

RÖNTGENSTRAHLUNG (X-rays)

Entsteht durch Abbremsung von Elektronen bei Wechselwirkung mit Materie: Bremsstrahlung, Erzeugung in einer Röntgenröhre (Vakuum)



Abb. 12.2 Biologische Physik

Elektronen werden von positiver Anode angezogen, durch Wehnelt Zylinder auf einen Punkt konzentriert. Auf Anode (Antikathode) stark abgebremst. **Röntgenstrahlung** (Bremsstrahlung) entsteht.

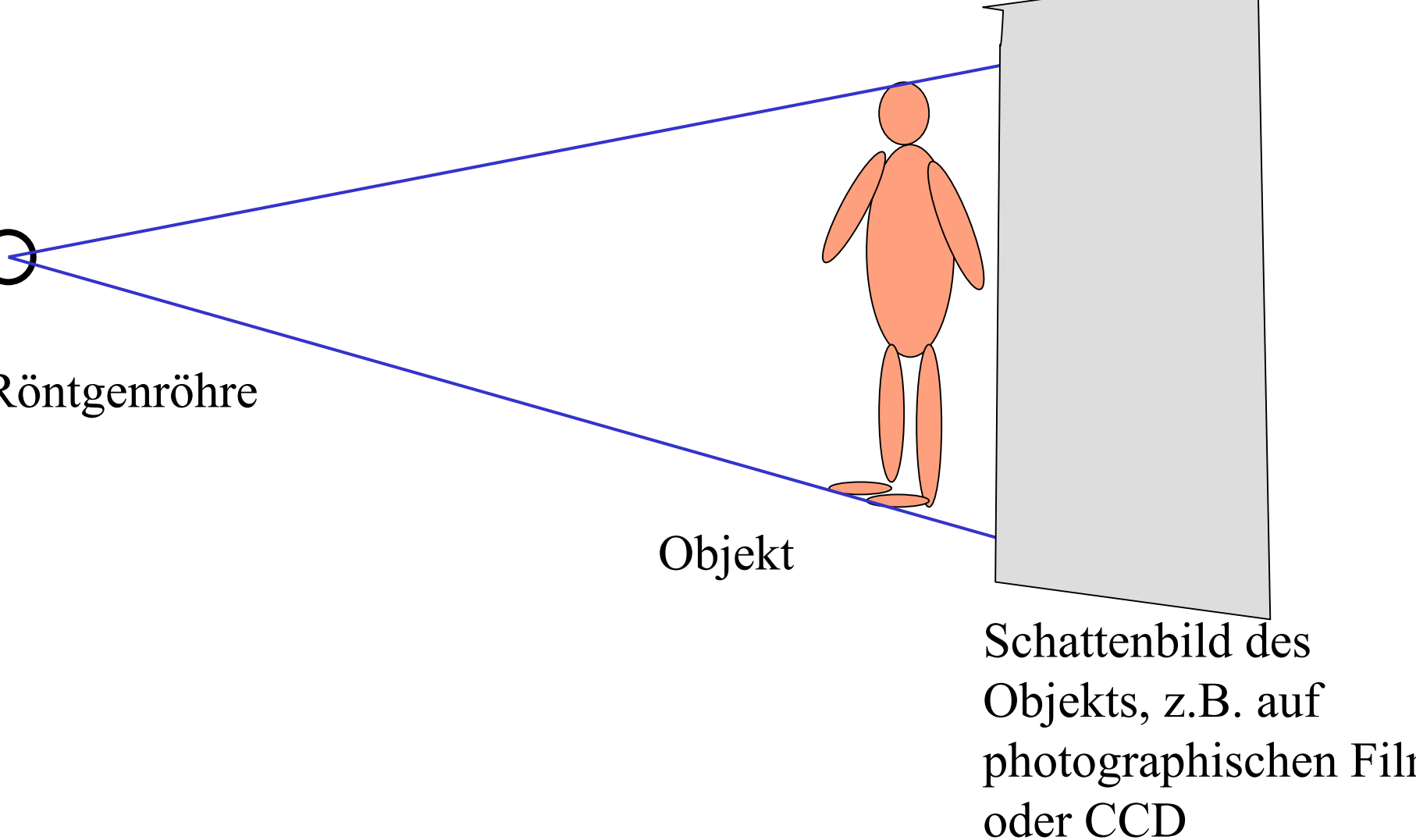
Röntgenstrahlung schwärzt photographischen Schirm, geht durch Alu Folie, schwarzes Papier etc leicht durch. Ist eine durchdringende Strahlung.

Stoffe die Atome mit hohem Atomgewicht enthalten absorbieren Röntgenstrahlung stark: Je höher das Atomgewicht, desto stärker die Absorption.

^{207}Pb absorbiert sehr stark, wird daher für Abschirmung verwendet.

