	20,06 ± 0,24 µg/L
Verdünnung (x25)	366,25 ± 1,43 µg/L	500,25 ± 1,31 µg/L	501,50 ± 1,27 µg/L
Soll-Wert	498,75 ± 30 µg/L	498,75 ± 30 µg/L	498,75 ± 30 µg/L
Wiederfindungsrate	72 ± 1%	100 ± 1%	101 ± 1%

Da sich die Wiederfindungsraten durch Kalibrierung mittels Online-Standardaddition unter Verwendung der beiden Atomlinien B(I) 249,773 nm und B(I) 249,677 nm auf nahezu 100% belaufen, ist diese Kalibrierstrategie für die Quantifizierung von Bor in Vollblutproben in der klinischen Anwendung der BNCT geeignet. Desweiteren ist durch Verwendung der Online-Standardaddition die Analysezeit pro Probe auf ca. 10-12 Minuten reduziert und keine Probenvorbereitung nötig, da die Kalibrierproben sowie die Verdünnung der Vollblutprobe online durch Variation der Pumpraten hergestellt werden. Daher weist die in dieser Arbeit entwickelte ICP-OES basierte Analysenmethode mittels Online-Standardaddition zur Quantifizierung von Bor in Vollblut einen hohen Probendurchsatz, sowie für die BNCT ausreichend niedrige Nachweisgrenzen auf. Weiterhin vergehen nur ca. 10-12 min zwischen der Probenahme und dem Analyseergebnis, wodurch der bestmögliche Bestrahlungszeitpunkt für die BNCT schnell ermittelt werden kann.

3.4.3 Online-Kalibrierung, extern

Für die BNCT werden vor und während der intravenösen Infusion des Borcarriers dem Patienten im Abstand von 10-15 Minuten Vollblutproben entnommen und hinsichtlich des Borgehaltes analysiert, um hieraus auf die Borkonzentration im Tumor extrapolieren zu können (vgl. Kapitel 2.1).¹ Durch die Verwendung der Online-Standardaddition, wie sie in Kapitel 3.4.2 beschrieben und auf die Anwendung der BNCT untersucht wurde, werden ca. 10-12 Minuten pro Probe von der Probenahme bis zum Analyseergebnis benötigt. Um die Zeit zwischen Probenahme und Analyseergebnis weiter zu reduzieren, soll in diesem Kapitel der vorliegenden Arbeit die Verwendung der externen Online-Kalibrierung hinsichtlich der Wiederfindungsrate für Bor in Vollblutproben und so für die Anwendung der BNCT untersucht werden. Bei der externen Online-Kalibrierung werden analog zur Online-Standardaddition die Kalibrierproben, welche in diesem Fall wässrige Borstandards (Borsäure mit 0,1% (v/v) Triton X-100 in Reinstwasser) sind, sowie die Verdünnung der Vollblutproben, online durch Variation der Förderraten der Pumpen hergestellt. Da die Kalibrierproben für eine Vielzahl an Proben verwendet werden können, können diese vor der ersten Blutentnahme des Patienten online hergestellt, sowie analysiert werden, wobei sich die Analysezeit pro Blutprobe auf ca. 2 Minuten reduziert. Für die externe Online-Kalibrierung wurde der Aufbau der Online-Standardaddition leicht variiert. Das Lösungsmittel (0,1% (v/v) Triton X-100 in Reinstwasser), welches das Ausfallen von Proteinen im Vollblut und so ein Verstopfen des Zerstäubers verhindern soll,²⁰⁹ wird durch eine peristaltische Schlauchpumpe in ein T-Stück gefördert. Gleichzeitig wird der Borstandard bzw. die Vollblutprobe über eine zweite peristaltische Schlauchpumpe ebenfalls in das T-Stück befördert. Am dritten Ende des Verbindungsstückes befindet sich analog zur Online-Standardaddition ein Pulsationsdämpfer und Mischer, gefolgt vom verwendeten Zerstäuber. Der genaue apparative Aufbau ist in Abbildung 55 nochmals graphisch dargestellt.

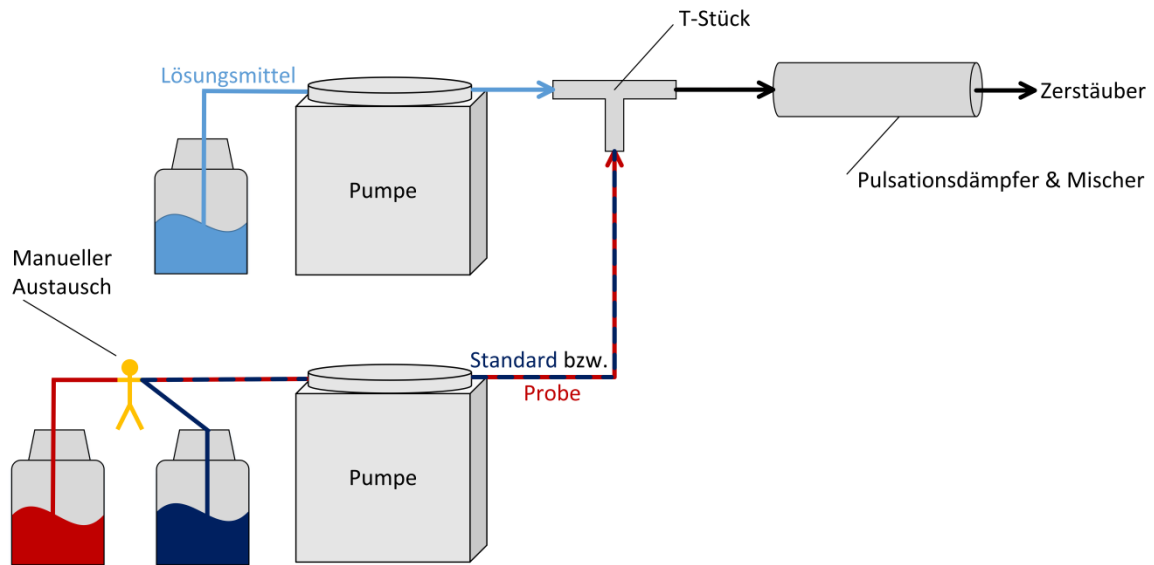


Abbildung 55: Apparativer Aufbau für die externe Online-Kalibrierung

Als Borstandard wurde hier ebenfalls ein wässriger Borstandard bestehend aus Borsäure in einer Konzentration von $400 \mu\text{g/L}$ Bor in Reinstwasser verwendet. Dieser Lösung wurde um ein Proteinausfall im Vollblut zu verhindern $0,1\%$ (v/v) Triton X-100 zugesetzt. Als Probe diente citratstabilisiertes Eigenblut. Diesem wurde ca. 5 mg/L Bor in Form von BSH bzw. BPA zugesetzt, welches ebenfalls in wässriger $0,1\%$ (v/v) Triton X-100 Lösung gelöst war. Die genaue Borkonzentration im Vollblut wurde analog zur Online-Standardaddition gravimetrisch, sowie über die zuvor experimentell ermittelte Dichte der Vollblutprobe bestimmt. Die Probe wurde im Verhältnis von 1:25 verdünnt. Dies erfolgte online durch Variation der Förderrate der beiden peristaltischen Schlauchpumpen bei gleichzeitig konstanter Probenflussrate am Zerstäuber. Als Zerstäuber diente der Parallelpfad-Zerstäuber "PFA 250" bei einer Probenflussrate von $0,7 \text{ mL/min}$ in Kombination mit der "Tracey TFE" Zyklonsprühkammer am Activa ICP-OES, da mit diesem Zerstäuber-Sprühkammer-System die höchste Empfindlichkeit für Bor bei gleichzeitig geringster Probenflussrate erzielt wurde (vgl. Kapitel 3.2.2). Die durch externe Online-Kalibrierung ermittelten Wiederfindungsraten für Bor in Vollblut unter Verwendung von BSH bzw. BPA sind in Abbildung 56 zusammengefasst.

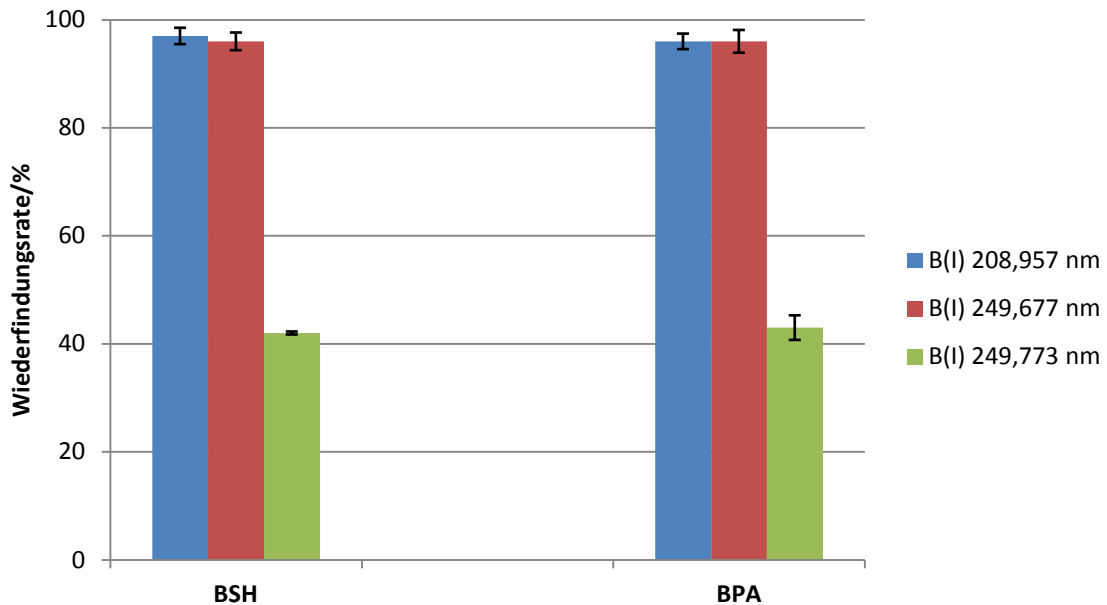


Abbildung 56: Mittels ICP-OES ermittelte Wiederfindungsrate für Bor in Form von BPA bzw. BSH durch Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "PFA 250" (0,7 mL/min) in Kombination mit der "Tracey TFE" Zykloprühkammer durch externe Online-Kalibrierung mit H_3BO_3 .

Auch hier wurden die Wiederfindungsraten für Bor unter Verwendung der drei untersuchten Atomlinien B(I) 208,957 nm, B(I) 259,677 nm und B(I) 249,773 nm jeweils für Vollblutproben, welche mit ca. 5 mg/L Bor in Form von BSH bzw. BPA versetzt waren, untersucht. Unter Verwendung der beiden Atomlinien B(I) 208,957 nm und B(I) 249,677 nm konnten Wiederfindungsraten zwischen 96-97% unabhängig vom zugesetzten Borpräparat ermittelt werden. Lediglich unter Verwendung der Atomlinie B(I) 249,773 nm konnten nur 42% bzw. 43% der zugesetzten Borkonzentration wiedergefunden werden. Diese verminderte Wiederfindungsrate ist hier analog zu Kapitel 3.4.1 auf eine Interferenz der Ionenlinie Fe(II) 249,782 nm zurückzuführen. Daher ist die Atomlinie B(I) 249,773 nm für die Quantifizierung von Bor in Vollblut bei einer Verdünnung im Verhältnis von 1:25 nicht geeignet.^{73,157} Durch Verwendung der externen Online-Kalibrierung zur Quantifizierung von Bor in Vollblut konnten unter Verwendung der beiden Atomlinien B(I) 208,957 nm und B(I) 249,677 nm eine Nachweisgrenze zwischen 1,4-3,8 $\mu\text{g/L}$ Bor unabhängig vom zugesetzten Borpräparat ermittelt werden. Diese Nachweisgrenzen befindet sich ebenfalls noch im für die BNCT relevanten Nachweisgrenzenbereich.²¹⁰

Um die externe Online-Kalibrierung für Bor in Vollblut zu validieren, wurde das Referenzmaterial der Firma Seronorm™ ("Trace Elements in Whole Blood") mittels dieser Kalibriermethode hinsichtlich dessen zertifizierten Borgehaltes analysiert. Der gefriergetrocknete Standard wurde entsprechend der Anleitung des Herstellers rekonstruiert.

Das Referenzmaterial wurde mittels externer Online-Kalibrierung online mit einer Lösung bestehend aus 0,1% (v/v) Triton X-100 in Reinstwasser im Verhältnis 1:25 verdünnt. Als Borstandard diente analog zu den Vollblutproben eine wässrige 400 µg/L Borstandardlösung (H₃BO₃), welche ebenfalls 0,1% (v/v) Triton X-100 enthielt. Als Probenzuführungssystem diente der Parallelpfad-Zerstäuber "PFA 250" mit einer Probenflussrate von 0,7 mL/min in Kombination mit der "Tracey TFE" Zyklonsprühkammer. Das Referenzmaterial wurde unter Verwendung der drei untersuchten Boratomlinien zweimal mittels externer Online-Kalibrierung hinsichtlich des zertifizierten Borgehalts analysiert.

Die für das Referenzmaterial der ermittelten Borkonzentrationen, deren Unsicherheit, sowie die daraus berechneten Wiederfindungsraten sind in Tabelle 13 zusammengefasst. Die Unsicherheiten wurden mithilfe der Gauß'schen Fehlerfortpflanzung aus dem Fehler der online Verdünnung sowie der relativen Standardabweichung des Analysesignals ermittelt.

Tabelle 13: Mittels ICP-OES ermittelte Wiederfindungsrate für Bor mittels externer Online-Kalibrierung des Referenzmaterial Seronorm™ ("Trace Elements Whole Blood L-2"; Lot: 1103129)

	B(I) 208,957 nm	B(I) 249,677 nm	B(I) 249,773 nm
Ermittelte B-Konz. (Probe A)	1,22 ± 0,36 µg/L	19,98 ± 0,23 µg/L	20,57 ± 0,34 µg/L
Ermittelte B-Konz. (Probe B)	1,32 ± 0,38 µg/L	20,54 ± 0,29 µg/L	19,17 ± 0,36 µg/L
Mittelwert	1,27 ± 0,37 µg/L	20,26 ± 0,26 µg/L	19,87 ± 0,35 µg/L
Verdünnung (x25)	31,75 ± 1,31 µg/L	506,50 ± 1,28 µg/L	496,75 ± 1,30 µg/L
Soll-Wert	498,75 ± 30 µg/L	498,75 ± 30 µg/L	498,75 ± 30 µg/L
Wiederfindungsrate	6 ± 1%	102 ± 1%	100 ± 1%

Es ist zu erkennen, dass für beide online hergestellten Proben des Referenzmaterials (Probe A und Probe B) ähnliche Werte für die ermittelten Borkonzentrationen unter Verwendung der gleichen Atomlinie erhalten wurden. Dies spiegelt eine gute Reproduzierbarkeit der Methode wider. Unter Verwendung der Atomlinie B(I) 208,957 nm konnten jedoch nur 6% des zertifizierten Borgehaltes in der Referenzprobe wiedergefunden werden. Diese reduzierte Wiederfindungsrate ist auf die sehr niedrige Empfindlichkeit für Bor unter Verwendung dieser Emissionslinie zurückzuführen, die wiederum mit dem verwendeten CCD-Detektor korreliert. Unter Verwendung der beiden längerwelligen Boratomlinien konnten Wiederfindungsraten zwischen 100% und 102% ermittelt werden. Die Übereinstimmung der ermittelten Borkonzentration in der Seronorm™-Probe unter Verwendung der Atomlinie B(I) 249,773 nm im Vergleich zu den reduzierten Wiederfindungsraten dieser Linie in Vollblutproben (vgl. Abbildung 56) lässt sich auf eine geringere Eisenkonzentration im Referenzmaterial zurückführen. Das

Referenzmaterial der Firma Seronorm™ besitzt ebenfalls eine Vollblutmatrix, jedoch variiert die Hämoglobin- bzw. die Eisenkonzentration im Blut von Zeit zu Zeit, sowie von Mensch zu Mensch. Ebenfalls spielt das Geschlecht des Blutspenders eine entscheidende Rolle. So ist bewiesen, dass Männer im Mittel eine höhere Hämoglobinkonzentration im Blut aufweisen, als Frauen.²⁰⁰ Aufgrund der Schwankungen der Hämoglobinkonzentration und somit der Eisenkonzentration im Blut ist somit nur die Atomlinie B(I) 249,677 nm unter Verwendung der externen Online-Kalibrierung unter den in dieser Arbeit aufgeführten Bedingungen zur Quantifizierung von Bor in Vollblut für die klinische Anwendung der BNCT geeignet.

