

Anwendung des Antikoinzidenzprinzips auf die Radiokohlenstoffbestimmung in der Biochemie.

Von

G. Rohringer, L. Sverak, E. Broda und K. Liebscher.

Aus dem II. Physikalischen Institut und dem I. Chemischen Laboratorium
der Universität Wien.

Mit 2 Abbildungen.

(Eingelangt am 22. November 1954.)

Die Empfindlichkeit der Messung von langlebigem Radiokohlenstoff mit einem Gas-Geiger-Zählrohr wird um einen Faktor 10 erhöht, indem die durch die kosmische Strahlung verursachte Leerwertkomponente durch eine Antikoinzidenzschaltung weitgehend unterdrückt wird. Die Löschung der Entladung im Zählrohr erfolgt statt durch einen *Neher-Pickering*-Kreis durch einen neu entwickelten Kreis. Der neue Kreis ermöglicht auch die Füllung des Zählrohres unter erhöhtem Druck und führt damit zu einer weiteren Steigerung der Empfindlichkeit.

Einleitung.

Die Erfassungsgrenze für Radioelemente wird letzten Endes durch den Leerwert des Meßgerätes bestimmt, das heißt durch die Anzeige des Gerätes in Abwesenheit einer Meßprobe. Daher ist bei Messungen, wo große Empfindlichkeit erforderlich ist, Kleinheit des Leerwertes Voraussetzung. In der Praxis kann man z. B. mit einem *Geiger*-Zählrohr kaum Aktivitäten erfassen, die wesentlich weniger als etwa einem Zehntel oder Zwanzigstel des Leerwertes entsprechen, selbst wenn man lange Meßdauern in Kauf nimmt. Einen ziemlich extremen Fall stellt z. B. die Messung einer Aktivität von $2,50 \pm 0,14$ neben einem Leerwert von 45 pro Minute dar; für diese Bestimmung mußten Probe und Leerwert eine Woche lang abwechselnd gemessen werden¹.

¹ E. Broda und G. Rohringer, Naturwiss. 40, 337 (1953).

Der Leerwert eines *Geiger-Zählrohres* ist bestimmt: erstens durch die radioaktive Verunreinigung der Werkstoffe, zweitens durch den Gehalt der Umgebung an Radioelementen und drittens durch die kosmische Strahlung. Während für die Kleinhaltung der ersten Komponente sorgfältige Auswahl der Werkstoffe ausschlaggebend ist, kann die zweite Komponente durch Panzerung fast vollständig unterdrückt werden. Dagegen kann man sich von der Wirkung der kosmischen Strahlung durch Panzerung nur zum Teil befreien, weil die harte Komponente der kosmischen Strahlung praktisch nicht absorbiert werden kann. So hat *Libby* bei seinen Untersuchungen über natürlichen Radiokohlenstoff² trotz Verwendung von 12 Tonnen Eisen zur Panzerung den Leerwert seiner Zählrohre nur auf ein Fünftel herabsetzen können. Eisen ist Blei (bei gleichem Flächengewicht) zur Panzerung vorzuziehen, weil das Blei stets durch gammastrahlendes Radioblei verunreinigt ist. Noch besser als Eisen, aber natürlich viel teurer, ist Quecksilber³.