^{40}Ca und ^{31}P (Hauptbestandteile der Knochen) absorbieren wesentlich mehr als ^1H ^{12}C ^{16}O (Hauptbestandteile des organischen Materials wie Muskel, Sehnen, Fett,)

Daher: Durchstrahlen des Körpers gibt "Schattenbild" der Knochen



Knochen ergeben sehr gute Schattenbilder

Was tun bei Weichteilen? Kontrastmittel, z.B. $\text{Ba}^{32}\text{S}^{16}\text{O}_4$

Beispiel für Röntgenbild

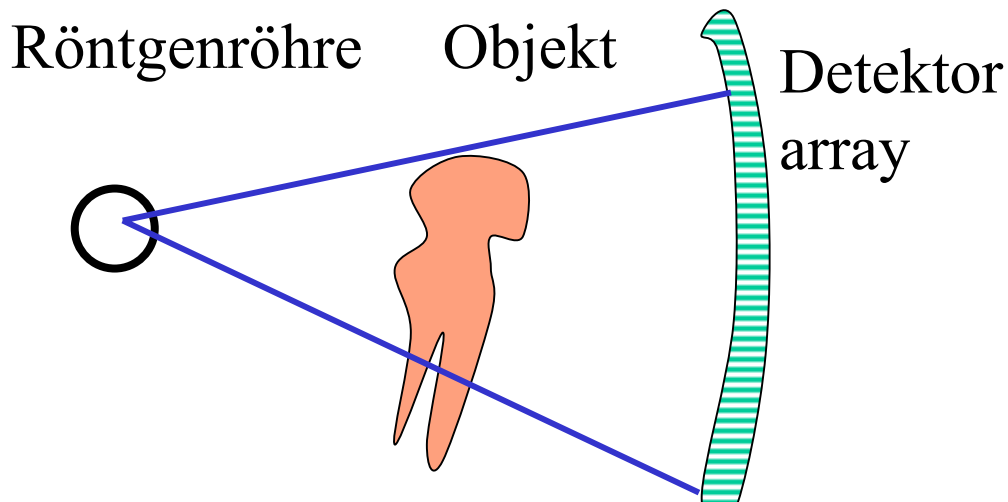


Fluoreszenzschirm zum “sehen” der Strahlen, bzw. der Schatten.

