



Bundesministerium  
für Umwelt, Naturschutz  
und Reaktorsicherheit

# SCHRIFTENREIHE REAKTORSICHERHEIT UND STRAHLENSCHUTZ

**HOCHAUFGELÖSTE ORTSABHÄNGIGE MULTIELEMENTANALYSEN  
VON MIT ALLGEMEINTOXISCHEN UND RADIOTOXISCHEN  
ELEMENTEN BELASTETEN ORGANEN/GEWEBEN MIT HILFE  
DER RÖNTGENMIKROSONDE UND ELEKTRONENMIKROSKOPIE**

**BMU - 2005-673**



WIR STEuern UM AUF ERNEUERBARE ENERGIEN.

**BMU – 2005-673**

**„Hochaufgelöste ortsabhängige Multielementanalysen von  
mit allgemeintoxischen und radiotoxischen Elementen  
belasteten Organen/Geweben mit Hilfe der  
Röntgenmikrosonde und Elektronenmikroskopie“**

**J.A.C. Broekaert**

**J. Feuerborn**

**A. Knöchel**

**A.-K. Meyer**

**Universität Hamburg, Institut für Anorganische und Angewandte Chemie**

## **IMPRESSUM**

Dieser Band enthält einen Abschlussbericht über ein vom Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit (BMU) gefördertes Vorhaben. Verantwortlich für den Inhalt sind allein die Autoren. Das BMU übernimmt keine Gewähr für die Richtigkeit, die Genauigkeit und Vollständigkeit der Angaben sowie die Beachtung privater Rechte Dritter. Der Eigentümer behält sich alle Rechte an der weiteren Nutzung oder Vervielfältigung des Berichts vor.

Der Bericht gibt die Auffassung und Meinung des Auftragnehmers wieder und muss nicht mit der des BMU übereinstimmen.

### **Herausgeber:**

Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit

Referat RS I 2

Postfach 12 06 29

53048 Bonn

ISSN 1612-6386

Erscheinungsjahr: 2005

## Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung und Problemstellung .....</b>	<b>4</b>
<b>2</b>	<b>Theoretischer Teil.....</b>	<b>5</b>
2.1	Uranbergbau im Erzgebirge .....	5
2.2	Das pathologische Archiv der Wismut.....	8
2.3	Partikel in der Lunge .....	10
2.4	Bestimmung der Schwermetallverteilung in Lungengeweben .....	11
<b>3</b>	<b>Eingesetzte Methodik.....</b>	<b>14</b>
3.1	Beschreibung der untersuchten Proben .....	14
3.1.1	Fälle und Berufsanamnesen .....	15
3.1.2	Probenpräparation .....	17
3.2	Histologische Befundung.....	17
3.3	Bestimmung der Schwermetallverteilung in Gewebeproben mit Hilfe der Röntgenmikrosonde .....	18
3.3.1	Die Röntgenmikrosonde am Strahl L des HASYLAB .....	18
3.3.2	Methodische Entwicklungen .....	20
3.3.2.1	Entwicklung einer neuartigen Methode zur internen Standardisierung .....	20
3.3.2.2	Verbesserung des Nachweisvermögens durch den Einsatz einer Polykapillare in Verbindung mit monochromatischer Anregung .....	24
3.3.3	Messbedingungen .....	29
3.3.4	Auswertung der Messungen und Darstellung der Ergebnisse .....	30
3.3.5	Ergebnisse.....	30
3.4	Bulkanalysen.....	38
3.4.1	Probenvorbereitung .....	39
3.4.2	Messbedingungen .....	40
3.4.3	Nachweis der Richtigkeit der Messungen .....	42
3.5	Untersuchung der Proben mittels bildgebender Verfahren in Kombination mit einem Elementmapping.....	45
3.5.1	Elektronenmikroskopische Verfahren .....	46
3.5.1.1	Rasterelektronenmikroskopie, Scannende Elektronenmikroskopie und Energiedispersive Röntgenmikroanalyse (EDX) .....	46
3.5.1.2	Energy-Filtering Transmission Electron Microscopy (EFTEM).....	49
3.5.2	Röntgenmikroskopie .....	52
3.6	Atomic Force Microscopy (AFM) .....	54