Zur gründlichen Unterdrückung der „kosmischen“ Komponente des Leerwertes eines Zählrohres bedient man sich in der Kernphysik und bei der radioaktiven Altersbestimmung nach der Kohlenstoffmethode des Antikoinzidenzprinzips⁴. Die Anwendung dieses Prinzips auf die Messung schwacher Aktivitäten beruht darauf, daß die kosmische Strahlung an der Erdoberfläche in Form ausgedehnter Schauer auftritt. Wenn man daher das Meßzählrohr mit einer Anzahl von „Schirmzählrohren“ umgibt, so wird in den allermeisten Fällen, in denen das Meßzählrohr durch Höhenstrahlen betätigt wird, und fast nur in diesen Fällen, gleichzeitig auch mindestens eines der Schirmzählrohre betätigt werden. Durch eine geeignete elektrische Schaltung, eben die Antikoinzidenzschaltung, kann man nun alle jene im Meßzählrohr auftretenden Stöße automatisch ausscheiden, die von einem gleichzeitigen Stoß in mindestens einem der Schirmzählrohre begleitet sind. Dabei kann man die Zahl der Koinzidenzen zwischen Stößen im Meßzählrohr und in einem der Schirmzählrohre, die zufällig sind, also nicht durch einen Schauer erregt werden, niedrig halten, indem man durch die Schaltung das Zeitintervall, innerhalb dessen die beiden Stöße einander folgen müssen, um als gleichzeitig zu gelten, so kurz als möglich hält. So hat beispielsweise *Libby* den ursprünglichen Leerwert seines Zählrohres auf ein Prozent vermindert, indem er zusätzlich zu der schweren Eisenpanzerung einen Kranz von Schirmzählrohren mit Antikoinzidenzschaltung verwendete.

Über eine Verwendung des Antikoinzidenzprinzips für biochemische Zwecke ist bisher nicht berichtet worden, obwohl hier oft geringe Mengen an Radioelementen, besonders Radiokohlenstoff, erfaßt werden

² *W. F. Libby*, Radiocarbon Dating. Chicago. 1952.

³ *J. L. Kulp* und *L. E. Tryon*, Rev. Sci. Instruments **23**, 296 (1952).

⁴ *A. Berthelot*, C. r. acad. sci., Paris **212**, 1087 (1941).

müssen. Dies ist besonders dann der Fall, wenn die Aktivitäten von Zellen, Zellenverbänden oder Organen geringer Masse oder einzelner chemischer Fraktionen aus solchen Systemen zu bestimmen sind^{5, 6}.

Für die empfindliche Bestimmung des Radiokohlenstoffs in der Biochemie kommt das von *Libby* entwickelte Zählrohr kaum in Frage, da mit diesem Zählrohr jede Bestimmung viele Gramm Kohlenstoff erfordert und dieser überdies in das Element übergeführt werden muß⁷. Wohl aber kann der Radiokohlenstoff in Form von zusatzfreiem Kohlendioxyd unter einem Druck von 10 bis 40 cm Hg in das Innere eines „Gas-Geiger-Zählrohres“ eingefüllt werden⁸. Diese Zählrohre werden mit einem äußeren Löschkreis, und zwar bisher mit einem *Neher-Pickering*-Kreis, betrieben, da sie nicht selbst löschen. Der Leerwert solcher Zählrohre, die ein Volumen von 25 bis 40 cm³ aufweisen, beträgt unter 2 cm Blei etwa 45 bis 65 min⁻¹.

Experimentelle Anordnung.

Zur drastischen Verringerung des Leerwertes bei biochemischen Arbeiten durch wirksame Panzerung und Antikoinzidenz haben wir nun einen Bleipanzer gebaut, der aus zwei Hohlzylindern von 25 cm Länge besteht, die koaxial ineinander geschoben werden (Abb. 1). Die Wanddicke jedes dieser Hohlzylinder beträgt je 2,5 cm. Der innere Zylinder läßt sich der Länge nach symmetrisch aufklappen, so daß das Gaszählrohr eingelegt werden kann; er ist innen so ausgeschnitzt, daß sich das Zählrohr samt den Glaszuführungen gut einschmiegt. Die Enden des Zählrohres können durch Bleistöpsel abgeschirmt werden, die in den inneren Bleizylinder eingepaßt sind und Bohrungen für die elektrischen Leitungen enthalten.