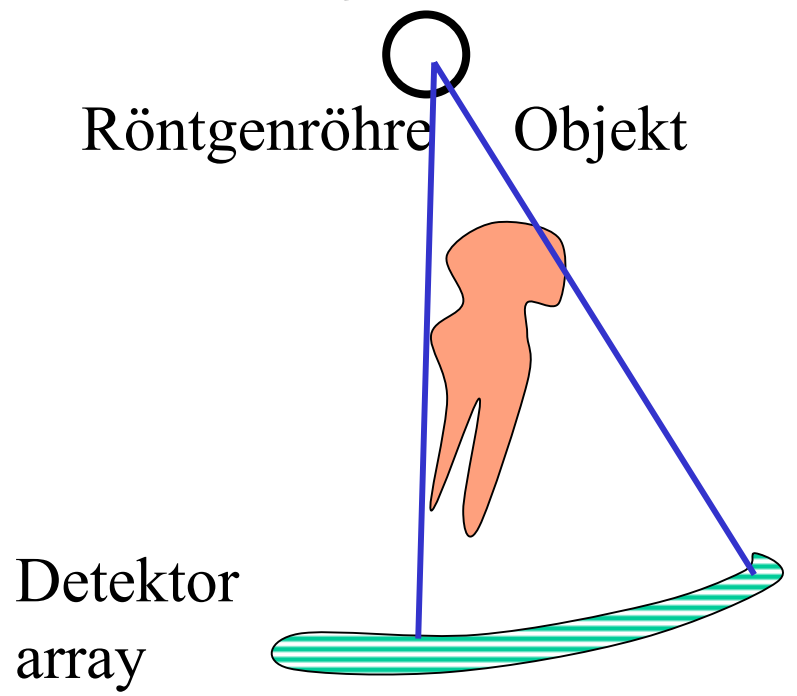
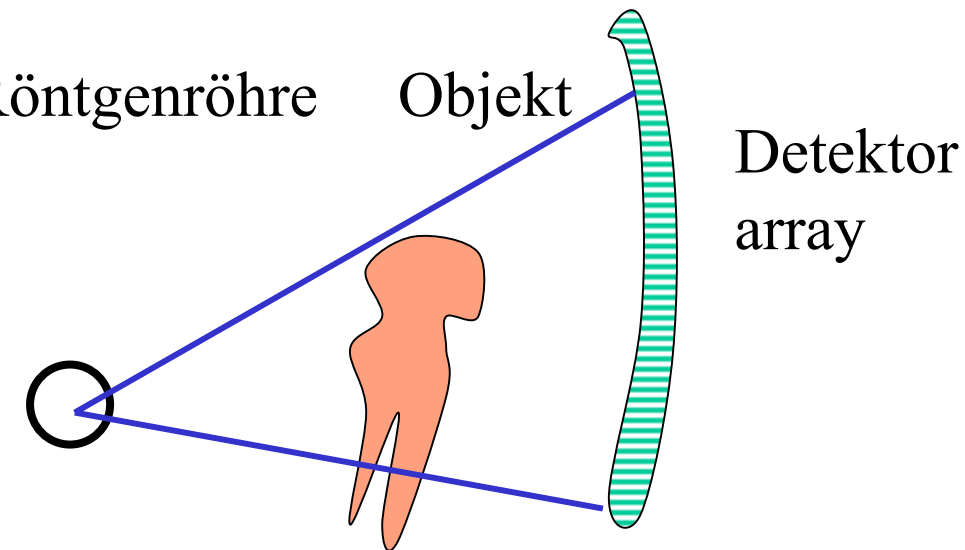
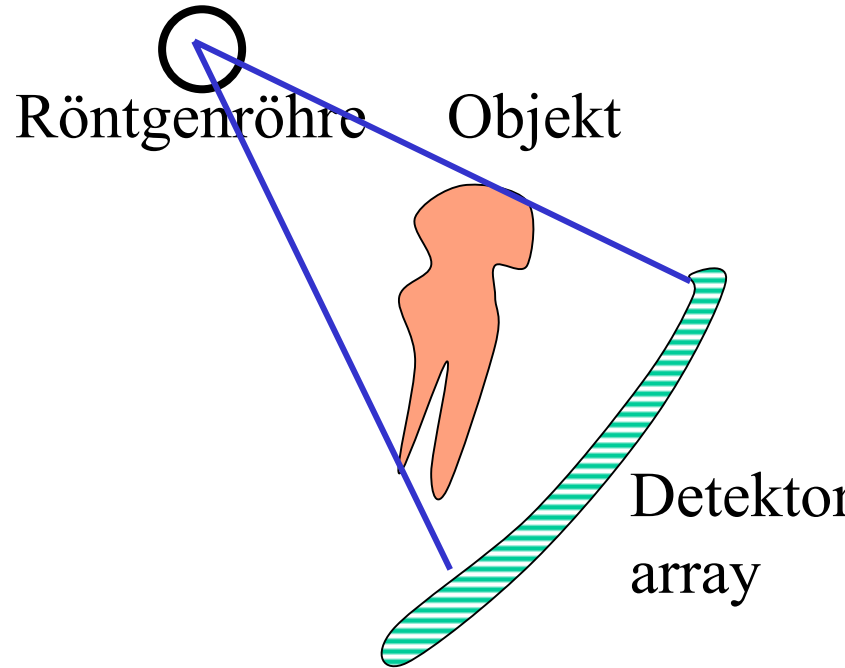
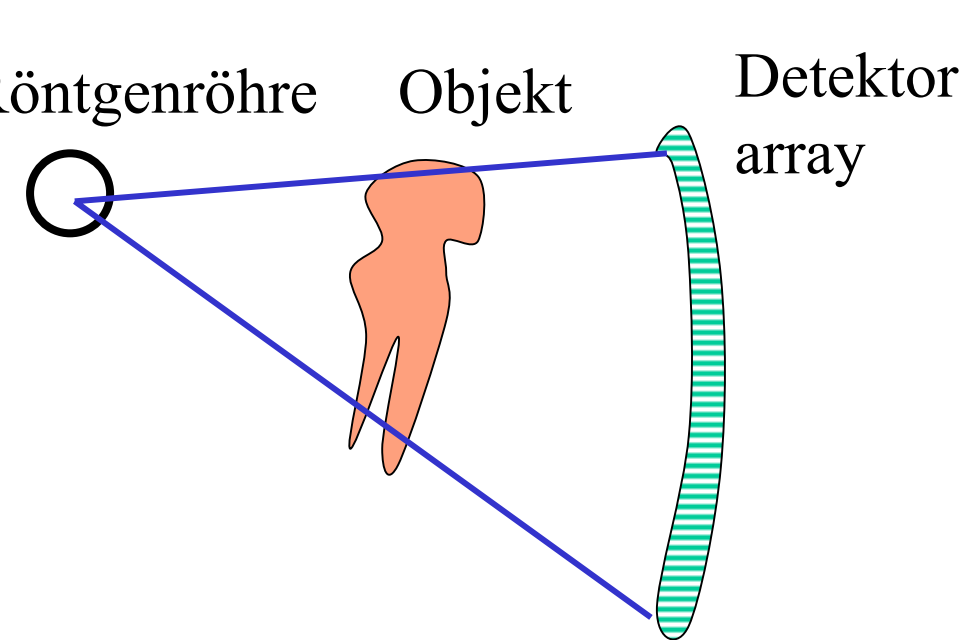
Es gibt keine Linsen für Röntgenstrahlen, daher keine scharfe Abbildung möglich

Schattenbilder unscharf; hintereinanderliegende Objekte nicht trennbar, geringe Unterschiede in der Durchlässigkeit kaum auflösbar.