3.4.4 Vergleich der Ergebnisse und Schlussfolgerungen

In diesem Kapitel der vorliegenden Arbeit werden die verschiedenen untersuchten Probenvorbereitungsarten sowie Kalibrierstrategien für Vollblutproben verglichen und diskutiert. Es wurde zunächst eine Mischung bestehend aus 45% (v/v) Erythrozytenkonzentrat (in PAGGS-M stabilisiert, Blutgruppe 0+) und 55% (v/v) Blutplasma (gefrorenes Frischplasma, CPD-stabilisiert, Blutgruppe 0+) miteinander gemischt und mit wässrigem Borstandard im Konzentrationsbereich zwischen 50-400 µg/L Bor versetzt. Als Interner Standard Beryllium, welches in einer Konzentration von 100 µg/L jeder Probe hinzugefügt wurde. Anschließend wurde die Probe einem mikrowellenassistierten Druckaufschluss unterzogen. Die aufgeschlossene Lösungen wurden anschließend im Verhältnis 1:100, 1:50 bzw. 1:25 mit Reinstwasser verdünnt und am JY 238 Ultrace ICP-OES unter Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "PFA 250" (Probenflussrate 0,7 mL/min) in Kombination mit der "Tracey TFE" Zyklonsprühkammer hinsichtlich der Wiederfindungsrate für Bor untersucht. Als Referenzproben dienten wässrige Borstandardlösungen ebenfalls im Konzentrationsbereich von 50-400 µg/L Bor. Die wässrigen Referenzproben enthielten ebenfalls 100 µg/L Beryllium als Internen Standard. Auf diese Weise konnte eine Wiederfindungsrate für Bor zwischen 96-103% unter Verwendung der beiden untersuchten Atomlinien B(I) 208,957 nm und B(I) 249,773 nm ermittelt werden.

Im nächsten Schritt sollte untersucht werden, ob die zeitaufwändige Probenvorbereitung mittels mikrowellenassistiertem Druckaufschluss verkürzt werden kann. Da im Blutplasma, welches von der Transfusionszentrale der Universitätsmedizin Mainz zur Verfügung gestellt wurde, Schwebstoffe enthalten waren, wurde zunächst nur das gerinnungsstabilisierte Erythrozytenkonzentrat mit Borstandard bekannter Konzentrationen versetzt und anschließend mit Reinstwasser im Verhältnis 1:10 verdünnt. Auch hier wurde Beryllium in einer Konzentration von 100 µg/L als Interner Standard den Proben zugesetzt. Zur Bestimmung der Wiederfindungsrate wurden ebenfalls wässrige Borstandardlösungen des selben

Konzentrationsbereichs verwendet. Unter den gegebenen Bedingungen konnte eine Wiederfindungsrate zwischen 99-103% unter Verwendung der beiden untersuchten Atomlinien B(I) 208,957 nm und B(I) 249,773 nm ermittelt werden.

Um sich den realen Bedingungen der BNCT zu nähern, wurde im Folgenden die Wiederfindungsrate von Bor in Form von H_3BO_3 , in Vollblut in Gegenwart verschiedener gerinnungshemmender Substanzen ohne vorherigen mikrowellenassistierten Druckaufschluss untersucht. Um ein Ausfallen von Proteinen im Vollblut zu verhindern, wurden allen wässrigen Lösungen 0,1% (v/v) Triton X-100 zugesetzt.²⁰⁹ Es wurde an der Transfusionszentrale der Universitätsmedizin Mainz Eigenblut (Blutgruppe B+) mit verschiedenen gerinnungsstabilisierenden Substanzen (Heparin, Citrat bzw. EDTA) entnommen. Diesem Vollblut wurde Bor in Form von H_3BO_3 im Konzentrationsbereich von 50-400 $\mu\text{g/L}$ Bor hinzugefügt, wobei auch hier 100 $\mu\text{g/L}$ Beryllium als Interner Standard diente. Das Vollblut mit den verschiedenen gerinnungshemmenden Substanzen wurde im Verhältnis von 1:100, 1:50 und 1:25 mit einer Lösung bestehend aus 0,1% (v/v) Triton X-100 in Reinstwasser verdünnt. Zur Bestimmung der Wiederfindungsrate von Bor in Vollblut dienten als Referenzwerte wässrige Borstandards, welche sich ebenfalls im Konzentrationsbereich von 50-400 $\mu\text{g/L}$ Bor befanden. Unter diesen Bedingungen konnten Wiederfindungsraten zwischen 96-106% für die Verdünnungen von 1:100 und 1:50 für alle drei untersuchten Atomlinien B(I) 208,957 nm, B(I) 249,677 nm und B(I) 249,773 nm ermittelt werden, wobei kein signifikanter Unterschied hinsichtlich der gerinnungshemmenden Substanzen ermittelt werden konnte. Bei einer Verdünnung des Vollblutes von 1:25 konnten für die beiden Atomlinien B(I) 208,957 nm und B(I) 249,677 nm Wiederfindungsraten für Bor zwischen 95-103% ermittelt werden. Im Gegensatz hierzu konnte für die Atomlinie B(I) 249,773 nm mit einem Verdünnungsfaktor von 25 des Vollblutes nur eine Wiederfindungsrate von ca. 70% mit einer Standardabweichung von 10-12% ermittelt werden. Diese geringe Wiederfindungsrate und sehr hohe Standardabweichung der Wiederfindungsrate lässt sich auf eine Interferenz durch die Ionenlinie Fe(II) 249,782 nm mit der genannten Boratomlinie zurückführen, welche erst durch die Reduzierung der Blutverdünnung und somit einer Erhöhung der Eisenkonzentration der Probe auftritt.⁷³ Durch externe Kalibrierung unter Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "PFA 250" konnten Nachweisgrenzen im Bereich von 0,4-3,8 $\mu\text{g/L}$ Bor in Vollblut ermittelt werden, wobei keine Abhängigkeit zur verwendeten gerinnungsstabilisierenden Substanz ermittelt werden konnte. Da die für die BNCT relevante Nachweisgrenze zwischen 50-200 $\mu\text{g/L}$ Bor in Vollblut liegt, ist die Methode der externen Kalibrierung für Bor in Vollblut im Anwendungsbereich der BNCT geeignet.²¹⁰

Da unter Verwendung der Atomlinie B(I) 249,773 nm eine Eiseninterferenz bei einer Verdünnung des Vollblutes von 1:25 festgestellt wurde, sollte die Verwendung der Standardaddition zur Kalibrierung der Vollblutproben untersucht werden. Da der Probenvorbereitungsaufwand reduziert werden sollte, wurde die Online-Standardaddition hinsichtlich ihrer Anwendbarkeit in der BNCT untersucht. Hierzu wurde die Förderrate zweier peristaltischen Schlauchpumpen gravimetrisch bestimmt. Eine Schlauchpumpe diente der Förderung des Lösungsmittels, welches 0,1% (v/v) Triton X-100 in Reinstwasser darstellt. Die zweite Schlauchpumpe diente dem Transport des Borstandards, welcher 400 µg/L Bor in Form von H₃BO₃, BPA bzw. BSH vorlag. Dieser Borstandard war ebenfalls in 0,1% (v/v) Triton X-100 verdünnt bzw. gelöst. Die Probe, welche zunächst wässrige Borproben in Form von H₃BO₃, BPA bzw. BSH darstellte, wurde aufgrund der sehr geringen Pumpförderrate, welche bei einer Probenverdünnung von 1:25 und einer konstanten Probenflussrate von 700 µL/min am Zerstäuber sehr gering ist (28 µL/min), mit Hilfe einer Einkanalspritzenpumpe gefördert. Alle drei Flüsse wurden mit Hilfe eines in der universitätsinternen Feinmechanischen Werkstatt hergestellten Kreuzstückes vereint, wobei sich an dessen vierten Ausgang ein Pulsationsdämpfer und Mischer befand. Als Probenzuführungssystem diente der Parallelpfad-Zerstäuber "PFA 250" in Verbindung mit der "Tracey TFE" Zyklonsprühkammer. Mit diesem Aufbau konnten Wiederfindungsraten für Bor zwischen 97-103% unter Verwendung der beiden Atomlinien B(I) 249,677 nm sowie B(I) 249,773 nm ermittelt werden. Die ermittelten Nachweisgrenzen lagen mit 0,7-3,3 µg/L Bor im für die BNCT relevanten Bereich.²¹⁰

Im Folgenden wurde die Anwendung der Online-Standardaddition in einer synthetischen Blutmatrix untersucht. Hierzu wurde eine Lösung hergestellt, welche dieselbe Elektrolytkonzentration wie menschliches Blutserum enthält (vgl. Tabelle 10) und dieser Lösung wurde 5 mg/L Bor in Form von H₃BO₃, BPA und BSH zugesetzt. Diese Proben wurden ebenfalls online im Verhältnis 1:25 verdünnt und mittels ICP-OES unter Einsatz der Online-Standardaddition analysiert. Es konnten Wiederfindungsraten für Bor zwischen 95-108% ermittelt werden unter Verwendung der beiden Atomlinien B(I) 249,677 nm und B(I) 249,773 nm. In der synthetischen Blutmatrix konnten Nachweisgrenzen im Bereich von 1,5-4,2 µg/L Bor durch Verwendung der Online-Standardaddition ermittelt werden.

Für citratstabilisiertes Vollblutproben konnten Wiederfindungsraten im Bereich von 95-102% sowie Nachweisgrenzen im Bereich von 0,3-6,8 µg/L Bor ermittelt werden. Durch Verwendung der Online-Standardaddition konnte die Probenvorbereitung auf ein Minimum (ca. 10-12 Minuten) reduziert werden. Aufgrund der Eliminierung von Matrixeffekten, der nicht benötigten Probenvorbereitung und der sehr kurzen Zeit zwischen Probenahme und Analyseergebnis ist die

Methode der Online-Standardaddition zur Quantifizierung von Bor in Vollblut unter Verwendung der beiden Atomlinien B(I) 249,677 nm und B(I) 249,773 nm für die Anwendung in der BNCT geeignet.

Um die Methode unter Verwendung der Online-Standardaddition für die Quantifizierung von Bor in Vollblut zu validieren, wurde das Referenzmaterial der Firma Seronorm™ ("Trace Elements Whole Blood L-2"; Lot: 1103129) mittels Online-Standardaddition hinsichtlich seines Borgehaltes analysiert. Diese Referenzprobe wurde ebenfalls online im Verhältnis von 1:25 mit einer Lösung bestehend aus 0,1% (v/v) Triton X-100 in Reinstwasser verdünnt, wobei zwischen 100-101% der zertifizierten Borkonzentration durch Verwendung der beiden Atomlinien B(I) 249,667 nm und B(I) 249,773 nm wiedergefunden wurden.

Um die Zeit zwischen Probenahme und Analyseergebnis weiter zu reduzieren, wurde die externe Online-Kalibrierung, bei der ähnlich zur Online-Standardaddition die Probenverdünnung, sowie die Herstellung der wässrigen Kalibrierstandards durch Variation der Pumpförderrate online geschieht, hinsichtlich ihrer Anwendbarkeit für die BNCT untersucht. Hierzu wurde das für die Online-Standardaddition verwendete Kreuzstück durch Verschließen eines Ausganges zu einem T-Stück umgebaut und nur die beiden peristaltischen Schlauchpumpen zur Förderung des Lösungsmittels (0,1% (v/v) Triton X-100 in Reinstwasser) und des Borstandards (400 µg/L Bor in Form von H₃BO₃ in wässriger 0,1% (v/v) Triton X-100 Lösung) bzw. der Vollblutprobe verwendet. Als Vorteil dieser Kalibriermethode im Vergleich zur Online-Standardaddition ist zu nennen, dass nur eine Kalibrierreihe, welche online generiert wird, hergestellt und aufgenommen werden muss. Daher verkürzt sich die Analysezeit pro Probe von der Probenahme bis zum Analyseergebnis auf ca. 2 Minuten. Als Nachteil sind jedoch mögliche Matrixinterferenzen zu nennen, welche mittels Standardaddition eliminiert werden können, jedoch durch Verwendung der externen Kalibrierung bestehen bleiben. Mit dieser externen Online-Kalibrierung konnten unter Verwendung der beiden Atomlinien B(I) 208,957 nm und B(I) 249,677 nm 96-97% der zugesetzten Borkonzentration bei einer Verdünnung der Blutprobe im Verhältnis von 1:25 wiedergefunden werden. Durch Verdünnung der Vollblutprobe im Verhältnis 1:25 traten bei Verwendung der Analyselinie B(I) 249,773 nm Matrixeffekte auf, welche vor allem auf eine Interferenz der Fe(II) 249,782 nm Linie zurückzuführen sind. Daher konnten nur ca. 43% der zugesetzten Borkonzentration wiedergefunden werden.⁷³

Das Referenzmaterial der Firma Seronorm™ ("Trace Elements Whole Blood L-2"; Lot: 1103129) wurde ebenfalls mittels der beschriebenen Methode der externen Online-Kalibrierung hinsichtlich der zertifizierten Borkonzentration untersucht. Es konnten Wiederfindungsraten im Bereich von 100-102% unter Verwendung der beiden Atomlinien B(I) 249,677 nm und B(I) 249,773 nm mittels externen Online-Kalibrierung ermittelt werden.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass unter Verwendung der Atomlinie B(I) 249,677 nm mittels externen Kalibrierung, welche eine recht zeitaufwendige Probenvorbereitung durch Herstellung der Kalibrierproben und Verdünnung der Vollblutproben beinhaltet, durch Verwendung der Online-Standardaddition, sowie durch Verwendung der externen Online-Kalibrierung zuverlässige Wiederfindungsraten zwischen 95-103% erhalten werden konnten. Weiterhin werden für die Analyse einer Probe mittels Online-Standardaddition nur ca. 10-12 Minuten und für die externe Online-Kalibrierung ca. 2 Minuten benötigt. Da die Atomlinie B(I) 249,773 nm eine Eiseninterferenz durch Fe(II) 249,782 nm bei einer Verdünnung von 1:25 des in dieser Arbeit verwendeten Vollblutes aufweist, jedoch die Hämoglobinkonzentration und somit die Eisenkonzentration von Mensch zu Mensch, sowie von Zeit zu Zeit schwankt²⁰⁰, sollte diese Atomlinie nur mittels Online-Standardaddition, bei der Matrixeffekte eliminiert werden, Verwendung finden. Da die Eisenkonzentration von Mensch zu Mensch sowie zeitabhängig variiert, sollte für die Quantifizierung von Bor in Vollblut im BNCT Kontext die Verwendung der Online-Standardaddition der externen Kalibrierung vorgezogen werden.