3.7	Untersuchungen zum Verhalten von uranhaltigen Staubpartikeln im Lungengewebe .....	55
3.7.1	Grundlagen .....	55
3.7.1.1	Allgemeines .....	55
3.7.1.2	Löslichkeit von Uranverbindungen .....	56
3.7.1.3	In vitron- Löslichkeitsuntersuchungen .....	56
3.7.1.4	Uranspeziation .....	57
3.7.2	Modellversuche zur Löslichkeit von Uranmineralien .....	58
3.7.2.1	Verwendete Extraktionslösungen.....	58
3.7.2.2	Eingesetzte Uranmineralien .....	60
3.7.2.3	Versuchsdurchführung .....	61
3.7.2.4	Ergebnisse .....	62
3.7.3	Bindungsformen und Oxidationsstufen des Urans- Xanes- Untersuchungen .....	67
3.7.3.1	Versuchsdurchführung .....	67
3.7.3.2	Ergebnisse .....	68
<b>4</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>80</b>
4.1	Methodische Entwicklungen .....	80
4.1.1	Neuartige Standardelementfolien .....	81
4.1.2	Neuartige Kapillaroptiken im Vergleich zu den Bleiglaskapillaren.....	82
4.2	Darstellung von Form und Lage der deponierten Partikel .....	83
4.3	Schwermetallgehalte in Gewebeproben .....	85
4.3.1	Gegenüberstellung der orts aufgelösten Daten mit denen der Bulkanalysen .....	85
4.3.2	Bezug der ermittelten Gehalte zu den Berufsanamnesen.....	88
4.4	Mobilisierungsverhalten von Uran aus den deponierten Staubpartikeln.....	91
4.4.1	Lösungsverhalten uranhaltiger Partikel unter physiologischen Bedingungen.....	91
4.4.1.1	Löslichkeitsuntersuchungen .....	91
4.4.1.2	Verwendete Methode .....	93
4.4.1.3	Lösungsverhalten von uranhaltigen Mineralstaubpartikeln .....	94
4.4.2	Charakterisierung der Bindungsformen des Urans .....	96
4.4.3	Fazit und Ausblick.....	97
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung und Bewertung der Ergebnisse sowie Schlussfolgerungen .....</b>	<b>99</b>

<b>6</b>	<b>Literatur.....</b>	<b>101</b>
----------	-----------------------	------------

### **Anhang**

Tabellen der SyFa-Mikrosonden Ergebnisse A1 – A16

Tabellen der ICP-MS-Ergebnisse A 17 – 22

Histologische Gutachten des Klinikums Bergmannsheil Bochum in Kopie

## 1 Einleitung und Problemstellung

Das neue ICRP-Atemtraktmodell, publiziert in ICRP Publikation 66, beschreibt das biokinetische Verhalten inhalierter radioaktiver Stoffe im Atemtrakt. Die Modellstruktur sowie die Parameter des biokinetischen Modells für inhaliertes Uran und seine Verbindungen sowie sonstige Schadstoffe gehen sowohl aus Untersuchungen an Menschen als auch aus den Daten verschiedener tierexperimenteller Untersuchungen hervor. Viele der biokinetischen Daten basieren in erster Linie auf einer makroskopisch homogenen Verteilung der Schadstoffe innerhalb eines Organs/Gewebes bzw. eines Teiles des Organs (Kompartiment). In der Realität ist jedoch anzunehmen, dass nicht eine homogene, sondern eine inhomogene Verteilung vorliegt. Zur Abklärung der zu pathologischen Veränderung eines Gewebes führenden Schadstoffwirkungen ist es somit von besonderer Bedeutung, die lokale Verteilung der Schadstoffe zu untersuchen.

Durch die Öffnung des pathologischen-anatomischen Archivs der Deutschen Uranbergarbeiter für Forschungszwecke besteht seit 1990 die Möglichkeit auf einen berufsanamnetisch gut dokumentierten Pool von Proben zurückzugreifen und es wurden bereits eine Reihe von Untersuchungen zur Bestimmung der Elementgehalte durchgeführt [5, 6], die jedoch meist auf der Bestimmung mittlerer Gehalte basieren. Die in diesen Proben besonders interessierenden Elemente sind: Uran, Arsen aber auch Chrom, Cobalt, Blei und Nickel.

