

Die Anregung der Fluoreszenz wässriger Farbstofflösungen durch Röntgen-Strahlen und ihre Abhängigkeit von der LET *

K. SOMMERMEYER und W. PRÜTZ

Radiologisches Institut der Universität Freiburg i. Br.

(Z. Naturforsch. 21 a, 1081—1084 [1966]; eingegangen am 7. März 1966)

Professor Dr. W. GENTNER zum 60. Geburtstag gewidmet

Die durch RÖNTGEN-Strahlen erregte Fluoreszenz wässriger Farbstofflösungen zeigt bei Zusatz von löschenden, selbst nicht fluoreszierenden Substanzen ein gänzlich anderes Verhalten als ihre durch UV erregte Fluoreszenz. Es ist wahrscheinlich, daß ein wesentlicher Teil der Fluoreszenz durch Vereinigung von hydratisierten Elektronen und positiven Farbstoffionen zustande kommt.

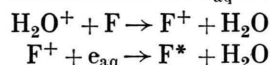
Die durch RÖNTGEN-Strahlen erregte Fluoreszenz („RÖNTGEN-Fluoreszenz“) von hochverdünnten wässrigen Farbstofflösungen zeigt bei Zusatz von löschenden selbst nicht fluoreszierenden Substanzen ein gänzlich anderes Verhalten als ihre durch UV-Strahlen erregte Fluoreszenz („UV-Fluoreszenz“). Unsere Untersuchungen hierüber, über die vor einiger Zeit berichtet wurde¹, haben wir fortgesetzt. Insbesondere haben wir die LET der RÖNTGEN-Strahlung variiert. Es wurden RÖNTGEN-Strahlen zwischen 8,5 und 24 keV_{eff} angewandt, d. h. die mittlere LET variierte dabei von 6 keV μ^{-1} bis 2 keV μ^{-1} . Inzwischen hat außerdem die Strahlenchemie wässriger Lösungen beträchtliche Fortschritte gemacht². Es ist daher heute möglich, genauere Angaben über die Elementarprozesse bei der Anregung der RÖNTGEN-Fluoreszenz zu machen, oder wenigstens die in Frage kommenden Prozesse zu diskutieren.

Ausführliche Messungen haben wir vor allem mit Trypaflavin ausgeführt, jedoch auch Rhodamin B, Fluorescein und β -Naphthylamin in die Untersuchungen einbezogen. Zur Bestrahlung gelangten die Farbstofflösungen mit Schichtdicken von 2 mm in einer Spectrosilküvette, das Fluoreszenzlicht wurde durch einen geeigneten Lichtleiter dem Multiplier zugeführt. Die Farbstoffkonzentrationen variierten zwischen 10^{-5} -m. und $3 \cdot 10^{-3}$ -m., die meisten Messungen wurden mit einer Farbstoffkonzentration $[F] = 10^{-4}$ -m. und luftgesättigten Lösungen ausgeführt. Die Ermittlung der Dosen geschah mit Hilfe von an die Stelle der Farbstofflösungen tretenden FRICKE-Lösungen (Fe^{2+} -Dosimetrie).

Die Fluoreszenzausbeute ist sehr klein: bei $[F]$

$= 10^{-4}$ -m. und 8,5 keV_{eff} etwa von der Größenordnung 1 Lichtquant pro 300 in der Lösung erzeugter Photoelektronen. Filteranalysen des Fluoreszenzlichtes ergaben bisher keinen Hinweis auf Unterschiede der spektralen Zusammensetzung zwischen RÖNTGEN-Fluoreszenz und UV-Fluoreszenz. Bemerkenswert ist vor allem, daß durch Anwendung von sehr wirksamen Fängern für das hydratisierte Elektron ** als Löschsubstanz auch die Fluoreszenz sehr wirksam gelöscht wird, und daß allgemein ein Anstieg der Fluoreszenzausbeute mit steigender LET nachgewiesen werden kann (Ausnahme Fluorescein).