Eine Quantifizierung von Bor unter Verwendung der Analysenlinie B(I) 208,957 nm sollte aufgrund der sehr geringen Empfindlichkeit des in dieser Arbeit verwendeten Detektors nicht erfolgen.

Da in der klinischen Anwendung der BNCT alle 15-20 Minuten vom Patienten Blutproben entnommen werden, um die Borkonzentration im Tumor extrapolieren zu können, ist das Probenvolumen begrenzt.¹ Da der Parallelpfad-Zerstäuber "PFA 250" die höchste Empfindlichkeit für Bor der ICP-OES basierten Methode bei gleichzeitig geringstem Probenfluss erzielte, sollte von den in dieser Arbeit untersuchten Zerstäubern ("PFA 250", "MiraMist" und Meinhardzerstäuber) dieser Zerstäuber bevorzugt verwendet werden.

4 Zusammenfassung

Für die klinische Anwendung der BNCT muss die Borkonzentration im Tumor während der intravenösen Infusion des Borcarriers bestimmt werden. Da es sich bei den meisten Tumoren nicht um oberflächliche Tumore handelt, kann dies nur in Form von Gewebebiopsien erfolgen, welche den ohnehin schon geschwächten Patienten weiter belasten würden. Daher wird die Borkonzentration im Patientenblut in zeitlichen Intervallen von ca. 15-20 Minuten bestimmt und auf die Borkonzentration im Tumor extrapoliert. Hieraus wird der bestmögliche Bestrahlungszeitpunkt des Tumors mit thermischen Neutronen, sowie die für den Patienten resultierende Strahlendosis bestimmt.¹ Da Vollblut eine sehr komplexe Matrix darstellt, sowie die Quantifizierung des Bors im Blut möglichst zeitnah nach Probenahme erfolgen sollte, wurde in der vorliegenden Arbeit eine Methode zur Quantifizierung von Bor in Vollblut entwickelt und optimiert, welche schnell sowie robust ist, ein möglichst geringes Probenvolumen benötigt und in einer Klinik vor Ort durchgeführt werden kann.

Hierfür sind die Elementmassenspektrometrie sowie die Atomemissionsspektroskopie mit dem induktiv gekoppelten Plasma (ICP-MS bzw. ICP-OES) eine geeignete Technik, da diese im Vergleich zur Prompt-Gamma-Neutronen-Aktivierungsanalyse (PGAA) oder anderen radiochemischen Analysetechniken in einer Klinik ohne größere baulichen Arbeiten zugänglich sind. In der ICP-MS sowie in der ICP-OES wird die meist flüssige Probe durch Verwendung eines Zerstäubers in ein feines Aerosol überführt, welches nochmals in einer Sprühkammer hinsichtlich seines aerodynamischen Radius filtriert wird, sodass nur die feinsten Aerosoltropfen ins Plasma überführt werden. Da Bor eine hohe Affinität zur Adsorption an Glasoberflächen aufweist (Memory-Effekt), was zu einer erhöhten Auswaschzeit der einzelnen Proben im Probenzuführungssystem führt und dies die Analysezeit bzw. den Probendurchsatz der Methode beeinträchtigt, wurden bevorzugt Zerstäuber, welche aus Polymer gefertigt sind, für die hier vorgestellten Untersuchungen ausgewählt. In der vorliegenden Arbeit lag der Fokus auf der pneumatischen Zerstäubung. Die Zerstäuber wurden hinsichtlich der erzielbaren Empfindlichkeiten für Bor am ICP-MS, sowie am ICP-OES untersucht.

Am ICP-MS wurden drei Parallelpfad-Zerstäuber "MiraMist", "PFA 250" und "EnyaMist", sowie der Flow-Blurring-Zerstäuber "OneNeb" und ein konzentrischer Zerstäuber, "MicroMist", welcher der in dieser Studie einzige Zerstäuber aus Quarz darstellt, hinsichtlich der erzielbaren Empfindlichkeit für das ¹⁰B Isotop untersucht. Alle hier untersuchten Zerstäuber mit Ausnahme des konzentrischen "MicroMist" Zerstäubers sind von deren Herstellern so konzipiert worden,

dass die Zerstäuber in variablen Probenflussratenbereichen arbeiten. Daher wurden die erzielbaren Empfindlichkeiten der ICP-MS basierten Methode für das ^{10}B Isotop in Abhängigkeit der vom Hersteller angegebenen Probenflussrate untersucht, wobei die Geräteparameter nach Variation der Probenflussrate des Zerstäubers neu auf höchstes Signal/Untergrundverhältnis und möglichst niedrige relative Standardabweichung für die beiden Borisotope ^{10}B und ^{11}B optimiert wurden. Als Interner Standard diente Beryllium aufgrund seines zum Analyten Bor ähnlichen m/z-Verhältnisses und der ähnlichen ersten Ionisierungsenergie.¹⁹⁶ Die Empfindlichkeiten für ^{10}B wurden durch Aufnahme von Kalibrierkurven im Konzentrationsbereich zwischen 10-200 $\mu\text{g/L}$ B in wässrigen Proben ermittelt, wobei stets eine Untergrundkorrektur durchgeführt wurde. Hier konnte durch Verwendung des Flow-Blurring-Zerstäubers "OneNeb" die höchste Empfindlichkeit (19400 CPS/ $(\mu\text{g/L B})$) für das ^{10}B Isotop bei gleichzeitig niedrigster Probenflussrate (50 $\mu\text{L}/\text{min}$) unter Verwendung der in dieser Studie verwendeten Glaszyklonsprühkammer erzielt werden.

Somit wäre für die Quantifizierung von Bor mittels ICP-MS von den in der vorliegenden Arbeit untersuchten fünf Zerstäubern in Kombination mit der verwendeten Glaszyklonsprühkammer aufgrund der höchst erzielbaren Empfindlichkeit für ^{10}B bei gleichzeitig möglichst niedriger Probenflussrate der Flow-Blurring-Zerstäuber "OneNeb" am geeignetsten für die klinische Anwendung der BNCT.

Die ICP-MS ist zwar hinsichtlich der erzielbaren Empfindlichkeiten und Nachweisgrenzen für die meisten Analyten der ICP-OES überlegen, jedoch treten in der Elementmassenspektrometrie mit dem induktiv gekoppelten Plasma häufig Interferenzen bei Proben auf, welche eine komplexe Probenmatrix wie Vollblut aufweisen.¹⁰⁸ Die Atomemissionsspektroskopie mit dem induktiv gekoppelten Plasma ist weniger anfällig hinsichtlich Matrixeffekten.¹³⁴ Daher wurden die in dieser Arbeit untersuchten Zerstäuber (Parallelpfad-Zerstäuber "PFA 250" und "MiraMist", Flow-Blurring-Zerstäuber "OneNeb" sowie ein aus Glas gefertigter Meinhardzerstäuber) ebenfalls am ICP-OES hinsichtlich ihrer erzielbaren Empfindlichkeiten für Bor unter Verwendung der beiden Atomlinien $\text{B(I)} 208,957 \text{ nm}$ und $\text{B(I)} 249,773 \text{ nm}$ in Kombination mit einer Glaszyklonsprühkammer untersucht. Hierzu wurden ebenfalls wässrige Kalibrierproben im Konzentrationsbereich zwischen 20-600 $\mu\text{g/L}$ hergestellt und die Empfindlichkeiten für Bor der ICP-OES basierten Methode ermittelt. Aufgrund des ausgeprägten Memory-Effektes von Bor, welcher vor allem durch die Adsorption an Glasoberflächen herrührt, wurden am ICP-OES alle untersuchten Zerstäuber ebenfalls mit einer Zykklonsprühkammer kombiniert, welche vollständig aus PTFE gefertigt ist. Diese Zerstäuber-kammer ist zur Erhöhung der Hydrophilie oberflächenbeschichtet, wodurch die Tröpfchenbildung im Innern der Zerstäuber-kammer reduziert wird.

Ziel der durchgeführten Studie war es, eine Zerstäuber/Sprühkammer Kombination zu ermitteln, welche zu einer möglichst hohen Empfindlichkeit für Bor führt und gleichzeitig aufgrund des limitierten Probenvolumens bei der klinischen Anwendung der BNCT mit einem geringen Probenvolumen arbeitet. Zur Reduzierung des Memory-Effekts von Bor sollte das Probenzuführungssystem möglichst vollständig aus Polymer gefertigt sein. Durch Vergleich der erzielten Empfindlichkeiten für Bor erwies sich der Parallelpfad-Zerstäuber PFA 250 in Kombination mit der "Tracey TFE" Zyklonsprühkammer als besonders geeignet, da mit diesem Zerstäuber-/Sprühkammersystem die höchste Empfindlichkeiten für Bor (1200 CPS/($\mu\text{g/L}$)) bei gleichzeitig niedrigster Probenflussrate (0,7 mL/min) ermittelt werden konnte. Unter Verwendung des Flow-Blurring-Zerstäubers "OneNeb", der einen um Faktor 2 größeren Innendurchmesser der probenführenden Kapillare (500 μm) besitzt und daher ein geringeres Verstopfungsrisiko bei Verwendung von Vollblut aufweist, wurde eine um ca. 18% niedrigere Empfindlichkeit für Bor, bei gleichem Probenfluss (0,7 mL/min), im Vergleich zum "PFA 250" Parallelpfad-Zerstäuber ermittelt.

Da in der klinischen Anwendung der BNCT der Analyt Bor in Vollblut quantifiziert werden muss, welches eine komplexe Probenmatrix darstellt, ist nicht nur die erzielbare Empfindlichkeit der Methode bzw. deren Nachweisvermögen von großem Interesse, sondern auch die Plasmarobustheit ein wichtiges Kriterium für die Wahl des Probenzuführungssystems. Daher wurde eine Lösung hergestellt, welche die mittlere Elektrolytkonzentration wie menschliches Blutserum aufweist (vgl. Tabelle 10). Zu dieser Lösung wurde 1 mg/L Bor zur Geräteparameteroptimierung sowie 2 mg/L Magnesium zur Bestimmung der Plasmarobustheit nach *Mermet* hinzugefügt. Die Plasmarobustheit nach *Mermet* wurde für jeden in dieser Studie untersuchten Zerstäuber bei Variation der Probenflussrate sowie unter Verwendung der untersuchten Zerstäuberkammern (Glas- und "Tracey TFE" Zyklonsprühkammer) untersucht. Hierbei konnte festgestellt werden, dass unter Verwendung des Flow-Blurring-Zerstäubers "OneNeb" nur für wenige Probenflussraten robuste Plasmabedingungen möglich sind, wohingegen für den Parallelpfad-Zerstäuber "PFA 250" ab einer Probenflussrate von 0,2 mL/min stets robuste Bedingungen des Plasmas unter Verwendung der Glas- sowie der PFTE Zyklonsprühkammer ermittelt werden konnten.

Aufgrund der in dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen hinsichtlich der erzielbaren Empfindlichkeiten der ICP-OES basierten Methode zur Quantifizierung von Bor bei möglichst niedriger Probenflussrate sowie der Plasmarobustheit, ist der "PFA 250" Parallelpfad-Zerstäuber den anderen in dieser Studie untersuchten Zerstäubern am ICP-OES für die Quantifizierung von Bor im Kontext der BNCT vorzuziehen.

Da das Probenzuführungssystem sowie die Plasmafackel beim ICP-MS bzw. ICP-OES gewöhnlich aus Glas bzw. Quarz gefertigt sind, erhöht der sogenannte Memory-Effekt von Bor die Auswaschzeit zwischen den Proben und reduziert somit den Probendurchsatz der Methode. In der klinischen Anwendung der BNCT muss die Borkonzentration in möglichst vielen Vollblutproben bestimmt werden. Daher wurden in Kapitel 3.3 der vorliegenden Arbeit verschiedene Methoden untersucht, um die Auswaschzeit von Bor aus dem Probenzuführungssystem in der Elementmassenspektrometrie, sowie in der Atomemissionsspektroskopie mit dem induktiv gekoppelten Plasma zu reduzieren. Es wurden Spülreagenzien mit verschiedenen pH-Werten (Salpetersäure, Reinstwasser sowie ammoniakalische Lösungen) mit verschiedenen Additiven (D-Mannitol und Triton X-100) hinsichtlich ihres Auswaschverhaltens für Borsäure untersucht. In der vorliegenden Arbeit wurde Borsäure als Borpräparat verwendet, da diese strukturell ähnlich zu dem in der BNCT häufig verwendeten BPA ist, sich daher ähnlich zu diesem verhalten sollte und aufgrund des natürlichen Isotopenverhältnisses von Bor preiswerter ist als BPA, welches nahezu 100% mit ^{10}B angereichert ist. Zur Probenzuführung wurde ein "MicroMist" Zerstäuber, welcher aus Quarz gefertigt ist und mit einer Probenflussrate von 0,2 mL/min in Kombination mit einer Glaszyklonsprühkammer, welche mit Zusatzgas genutzt wurde, am ICP-MS verwendet (vgl. Kapitel 3.2.1). Am ICP-OES wurde ein Meinhardzerstäuber, welcher aus Glas gefertigt ist und für eine Probenflussrate von 1,0 mL/min optimiert ist, in Kombination mit einer Glaszyklonsprühkammer verwendet (vgl. Kapitel 3.2.2). Das Auswaschverhalten für Borsäure wurde mittels Fließinjektion (FIA) untersucht. Hierzu wurde ein Sechs-Wegeventil verwendet mit einer Probenschleife von 50 μL . Am ICP-MS wurde eine Probenlösung mit einer Borkonzentration von 100 $\mu\text{g/L}$ in Reinstwasser und am ICP-OES eine ebensolche Lösung von 1,00 mg/L Bor injiziert. Für jede der untersuchten Reinigungsreagenzien wurde das Auswaschverhalten durch Detektion transienter Signale für Bor ($m/z=10$ am ICP-MS, $\text{B(I)} 249,773 \text{ nm}$ am ICP-OES) bestimmt. Am ICP-MS konnten Auswaschzeiten für Borsäure zwischen 160-270 s für die in dieser Arbeit untersuchten Reinigungsreagenzien ermittelt werden, wobei für die beiden alkalischen Lösungen unter Zusatz von 0,1% (w/v) Triton X-100 bzw. 0,25% (w/v) D-Mannitol die kürzesten Auswaschzeiten (160-170 s) ermittelt wurden. Dies ist auf die Bildung des Mannitol-Borat-Komplexes zurückzuführen, welcher sich bevorzugt im basischen pH bildet.^{204,205} Bei diesem stabilen Komplex sind alle Hydroxylgruppen der Borsäure gebunden, wodurch diese nicht mehr zur Adsorption an den Glasoberflächen zur Verfügung stehen. Weiterhin ist dieser Mannitol-Borat-Komplex weniger leicht flüchtig als Borsäure (Verdampfungstemperatur ca. 2500 °C)²⁰⁴, wodurch der Memory-Effekt von Borsäure erfolgreich reduziert werden konnte.

Triton X-100 stellt ein oberflächenaktives Netzmittels dar. Es erhöht somit die Benetzbarkeit der Glasoberflächen innerhalb der Sprühkammer, wodurch die Oberflächenspannung reduziert und somit der Kohäsionsdruck innerhalb eines an der Glasoberfläche kondensierten Aerosoltropfens reduziert wird. Da eine ammoniakalische Lösung mit 0,1% (w/v) Triton X-100 bzw. 0,25% (w/v) D-Mannitol die Auswaschzeit von Borsäure um ca. 40% im Vergleich zu den anderen untersuchten Lösungen reduziert, sollten zur Reduzierung des Memory-Effekts von Borsäure am ICP-MS von den hier untersuchten Lösungen diese als Spülreagenzien zwischen den Proben verwendet werden.