Computertomographie: Beobachtung aus mehreren Richtungen
Messung der Strahlung mit einer Matrix von Zählrohren (array)



Objekt fix, Röntgenröhre und Detektorarray wird bewegt, oder Röhre und array fix, Objekt wird bewegt.



Aus vielen Schattenbildern wird ein 3D Bild des Objekts errechnet.

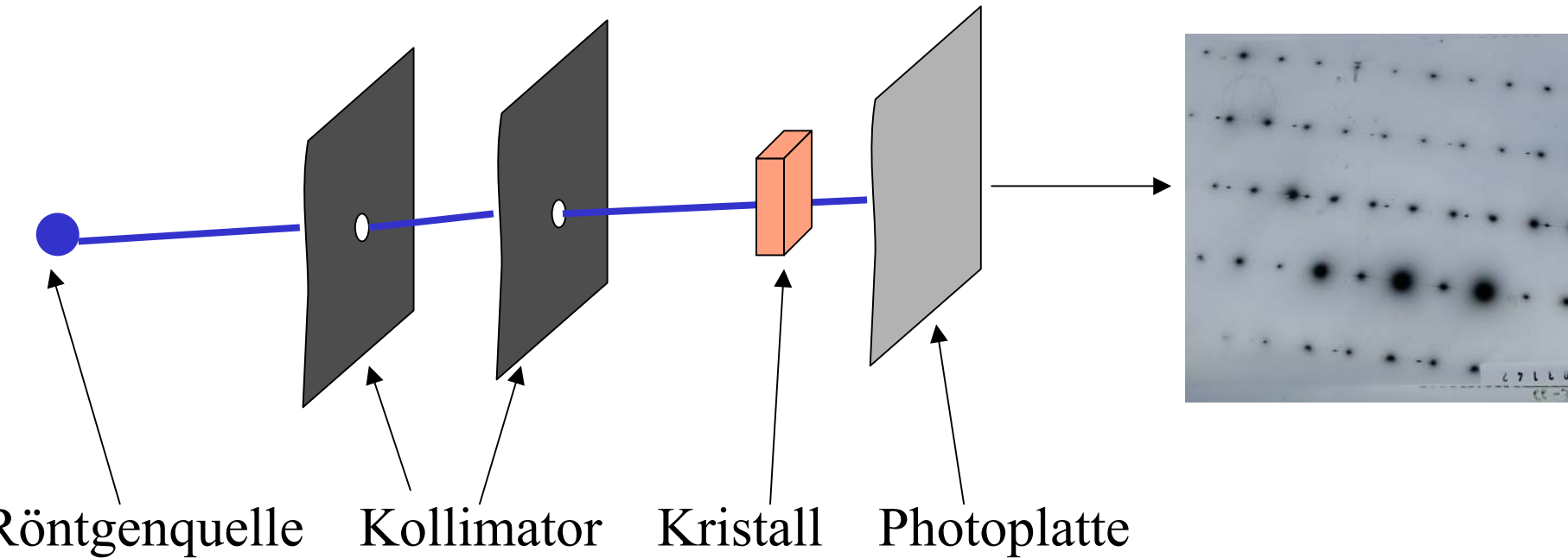
Geringe Durchlässigkeitsunterschiede auflösbar

Auflösung (kleinstes sichtbares Detail) von der Anzahl der Detektoren abhängig. Mehr Detektoren bedeutet aber auch mehr Strahlung. Die Strahlungsbelastung Q hängt von der kleinsten auflösbaren Größe Δx ab $Q \propto \left(\frac{1}{\Delta x}\right)^3$.