Nach unseren Untersuchungen kann angenommen werden, daß bei Lösungen mit $[F] \approx 10^{-4}$ -m. der größere Anteil der Fluoreszenz nämlich die „leicht löschrare“ Fluoreszenz unter Mitwirkung des hydratisierten Elektrons e_{aq} entsteht und andererseits durch das Radikal OH beeinträchtigt wird. Wir halten bei dem heutigen Stand als Deutung für die „leicht löschrare“ Fluoreszenz am wahrscheinlichsten, daß F durch ein auf der Spur des Photoelektrons in seiner unmittelbaren Nähe entstehendes H_2O^+ ³ ionisiert wird und anschließend ein e_{aq} einfängt nach



OH löscht die „leicht löschrare“ Fluoreszenz durch Reaktion mit F^+ , e_{aq} und auch F^* .

Durch die Löschsubstanzen wird im allgemeinen der „schwer“ oder „nicht löschrare“ Fluoreszenzanteil in dem selben Ausmaß gelöscht wie die UV-Fluoreszenz. Er wird entweder direkt durch Elektronenstoß angeregt oder rührt von einem F^* her, das durch Initialrekombination eines F^+ mit dem

* LET = Linear Energy Transfer.

** Dieses wird mit $g=2,8$ Mol/100 eV gebildet, so daß bei 8,5 keV RÖNTGEN-Strahlen auf der Spur des Photoelektrons etwa 170 e_{aq}/μ und bei 24 keV rund 56 e_{aq}/μ entstehen.

¹ K. SOMMERMEYER, W. PRÜTZ u. V. BIRKWARD, Atomkernenergie 11, 445 [1961]. — K. SOMMERMEYER, V. BIRKWARD u. W. PRÜTZ, Strahlentherapie 116, 354 [1961].

² Rad. Res. Suppl. 4 [1964].

³ H_2O^+ ist instabil und zerfällt nach kurzer Zeit in $\text{H}^+ + \text{OH}$.



von ihm selbst oder vom H_2O^+ stammenden Elektron entsteht. Der „schwer löschrbare“ Anteil ist schwer löschrbar, weil seine Anregung praktisch unmittelbar durch die von den RÖNTGEN-Strahlen erzeugten Photoelektronen oder δ -Teilchen ohne Mitwirkung über eine große Entfernung herandiffundierender Radikale erfolgt.

Abb. 1 zeigt die Löschrkurve von Trypaflavin mit H_2O_2 als Löschrsubstanz für 8,5 keV und 24 keV RÖNTGEN-Strahlung. Durch H_2O_2 sind, wie aus der Abb. 1 herausgeht, nur 80% bzw. 70% der Fluores-

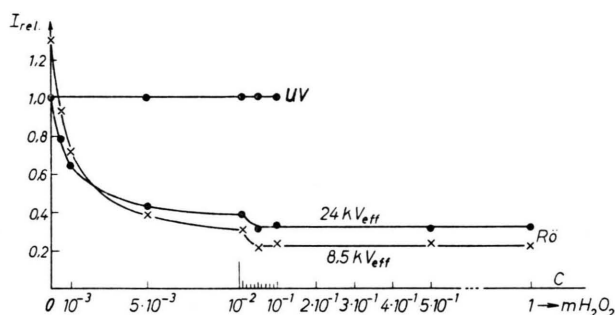


Abb. 1. Trypaflavin 10^{-4} -m. + H_2O_2 . Ordinate: Fluoreszenz / Dosisleistung bezogen auf I/D für 24 keV und $c=0$.

zenz löschrbar, der Rest ist ebenso wenig durch H_2O_2 löschrbar wie die durch UV angeregte Fluoreszenz. Die Halbwertslöschrkonzentration für die löschrbare Fluoreszenz ist $c_{1/2} = 1 \cdot 10^{-3}$ -m. Genau das gleiche Bild ergibt sich mit UO_2^{2+} als Löschrsubstanz, nur ist hier $c_{1/2}$ noch kleiner, nämlich $2 \cdot 10^{-4}$ -m. Beide Substanzen sind wirksame Elektronenfänger mit den Geschwindigkeitskonstanten der Einfangreaktion von $1,4 \cdot 10^{10}$ und $7,3 \cdot 10^{10} \text{ m}^{-1} \text{ sec}^{-1}$. Man stellt fest, daß die Halbwertskonzentrationen $c_{1/2}$ sich genau umgekehrt verhalten wie die Reaktionskonstanten. Aus der daraus folgenden Erkenntnis, daß e_{aq} Reaktionspartner des Anregungsvorganges ist, erfolgt sofort eine Abschätzung der mittleren Dauer des Anregungsvorganges zu

$$\tau \approx \frac{1}{1,4 \cdot 10^{10} \cdot 10^{-3}} = 0,7 \cdot 10^{-7} \text{ sec.}$$

Sie ist wesentlich länger als die Lebensdauer von F^* ($2 \cdot 10^{-9} \text{ sec}$).