Am ICP-OES, welches eine reduzierte Empfindlichkeit für die meisten Analyten im Vergleich zur ICP-MS aufweist, verhält sich das Auswaschverhalten von Borsäure unter Verwendung der hier untersuchten Spülreagenzien anders.¹⁰⁸ Hier variieren die Ausspülzeiten für Borsäure zwischen 6-8 s wobei kein signifikanter Unterschied zwischen den hier untersuchten Reagenzien zu erkennen ist. Der Memory-Effekt von Borsäure ist daher in der ICP-OES um einen Faktor zwischen 25-30 geringer im Vergleich zur ICP-MS. Nachfolgend werden Ansätze zusammengefasst, mit denen der Memory-Effekt trotzdem weiterhin reduziert werden kann.

Eine Möglichkeit zur Reduzierung des Memory-Effektes von Borsäure stellt die Temperierung der Sprühkammer dar. Durch Kühlen dieser wird das recht leichte Verdampfen von Borsäure verhindert.^{62,125} Hierzu wurde in der Feinmechanischen Werkstatt der Johannes Gutenberg-Universität ein aus Messing gefertigter Mantel zur Temperierung der Glaszyklonsprühkammer angefertigt. Dieser Mantel wurde mit Hilfe einer Temperiereinheit zwischen 2 °C und 40 °C temperiert und das Auswaschverhalten für Borsäure bei verschiedenen Sprühkammertemperaturen unter Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "PFA 250" bei verschiedenen Probenflussraten für Reinstwasser untersucht. Aufgrund eines dauerhaften Gerätedefektes wurden diese Untersuchungen am Activa ICP-OES durchgeführt, welches ebenfalls eine radiale Beobachtungsweise des Plasmas aufweist. Auch hier wurde das Auswaschverhalten von Borsäure unter Verwendung der FIA (Probenschleife: 50 µL; Borkonzentration: 1,00 mg/L) untersucht, wobei Auswaschzeiten für Borsäure zwischen 5,5-16 s ermittelt werden konnten.

Da der Memory-Effekt von Borsäure durch Kühlen der Sprühkammer nur minimal reduziert werden konnte (6,5-8,5 s bei Raumtemperatur und 5,5-16 s durch Temperierung) wurde in den folgenden Studien der vorliegenden Arbeit auf die Temperierung der Glaszyklonsprühkammer zur Reduzierung des Memory-Effektes verzichtet.

In der klinischen Anwendung der BNCT ist es notwendig die Borkonzentration im Patientenblut möglichst schnell nach Probenahme und präzise zu bestimmen. Daher wurde das in Kapitel 3.2.2 ermittelte Probenezuführungssystem bestehend aus Parallelpfad-Zerstäuber "PFA 250" in Verbindung mit der Zyklonsprühkammer "Tracey TFE" hinsichtlich ihrer Anwendbarkeit in Vollblutproben untersucht. Hierzu wurde zunächst eine Mischung bestehend aus 45% (v/v) Erythrozytenkonzentrat (in PAGGS-M stabilisiert, Blutgruppe 0+) und 55% (v/v) Blutplasma (gefrorenes Frischplasma, CPD-stabilisiert, Blutgruppe 0+) miteinander gemischt und mit wässrigem Borstandard im Konzentrationsbereich zwischen 50-400 µg/L Bor versetzt. Als Interner Standard dienten 100 µg/L Beryllium. Die Proben wurden vor Analyse einem mikrowellenassistierten Druckaufschluss unterzogen. Die aufgeschlossenen Lösungen wurden anschließend im Verhältnis 1:100, 1:50 bzw. 1:25 mit Reinstwasser verdünnt und am ICP-OES unter Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "PFA 250" (Probenflussrate 0,7 mL/min) in Kombination mit der "Tracey TFE" Zyklonsprühkammer hinsichtlich der Wiederfindungsrate für Bor untersucht. Als Referenzproben dienten wässrige Borstandardlösungen, welche sich im selben Konzentrationsbereich befanden. Die wässrigen Referenzproben enthielten ebenfalls 100 µg/L Beryllium als Internen Standard. Auf diese Weise konnten eine Wiederfindungsraten für Bor zwischen 96-103% unter Verwendung der beiden untersuchten Atomlinien B(I) 208,957 nm und B(I) 249,773 nm ermittelt werden.

Die Probenvorbereitung mittels mikrowellenassistierten Druckaufschluss benötigt ca. 2 Stunden. Diese ist daher für die klinische Anwendung der BNCT, bei der die Borkonzentration in Vollblutproben im besten Fall innerhalb von 10-15 Minuten erfolgen sollte, nicht geeignet. Daher wurde im Folgenden untersucht, ob die Probenvorbereitung mittels mikrowellenassistierten Druckaufschluss wirklich nötig ist. Da das von der Transfusionszentrale der Universitätsmedizin Mainz zur Verfügung gestellten Blutplasma Schwebstoffe enthielt, wurde zunächst nur das gerinnungsstabilisierte Erythrozytenkonzentrat mit Borstandard bekannter Konzentration versetzt und anschließend mit Reinstwasser im Verhältnis 1:10 verdünnt. Auch hier wurde Beryllium in einer Konzentration von 100 µg/L als Interner Standard verwendet. Als Probenezuführungssystem diente hier ebenfalls der Parallelpfad-Zerstäuber "PFA 250" bei einer Probenflussrate von 0,7 mL/min in Verbindung mit der Zyklonsprühkammer "Tracey TFE". Zur Bestimmung der Wiederfindungsrate dienten wässrige Borstandardlösungen im selben Konzentrationsbereich. Unter diesen Bedingungen konnten Wiederfindungsraten zwischen 99-103% ermittelt werden.

Um sich den realen Bedingungen der BNCT zu nähern, wurde die Wiederfindungsrate von Bor, welches in Form von H_3BO_3 in Vollblut verschiedener gerinnungsstabilisierender Substanzen (Heparin, Citrat bzw. EDTA) vorlag, untersucht. Hierzu wurde in der Transfusionszentrale der Universitätsmedizin Mainz Eigenblut (Blutgruppe B+) entnommen und mit verschiedenen gerinnungshemmenden Substanzen versetzt. Diesem Vollblut wurde Bor in Form von H_3BO_3 im Konzentrationsbereich von 50-400 $\mu\text{g/L}$ Bor sowie 100 $\mu\text{g/L}$ Beryllium, welches als Interner Standard verwendet wurde, hinzugefügt. Das Vollblut mit den verschiedenen gerinnungshemmenden Substanzen wurde im Verhältnis von 1:100, 1:50 und 1:25 mit einer Lösung bestehend aus 0,1% (v/v) Triton X-100 in Reinstwasser verdünnt. Zur Bestimmung der Wiederfindungsrate von Bor in Vollblut dienten wässrige Borstandards als Referenzwerte. Als Probenzuführungssystem diente der Parallelpfad-Zerstäuber "PFA 250" mit einer Probenflussrate von 0,7 mL/min in Kombination mit der Zyklonsprühkammer "Tracey TFE". Unter diesen Bedingungen konnten Wiederfindungsraten zwischen 96-106% für Bor in Vollblutproben nach einer Verdünnungen von 1:100 und 1:50 unter Verwendung der drei untersuchten Atomlinien B(I) 208,957 nm, B(I) 249,677 nm und B(I) 249,773 nm ermittelt werden, wobei kein signifikanter Unterschied hinsichtlich der gerinnungsstabilisierenden Substanzen identifiziert werden konnte. Bei einer Verdünnung des Vollblutes im Verhältnis von 1:25 konnten unter Verwendung der beiden Atomlinien B(I) 208,957 nm und B(I) 249,677 nm Wiederfindungsraten für Bor zwischen 95-103% ermittelt werden. Im Gegensatz hierzu konnte unter Verwendung der Atomlinie bei B(I) 249,773 nm und einer Verdünnung des Vollblutes von 1:25 nur eine Wiederfindungsrate für Bor von ca. 70% ermittelt werden. Diese reduzierte Wiederfindungsrate lässt sich auf eine Eiseninterferenz (Fe(II) 249,782 nm) der genannten Boratomlinie zurückführen, welche erst durch Reduzierung der Verdünnung des Vollblutes und somit einer Erhöhung der Eisenkonzentration der Probe auftritt.⁷³ Durch externe Kalibrierung unter Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "PFA 250" konnte eine Nachweisgrenze im Bereich von 0,4-3,8 $\mu\text{g/L}$ Bor in Vollblut ermittelt werden, wobei keine Abhängigkeit zur verwendeten gerinnungshemmenden Substanz ermittelt werden konnte. Da die für die BNCT relevante Nachweisgrenze zwischen 50-200 $\mu\text{g/L}$ Bor (je nach Verdünnung) in Vollblut liegt, ist die Methode der externen Kalibrierung für Bor in Vollblut für den Anwendungsbereich der BNCT geeignet.²¹⁰ In der beschriebenen Studie befinden sich die Wiederfindungsraten für Bor bei einer Verdünnung des Vollblutes von 1:25 mit Ausnahme der Atomlinie B(I) 249,773 nm nahe 100%. Daher liegen keine signifikanten Matrixeffekte unter Verwendung der beiden Atomlinien B(I) 208,957 nm und B(I) 247,677 nm vor und es ist möglich unter Verwendung dieser beiden Atomlinien Bor in Vollblutproben, welche eine Verdünnung von 1:25 aufweisen, zu quantifizieren.

Aufgrund der in der Literatur beschriebenen Eiseninterferenz der Atomlinie B(I) 249,773 nm bei einer Verdünnung des Vollblutes von 1:25, sollte in der vorliegenden Arbeit die Verwendung der Standardaddition zur Kalibrierung der Vollblutproben untersucht werden. Da die Probenvorbereitung, welche sich bei der zuvor beschriebenen externen Kalibrierung auf Verdünnung der Vollblutproben und Herstellung der wässrigen Kalibrierstandards beschränkte, ebenfalls zur Zeitersparnis und Reduzierung des Kontaminationsrisikos reduziert werden sollte, wurde die Online-Standardaddition hinsichtlich ihrer Anwendbarkeit in der BNCT untersucht. Dabei diente eine peristaltische Schlauchpumpe der Beförderung des Lösungsmittels, welches 0,1% (v/v) Triton X-100 in Reinstwasser darstellt. Die zweite peristaltische Schlauchpumpe diente dem Transport des Borstandards (400 µg/L Bor in Form von H₃BO₃, BPA bzw. BSH ebenfalls in 0,1% (v/v) Triton X-100). Die Probe, welche zunächst wässrige Borproben in Form von H₃BO₃, BPA bzw. BSH darstellte, wurde aufgrund der sehr geringen Pumpförderrate mit Hilfe einer Einkanalspritzenpumpe befördert. Alle drei Flüsse wurden mit Hilfe eines Kreuzstückes vereint. Als Probenzuführungssystem diente der Parallelpfad-Zerstäuber "PFA 250" in Verbindung mit der "Tracey TFE" Zyklonsprühkammer. Unter Verwendung der Online-Standardaddition konnten Wiederfindungsraten für Bor zwischen 97-103% ermittelt werden. Die so ermittelten Nachweisgrenzen liegen mit 0,7-3,3 µg/L Bor im für die BNCT relevanten Bereich.²¹⁰

Um die Probenmatrix den realen Bedingungen der BNCT anzupassen wurde die Online-Standardaddition für Proben in synthetischer Blutmatrix untersucht. Hierzu wurde eine Lösung hergestellt, welche dieselbe Elektrolytkonzentration wie menschliches Blutserum enthält (vgl. Tabelle 10) wobei dieser Lösung 5 mg/L Bor in Form von H₃BO₃, BPA bzw. BSH zugesetzt wurde. Diese Proben wurden ebenfalls online im Verhältnis 1:25 verdünnt und mittels Online-Standardaddition am ICP-OES analysiert, wobei Wiederfindungsraten zu einem Betrag von 95-108% ermittelt werden konnten. In der synthetischen Blutmatrix konnten Nachweisgrenzen zwischen 1,5-4,2 µg/L Bor durch Verwendung der Online-Standardaddition festgestellt werden.

Im Folgenden wurden Vollblutproben, welche citratstabilisiert vorlagen, mit 5 mg/L Bor in Form von BPA bzw. BSH versetzt und mittels Online-Standardaddition die Wiederfindungsraten für Bor ermittelt. Als Zerstäuber diente wiederum der Parallelpfad-Zerstäuber "PFA 250" in Kombination mit der "Tracey TFE" Zyklonsprühkammer. Es wurde ebenfalls der Meinhardzerstäuber sowie der Parallelpfad-Zerstäuber "MiraMist" für die Quantifizierung von Bor in Vollblut mittels Online-Standardaddition untersucht, da diese beiden Zerstäuber einen im Vergleich zum "PFA 250" Parallelpfadzerstäuber vergrößerten Innendurchmesser der probenführenden Kapillare aufweisen. Es konnten unabhängig vom verwendeten Zerstäuber und Borpräparat Wiederfindungsraten zwischen 95-102% sowie Nachweisgrenzen zwischen 0,3-6,8 µg/L Bor

ermittelt werden. Da der Parallelpfad-Zerstäuber "PFA 250" mit 0,7 mL/min die niedrigste Probenflussrate bei höchster Empfindlichkeit für Bor der ICP-OES basierten Methode (vgl. Kapitel 3.2.2) aufweist, und bei der BNCT ein nur geringes Probenvolumen vorhanden ist, ist dieser Zerstäuber von den in dieser Arbeit untersuchten Zerstäubern am geeignetsten für die klinische Anwendung der BNCT.

Durch Verwendung der Online-Standardaddition konnte die Probenvorbereitung auf ein Minimum reduziert werden, wodurch nur ca. 10-12 Minuten zwischen Probenahme und Analyseergebnis verstreichen. Aufgrund der Eliminierung von Matrixeffekten, der vereinfachten Probenvorbereitung und der sehr kurzen Zeit zwischen Probenahme und Analyseergebnis ist die Methode der Online-Standardaddition zur Quantifizierung von Bor in Vollblut unter Verwendung der beiden Atomlinien B(I) 249,677 nm und B(I) 249,773 nm für die Anwendung in der BNCT geeignet.

Zur Validierung der Online-Standardadditions-Methode wurde ein Referenzmaterial der Firma Seronorm™ ("Trace Elements Whole Blood L-2"; Lot: 1103129) mittels Online-Standardaddition hinsichtlich seines Borgehaltes analysiert, wobei Wiederfindungsraten im Bereich von 100-101% ermittelt werden konnten.

Um die Zeit zwischen Probenahme und Analyseergebnis weiter zu reduzieren, wurde in der vorliegenden Arbeit ebenfalls die Verwendung der externen Online-Kalibrierung, bei der ähnlich zur Online-Standardaddition die Probenverdünnung, sowie die Herstellung der wässrigen Kalibrierstandards durch Variation der Pumpförderate online geschieht, hinsichtlich der Anwendbarkeit für die BNCT untersucht. Hierzu wurde das für die Online-Standardaddition verwendete Kreuzstück durch Verschließen eines Ausgangs zu einem T-Stück umgebaut und die beiden peristaltischen Schlauchpumpen zur Förderung des Lösungsmittel sowie des Borstandards bzw. der Vollblutprobe verwendet.