Die Bestimmung ihrer lokalen Verteilungen auf mikroskopischer Ebene erfordert die Anwendung leistungsstarker Analysenverfahren und setzt die fachübergreifende Zusammenarbeit verschiedener Disziplinen wie Pathologie, analytischer Chemie und Statistik voraus.

Da es sich bei den Proben um einmaliges und damit wertvolles Material handelt, muss seine Untersuchung vorzugsweise zerstörungsfrei erfolgen.

Das Vorhaben zielte auf die Abklärung des Zusammenhangs zwischen der lokalen Schwermetallverteilung in Gewebeschnitten von Lunge, Leber, Nieren und Lymphknoten von Uranbergarbeitern der SDAG Wismut und der pathologischen Veränderung des Gewebes.

Dabei wurden folgende Einzelziele verfolgt:

- Abklärung der lokalen Elementverteilung (u.a. Uran, Arsen, Chrom, Blei, Nickel und Kobalt ) in Gewebeschnitten aus Lunge, Leber, Niere und Lymphknoten
- Abklärung des Zusammenhangs zwischen Stärke der Exposition und gefundenen Elementkonzentrationen
- Aufklärung des Verhaltens der deponierten Staubpartikel unter physiologischen Bedingungen (Aufklärung von eventuellen chemisch-mineralogischen Veränderungen (einschließlich Änderungen der Bindungsform) der Partikel sowie von Transport- und Lösungsprozessen)
- Lokalisierung der deponierten Partikel
- Beitrag zur Aufklärung des Zusammenhangs zwischen Schadstoffkonzentrationen, chemisch mineralogischen Veränderungen und dem pathologischen Befund.

## **2 Theoretischer Teil**

Die DDR mit ihren Lagerstätten im westlichen Erzgebirge war einer der weltweit größten Produzenten von Uranerz, das zeitweise unter sehr primitiven arbeitshygienischen Bedingungen abgebaut wurde. Gleichzeitig wurden die Beschäftigten in der DDR arbeitsmedizinisch umfassend kontrolliert. Das nach der deutschen Wiedervereinigung vorgefundene Archiv des „Zentralen Instituts für Pathologie“ der ehemaligen SDAG Wismut wurde zum Deutschen Krebsforschungszentrum nach Heidelberg transferiert und der Forschung zugänglich gemacht. Im Rahmen des vorliegenden Projekts soll die Verteilung von Schwermetallen im Lungengewebe insgesamt und orts aufgelöst mit Hilfe der Synchrotronstrahlungs- Röntgenfluoreszenzmikrosonde ( $\mu$ -SY-RFA) bestimmt werden.

### **2.1 Uranbergbau im Erzgebirge**

Die ersten Bergbauaktivitäten im Erzgebirge in Sachsen wurden 1168 dokumentiert [1].



Seit dem Ende des 19. Jahrhunderts wurde in dem Gebiet um Schneeberg (s. Abbildung 1) Uranbergbau betrieben [2]. Verwendung fanden Uranoxide als Additive für farbiges Porzellan, Bilder und farbige Gläser („Annagelb“) [3].

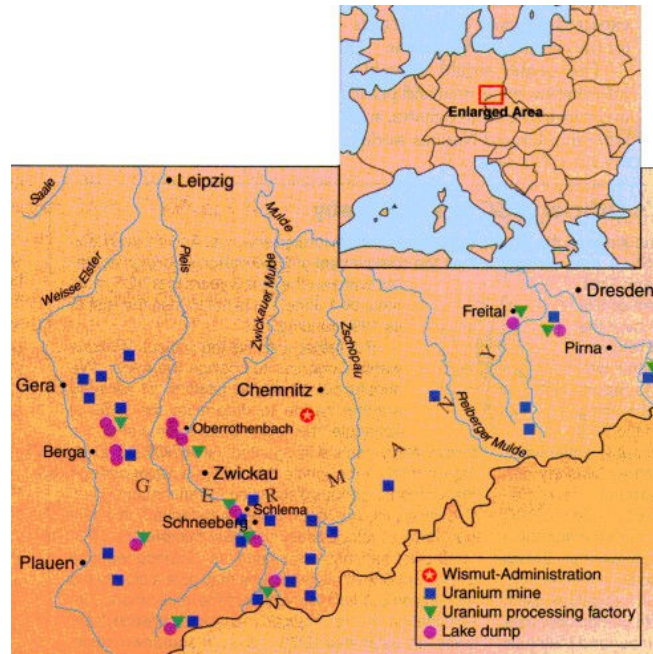


Abbildung 1: Die Ostdeutsche Uranbergbauregion südlich von Leipzig ist gekennzeichnet durch diverse Uranbergwerke, Fabriken und Abfallhalden. [4]