Ein sehr wirksamer Elektronenfänger ist auch O_2 ($k = 2 \cdot 10^{10} \text{ m}^{-1} \text{ sec}^{-1}$). Die Messung der Fluoreszenz in O_2 -freien Lösungen ist technisch sehr schwierig und wurde von uns nur mit Trypaflavin bei 10^{-4} -m. und 8,5 KeV_{eff} ausgeführt. Etwa entspre-

chend der Erwartung ergab sich durch völligen Entzug des O_2 eine Erhöhung der Fluoreszenzausbeute um 80%.

Den durch H_2O_2 „nicht löschrbaren Teil“ der Fluoreszenz schein wir nach unseren einführenden Darlegungen den direkt entstehenden F^* zu. Es ist bemerkenswert, daß die Ausbeute an „nicht löschrbarer“ Fluoreszenz in Abb. 1 von der LET abhängt, und zwar bei 24 KeV um 40% höher ist als bei 8,5 keV. Wir erklären diese Abnahme der Ausbeute an „nicht löschrbarer“ Fluoreszenz mit wachsender LET durch Löschrung von F^* durch OH (während der Lebensdauer des F^* von $2 \cdot 10^{-9} \text{ s}$ reagiert OH praktisch nicht mit H_2O_2 , da die entsprechende Reaktionskonstante nur $4 \cdot 10^7 \text{ m}^{-1} \text{ sec}^{-1}$ ist).

Beim Trypaflavin erhält man mit Ribose und Methylalkohol als Löschrsubstanzen Löschrkurven von der gleichen Form wie mit H_2O_2 oder UO_2^{2+} . Die Halbwertslöschrkonzentrationen $c_{1/2}$ für den „löschrbaren“ Anteil sind fast 2 Größenordnungen höher als beim H_2O_2 , nämlich $2 \cdot 10^{-2}$ -m. und $4 \cdot 10^{-2}$ -m. Auf die Natur des Löschrprozesses sei hier nicht näher eingegangen⁴, jedenfalls handelt es sich nicht um Wegfangen von e_{aq} , denn hierfür ist $k < 10^7 \text{ m}^{-1} \text{ sec}^{-1}$. Jedoch fangen die Substanzen OH weg mit einer Reaktionskonstanten von der Größenordnung $10^8 \text{ m}^{-1} \text{ sec}^{-1}$. Aus diesem Grund ist die Ausbeute an „nicht löschrbarer“ Fluoreszenz bei Ribose und Methylalkohol völlig unabhängig von der LET und beträgt bei 24 keV 40% oder Gesamtausbeute.

Die Fluoreszenzausbeute bei sonst gleichen Bedingungen steigt bei Trypaflavin ähnlich wie auch bei allen anderen Farbstoffen linear mit der Farbstoffkonzentration bis etwa 10^{-3} m an, der weitere Anstieg wird dann immer langsamer. Das Abbiegen vom linearen Verlauf kann ausschließlich durch das Wegfangen des e_{aq} durch den Farbstoff selbst (d. h. F) erklärt werden, zugleich wird auch der Anteil der „leicht löschrbaren“ Fluoreszenz an der Gesamtfluoreszenz reduziert.

Abb. 2 zeigt die Fluoreszenz des Trypaflavins als Funktion von $[\text{J}^-]$ bei verschiedenen Konzentrationen des Trypaflavins. Bei etwa 10^{-3} m J^- erfolgt ein Anstieg der Fluoreszenz um 70%. Diese Sensibilisierung der Fluoreszenz wird durch Wegfangen des OH nach $\text{OH} + \text{J}^- \rightarrow \text{J} + \text{OH}^-$ (nach⁵ ist $k = 1,2 \cdot 10^{10} \text{ m}^{-1} \text{ sec}^{-1}$) erklärt. Mit höherer $[\text{F}]$ verschwindet das Maximum der J^- -Abhängigkeit in

⁴ Wahrscheinlich entsteht mit F^+ ein nicht fluoreszenzfähiger Komplex.