Durch Verwendung der externen Online-Kalibrierung konnten unter Verwendung der beiden Atomlinien B(I) 208,957 nm und B(I) 249,677 nm Wiederfindungsraten zwischen 96-97% bei einer Verdünnung der Vollblutprobe im Verhältnis von 1:25 ermittelt werden. Durch Verwendung der Atomlinie B(I) 249,773 nm konnten aufgrund von Matrixeffekten, welche vor allem auf die Interferenz der Fe(II) 249,782 nm Linie zurückzuführen ist, nur eine Wiederfindungsrate von 43% ermittelt werden.⁷³

Im Falle des Referenzmaterials der Firma Seronorm™ (Trace Elements Whole Blood L-2"; Lot: 1103129) wurden Wiederfindungsraten zwischen 100-102% durch Verwendung der externen Online-Kalibrierung erzielt.

Zusammenfassend lässt sich formulieren, dass unter Verwendung der Atomlinie B(I) 249,677 nm bei Anwendung der externen Kalibrierung, welche eine recht zeitaufwendige Probenvorbereitung durch Herstellung der Kalibrierproben und Verdünnung der Blutproben beinhaltet, sowie durch Verwendung der Online-Standardaddition und durch Verwendung der externen Online-Kalibrierung zuverlässige Wiederfindungsraten im Bereich von 95-103% ermittelt werden konnten. Zwischen Probenahme und Analyseergebnis liegen zwischen 10-12 Minuten bei Verwendung der Online-Standardaddition und es werden nur ca. 0,7 mL Probe benötigt. Durch Verwendung der externen Online-Kalibrierung ist verstreichen zwischen Probenahme und Analyseergebnis nur 2-3 Minuten. Da die Atomlinie bei B(I) 249,773 nm bei einer Verdünnung des in dieser Arbeit verwendeten Vollblutes durch unzureichende Auflösung durch die Ionenlinie Fe(II) 249,782 nm aufweist, sollte diese Boratomlinie nur mittels Online-Standardaddition, bei der Matrixeffekte eliminiert werden, Verwendung finden. In der Literatur ist ebenfalls beschrieben, dass die Atomlinie B(I) 249,677 nm ab einer bestimmten Konzentration mit Eisen interferiert.⁷³ Da die Eisenkonzentration im Blut von Mensch zu Mensch sowie von Zeit zu Zeit variiert,²⁰⁰ ist die Online-Standardaddition für die Quantifizierung von Bor in Vollblut im BNCT Kontext, der externen Kalibrierung vorzuziehen, da Matrixeffekte durch Standardaddition eliminiert werden.

In der vorliegenden Arbeit konnte die Methode der Online-Standardaddition zur Quantifizierung von Bor in Vollblut mittels ICP-OES entwickelt und sowohl apparativ als auch hinsichtlich der Analysendauer optimiert werden. Durch Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "PFA 250" mit einer Probenflussrate von 0,7 mL/min in Verwendung der Online-Standardaddition konnte das Probenvolumen pro Analyse auf ca. 0,7 mL, sowie die Analysedauer auf ca. 10-12 Minuten pro Probe reduziert werden. Weiterhin konnten durch Verwendung der Online-Standardaddition Matrixeffekte, welche bei der Quantifizierung von Bor in Vollblut hauptsächlich auf eine Eiseninterferenz (Fe(II) 249,782 nm) der Atomlinie B(I) 249,773 nm zurückzuführen sind, eliminiert werden.

5 Ausblick

Für die klinische Anwendung der BNCT ist eine Methode zur Quantifizierung von Bor in Vollblut nötig, welche möglichst schnell und präzise sowie im klinischen Umfeld anwendbar sein sollte, da der bestmögliche Bestrahlungszeitpunkt des Tumors mit thermischen Neutronen, sowie die für den Patienten resultierende Strahlendosis aus der Borkonzentration im Patientenblut während der intravenösen Infusion des Borcarriers bestimmt wird.¹ Daher wurde in der vorliegenden Arbeit eine Methode zur Quantifizierung von Bor in Vollblut entwickelt und hinsichtlich der Analysendauer bzw. des Probendurchsatzes optimiert. Begonnen wurde in der vorliegenden Arbeit mit einem ausführlichen Zerstäuber/Sprühkammervergleich am ICP-MS sowie am ICP-OES hinsichtlich der erzielbaren Empfindlichkeit der Methode für Bor. Hier lag der Fokus auf der pneumatischen Zerstäubung, wobei bevorzugt Zerstäuber, welche aus Polymer gefertigt sind zum Einsatz kamen, um den sehr ausgeprägten Memory-Effekt von Bor zu minimieren und so die Analysedauer der Proben zu reduzieren.^{129,192} Da in der klinischen Anwendung der BNCT dem Patienten alle 15-20 Minuten während der intravenösen Infusion des Borcarriers Blutproben entnommen werden, ist ebenfalls ein möglichst geringes Probenvolumen für die in dieser Arbeit entwickelte Methode von großem Interesse. Daher liegt ein großes Verbesserungspotential der hier entwickelten Methode in der Verwendung des im Arbeitskreis von Herrn Professor Bings entwickelten Drop-on-Demand Aerosolgenerators (DOD). Dieser ist ebenfalls aus Polymer gefertigt, wodurch der Memory-Effekt von Bor reduziert wird. Weiterhin arbeitet der DOD im unteren $\mu\text{L}/\text{min}$ bis nL/min Probenflussratenbereich, wodurch der Probenverbrauch, welcher für die BNCT ebenfalls von großem Interesse ist, deutlich reduziert werden kann. Ein weiterer Vorteil des DOD Aerosolgenerators liegt in der zerstäubergasunabhängigen Aerosolerzeugung. Hierdurch besitzt der Anwender einen weiteren Freiheitsgrad in der Geräteoptimierung. Da der DOD zurzeit noch in der Entwicklungsphase steht, konnte dieser in der vorliegenden Arbeit nicht für die Anwendung der BNCT untersucht werden, was jedoch nachgeholt werden sollte.

Aufgrund der Tatsache, dass Vollblut eine komplexe Probenmatrix darstellt und dessen Zusammensetzung von Mensch zu Mensch variiert,²⁰⁰ hat sich die Methode der Online-Standardaddition hinsichtlich der in der BNCT gestellten Anforderungen für die Quantifizierung von Bor in Vollblut als besonders geeignet erwiesen.^{4,200} Hierfür wurden zwei peristaltische Schlauchpumpen sowie eine Einkanalspritzenpumpe über ein von der Feinmechanischen Werkstatt der Johannes Gutenberg-Universität Mainz gebautes Kreuzstück miteinander verbunden. Ein großes Potential zur weiteren Reduzierung der Analysezeit liegt in der

Reduzierung des Totvolumens des verwendeten Kreuzstückes, wodurch die Spülzeiten zwischen den Proben weiter reduziert werden kann. Weiterhin lässt sich die Variation der Förderrate der beiden verwendeten peristaltischen Schlauchpumpen automatisieren. Hier könnte beispielsweise das Programm LabVIEW, der Firma National Instruments zum Einsatz kommen, mit dem es möglich ist ein Programm zu erstellen, welches einen Gradienten der Förderraten der beiden peristaltischen Schlauchpumpen generiert. Da die beiden peristaltischen Schlauchpumpen alle 2-3 Tage gravimetrisch hinsichtlich ihrer Förderrate kalibriert werden müssen, was im klinischen Routinebetrieb ebenfalls sehr viel Zeit in Anspruch nimmt, könnten die beiden peristaltischen Schlauchpumpen sowie die verwendete Einkanalspritzenpumpe durch eine HPLC-Pumpe ersetzt werden, mit welcher ein Gradient gefahren werden kann. *Schwartz et al.* untersuchte bereits die Verwendung einer HPLC-Pumpe sowie die Kopplung von drei peristaltischen Schlauchpumpen für die Anwendung der Online-Standardaddition und konnte keinen signifikanten Unterschied hinsichtlich der Analysedauer, Wiederfindungsrate sowie der relative Standardabweichung ermitteln.⁴ Daher könnte durch Verwendung einer HPLC-Pumpe im klinischen Umfeld der BNCT in der Vorbereitung der Methode nochmals Zeit eingespart werden, sowie die Methode der Online-Standardaddition hinsichtlich der Präzision weiter verbessert werden.

6 Literatur

- 1 S. Linko, H. Revitzer, R. Zilliacus, M. Kortesianiemi, M. Kouri und S. Savolainen, *J. Clin. Lab. Invest.*, 2008, **68**, 696–702.
- 2 J. Laakso, M. Kulvik, I. Ruokonen, J. Väjätalo, R. Zilliacus, M. Färkkilä und M. Kallio, *Clin. Chem.*, 2001, **47**, 1796–1803.
- 3 D.-H. Sun, R.-L. Ma, C. McLeod, X.-R. Wang und A. Cox, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2000, **15**, 257–261.
- 4 A. J. Schwartz, S. J. Ray und G. M. Hieftje, *Spectrochim. Acta, Part B*, 2015, **105**, 77–83.
- 5 S. Reinöhl-Kompa, D. Baldauf, H. Heller und S. Genkel, *Einfluss der natürlichen Strahlenexposition auf die Krebsentstehung in Deutschland*, Hoffmann Fachverlag, Berlin, 2008.
- 6 J. Hoeijmakes, *Nat.*, 2001, **411**, 366–374.
- 7 N. Blecker, D. Seidel, C. Stegmaier und H. Ziegler, *J. Neuro-Oncol.*, 2008, **14**, 276–290.
- 8 B. Babel, E. Bomsdorf und R. Schmidt, *J. Proteom Res.*, 2007, **24**, 119–131.
- 9 Deutsche Krebsgesellschaft, *Krebshäufigkeiten in Deutschland*, verfügbar unter: <http://www.krebsgesellschaft.de/onko-internetportal/basis-informationen-krebs/basis-informationen-krebs-allgemeine-informationen/krebshaeufigkeit-die-aktuellen-.html>, Stand: 10. 03.2018.
- 10 T. Hermann, M. Baumann und W. Dörr, *Klinische Strahlenbiologie*, Urban & Fischer Verlag, München, 4. Ausgabe, 2006.
- 11 G. L. Locher, *Am. J. Roentgenol. Radium. Ther. Nucl. Med.*, 1936, **36**, 1–13.
- 12 R. Barth, M. Vicente, O. Harlin, W. Kiger, J. Riley, P. Binns, F. Wagner, M. Suzuki, T. Aihara, I. Kato und S. Kawabata, *J. Radiat. Oncol.*, 2012, **7**, 1–21.
- 13 R. Barth, *J. Neuro-Oncol.*, 2003, **62**, 1–5.
- 14 R. F. Barth, *Clin. Cancer Res.*, 2005, **11**, 3987–4002.
- 15 G. E. Laramore, *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 1996, **36**, 241–246.
- 16 H. Joensuu, L. T. Kankaanranta, I. Auterinen, M. Kallio, M. Kulvik, J. Laakso, J. Vähätalo, M. Kortesianiemi, P. Kotiluoto, T. Serén, J. Karila, A. Brander, E. Järviluoma, P. Ryyänen, A. Paetau, I. Ruokonen, H. Minn, M. Tenhunen, J. Jääskeläinen, M. Färkkilä und S. Savolainen, *J. Neuro-Oncol.*, 2003, **62**, 123–134.
- 17 J. Capala, B. H. Stenstam, K. Sköld, P. Rosenschöld, V. Giusti, C. Persson, E. Wallin, A. Brun, L. Franzen, J. Carlsson, L. Salford, C. Ceberg, B. Persson, L. Pellettieri und R. Henriksson, *J. Neuro-Oncol.*, 2003, **62**, 135–144.

- 18 A. Z. Diaz, *J. Neuro-Oncol.*, 2003, **62**, 101–109.
- 19 Y. Nakagawa, K. Pooh, T. Kobayashi, T. Kageji, S. Uyama, A. Matsumura und H. Kumada, *J. Neuro-Oncol.*, 2003, **62**, 87–99.
- 20 J. Laakso, I. Ruokonen, R. Lapatto und M. Kallio, *Radiat. Res.*, 2003, **160**, 606–609.
- 21 I. Kato, K. Ono, Y. Sakurai, M. Ohmae, A. Maruhashi, Y. Imahori, M. Kirihata, M. Nakazawa und Y. Yura, *Appl. Radiat. Isot.*, 2004, **61**, 1069–1073.
- 22 M. J. Vos, B. Turowski, F. E. Zenella, P. Paquis, A. Siefert, K. Hideghéty, K. Haselsberger, F. Grochulla, T. J. Postma, A. Wittig, J. J. Heimans, B. J. Slotman, W. P. Vandertop und W. Sauerwein, *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 2005, **61**, 392–399.
- 23 T. Aihara, J. Hiratsuka, N. Morita, M. Uno, Y. Sakurai, A. Maruhashi, K. Ono und T. Harada, *Head and Neck*, 2006, **28**, 850–855.
- 24 L. Kankaanranta, T. Seppälä, H. Koivunoro, K. Saarilahti, T. Atula, J. Collan, E. Salli, M. Kortesianiemi, J. Uusi-Simola, A. Mäkitie, M. Seppänen, H. Minn, P. Kotiluoto, I. Auterinen, S. Savolainen, M. Kouri und H. Joensuu, *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 2007, **69**, 475–482.
- 25 P. R. Menéndez, B. Roth, M. D. Pereira, M. R. Casal, S. J. González, D. B. Feld, G. A. Santa Cruz, J. Kessler, J. Longhino, H. Blaumann, R. Jiménez Rebagliati, O. Calzetta Larriue, C. Fernández, S. I. Nievas und S. J. Liberman, *Appl. Radiat. Isot.*, 2009, **67**, 50–53.
- 26 S. Kawabata, S.-I. Miyatake, T. Kuroiwa, K. Yokoyama, A. Doi, K. Iida, S. Miyata, N. Nonoguchi, H. Michiue, M. Takahashi, T. Inomata, Y. Imahori, M. Kirihata, Y. Sakurai, A. Maruhashi, H. Kumada und K. Ono, *J. Radiat. Res. Appl. Sci.*, 2009, **50**, 51–60.
- 27 Y. Kimura, Y. Ariyoshi, M. Shimahara, S.-I. Miyatake, S. Kawabata, K. Ono, M. Suzuki und A. Maruhashi, *Appl. Radiat. Isot.*, 2009, **67**, 47–49.
- 28 K. Sköld, B. Stenstam, A. Z. Diaz, V. Giusti, L. Pellettieri und J. W. Hopewell, *Acta Neurol. Scand.*, 2010, **122**, 58–62.
- 29 T. Kageji, Y. Mizobuchi, S. Nagahiro, Y. Nakagawa und H. Kumada, *Clinical results and radiation dose of BSH, BPA-based non-operative BNCT with additional external beam irradiation*, 2008.
- 30 Y. Sakurai, H. Tanaka, T. Takata, N. Fujimoto, M. Suzuki, S. Masunaga, Y. Kinashi, N. Kondo, M. Narabayashi, Y. Nakagawa, T. Watanabe, K. Ono und A. Maruhashi, *J. Korean Phys. Soc.*, 2015, **67**, 76–81.
- 31 M. Abib, N. Habib, I. I. Bashter, M. S. El-Mesiry und M. S. Mansy, *Appl. Radiat. Isot.*, 2016, **107**, 98–102.
- 32 R. Lenk, *Brockhaus Physik*, VEB F.A. Brockhaus Verlag, Leipzig, 1989.