Doppelte Auflösung ---> 8 fache Intensität

Röntgenstrahlen sind auch Wellen und zeigen daher Beugung

Wenn ein Kristall von einem gut kollimierten Röntgenstrahl durchstrahlt wird, ergibt sich etwa folgendes Bild:



Vergleich mit der Beugung des sichtbaren Lichts am Gitter:

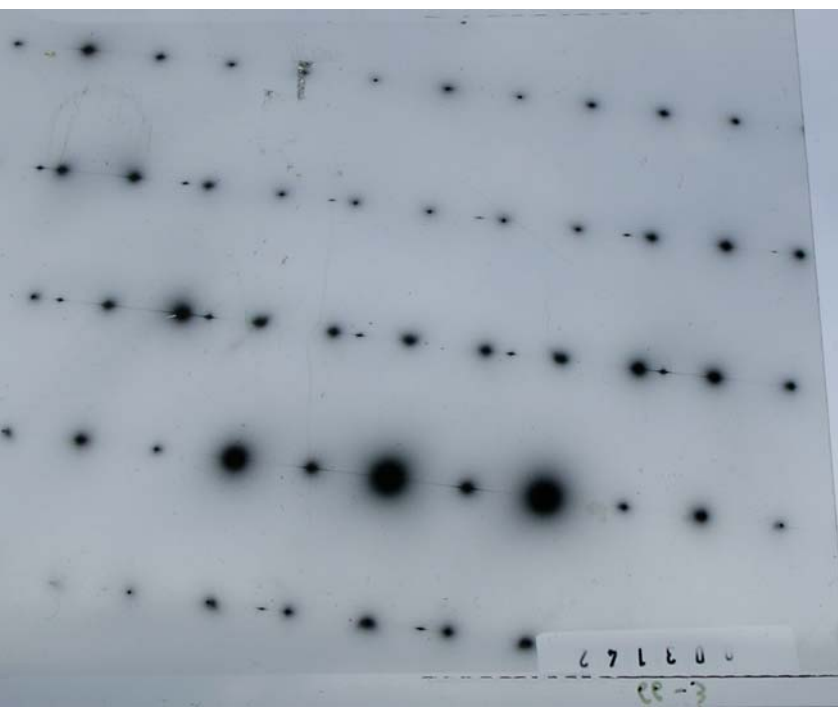
22.11.2004

Licht wird am Strichgitter
gebeugt. Am Schirm entsteht
ein Muster ähnlich dem
Beugungsgitter

Abb. 12.1 Biologische Physik

Beugung am Kreuzgitter
ergibt Punkte in
regelmäßigen Abständen.

Das Beugungsbild ist ein
Anhaltspunkt für die Struktur
des die Beugung hervorrufenden
Objekts.



Symmetrie im Beugungsbild deutet auf eine Symmetrie im Aufbau des Kristalls hin,

aus dem Beugungsbild kann die Struktur des Kristalls ermittelt werden

Bremsstrahlung hat Wellen mit Wellenlängen bis zur Grenzwellenlänge λ_g

$$\lambda_g = \frac{c \cdot h}{e \cdot U}$$

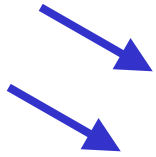
$$h = 6,63 \cdot 10^{-34} J \cdot s$$

$$e = 1,6 \cdot 10^{-19} C$$

Zusätzlich auch Charakteristische Strahlung (vom Kathodenmaterial abhängig, Elektronen der inneren Schale ändern Energieniveau)

bei 50 kV $\lambda_g = 2,49 \cdot 10^{-11} m = 24,9 pm$, etwa Atomdurchmesser (H...50pm, Na...200pm)

Beugung an Atomen möglich: Von jedem Atom (dreidimensionales Gitter!) gehen Huyghenssche Elementarwellen aus. Löschen sich nur in bestimmte Richtungen NICHT aus.



Röntgenstrahl trifft auf Gitterebene auf.
Welche Bedingung muß erfüllt sein, daß sich die Strahlen in der gezeichneten Richtung durch Interferenz verstärken?

Dann, wenn Wegunterschied **B** --> **C** --> **D** des oberen und des unteren gebeugten Strahls eine oder mehrere Wellenlängen ist.

Ergibt die Bedingung: $2 \cdot d \cdot \sin \alpha = n \cdot \lambda$, $n = 1, 2, 3, \dots$

d Abstand der Kristallebenen

Obwohl gebeugter Strahl unter demselben Winkel zur Gitterebene, ist es keine Reflexion!!! Denn die Bedingung $2d \cdot \sin \alpha = n \cdot \lambda$ muß erfüllt sein. Wenn nicht erfüllt ---> kein Strahl unter Winkel α .

α wird Glanzwinkel genannt

Abb. 12.4 Biologische Physik

Laue Verfahren

Bremsstrahlung ist polychromatisch, enthält alle Wellenlängen $> \lambda_g$, λ daher variabel, somit "Glanz" von den Gitterebenen

Andere Möglichkeit: Monochromatische Röntgenstrahlung, aber Drehung des Kristalls. Winkel ist variabel, Glanz bei richtiger Position des Kristalls.