⁵ C. B. SENVAR u. E. J. HART, Sec. Int. Conf. Peaceful Uses A. E. Genf, Bd. 29, S. 19 [1958].

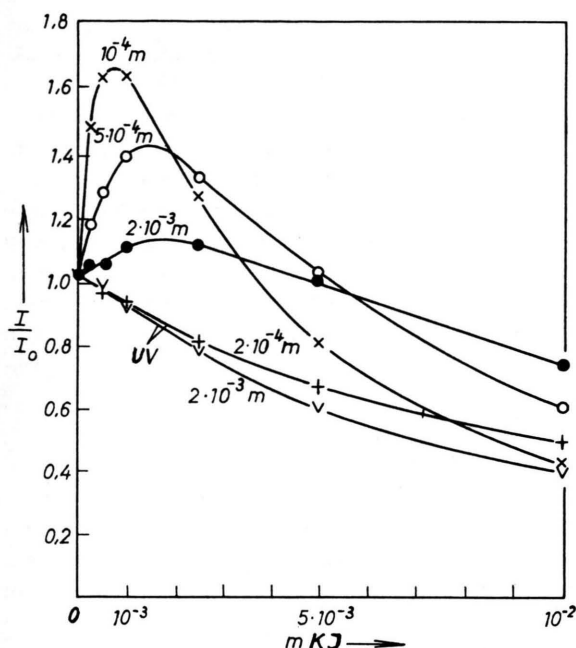


Abb. 2. Trypaflavin in verschiedenen Konzentrationen + KJ R \ddot{o} (8,5 keV_{eff})- und UV-Messung.

dem Maß, in dem auch der Anteil der löschraren Fluoreszenz reduziert wird.

Abb. 3 zeigt für Trypaflavin die Fluoreszenzausbeute (Fluoreszenz bezogen auf die abs. Dosis) als Funktion der LET. In dem Meßbereich steigt die Ausbeute mit der LET um rund 30% an. Extrapoliert man die Ausbeute zu extrem kleiner LET, und nimmt man dabei an, daß die Ausbeute linear

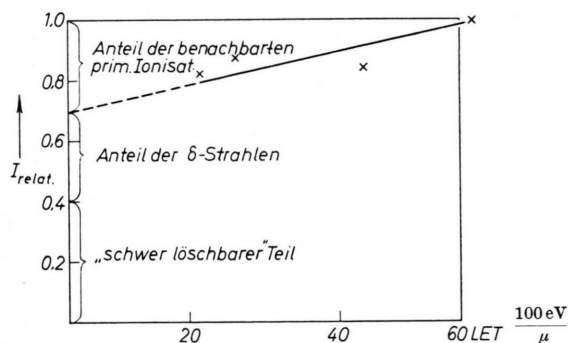


Abb. 3. Trypaflavin 10^{-4} -m. Ordinate: Fluoreszenz/Dosisleistung bezogen auf I/D für 8,5 keV.

mit der LET ansteigt, so kommt man zu dem Resultat, daß die „löschrare“ Fluoreszenz ungefähr zu gleichen Teilen von den δ -Strahlen und von durch F^+ eingefangenen e_{aq} aus benachbarten primären Ionisationen herrührt.

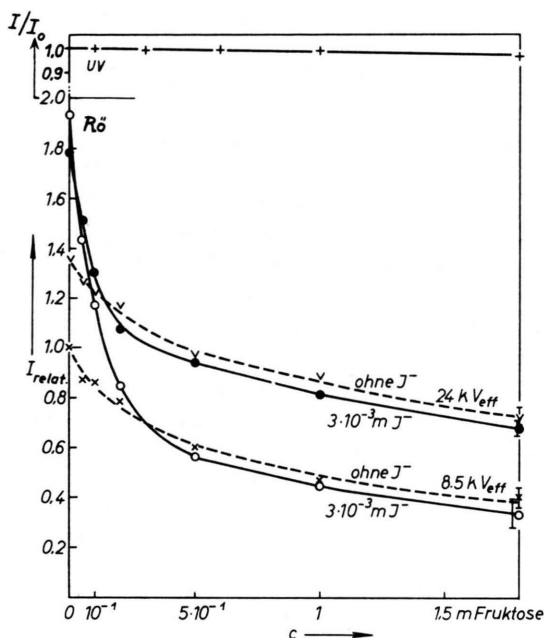


Abb. 4. — Fluorescein 10^{-4} -m. mit $3 \cdot 10^{-3}$ -m. KJ + Fruktose in 10^{-1} -m. NaOH. — — — Fluorescein 10^{-4} -m. ohne KJ + Fruktose in 10^{-1} -m. NaOH. Ordinate: Fluoreszenz/Dosisleistung bezogen auf I/D für 8,5 keV und $c=0$ ohne J^- .