- 33 V. M. Ahrens, R. Frank, S. Boehnke, C. L. Schütz, G. Hampel, D. S. Ifflans, N. H. Bings, E. Hey-Hawkins, A. G. Beck-Sickinger, V. M. Ahrens, R. Frank, S. Boehnke, C. L. Schütz, G. Hampel, D. S. Iffland, N. H. Bings, E. Hey-Hawkins und A. G. Beck-Sickinger, *ChemMedChem*, 2015, **10**, 164–172.
- 34 A. Zaboronok, T. Yamamoto, K. Nakai, F. Yoshida, S. Uspenskii, M. Selyanin, A. Zelenetskii und A. Matsumura, *Appl. Radiat. Isot.*, 2015, **106**, 181–184.
- 35 C. Achillis, S. Grandi, A. Ciana, G. F. Guidetti, A. Malara, V. Abbonante, L. Cansolino, C. Tomasi, A. Balduini, M. Fagnoni, D. Merli, P. Mustarelli, I. Canobbio, C. Balduini und G. Minetti, *Nanomed. Nanotechnol. Biol. Med.*, 2014, **10**, 589–597.
- 36 A. Matsumura, T. Yamamoto, T. Tsurubuchi, M. Matsuda, M. Shirakawa, K. Nakai, K. Endo, K. Tikuue und K. Tsuboi, *Current practices and future directions of therapeutic strategy in glioblastoma: survival benefit and indication of BNCT*, 2008.
- 37 S.-I. Miyatake, S. Kawabata, K. Yokoyama, T. Kuroiwa, H. Michiue, Y. Sakurai, H. Kumada, M. Suzuki, A. Maruhashi, K. Kirihata und K. Ono, *Survival benefit of boron neutron capture therapy for recurrent malignant gliomas*, 2008.
- 38 L. Pellettieri, B. H. Stenstam, A. Rezaei, V. Giusti und K. Sköld, *Acta Neurol. Scand.*, 2008, **117**, 191–197.
- 39 G. A. Santa Cruz, J. Bertotti, J. Marín, S. J. González, S. Gossio, D. Alvarez, B. M. C. Roth, P. Menéndez, M. D. Pereira, M. Albero, L. Cubau, P. Orellano und S. J. Liberman, *Appl. Radiat. Isot.*, 2009, **67**, 54–58.
- 40 T. Pinelli, S. Altieri, F. Fossati, A. Zonta, D. Cossard, U. Prati, L. Roveda und Ricevuti, G. Nano, R., *Development of a Method to Use Boron Neutron Capture Therapy for Diffused Tumours of Liver (Taormina Project)*, Springer Science + Business Media, New York, 1996.
- 41 A. Zonta, U. Prati, L. Roveda, C. Ferrari, S. Zonta, A. Clerici, C. Zonta, T. Pinelli, F. Fossati, S. Altieri, S. Bortolussi, P. Bruschi, R. Nano, S. Barni, P. Chiari und G. Mazzini, *J. Phys.: Conf. Ser.*, 2006, **41**, 484–495.
- 42 R. L. Moss, *Appl. Radiat. Isot.*, 2014, **88**, 2–11.
- 43 T. U. Probst, *J. Anal. Chem.*, 1999, **364**, 391–403.
- 44 International Atomic Energy Agency IAEA, *Current status of neutron capture therapy*, Wien, 2001.
- 45 D. Blöcher, *Int. J. Radiat. Biol.*, 1988, **54**, 761–771.
- 46 A. J. Coderre, J. C. Turcotte, K. J. Riley, P. J. Binns, O. K. Harling und W. S. Kiger, *Technol. Cancer Res.*, 2003, **2**, 355–375.
- 47 M. F. Hawthore und M. W. Lee, *J. Neurol.*, 2003, **62**, 33–45.

- 48 D. Habermehl, T. W. Kraus und K. K. Herfarth, *Hepatobiliäre Tumore und Lebermetastasen*, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 2013.
- 49 R. Henriksson, J. Capala, A. Michanek, S.-A. Lindahl, L. G. Salford, L. Franzen, E. Blomquist, J.-E. Westlin und A. T. Bergenheim, *Radiat. Oncol.*, **88**, 183–191.
- 50 Technische Universität München, *Neutronenaktivierungsanalyse (NAA) an der RCM*, verfügbar unter: www.rcm.tum.de/index.php?id=65, Stand: 10. 03.2018.
- 51 M. Burguera, J. L. Burguera, C. Rondón und P. Carrero, *Spectrochim. Acta, Part B*, 2001, **56**, 1845–1857.
- 52 N. H. Bings und Z. Stefánka, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2003, **18**, 1088–1096.
- 53 T. Probst, N. Berryman, P. Lemmen, L. Weissfloch, T. Auberger, D. Gabel, J. Carlsson und B. Larsson, *J. Anal. At. Spectrom.*, 1997, **12**, 1115–1122.
- 54 S. R. Tamat, D. E. Moore und B. J. Allen, *Pigment Cell & Melanoma Res.*, 1989, **2**, 281–285.
- 55 M. C. Carey und J. A. Caruso, *J. Anal. Chem.*, 1992, **23**, 397–439.
- 56 A. L. Sommer und C. B. Lipman, *J. Plant. Physiol.*, 1926, **1**, 231–249.
- 57 F. H. Nielsen, *J. Trace Elem. Med. Biol.*, 1996, **9**, 215–229.
- 58 S. Pawa und S. Ali, *Chem. Biol. Interact.*, 2006, **160**, 89–98.
- 59 E. Dotsika, D. Poutoukis, J. L. Michelot und W. Kloppmann, *Water Air Soil Pollut.*, 2006, **174**, 19–32.
- 60 C. Yazbeck, W. Kloppmann, R. Cottier, J. Sahuquillo, G. Debotte und G. Huel, *Environ. Geochem. Health*, 2005, **27**, 419–427.
- 61 O. Reifschneider, C. L. Schütz, C. Brochhausen, G. Hampel, T. Ross, M. Sperling und U. Karst, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2015, **407**, 2365–2371.
- 62 A. F. Holleman und E. Wiberg, *Lehrbuch der Anorganischen Chemie*, Walter de Gruyter, Berlin, New York, 101. Ausgabe, 1995.
- 63 R. Downing, P. Strong, B. Hovanec und J. Northington, *Biol. Trace Elem. Res.*, 1998, **66**, 3–21.
- 64 A. Nyomora, R. Sah und P. Brown, *J. Anal. Chem.*, 1997, **357**, 1185–1191.
- 65 D. Pollmann, J. Broekaert, F. Leis, P. Tschöpel und G. Tölg, *J. Anal. Chem.*, 1993, **346**, 441–445.
- 66 J. A. Moreton und H. T. Delves, *J. Anal. At. Spectrom.*, 1999, **14**, 1545–1556.
- 67 F. Barbosa Jr, C. D. Palmer, F. J. Krug und P. J. Parsons, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2004, **19**, 1000–1005.
- 68 S. Magour, P. Schampel, J. Ovcár und H. Mäser, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 1982, **11**, 521–525.
- 69 A. Krejčová und T. Černohorský, *Food Chem.*, 2003, **82**, 303–308.
- 70 A. Al-Ammar, E. Reitznerová und R. Barnes, *J. Radioanal. Nuc. Chem.*, 2000, **244**, 267–272.

- 71 M. Kosanovic, M. Y. Hasan, D. Subramanian, Al Ahbabi, Abdulla Ali Falah, Al Kathiri, Omar Ali Awn, Aleassa, Essa Mohammed Ali Abdulla und A. Adem, *Food Chem. Toxicol.*, 2007, **45**, 2261–2266.
- 72 E. Rudolph, S. Hann, G. Stinger und C. Reiter, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2005, **382**, 1500–1506.
- 73 D.-H. Sun, J. Waters und T. Mahinney, *J. Anal. At. Spectrom.*, 1997, **12**, 675–679.
- 74 N. Ivanenko, A. Ivanenko, N. Solovyev, A. Zeimal, D. Navolotskii und E. Drobyshev, *Talanta*, 2013, **116**, 764–769.
- 75 J. L. Rodrigues, C. R. Alvarez, N. R. Fariñas, J. J. Berzas Nevado, F. Barbosa Jr und R. C. Rodríguez Martín-Doimeadios, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2011, **26**, 436–442.
- 76 S. Evans und U. Krähenbrühl, *J. Anal. Chem.*, 1994, **349**, 454–459.
- 77 A. Ferrando, N. Green, K. Barnes und B. Woodward, *Biol. Trace Elem. Res.*, 1993, **37**, 17–25.
- 78 D. E. Morrison, F. Issa, M. Bhadbhade, L. Groebler, P. K. Witting, M. Kassiou, P. J. Rutledge und L. M. Rendina, *J. Biol. Inorg. Chem.*, 2010, **15**, 1305–1318.
- 79 Y. Lu, M. Kippler, F. Harari, M. Grandér, B. Palm, H. Nordqvist und M. Vahter, *Clin. Biochem.*, 2015, **48**, 140–147.
- 80 P. Heitland und H. D. Köster, *J. Trace Elem. Med. Biol.*, 2006, **20**, 253–262.
- 81 K. J. Riley und O. K. Harling, *Nuc. Instrum. Methods Phys. Res.*, 1998, **143**, 414–421.
- 82 C. Raaijmakers, M. W. Konijnenberg, L. Dewit, D. Haritz, R. Huiskamp, K. Philipp, A. Siefert, F. Stecher-Rasmussen und B. J. Mijnheer, *Acta Oncol.*, 2009, **34**, 517–523.
- 83 D. Gabel, H. Holstein, B. Larsson, L. Gille, G. Ericson, D. Sacker, P. Som und R. G. Faichild, *Cancer Res.*, 1987, **47**, 5451–5454.
- 84 Z. B. Alfassi und T. U. Probst, *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res., Sect. A*, 1999, **428**, 502–507.
- 85 B. Larsson, D. Gabel und H. G. Borner, *Phys. Med. Biol.*, 1984, **29**, 361–370.
- 86 M. Thellier, E. Hennequin, C. Heurteaux, F. Martini, M. Pettersson, T. Fernandez und J. C. Wissocq, *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res., Sect. B*, 1988, **30**, 567–579.
- 87 V. A. Nievaart, G. G. Daquino und R. L. Moss, *JPCS*, 2007, **74**, 1–12.
- 88 A. Studenov, Y. S. Ding, R. Ferrieri, M. Miura, J. Coderre und J. S. Fowler, Interlaken (CH), 2001.
- 89 G. W. Kabalka, T. L. Nichols, G. T. Smith, L. F. Miller, M. K. Khan und P. M. Busse, *J. Neuro-Oncol.*, 2003, **62**, 187–195.
- 90 G. W. Kabalka, G. T. Smith, J. P. Dyke, W. S. Reid, D. Longford, T. G. Roberts, N. K. Reddy, E. Buonocore und K. F. Hübner, *J. Nuc. Med.*, 1997, **11**, 1762–1767.
- 91 T. Nariai, K. Ishiwata, Y. Kimura, M. Inaji, T. Momose, T. Yamamoto, A. Matsumura, K. Ishii und K. Ohno, *Appl. Radiat. Isot.*, 2009, **67**, 348–350.

- 92 J. Broekaert, C. Lathen, R. Brandt, C. Pilger, D. Pollmann, P. Tschöpel und G. Tölg, *J. Anal. Chem.*, 1994, **349**, 20–25.
- 93 R. Lobinski, W. van Borm, J. Broekaert, P. Tschöpel und G. Tölg, *J. Anal. Chem.*, 1992, **342**, 563–568.
- 94 De Laffolie, M. und K. Slickers, in *Spectro Applikationsbericht 57/3*.
- 95 A. Felske, W.-D. Habenah und K. Laqua, *Spectrochim. Acta, Part B*, 1972, **27**, 1–21.
- 96 V. Kanicky und J.-M. Mermet, *J. Anal. Chem.*, 1996, **355**, 887–888.
- 97 P. Goodall, S. G. Johnson und E. Wood, *Spectrochim. Acta, Part B*, 1995, **50**, 1823–1835.
- 98 P. Barth und V. Krivan, *J. Anal. At. Spectrom.*, 1994, **9**, 773–777.
- 99 P. Tianyou und J. Zucheng, *J. Anal. Chem.*, 1998, **360**, 43–46.
- 100 S. J. Hill, *Inductively Coupled Plasma Spectrometry and its Applications*, Blackwell Publishing, Oxford, 2. Ausgabe, 2007.
- 101 Welz, B. Sperling, M., *Atomabsorptionsspektroskopie*, Wiley- VCH, Weinheim, 4. Ausgabe, 1997.
- 102 J. Broekaert und F. Leis, *J. Anal. Chem.*, 1980, **300**, 22–27.
- 103 R. C. Hutton und B. Preston, *Analys.*, 1983, **108**, 1409–1411.
- 104 T. Nakahara und N. Kikui, *Spectrochim. Acta, Part B*, 1985, **40**, 21–28.
- 105 J.-L. Todoli und J.-M. Mermet, *Liquid Sample Introduction in ICP Spectrometry - A Practical Guid*, Elsevier, Amsterdamm, 2008.
- 106 J. L. Todolí und J. M. Mermet, *Spectrochim. Acta, Part B*, 2006, **61**, 239–283.
- 107 E. Kranz, *Spectrochim. Acta, Part B*, 1972, **27**, 327–343.
- 108 A. Montaser, *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*, VCH, New York, 1998.
- 109 B. L. Sharp, *J. Anal. At. Spectrom.*, 1988, **3**, 613–652.
- 110 E. G. Yanes und N. J. Miller-Ihli, *Spectrochim. Acta, Part B*, 2005, **60**, 555–561.
- 111 N. H. Bings, J. O. Orlandini von Nissen und N. J. Schaper, *Spectrochim. Acta, Part B*, 2014, **100**, 14–37.
- 112 B. A. Meinhard, D. K. Brown und J. E. Meinhard, *Appl. Spectrosc.*, 1992, **46**, 1134–1139.
- 113 J. O. Orlandini von Nissen, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, 2013.
- 114 D. E. Nixon und G. A. Smith, *Anal. Chem.*, 1986, **58**, 2558–2561.
- 115 J. W. Novak, D. E. Lillie, A. W. Boorn und R. F. Browner, *Anal. Chem.*, 1980, **52**, 576–579.
- 116 K. Jankowski, A. Karas, D. Pysz, A. P. Ramsza und W. Sokolowska, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2008, **23**, 1290–1293.
- 117 M. Bauer und J. Broekaert, *Spectrochim. Acta, Part B*, 2007, **62**, 145–154.
- 118 A. M. Ganán-Calvo, *Phys. Rev. Lett.*, 1998, **80**, 285–288.