Nach dem 2. Weltkrieg begann 1946 die ehemalige Sowjetunion im Rahmen eines Forschungsprojekts für die Produktion nuklearer Waffen mit dem industrielle Uranabbau zunächst in Johannegeorgenstadt und später in Schlema und Schneeberg [2].

Aufgrund seiner Ergiebigkeit wurde er den folgenden Jahren stark ausgeweitet. Mit einem Uranabbau von insgesamt 220.000 Tonnen bis 1990 stand die DDR weltweit an 3. Stelle der Uranproduzenten. [4].

Besonders am Anfang (1946 – 1954) waren die Arbeitsbedingungen für die Bergleute hart.

Die Uranerze wurden trocken mit Drillbohrern abgebaut. Aufgrund mangelnder Ventilation (meistens ausschließlich natürlich [5]) waren die Arbeiter sehr hohen Staubbelastungen und hohen Konzentrationen insbesondere von kurzlebigen  $\alpha$ -Strahlern wie Radon<sup>222</sup> (30-300 WLM/ Jahr [6, 7]) sowie weiteren toxischen Elementen wie z. B. Arsen (in einigen Minen) oder Chrom, Nickel und Silikaten ausgesetzt [2, 8].

In den Jahren 1955 – 1970 wurden die Bergbaubedingungen verbessert, indem naß gedillt wurde, was geringere Staub- und Radonkonzentrationen (5-100 WLM/ Jahr [6, 7]) bewirkte. Außerdem wurde die Ventilation verstärkt [2, 6]. Wegen der Lärmbelastung wurde die Ventilation aber oft durch die Bergmänner abgeschaltet [4]. Außerdem wurde als Reaktion auf die hohen Unfall- und Sterberaten ein eigenes Gesundheitssystem mit Krankenhaus, Ambulanzen und Genesungsheim aufgebaut, und beiden Bergarbeitern wurden jährliche, medizinische Kontrolluntersuchungen inklusive Röntgenaufnahmen durchgeführt [2].

Seit 1970 wurden die Regeln, für die industrielle Hygiene und internationale Standards für den Schutz vor radioaktiver Strahlung umfassen, akzeptiert, so daß die Uranbergleute in den Jahren 1971-1989 Radonkonzentration in den internationalen Grenzen von 1-4 WLM/ Jahr ausgesetzt waren [6, 7].

Die Verbesserungen der Arbeitsbedingungen werden bei einem in aufgeführten Vergleich der aufgetretenen Krebsfälle und Silicosen der Bergmänner in Abhängigkeit von ihrem Arbeitsbeginn deutlich. Das Auftreten von Lungenkrebs nahm von 34 % auf 17,2 % ab und das Auftreten von Silicosen von 35,8 % auf 20,7 %. Die Autopsieprotokolle zeigen sogar eine größere Abnahme von Silicosen zwischen den ersten beiden Perioden. Allerdings nahmen die Silicosen danach im Gegensatz zu Lungenkrebs wieder zu. Dies kann jedoch auf die geringe Anzahl bisher ausgewerteter Autopsieprotokolle aus der letzten Periode zurückzuführen sein.

1971 wurde zusätzlich die medizinische Betreuung ehemaliger Arbeiter der „Wismut“ eingeführt [2].