Abb. 4 zeigt die Fluoreszenz des Fluorescein (p_H 13) in Abhängigkeit von der Fruktosekonzentration wiederum bei 8,5 und 24 KeV, und zwar einmal in Abwesenheit von J^- und zum anderen bei einer J^- -Konzentration von $3 \cdot 10^{-3}$ m. Das Ergebnis dieser Messung halten wir für besonders wichtig, weil er indirekt eine Bestätigung dafür darstellt, daß die von uns vorgenommene Dosismessung bei Bestimmung der Fluoreszenzausbeute als Funktion der LET im wesentlichen richtig ist.

Grundsätzlich konkurriert in ihrer Wirkung auf die Fluoreszenzausbeute bei der Erhöhung der LET die Steigerung der OH-Konzentration mit der Steigerung der e_{aq} -Konzentration auf der Spur des Photoelektrons. Beim Fluorescein überwiegt in Abwesenheit von J^- die Erhöhung der Löschrwirkung durch OH offenbar die Erhöhung der Fluoreszenzanregung durch e_{aq} . Infolgedessen ist bei 24 keV die Ausbeute um 30% höher als bei 8,5 keV. Bei Zugabe von $3 \cdot 10^{-3}$ m J^- steigt (vgl. Fig. 4) bei 8,5 keV die Ausbeute um 80% und bei 24 keV nur um 45%, mithin ist bei $3 \cdot 10^{-3}$ m J^- die Ausbeute bei 8,5 keV höher als bei 24 keV, nämlich um ~8%. Bei Zugabe von Fruktose verschwinden die ganz beträchtlichen Unterschiede zwischen den Kur-

ven mit J^- und ohne J^- innerhalb der Grenzen der Meßfehler und die Anwesenheit des J^- macht sich überhaupt nicht mehr bemerkbar. Dies ist leicht zu verstehen und zu erwarten. Die Funktion des J^- besteht im Wegfangen des OH, dies geschieht beim J^- mit einer Reaktionskonstanten $k \approx 1,2 \cdot 10^{-10} \text{ m}^{-1} \text{ sec}^{-1}$ und bei der Fruktose mit einer Reaktionskonstanten, die etwa 2 Größenordnungen kleiner sein dürfte. Dem entspricht, daß bei einer Fruktosekonzentration, die 100-mal größer ist als die $[J^-]$, die Fruktose die Funktion des J^- als OH-Fänger völlig übernommen hat.

Beim Fluorescein kommt zur Durchführung von Lösversuchen nur NO_2^- in Betracht. Die Messungen können nur in Abwesenheit von J^- ausgeführt werden. Es ergeben sich Löschkurven (Abb. 5), die denen beim Trypaflavin mit H_2O_2 völlig analog sind, und zwar mit einer Halbwertslöschkonzen-

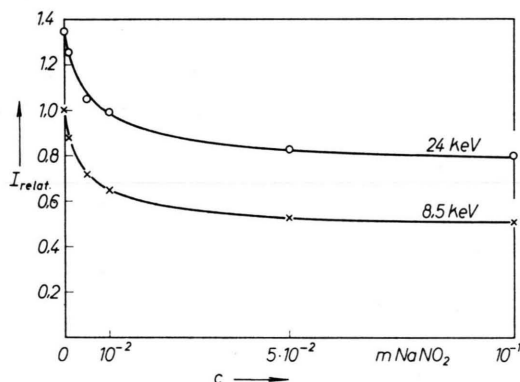


Abb. 5. Fluorescein 10^{-4} m . + NaNO_2 in 10^{-1} m . NaOH . Ordinate: Fluoreszenz/Dosisleistung bezogen auf I/D für 8,5 keV und $c=0$.

tration für den „löschraren“ Anteil von $3 \cdot 10^{-3} \text{ m}$ (die Reaktionskonstante des NO_2^- für die Reaktion mit e_{aq} wird in der Literatur mit 1,5 bis $5 \cdot 10^9 \text{ m}^{-1} \text{ sec}^{-1}$ angegeben). Der Anteil der „nicht löschraren“ Fluoreszenz ist bei 24 keV 60% und bei 8,5 keV 50%. Die auf die Dosisleistung bezogenen Fluoreszenzausbeuten der „nicht löschraren“ Fluoreszenz sind bei 24 keV 60% höher als bei 8,5 keV.