- 119 J. Rosell-Llompart und A. M. Gañán-Calvo, *Phys. Rev. E: Stat. Phys. Plasmas Fluids Relat. Interdiscip. Top*, 2008, **77**, 36321.
- 120 U. Fittschen, S. Hauschild, M. A. Amberger, G. Lammel, C. Streli, S. Forster, P. Wobrauschek, C. Jokubonis, G. Pepponi, G. Falkenberg und J. Broekaert, *Spectrochim. Acta, Part B*, 2006, **61**, 1098–1104.
- 121 J. O. Orlandini von Nissen, J. N. Schaper, J. H. Peterson und N. H. Bings, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2011, **26**, 1781–1789.
- 122 P. Boumans, *Inductively coupled plasma emission spectrometry*, Wiley- VCH, New York, 1987.
- 123 W. Schrön und U. Müller, *J. Anal. Chem.*, 1997, **357**, 22–26.
- 124 R. Sánchez, J. L. Todolí, C.-P. Lienemann und J.-M. Mermet, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2012, **27**, 937–945.
- 125 E. Paredes, M. Grotti, J. M. Mermet und J. L. Todolí, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2009, **24**, 903.
- 126 N. Kläntschi, P. Lienemann und H. Vonmont, *Elementaranalytik: Instrumenteller Nachweis und Bestimmung von Elementen und deren Verbindungen*, Spektrum Akademischer Verlag, Berlin, Heidelberg, 1996.
- 127 R. F. Browner und A. W. Boorn, *J. Anal. Chem.*, 1984, **56**, 786–798.
- 128 J. W. Olesik, *Anal. Chem.*, 1991, **63**, 12–21.
- 129 R. Vanderpool, D. Hoff und P. Johnson, *Environ. Health Preventative Med.*, 1994, **102**, 13–20.
- 130 M. W. Blades, *Excitation Mechanisms and Discharge characteristics- Recent Development. Inductively Coupled Plasma Emission Spectroscopy*, Wiley & Sons, New York, 1987.
- 131 M. W. Blades, B. L. Caughlin, Z. H. Walker und L. L. Burton, *Prog. Analyt. At. Spectros.*, 1987, **10**, 57–109.
- 132 L. L. Burton und M. W. Blades, *Spectrochim. Acta, Part B*, 1990, **45**, 139–144.
- 133 B. L. Caughlin und M. W. Blades, *Spectrochim. Acta, Part B*, 1985, **40**, 1539–1554.
- 134 A. Montaser und D. W. Golightly, *Inductively Coupled Plasmas in Analytical Atomic Spectrometry*, VCH, New York, 2. Ausgabe, 1992.
- 135 X. Hou und B. T. Jone, *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, John Wiley & Sons, Chichester, 2006.
- 136 S. M. Nelms, *Inductively coupled plasma mass spectrometry handbook*, CRC Press, Oxford, 2005.
- 137 C. B. Boss und K. J. Fredeen, *Concepts, Instrumentation and Techniques in Inductively Coupled Plasma Emission Spectroscopy*, Perkin-Elmer Corporation, USA, 1992.
- 138 J. H. Gross, *Massenspektrometrie: Ein Lehrbuch*, Spektrum Akademischer Verlag, Berlin, Heidelberg, 1. Ausgabe, 2012.

- 139 P. W. Atkins, *Physikalische Chemie*, Wiley-VCH, Weinheim, 3. Ausgabe, 2001.
- 140 P. Boumanns und F. J. de Boer, *Spectrochim. Acta, Part B*, 1975, **32**, 365–395.
- 141 W. Paul und H. Steinfeld, *J. Nat. Res.*, 1953, **8**, 448–450.
- 142 P. Dawson, *Quadrupole Mass Spectrometry and Its Applications*, Elsevier, Amsterdam, 1976.
- 143 S. Higson, *Analytical Chemistry*, Oxford University Press, Oxford, New York, 2003.
- 144 D. Skoog und J. Leary, *Instrumentelle Analytik*, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1996.
- 145 Deutsche Gesellschaft für Massenspektrometrie (DGMS), *Massenspektrometer*, verfügbar unter: <https://dgms.eu/de/ueber-uns-dgms/das-ist-massenspektrometrie/massenspektrometer/>, Stand: 10. 03.2018.
- 146 Heumann, K.G., S. M. Gallus, G. Rädlinger und J. Vogl, *J. Anal. At. Spectrom.*, 1998, **13**, 1001–1008.
- 147 A. J. Walder, D. Koller, N. M. Reed, R. C. Hutton und P. A. Freedman, *J. Anal. At. Spectrom.*, 1993, **8**, 1037–1041.
- 148 N. S. Nonose, M. Matsuda, N. Fudagawa und M. Kubota, *Spectrochim. Acta, Part B*, 1994, **94**, 955–974.
- 149 J. K. Aggarwal und M. R. Palmer, *Analyst*, 1995, **120**, 1301–1307.
- 150 S. H. Tan und G. Horlick, *Appl. Spectrosc.*, 1986, **40**, 445–460.
- 151 N. N. Sesi und G. M. Hieftje, *Spectrochim. Acta, Part B*, 1996, **51**, 1601–1628.
- 152 J. M. Craig und D. Beauchemin, *J. Anal. At. Spectrom.*, 1992, **7**, 937–942.
- 153 S. Jiang, R. S. Houk und M. A. Stevens, *Anal. Chem.*, 1988, **60**, 1217–1221.
- 154 J. T. Rowan und R. S. Houk, *Appl. Spectrosc.*, 1989, **43**, 976–980.
- 155 E. Mc Curdy und G. Woods, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2004, **19**, 607–615.
- 156 G. C. Eiden, C. J. Barinaga und D. W. Koppenaal, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 1997, **11**, 37–42.
- 157 S. Evans und U. Krähenbühl, *J. Anal. At. Spectrom.*, 1994, **9**, 1249–1253.
- 158 D. C. Gregoire, *J. Anal. Chem.*, 1987, **59**, 2479–2484.
- 159 D. Gregoire, *J. Anal. Chem.*, 1997, **59**, 2479–2484.
- 160 R. N. Sah, *Appl. Spectrosc. Rev.*, 1995, **30**, 35–80.
- 161 R. N. Sah und P. H. Brown, *Microchem. J.*, 1997, **56**, 285–304.
- 162 J. Mermet, *Anal. Chim. Acta*, 1991, **250**, 85–94.
- 163 H. Niu und R. S. Houk, *Spectrochim. Acta, Part B*, 1996, **51**, 779–815.
- 164 K. E. Jarvis, P. Mason, T. Platzner und J. G. Williams, *J. Anal. At. Spectrom.*, 1998, **13**, 689–696.
- 165 J. Lam und G. Horlick, *Spectrochim. Acta, Part B*, 1990, **45**, 1327–1338.

- 166 Y. Q. Tang und C. Trassy, *Spectrochim. Acta, Part B*, 1986, **41**, 143–150.
- 167 M. J. Ford, L. Ebdon, R. C. Hutton und S. J. Hill, *Anal. Chim. Acta*, 1994, **285**, 23–31.
- 168 E. H. Evans und J. A. Caruso, *Spectrochim. Acta, Part B*, 1992, **47**, 1001–1012.
- 169 D. A. Skoog, S. R. Crouch und F. J. Holler, *Instrumentelle Analytik*, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, 6. Ausgabe, 2013.
- 170 I. B. Brenner, A. Zander, M. Cole und A. Wiseman, *J. Anal. At. Spectrom.*, 1997, **12**, 897–906.
- 171 J. C. Ivaldi und J. F. Tyson, *Spectrochim. Acta, Part B*, 1995, **50**, 1207–1226.
- 172 D. R. Demers, *Appl. Spectrosc.*, 1979, **33**, 584–591.
- 173 L. M. Faires, T. M. Bieniewski, C. T. Apel und T. M. Niemczyk, *App. Spectrosc.*, 1985, **39**, 5–9.
- 174 D. C. Harris, *Lehrbuch der Quantitativen Analyse*, Springer Verlag, 2014.
- 175 G. R. Harrison, *J. Opt. Soc. Am.*, 1949, **39**, 522–528.
- 176 E. J. Darland, G. E. Leroi und G. E. Enke, *J. Anal. Chem.*, 1980, **52**, 714–723.
- 177 E. J. Darland, G. E. Leroi und G. E. Enke, *J. Anal. Chem.*, 1979, **51**, 240–245.
- 178 J. D. Ingle und S. R. Crouch, *Anal. Chem.*, 1972, **44**, 785–794.
- 179 R. B. Bilhorn, J. V. Schweedler, P. M. Epperson und M. B. Denton, *Appl. Spectrosc.*, 1987, **41**, 1114–1125.
- 180 J. V. Schweedler, R. B. Bilhorn, P. M. Epperson, G. R. Sims und M. B. Denton, *Anal. Chem.*, 1988, **60**, 282–286.
- 181 P. M. Epperson, J. V. Schweedler, R. B. Bilhorn, G. R. Sims und M. B. Denton, *J. Anal. Chem.*, 1988, **60**, 327–337.
- 182 W. B. Barnett, V. A. Fassel und R. N. Kniseley, *Spectrochim. Acta, Part B*, 1968, **23**, 643–664.
- 183 J. W. Owens, E. S. Gladney und D. Knab, *Anal. Chim. Acta*, 1982, **135**, 169–172.
- 184 V. K. Din, *Anal. Chim. Acta*, 1984, **159**, 387–391.
- 185 M. Pougnet und M. J. Orren, *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, 1986, **24**, 267–282.
- 186 M. Pougnett und M. J. Orren, *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, 1986, **24**, 253–265.
- 187 J. M. Mermet, *Spectrochim. Acta, Part B*, 1989, **44**, 1109–1116.
- 188 J. W. Olesik und S.-J. Den, *Spectrochim. Acta, Part B*, 1990, **45**, 731–752.
- 189 H. Kaiser, *Spectrochim. Acta*, 1947, **3**, 40–67.
- 190 L. A. Currie, *J. Anal. Chem.*, 1968, **40**, 586–593.
- 191 A. Al-Ammar, R. Gupta und R. Barnes, *Spectrochim. Acta, Part B*, 1999, **54**, 1077–1084.
- 192 A. S. Al-Ammar, R. K. Gupta und R. M. Barnes, *Spectrochim. Acta, Part B*, 2000, **55**, 629–635.
- 193 R. N. Garavaglia, R. J. Rebagliati, M. J. Roberti und D. A. Batistoni, *Spectrochim. Acta, Part B*, 2002, **57**, 1925–1938.

- 194 Horiba Jobin Yvon, *ISA Jobin Yvon - JY 238 ULTRACE - Sequential ICP-OES Spectrometer (HORIBA Jobin Yvon)*, verfügbar unter:
<http://www.speciation.net/Database/Instruments/ISA-Jobin-Yvon/JY-238-ULTRACE--Sequential-ICPOES-Spectrometer-;i2971>, Stand: 10. 03.2018.
- 195 Horiba Jobin Yvon, *HORIBA Jobin Yvon - ACTIVA; Instrument Database*, verfügbar unter:
<http://www.speciation.net/Database/Instruments/HORIBA-Jobin-Yvon/ACTIVA-;i280>, Stand: 10. 03.2018.
- 196 A. S. Al-Ammar, E. Reitznerová und R. M. Barnes, *Spectrochim. Acta, Part B*, 1999, **54**, 1813–1820.
- 197 Agilent Technologies, *Invreased sensitivity with minimal blockage*, verfügbar unter:
<https://www.agilent.com/cs/library/brochures/OneNeb%20nebulizer%20sales%20flyer.pdf>, Stand: 10.03.2018.
- 198 Burgener Research Inc., *Burgener Nebulizers*, verfügbar unter:
<http://burgenerresearch.com/Prices.html>, Stand: 10. 03.2018.
- 199 A. M. Gressner, T. Arndt und H. Baum, *Klinische Chemie*, Springer, Heidelberg, 2. Ausgabe, 2007.
- 200 R. F. Schmidt, F. Lang und G. Thews, *Physiologie des Menschen. Mit Pathophysiologie ; mit 78 Tabellen*, Springer Lehrbuch, Berlin, 29. Ausgabe, 2005.
- 201 National Institute of Standard and Technology (NIST), *NIST Atomic Spectra Database Lines Data*, verfügbar unter: https://physics.nist.gov/cgi-bin/ASD/lines1.pl?spectra=B&limits_type=0&low_w=208&upp_w=249&unit=1&submit=Retrieve+Data&de=0&format=0&line_out=0&en_unit=0&output=0&bibrefs=1&page_size=15&show_obs_wl=1&show_calc_wl=1&unc_out=1&order_out=0&max_low_enrg=&show_av=2&max_upp_enrg=&tsb_value=0&min_str=&A_out=0&intens_out=on&max_str=&allowed_out=1&forbid_out=1&min_accur=&min_intens=&conf_out=on&term_out=on&enrg_out=on&J_out=on, Stand: 10. 03.2018.
- 202 G. Schaldach, L. Berger, I. Razilov und H. Berndt, *Spectrochim. Acta, Part B*, 2002, **57**, 1505–1520.
- 203 G. Schaldach, I. Razilov und H. Berndt, *Spectrochim. Acta, Part B*, 2003, **58**, 1807–1819.
- 204 M. Resano, M. Aramendía und F. Vanhaecke, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2006, **21**, 1036–1044.
- 205 J. Knoeck und J. K. Taylor, *J. Anal. Chem.*, 1969, **41**, 1730–1734.
- 206 Y. Okamoto, K. Sugawa und T. Kumamaru, *J. Anal. At. Spectrom.*, 1994, **9**, 89–92.
- 207 Horiba Scientific, *Synapse 2048 x 512 Back-Illuminated CCD Detector*, verfügbar unter:
<http://www.horiba.com/fileadmin/uploads/Scientific/Documents/OSD/OSD0069512BIVS.pdf>, Stand: 10. 03.2018.

- 208 J. Morrison, P. White, S. McDougall, J. W. Firth, S. G. Woolfrey, M. A. Graham und D. Greenslade, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2000, **24**, 1–10.
- 209 M. Burguera, J. Burguera, C. Rondón und P. Carrero, *Spectrochim. Acta, Part B*, 2001, **56**, 1845–1857.
- 210 P. Ryyänen, A. Kangasmäk, P. Hiismäk, J. Coderre, A. Z. Diaz, M. Kallio, J. Laakso, M. Kulvik und S. Savolainen, *Phys. Med. Biol.*, 2002, **47**, 737–745.

7 Anhang

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Zeitliche Entwicklung der BNCT	3
Abbildung 2: Neutroneneinfangsreaktion von ^{10}B	9
Abbildung 3: Strukturformeln von Borphenylalanin (links) und Mercaptoundecahydrodecaborat (rechts)	11
Abbildung 4 Aufbau eines konzentrischen Zerstäubers (nach Orlandini von Nissen ¹¹³ , modifiziert)	20
Abbildung 5: Aufbau eines Cross-Flow-Zerstäubers (nach Orlandini von Nissen ¹¹³ , modifiziert) .	21
Abbildung 6: Schematischer Aufbau eines Parallelpfad-Zerstäubers; Modifiziert nach ¹⁰⁵	22
Abbildung 7: Schematischer Aufbau eines Flow-Focusing-/ Flow-Blurring-Zerstäubers; Modifiziert nach ¹¹⁸	24
Abbildung 8: Prozesse in einer Sprühkammer zur Erzeugung geeigneter Aerosole in der Atomspektrometrie; Reproduziert nach ¹⁰⁵	26
Abbildung 9: Sprühkammer für den Einsatz in der ICP-MS/OES, (a) Doppelpass-Sprühkammer nach Scott, (b) Zyklonsprühkammer (modifiziert nach ¹⁰⁶)	29
Abbildung 10: Schematische Darstellung eines induktiv gekoppelten Plasmas ¹²⁵	33
Abbildung 11 Übersicht der im Plasma ablaufenden Prozesse nach Eintrag eines feuchten Aerosols	36
Abbildung 12: Schematischer Aufbau eines Massenspektrometers mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-MS)	37
Abbildung 13: Schematische Darstellung des Interfacebereiches	39
Abbildung 14: Funktionsweise eines Quadrupolmassenfilters in Quer- und Längsschnitt ¹¹³	40
Abbildung 15: Schematische Darstellung der Filtersysteme auf Basis eines Tiefpass- und Hochpass-Massenfilters sowie eines Schmalbandfilters bei Verwendung eines Hochpass- und Tiefpassfilters; Reproduziert nach ¹⁴⁴	41
Abbildung 16: Schematischer Aufbau eines Sektorfeldmassenspektrometers; Modifiziert nach ¹⁴⁵	43
Abbildung 17: Schemazeichnung eines Sekundärelektronenvervielfachers mit diskreten Dynoden für die Messung von Ionenströmen ¹¹³	46
Abbildung 18: Schematischer Aufbau eines Emissionsspektrometers; Reproduziert nach ¹⁶⁹	51