Für die Arbeit mit Antikoinzidenz wurden Zählrohre mit Kupfer statt Messingmänteln angefertigt, da Kupfer weniger radioaktive Verunreinigungen als Zink enthalten dürfte. Die Glasteile wurden aus kaliumarmem Thermometerglas hergestellt und gedungen gebaut, um im Panzer wenig Raum einzunehmen.

Entlang der äußeren Wand des Panzers wurden parallel sieben Schirmzählrohre angeordnet. Die Zählrohre sind „G-60“-Zählrohre der Twentieth Century Electronics Co., England, von 66 cm Kathodenlänge und 3,6 cm

⁵ Siehe *E. Broda* und *L. Sverak*, *Nature* **173**, 676 (1954).

⁶ *W. Zischka*, *K. Karrer*, *O. Hromatka* und *E. Broda*, *Mh. Chem.* **85**, 856 (1954).

⁷ Für eine Diskussion der Meßverfahren für Radiokohlenstoff siehe *M. Reinharz*, *G. Rohringer* und *E. Broda*, *Acta Physica Austriaca* **8**, 285 (1954).

⁸ *G. Rohringer* und *E. Broda*, *Z. Naturforsch.* **8 b**, 159 (1953); *Z. Elektrochem.* **58**, 634 (1954).

Durchmesser. Ihre Arbeitspunkte liegen übereinstimmend bei 1240 Volt und ihre Leerwerte ohne Abschirmung betragen je 720 min⁻¹.

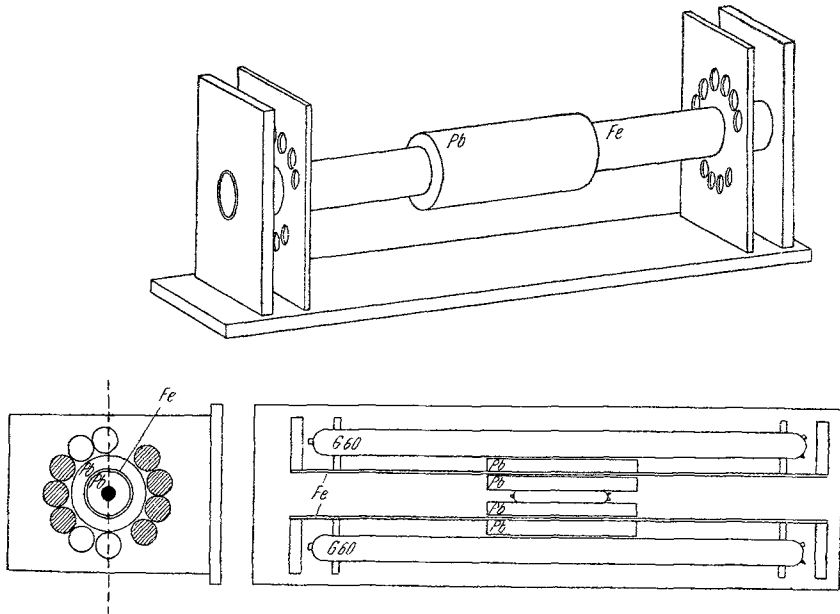


Abb. 1. Anordnung von Panzer und Zählrohren.

Die Beschränkung auf 5 cm Panzerdicke (und damit auf ein Bleigewicht von 35 kg) sowie auf sieben Schirmzählrohre, die nur etwa die

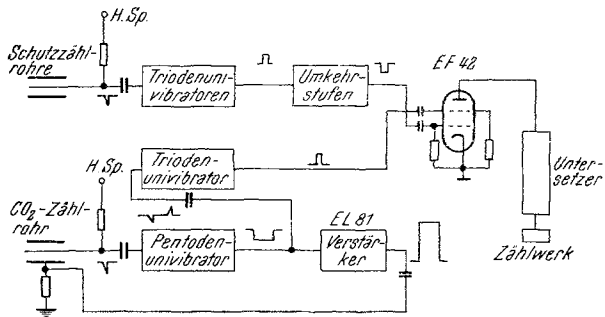


Abb. 2. Schema der Antikoinzidenzschaltung.