Aus allem geht hervor, daß die Empfindlichkeit des angeregten Fluorescein gegen Radikale (Löschrung des direkt angeregten F^*) größer ist als des angeregten Trypaflavins, und zwar geschieht die Löschrung des F^* sehr wahrscheinlich im Falle des NO_2^- auch durch die von NO_2^- nicht weggefangenen OH-Radikale und im Falle der Fruktose durch Fruktose-Radikale. (Beim Trypaflavin wird im Unterschied zum Fluorescein, das direkt angeregte F^*

durch Fruktose, wie schon oben erwähnt, nicht gelöscht, die beim Fluorescein angenommenen Fruktoseradikale machen sich nicht bemerkbar.)

Die Löschrung der „löschraren“ Fluoreszenz durch die wirksamen Elektronenfänger kann man im Anschluß an SAMUEL und MAGEE sowie FRICKE⁶ darstellen, indem man von einer zylindrischen, Gaußschen Anfangsverteilung von e_{aq} ausgeht, die sich durch Diffusion verbreitert und mit der Konzentration c_s der Löschrsubstanz nach einer Reaktion erster Ordnung also nach $e^{-k_s c_s t}$ und bei $c_s = 0$ in Folge der Anwesenheit des O_2 und anderer Elektronenfänger nach $e^{-k_0 c_0 t}$ abnimmt

$$c(r, t) = \frac{N_0}{\pi L (2 r_0^2 + 4 D t)} \cdot \exp \left\{ \frac{r^2}{2 r_0^2 + 4 D t} \right\} \cdot \exp \{ - (k_s c_s + k_0 c_0) t \}.$$

Dabei bedeutet N_0/L die Zahl der e_{aq} pro Zylinderlänge, D den Diffusionskoeffizienten der e_{aq} und r den Abstand von der Zylinderachse. Integriert man

$$d[F^+(r, t)] = k_F^+ c(r, t) \cdot [F^+(r, t)] dr dt$$

über Raum und Zeit, so ergibt sich je nach Annahme über die Verteilung von $F^+(r, t)$ und Wahl der übrigen Parameter (wir nehmen an, daß k_F^+ zwischen 1 und $5 \cdot 10^{10} \text{ m}^{-1} \text{ sec}^{-1}$ liegt), eine Wahrscheinlichkeit für das Einfangen von e_{aq} durch F^* zwischen 1 und 1/10, also ein durchaus befriedigendes Ergebnis. Die experimentelle Form der Löschrkurven ergibt sich mit

$$N_0^2/2D = 2 \cdot 10^{-8} \text{ sec} \text{ und } k_0 c_0 = 3 \cdot 10^6 \text{ sec}^{-1},$$

d. h. durchaus im Bereich der Erwartung liegenden Zahlenwerte.

Unter Benutzung oben angegebener Größenordnung für die absolute Fluoreszenzausbeute (1 Fluoreszenzquant je 300 Photoelektronen bei 8,5 keV) errechnet man für das sogenannte „formale strahlenempfindliche Volumen“ des Anregungsvorganges, welches jedes F mit sich trägt, $2 \cdot 10^{-22} \text{ g}$, also etwa die halbe Masse der Farbstoffmoleküle. V wird unter der Annahme berechnet, daß jede mit einem Energieaufwand von 30 eV in ihm erfolgende Ionisation zur Emission eines Lichtquanten führt. Da offenbar nicht jedes F^+ ein e_{aq} einfängt und nicht jedem Einfang eines e_{aq} die Emission eines Lichtquanten folgt, ist die Annahme naheliegend, daß auch die in der unmittelbaren Umgebung gebildeten H_2O^+ zur Ionisation des F beitragen.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für Unterstützung der Arbeit.

⁶ H. FRICKE, Ann. Acad. Sci. N. Y. **59**, 567 [1955].