Makromoleküle auch regelmäßig, daher Beugungsbilder, aber bei zufälliger Orientierung der Moleküle viele Beugungsbilder daher gleichmäßig graues Bild

Einbau in Kristalle ergibt Beugung von Kristallstruktur und von Molekülstruktur

Beugungsbild sehr kompliziert da Abbild der Molekülstruktur

Einbau von schweren Atomen hebt deren Beugung hervor

Röntgenbeugung an Myoglobin

Abb. 3.16, Hoppel, Biophysik

Niedermolekularerer Kristall

ELEKTRONENSTRAHLEN

Bündelung wie in Fernsehbildröhre

Abb. 13.1 Biologische Physik



Beschleunigung mit der Spannung U --> monoenergetisch

Bringt man in den Strahl einen dünnen Kristall, so kann man am Schirm folgendes Bild sehen:

Beugungsbild, daher haben bewegte Elektronen Welleneigenschaften (Materiewellen). Es ist

$$\lambda = \frac{h}{\sqrt{2 \cdot m \cdot e \cdot U}} \quad m = 9.1 \cdot 10^{-31} \text{ kg}$$



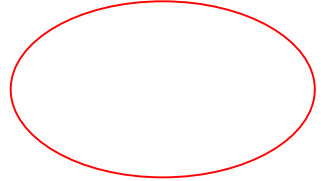
bei 50 kV $\lambda = 5,5 pm$

Wellenlänge vergleichbar mit
Röntgenstrahlen

Elektronenstrahlen können abgelenkt werden. In Gegensatz
zu Röntgenstrahlen Elektrostatische und magnetische
Linsen ---> ELEKTRONENMIKROSKOP



Erzeugt
Elektronen



Konzentriert
Elektronen



Erzeugt
vergrößertes
Bild



Erzeugt
vergrößertes
Bild



Beobachtung

Auflösung aufgrund der kleinen Wellenlänge im Bereich von nm
 $NA = 0.001 \dots 0.1$

Auflösung mindestens 100 mal besser als beim Lichtmikroskop, aber:

Linsen lenken Elektronen (magnetisch oder elektrostatisch) um.
Düfen dann nicht weiter abgelenkt werden, z.B. durch
Zusammenstöße mit Gasmolekülen, ---> Höchstvakuum

kein Wasser, daher keine lebenden Objekte beobachtbar.

Elektronen müssen durch das Objekt durchkönnen:
Schichtdicke $< 0.1 \mu\text{m}$

--> Wenig Kontrast

Lange Präparationszeit

Lösungen: Abdruck von Proben

Tieffrieren

Bedampfen ergibt ein Schattenbild

“Schatten” des Objekts

Wegen Vakuum:

Atome fliegen geradlinig

Bedampfung kann aus mehreren Richtungen mit mehreren Materialien erfolgen. Auch als Abdruck geeignet.

RASTERELEKTRONEN-
MIKROSKOP:
ganz anderes Prinzip,

Das Objekt wird vom
Elektronenstrahl
abgetastet, wie das
Fernsehbild.

Emittierte
Sekundärelektronen
steuern Helligkeit

Vergrößerung ergibt sich aus abgetasteter Fläche

Keine so große Auflösung wie Elektronenmikroskop

Große Tiefenschärfe, plastische Bilder

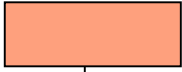
Objekt kann dick sein, muß aber leitend sein (bedampfen)

Objekt muß vakuumfest sein.

Abtasten des zu analysierenden Objekts hat zu weiteren
Mikroskopetechniken geführt:

Rastertunnelmikroskop:

x,y,z Verstellung



feine Spitze, hat
etwa 10 mV
gegen Probe

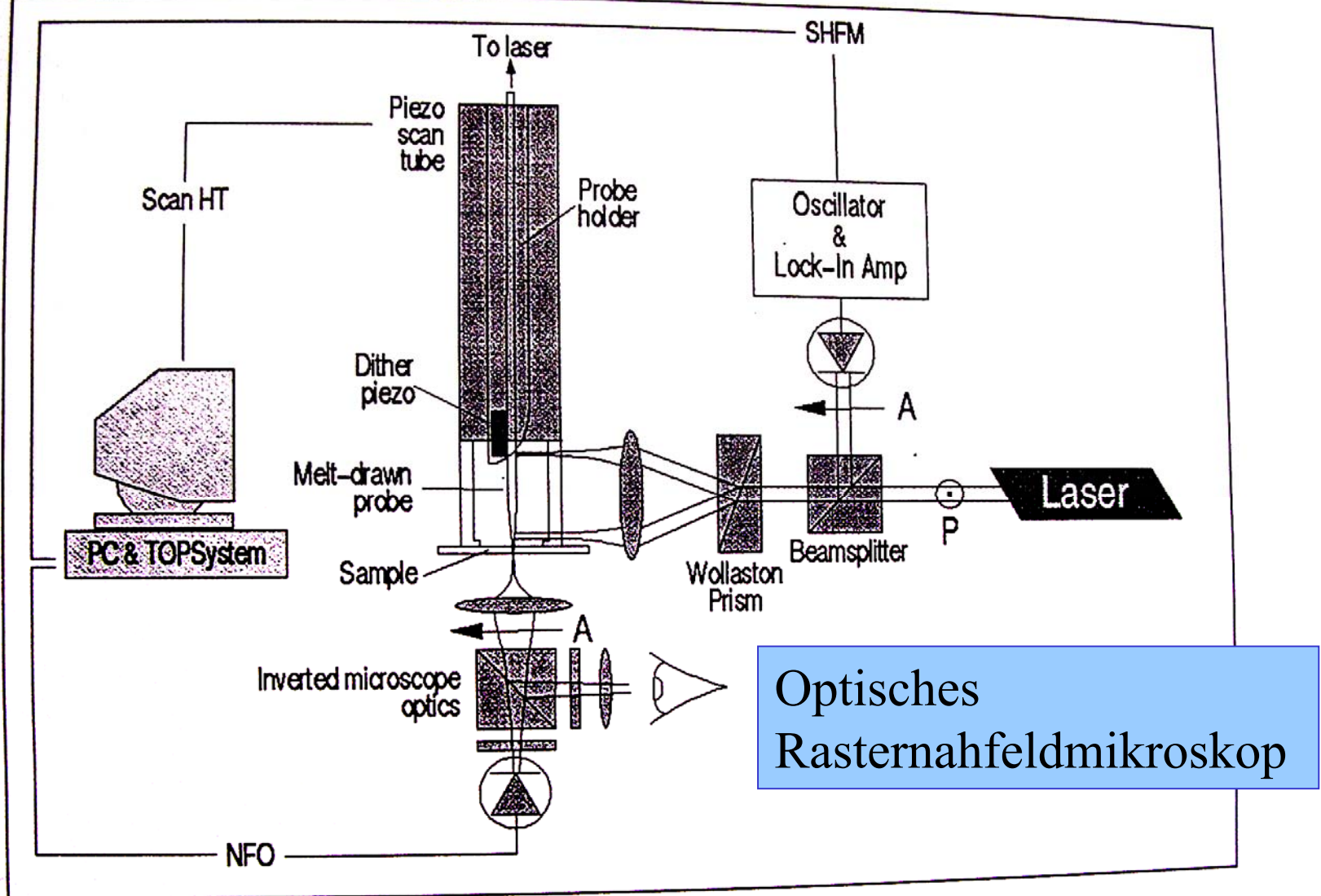
Probe

Spitze wird bis knapp an die Probe herangeführt (nm), bis Elektronen aus der Probe austreten. Dann über die Probe geführt und immer der Abstand ermittelt bis Elektronen austreten. Position der Spitze gibt Abbild der Oberfläche der Probe.

Kein Vakuum erforderlich, Messung in Luft möglich.

Ähnliches Prinzip anwendbar mit dünn ausgezogenem Lichtleiter: Der Lichtleiter wird ganz nahe über das Objekt bewegt, das austretende Licht wird detektiert.

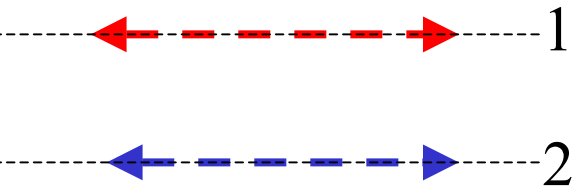
Die kleinste erkennbare Größe ist von dem kleinsten Schritt der x,y,z Verstellung bestimmt.



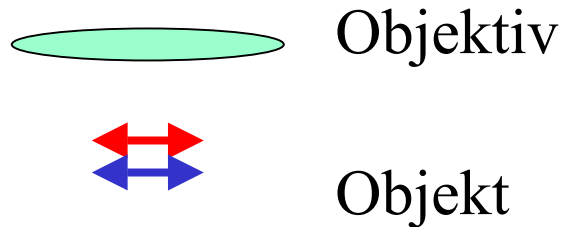
*Schematische Darstellung des Systems
optischer Rasternahfeldmikroskopie*

Mikroskop nur zur Detektion des Lichts, nicht zur Abbildung.
Damit Erkennung von Details bis $\lambda/20$

Mikroskop hat sehr geringe Tiefenschärfe:



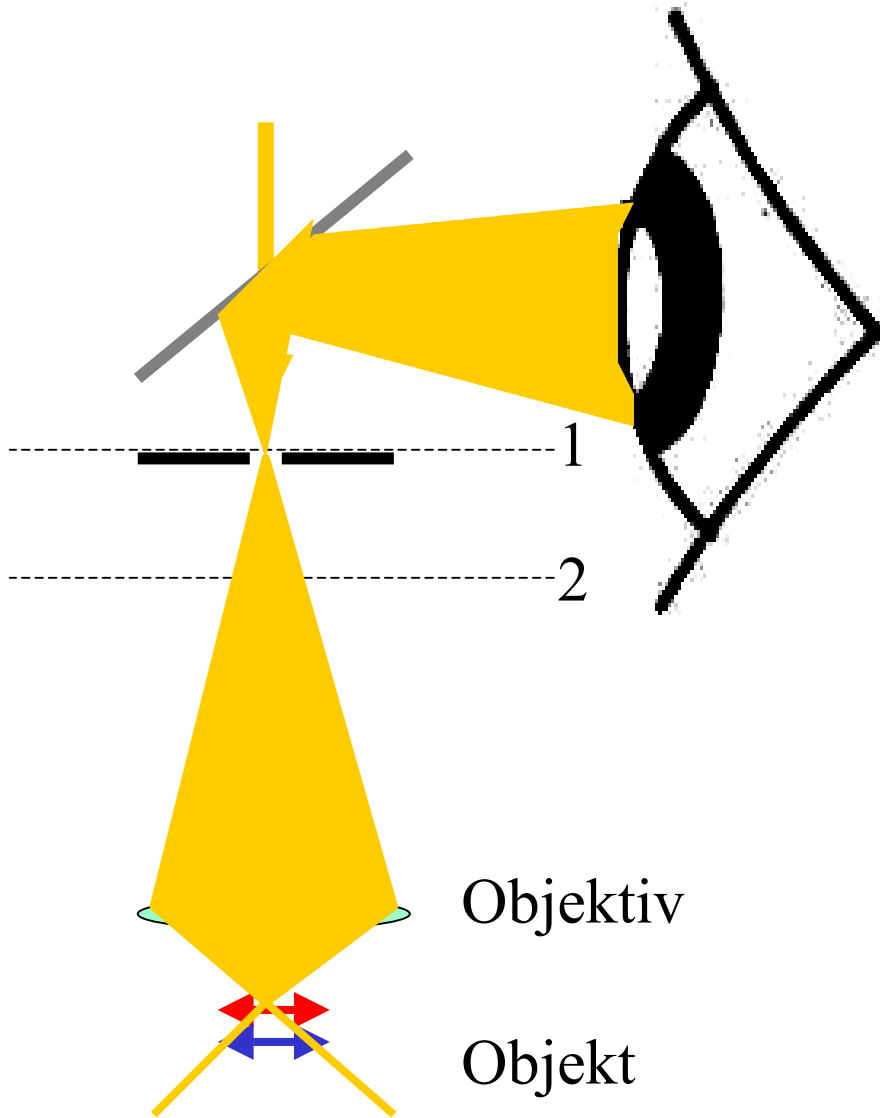
Zwei knapp hintereinander liegende Objekte werden in verschiedenen Ebenen (1,2) abgebildet.



In Ebene 1 ist rotes Objekt scharf, blaues Objekt unscharf, in Ebene 2 ist es umgekehrt.

Bei ausgedehnten Objekten treten scharfe und unscharfe Objekte gleichzeitig auf, --> schlechtes Bild

Abhilfe. Konfokales Mikroskop: Beleuchtung durch das Mikroskopobjektiv.



Durch ein kleines Loch wird ein Punkt des Objekts beleuchtet

Davor und dahinterliegende Teile des Objekts sind wenig beleuchtet, da grosse Fläche.

Nur Licht vom beleuchteten Punkt gelangt durch das Loch

Wird durch teildurchlässigen Spiegel betrachtet

Bild wird Zeile für Zeile abgetastet mit rotierender Scheibe
(Nipkow Scheibe) scharfes Bild nur von einer Ebene, aber Bild in
allen Ebenen rekonstruierbar

Schema eines konfokalen
Mikroskops

www.zoologie-skript.de/methoden/fluo/Nipkow1.htm

Vergleich

Elektronenmikroskop

$d = 5 \text{ nm}$

Hochvakuum

Abdrücke, trockene Objekte

Kontrastvergrößerung

Video Computer

Formerkennung Zahlung

Statistik

Schwarz weiss Bild

Lichtmikroskop

$d = 200 \text{ nm}$

Normalbedingungen

lebende Objekte

Kontrastvergrößerung

Video Computer

Formerkennung Zahlung

Statistik

färbiges Bild

Elektronenmikroskop

Lichtmikroskop

Fluoreszierende Substanzen:
Fluorescein, Rhodamin, CY5, ..
binden an bestimmten Ort der Zelle
da von bestimmten Ionen abhängig
binden an bestimmte DNA Sequenz

REM große Tiefenschärfe

kaum Tiefenschärfe

Beleuchtung in Schichten und
Rekonstruktion des Bildes
3D Bilder möglich