Hälfte der äußeren Zylinderfläche des Panzers bedecken, ist wirtschaftlich bedingt. Mit einer größeren Masse an Blei und einer größeren Zahl von Schirmzählrohren könnte die Wirkung der Anordnung vermutlich wesentlich verbessert werden. Dagegen ergab ein besonderer Versuch, daß die

Ersetzung des inneren Bleihohlzylinders durch einen eisengefaßten Quecksilberhohlzylinder, der allerdings nur 2 cm Dicke aufwies, keinen Vorteil ergab.

Der Antikoinzidenzkreis (Abb. 2) arbeitet in folgender Weise: Die gelöschten Impulse des Meßzählrohrs werden in positive Rechteckimpulse verwandelt und dem Schirmgitter der Pentode EF 42 zugeführt, das mit Gittervorspannung null arbeitet. Die Stöße von den Schirmzählrohren werden auch rechteckig gemacht, umgekehrt und dem Steuergitter (Gittervorspannung null) derselben Pentode zugeführt. Diese bleibt gesperrt, wenn Steuer- und Schirmgitterimpuls gleichzeitig auftreten. Der Kreis der EF 42 ist ein für Zwecke der Antikoinzidenz modifizierter Koinzidenzkreis nach *Bothe*. Die Impulse werden schließlich mit dekadischem Unterersetzer und elektromagnetischem Zählwerk registriert.

Zur Umwandlung in Rechteckimpulse werden die Impulse aus dem Meßzählrohr in einen Pentoden-Univibrator, dessen Impulsbreite richtig eingestellt werden kann, und anschließend zum ersten Gitter der Pentode EL 81 geführt. Die Einstellung der Impulsbreite erfolgt so, daß einerseits die Entladung im Zählrohr sicher gelöscht wird, aber andererseits keine übermäßigen Verluste an „echten“ Impulsen durch zufällige Koinzidenzen eintreten. Die Impulsbreite beträgt größenordnungsmäßig eine Millisekunde. Die positiven Rechteckimpulse von nahezu 400 Volt, die an der Anode der Pentode erscheinen, werden durch einen Kondensator von $\frac{1}{2}$ Mikrofarad der Kathode des Zählrohres zugeleitet und löschen die Entladung. Gleichzeitig werden die Impulse aus dem Univibrator differenziert. Die erste, negative Spitze des Impulses wird zu einem Trioden-Univibrator geführt, wo sie in einen Rechteckimpuls von 90 Volt und 80 Mikrosek. verwandelt wird. Dieser eignet sich für die Steuerung der EF-42-Röhre.

Die Impulse von den Schirmzählrohren werden gesonderten Trioden-Univibratoren zugeführt. Die Rechteckimpulse (90 Volt, 100 Mikrosek.) aus diesen Univibratoren werden in vier Doppeltrioden ECC 40 umgekehrt und an das Steuergitter der Pentode EF 42 (Antikoinzidenzstufe) gekoppelt. Die gesonderte Behandlung der Impulse aus den einzelnen Schirmzählrohren sichert reinliche elektrische Scheidung der Sperrsignale.

Man bemerkt, daß der Löschkreis kein *Neher-Pickering*-Kreis ist. Der hier verwendete Kreis weist den allgemeinen Vorteil auf, daß die Totzeit des Zählrohres in einfacher Weise innerhalb weiter Grenzen variiert werden kann, so daß sich eine für die Erzielung eines guten Konstanzbereiches günstige Einstellung wählen läßt, ohne daß die Verluste durch zufällige Koinzidenz allzu hoch werden. Auch kann die Höhe der Löschimpulse durch Wahl der Anodenspannung der Pentode EL 81 beliebig eingestellt werden; auch dies ist der Erzielung eines guten Konstanz-

bereiches förderlich. Im Hinblick auf die Verwendung im Rahmen einer Antikoinzidenzanlage ist es von Vorteil, daß die Kapazität des Zählrohrfadens samt Zuleitung zum Löschkreis wesentlich höher als beim *Neher-Pickering*-Kreis gewählt werden darf, so daß die Länge der abgeschirmten Zuleitung zum Panzer tragbar ist.