Abbildung 19: Schematischer Aufbau eines Monochromators nach Czerny-Turner ¹⁷⁴	54
Abbildung 20: Schematischer Aufbau eines Charge-Coupled-Device ¹⁷⁴	57
Abbildung 21: Gauß'sche Normalverteilung	65
Abbildung 22: Erzielte Empfindlichkeiten für die Isotope ¹⁰ B und ¹¹ B unter Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "PFA250" bei unterschiedlichen Probenflussraten.	82
Abbildung 23: Erzielte Empfindlichkeiten der beiden Isotope ¹⁰ B und ¹¹ B unter Verwendung des Flow-Blurring-Zerstäubers "OneNeb" bei unterschiedlichen Probenflussraten.....	84
Abbildung 24: Erzielte Empfindlichkeiten der Isotope ¹⁰ B und ¹¹ B unter Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "MiraMist" bei unterschiedlichen Probenflussraten.....	85
Abbildung 25: Auftragung der Empfindlichkeit für das Isotop ¹¹ B gegen die Empfindlichkeit für das Isotop ¹⁰ B am Beispiel des Parallelpfad-Zerstäubers "MiraMist" bei einer Probenflussrate von 0,200 mL/min.	86
Abbildung 26: Erzielte Empfindlichkeiten für die Isotope ¹⁰ B und ¹¹ B unter Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "EnyaMist" bei unterschiedlichen Probenflussraten.	87
Abbildung 27: Erzielte Empfindlichkeiten der Isotope ¹⁰ B und ¹¹ B unter Verwendung des "MicroMist" Zerstäubers bei einer Probenflussrate von 0,200 mL/min.....	89
Abbildung 28: Erzielbare Empfindlichkeiten für die Atomlinie B(I) 249,772 nm unter Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "PFA 250" in Kombination mit der "Tracey TFE"-, Glas- und "PFA Zyklonsprühkammer" bei unterschiedlichen Probenflussraten.	93
Abbildung 29: Erzielbare Empfindlichkeiten der Atomlinie B(I) 208,957 nm unter Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "PFA 250" in Kombination mit der "Tracey TFE"-, Glas- und "PFA Zyklonsprühkammer" bei unterschiedlichen Probenflussraten.	94
Abbildung 30: Plasmarobustheit nach <i>Mermet</i> unter der Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "PFA 250" in Kombination mit der "Tracey TFE"-, Glas- und "PFA Zyklonsprühkammer" bei unterschiedlichen Probenflussraten.	96
Abbildung 31: Erzielbare Empfindlichkeiten der Atomlinie B(I) 249,772 nm ICP-OES unter Verwendung des Flow-Blurring-Zerstäubers "OneNeb" in Kombination mit der "Tracey TFE"-, Glas- und "PFA Zyklonsprühkammer" bei unterschiedlichen Probenflussraten.....	97
Abbildung 32: Plasmarobustheit nach <i>Mermet</i> unter Verwendung des Flow-Blurring-Zerstäubers "OneNeb" in Kombination mit der "Tracey TFE"-, Glas- und "PFA Zyklonsprühkammer" bei unterschiedlichen Probenflussraten.	98
Abbildung 33: Erzielbare Empfindlichkeiten der Atomlinie B(I) 249,773 nm unter Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "MiraMist" in Kombination mit der "Tracey TFE"- und der Glaszyklonsprühkammer bei unterschiedlichen Probenflussraten.	100
Abbildung 34: Plasmarobustheit nach <i>Mermet</i> unter Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "MiraMist" in Kombination mit der "Tracey TFE"- und der Glaszyklonsprühkammer bei unterschiedlichen Probenflussraten.	101

Abbildung 35: Erzielbare Empfindlichkeiten der Atomlinie B(I) 249,773 nm unter Verwendung des Meinhardzerstäubers in Kombination mit der "Tracey TFE"- und der Glaszyklonsprühkammer bei einer Probenflussrate von 1,00 mL/min.	102
Abbildung 36: Plasmarobustheit nach <i>Mermet</i> unter Verwendung des Meinhardzerstäubers in Kombination mit der "Tracey TFE"- und der Glaszyklonsprühkammer bei einer Probenflussrate von 1,0 mL/min.	103
Abbildung 37: Zusammenfassung der erzielbaren Empfindlichkeiten für das Isotop ¹⁰ B unter Verwendung verschiedener Zerstäuber durch Detektion am ICP-MS.	104
Abbildung 38: Zusammenfassung der erzielten Empfindlichkeiten der Atomlinie B(I) 249,773 nm unter Verwendung der verschiedenen Zerstäubern in Kombination mit der "Tracey TFE" Zyklonsprühkammer bei verschiedenen Probenflussraten.	107
Abbildung 39: Fließmuster der Probenschleife beim Befüllen und im Durchfluss der Probenschleife.	111
Abbildung 40: Veresterungsreaktion von D-Mannitol und Borsäure.	112
Abbildung 41: Auswaschverhalten von Bor unter Verwendung des "MicroMist" Zerstäubers und einer Glaszyklonsprühkammer am ICP-MS für Lösungen verschiedener pH-Werte und Additive.	114
Abbildung 42: Auswaschverhalten für Bor unter Verwendung des Meinhardzerstäubers und einer Glaszyklonsprühkammer am ICP-OES für Lösungen verschiedener pH-Werte und Additive.	116
Abbildung 43: Auswaschverhalten von Borsäure unter Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "PFA 250" in Abhängigkeit zu der Sprühkammertemperatur sowie der Probenflussrate.	119
Abbildung 44: Erzielbare Empfindlichkeiten für die Atomlinie B(I) 249,773 nm unter Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "PFA 250" und der Glaszyklonsprühkammer in Abhängigkeit zu der Sprühkammertemperatur sowie der Probenflussrate.	120
Abbildung 45: Plasmarobustheit nach <i>Mermet</i> unter Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "PFA 250" und der Glaszyklonsprühkammer unter Variation der Sprühkammertemperatur sowie der Probenflussrate.	121
Abbildung 46: Wiederfindungsrate für Bor in Blutkomponentenmischungen unterschiedlicher Verdünnungen nach mikrowellenassistiertem Druckaufschluss mittels ICP-OES unter Verwendung des PFA 250 Zerstäubers (0,7 mL/min) in Kombination mit der "Tracey TFE" Zyklonsprühkammer.	126
Abbildung 47: Mittels ICP-OES ermittelte Wiederfindungsrate für Bor in menschlichem Erythrozytenkonzentrat in einer Verdünnung von 1:10 ohne vorangehenden mikrowellenassistierten Druckaufschluss.	127
Abbildung 48: Mittels ICP-OES ermittelte Wiederfindungsraten für Bor in Vollblut (heparinstabilisiert) in verschiedenen Verdünnungen unter Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "PFA 250" (0,7 mL/min) in Kombination mit der "Tracey TFE" Zyklonsprühkammer.	130

Abbildung 49: Mittels ICP-OES ermittelte Wiederfindungsraten für Bor in Vollblut (citratstabilisiert) in verschiedenen Verdünnungen unter Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "PFA 250" (0,7 mL/min) in Kombination mit der "Tracey TFE" Zyklonsprühkammer. 130

Abbildung 50: Mittels ICP-OES ermittelte Wiederfindungsraten für Bor in Vollblut (EDTA-stabilisiert) in verschiedenen Verdünnungen unter Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "PFA 250" (0,7 mL/min) in Kombination mit der "Tracey TFE" Zyklonsprühkammer. 131

Abbildung 51: Apparativer Aufbau für die online-Kalibrierung mittels Standardaddition 134

Abbildung 52: Mittels ICP-OES ermittelte Wiederfindungsraten von Bor in Form von BPA bzw. BSH im wässrigen Medium durch Online-Standardaddition ohne vorherigen mikrowellenassistierten Druckaufschluss; Kalibriert jeweils mit H₃BO₃, BPA bzw. BSH. 136

Abbildung 53: Mittels ICP-OES ermittelte Wiederfindungsraten von Bor (H₃BO₃, BPA bzw. BSH) in einer Lösung, die dieselbe Elektrolytkonzentration wie menschliches Blutserum aufweist, durch Online-Standardaddition mit H₃BO₃ ohne vorherigen mikrowellenassistierten Druckaufschluss. 137

Abbildung 54: Mittel ICP-OES ermittelte Wiederfindungsraten von Bor in Form von BPA bzw. BSH in Vollblut durch Online-Standardaddition mit H₃BO₃ unter Verwendung des "MiraMist"-, "PFA 250"- bzw. Meinhardzerstäubers in Kombination mit der "Tracey TFE" Zyklonsprühkammer. 140

Abbildung 55: Apparativer Aufbau für die externe Online-Kalibrierung 143

Abbildung 56: Mittels ICP-OES ermittelte Wiederfindungsrate für Bor in Form von BPA bzw. BSH durch Verwendung des Parallelpfad-Zerstäubers "PFA 250" (0,7 mL/min) in Kombination mit der "Tracey TFE" Zyklonsprühkammer durch externe Online-Kalibrierung mit H₃BO₃. 144

Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Bedeutung
AAS	Atomabsorptionsspektrometrie
BNCT	BoronNeutronCapture Therapy (dt.: Bor-Neutronen-Einfangtherapie)
BPA	L-4-Dihydroxyboryl-phenylalanin
BSH	Mercaptoundecahydrododecaborat
bzw.	Beziehungsweise
ca.	circa
CCD	Charge-Coupled-Device
CDP-stabilisiert	Citrate-Phosphate-Derivativ- stabilisiert
CE	Kapillarelektrophorese
DCP	Gleichstrom-Plasma
d.h.	das heißt
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DOD-Aerosolgenerator	Drop-on-Demand Aerosolgenerator
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
ESA	Elektrostatischer Analysator
ETV	Electrothermal Vaporisation (dt.: Elektrothermische Verdampfung)
EU	Europäische Union
FIA	Fließinjektion
GBM	Glioblastoma multiforme
GFAAS	Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry (dt.: Grafitrohr-Atomabsorptionsspektrometrie)
HNO-Bereich	Hals-Nasen-Ohren Bereich
ICP	Induktiv gekoppeltes Plasma
ICP-MS	Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma
ICP-OES	Emissionsspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma
konz.	konzentriert
LET	Linearer Energietransfer
LTG	Lokales thermisches Gleichgewicht
MCP	Multi-Channel-Plates (dt.: Multikanalplatten)
MIP	Mikrowelleninduziertes Plasma
NCR	Neutron Capture Radiography (dt.: Neutroneneinfang Radiographie)
NCT	Neutron Capture Therapy (dt.: Neutronen-Einfangtherapie)
NWG	Nachweisgrenze
PAGGS-M	Phosphate-adenine-glucose-guanosin-saline-mannitol
PET	Positronenemissionstomographie
PFA	Polyfluoralkoxyalkan
POM	Polyoxmethylen
PTFE	Polytetrafluorethen

Abkürzung	Bedeutung
QNCR	Qualitative Neutron Capture Radiography (dt.: Quantitative Neutroneneinfang Radiographie)
RBE	Relative Biological Effectiveness (dt.: Relative biologische Wirksamkeit)
RSD	Relative Standard Deviation (dt.: Relative Standardabweichung)
SEV	Sekundärelektronenvervielfacher
SF	Sektorfeld
SPECT	Single Photon Emission Computed Tomography (dt.: Einzelphotonenemissionscomputertomographie)
SSNTD	solid-state nuclear track detector (dt.: Festkörper-Kernspurendetektor)
th	Thermisch
TOF-Analysator	Time-of-Flight-Analysator (dt.: Flugzeitmassenanalysator)
TRIGA	Training Research Isotopes General Atomic
vgl.	vergleiche
WHO	World-Health-Organization (dt.: Weltgesundheitsorganisation)

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Auswahl aktueller klinischer Studien im Bereich der BNCT (N = Anzahl der Patienten). 4	4
Tabelle 2: Anforderungen an Zerstäuber und Zerstäuberkammer zum Probeneintrag in der Atomspektrometrie ^{105,106}	18
Tabelle 3: Optimale Betriebsparameter des HP 4500 ICP-QMS	71
Tabelle 4: Vergleich der beiden verwendeten ICP-OES Spektrometer	72
Tabelle 5: Optimale Betriebsparameter der beiden verwendeten Emissionsspektrometer JY 238 Ultrace und Activa der Firma Horiba Jobin Yvon	73
Tabelle 6: Verwendete Zerstäuber in Verbindung mit der ICP-MS und ICP-OES.....	74
Tabelle 7: Verwendete Sprühkammern in Verbindung mit der ICP-MS und ICP-OES	75
Tabelle 8: Verwendetes Instrumentarium für die Probenvorbereitung sowie für die Probenzuführung	76
Tabelle 9: Verwendete Standardlösungen, Chemikalien und Gase	77
Tabelle 10: Zusammensetzung angesetzter Proben mit synthetischer Blutmatrix zur Bestimmung der Robustheit des analytischen Plasmas nach Mermet ²⁰⁰	91
Tabelle 11: Aufschlussreihe für die mikrowellenassistierten Druckaufschlüsse für eine Verdünnung auf 100 mL.....	125
Tabelle 12: Mittels ICP-OEs ermittelte Wiederfindungsrate für Bor mittels Online-Standardaddition des Referenzmaterials Seronorm™ ("Trace Elements Whole Blood L-2"; Lot: 1103129)	141
Tabelle 13: Mittels ICP-OES ermittelte Wiederfindungsrate für Bor mittels externer Online-Kalibrierung des Referenzmaterial Seronorm™ ("Trace Elements Whole Blood L-2"; Lot: 1103129)	145

Danksagung

Gelöscht / Anonymisiert

Lebenslauf

Dorothee Silvana Iffland

Persönliche Angaben

Geburtsdatum: Anonymisiert

Geburtsort: Bad Dürkheim (Pfalz), Deutschland

Studium und Schule

12/2011-2016 Studien zur Promotion in Analytischer Chemie an der Johannes-Gutenberg Universität Mainz

04/2005-08/2011 Chemiestudium (Diplom) an der Johannes-Gutenberg Universität Mainz

08/2002-03/2005 Abitur am Albert-Einstein-Gymnasium Frankenthal (Pfalz)

07/1996-07/2002 Realschulabschluss an der Schiller-Realschule Frankenthal (Pfalz)

Beruflicher Werdegang

Gelöscht / Anonymisiert

Liste der Veröffentlichungen

K. Kettenbach, H. Schieferstein, C. Grunewald, D. Iffland, L.M. Reffert, G. Hampel, C.L. Schütz, N.H. Bings, T.L. Ross; Synthesis and evaluation of boron folates for Boron-Neutron-Capture-Therapy (BNCT); *Radiochimica Acta* 103 (2015) 700-809 (DOI: 10.1515/ract-2014-2360).

T. Peters, C. Grunewald, M. Blaikner, M. Ziegner, C. Schütz, D.S. Iffland, G. Hampel, T. Nawroth, P. Langguth; *Cellular uptake and in vitro antitumor efficacy of composite liposomes for neutron capture therapy*; *Radiation Oncology* (2015) (DOI: 10.1186/s13014-015-0342-7).

V.M. Ahrens; R. Frank, S. Boehnke; C.L. Schütz; G. Hampel; D.S. Iffland; N.H. Bings; E. Hey-Hawkins; A.G. Beck-Sickinger; *Receptor-Mediated Uptake of Boron-Rich Neuropeptide Y Analogues for Boron Neutron Capture Therapy*; *ChemMedChem* 10 (2015) 164–172.

C. L. Schuetz; C. Brochhausen; G. Hampel; D.S. Iffland; B. Kuczewski; G. Otto; T. Schmitz; C. Stieghorst; J.V. Kratz; *Intercomparison of inductively coupled plasma mass spectrometry, quantitative neutron capture radiography, and prompt gamma activation analysis for the determination of boron in biological samples*. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2012, 404, 1887-1895.