Überdies wird der Hochspannungsquelle kein Strom entnommen, so daß eine Quelle von hohem innerem Widerstand verwendet werden kann. Aus demselben Grund liefert die bestehende Quelle (mit niederem innerem Widerstand) höhere Spannung als bei Verwendung des *Neher-Pickering*-Kreises, so daß das Zählrohr bis auf höheren Druck gefüllt werden kann. Im vorliegenden Falle können Drucke von 65 statt 40 cm Hg verwendet werden. Dadurch steigt die Empfindlichkeit der Messung im gleichen Verhältnis an.

Ergebnisse.

In Vorversuchen wurde die beste Anordnung der Schirmzählrohre gesucht. Es erwies sich als vorteilhafter, Schirmzählrohre oberhalb und unterhalb als seitlich des Meßzählrohres anzuordnen. Auch ist es — jedenfalls bis zu einer bestimmten Panzerdicke — besser, das Blei innen und die Schirmzählrohre außen zu haben als umgekehrt. Durch Versuche mit Blei verschiedener Dicke ergibt sich, daß die absolute Verminderung des Leerwertes durch die Antikoinzidenzschaltung vom Ausgangswert des Leerwertes — der natürlich durch die Dicke des Panzers mitbedingt ist — nur wenig abhängt. Daher wird die relative Verminderung des Leerwertes durch die Antikoinzidenz um so größer, je geringer der Ausgangswert, je besser also die Panzerung ist. Die Erklärung liegt offenbar darin, daß der Antikoinzidenzkreis hauptsächlich gegen die Schauer wirkt, die durch die harte Komponente der kosmischen Strahlung hervorgerufen werden, daß aber die Intensität der harten Komponente selbst durch Panzerung nicht beeinflußt wird. Die schließlich gewählte Anordnung ist in Abb. 1 wiedergegeben.

Mit einem kupfernen Gaszählrohr von 9,5 cm Kathodenlänge und 1,5 cm Durchmesser wurde ohne Panzerung oder Antikoinzidenz ein Leerwert von 50 min^{-1} gemessen. Unter 2,5 cm Blei betrug der Leerwert noch ca. 25, unter 5 cm Blei 16, und unter 5 cm Blei mit Einschaltung der Antikoinzidenz nur mehr $4,8 \text{ min}^{-1}$. Damit ist ein Faktor 10 in der Empfindlichkeit der Messungen gewonnen.

Wenn eine hinreichende Menge aktiver Substanz vorliegt, so daß der Druck in dem Maße gesteigert werden kann, wie es die neue Löschschaltung zuläßt, so ist die gesamte Empfindlichkeitssteigerung noch wesentlich größer. Eine hinreichende Menge aktiver Substanz liegt z. B. in den Versuchen über den Stoffwechsel des Buttergelbs vor⁶.

Wir danken Herrn Prof. *E. Schmid* und Herrn Prof. *L. Ebert* für ihr Interesse an unseren Arbeiten und Herrn Dr. *F. Hawliczek* (Institut für Radiumforschung der Österreichischen Akademie der Wissenschaften) und Herrn Dr. *A. Šimek* für mannigfache Hilfe mit Rat und Tat. Herrn Prof. *E. Pancini* sind wir für einen Hinweis betreffend den Löschkreis verbunden. *G. Rohringer* und *E. Broda* danken dem *Damon-Runyon-Fonds für Krebsforschung* für finanzielle Förderung dieser Arbeit, *L. Sverak* der Österreichische Stickstoffwerke A. G., Linz, für ständige wertvolle Unterstützung.