Tabelle 1: Krebsfälle und Silicosen der Uranbergmänner in Abhängigkeit von ihrem Arbeitsbeginn [2]

	Periode		
	1946 - 1954	1955 - 1969	> 1970
<b>Anzahl der Fälle</b>	10.303	2.284	227
<b>Lungenkrebs</b>	34,00%	22,80%	17,20%
<b>anderer Krebs</b>	15,70%	20,90%	18,90%
<b>kein Krebs</b>	50,30%	56,30%	63,90%
<b>Silicosen</b>	35,80%	32,80%	20,70%
<b>Silicose und Lungenkrebs</b>	10,70%	2,50%	5,70%
<b>keine Silicose</b>	64,20%	87,20%	79,30%

Am 9. Oktober 1990, sechs Tage nach der deutschen Wiedervereinigung, wurde in einem Vertrag zwischen der ehemaligen Sowjetunion und Deutschland das Ende des sowjetisch-deutschen Unternehmens „Wismut“ zum 1. Januar 1991 besiegelt.

Die SDAG Wismut ging in die Hände des deutschen Staates über, der Uranabbau wurde vollständig gestoppt und die SDAG Wismut aufgelöst [2].

## **2.2 Das pathologische Archiv der Wismut**

Nach der deutschen Wiedervereinigung wurde das zentrale pathologische Archiv der ehemaligen SDAG Wismut für Forschungszwecke geöffnet, aus Stollberg zum Deutschen Krebsforschungszentrum nach Heidelberg transportiert, untersucht und registriert.

Es enthält Protokolle von 28.995 Autopsiefällen (mit 5.974 Lungentumoren) und ca. 400.000 histologische Gewebeschnitte aus den Jahren 1957 – 1992. Von den Autopsiefällen konnten 17.466 als Uranbergmänner identifiziert werden. Die restlichen 11.529 Autopsiefälle gehörten zur Bevölkerung in der Uranbergbauregion.

Außerdem enthält das Archiv 66.000 Paraffinblöcke sowie 238 Lungen in Formalin (1980 – 1992) [6].

Insgesamt gibt es Aufzeichnungen über 450.000 Arbeiter mit jährlichen, medizinischen Untersuchungen, Röntgenaufnahmen von Lungen und Krankenhausbesuche [4].

Ein Vergleich der Häufigkeit von krebsbedingten Todesfällen bei Uranbergarbeitern, die über 15 Jahre alt waren, mit einem Nichtbergbaugebiet (Dresden) verdeutlicht die hohe Anzahl von Lungentumoren bei männlichen Bergarbeitern im Archiv von Stollberg (Tabelle 2).

Ähnliches konnte bei weiblichen Uranbergarbeitern nicht gezeigt werden.

Tabelle 2: Krebsbedingte Todesfälle im Uranbergbaugebiet (Archiv von Stollberg) und in einem Nichtbergbaugebiet (Institut für Pathologie in Dresden) [6]

Tumorage	Männliche Arbeiter		Weibliche Arbeiter	
	Dresden	Stollberg	Dresden	Stollberg
Mundhöhle	10	43	8	0
Nasenhöhlen, Kehlkopf	13	60	2	2
Lunge	517	4.919	94	27
Magen	322	646	290	60
Leber	32	138	37	11
Dickdarm	170	321	286	68
Blase	120	335	61	19
Prostata	105	218		
Brust			238	58
Weibl. Genitalien			450	105
Knochen	6	15	9	5
Leukämie	94	226	132	36
Andere Tumore	254	542	427	108
Gesamttumore	1.643	7.463	2.034	499
Andere	2.829	8.103	2.497	555
Gesamtfälle	4.472	15.566	4.531	1.054

Das Auftreten anderer Krebserkrankungen zeigt keine signifikanten Unterschiede zwischen dem Uranbergbauggebiet und der Nichtbergbauregion.

### **2.3 Partikel in der Lunge**

„Lungengängige“ Partikel erreichen den Alveolarraum und weisen allgemein Durchmesser unterhalb von 5 µm auf. Es wurde geschätzt, dass 80% dieser Partikel größer als 50 nm sind [9]. Bei im Lungengewebe abgelagertem Material handelt es sich entweder um Aerosole oder um Staubpartikel aus der Atemluft. Aerosole ihrerseits können als Träger von partikulärem Material dienen. In die Lunge gelangte wasserlösliche Substanzen (entweder aus Aerosolen oder aus Staubpartikeln) treten durch die Alveolarmembran und werden entweder sofort oder nach spezifischer oder unspezifischer Bindung an Proteine (teilweise von Makrophagen) abtransportiert. Sofern diese Substanzen überhaupt in der Lunge verbleiben und nicht über den Respirationstrakt ausgeschieden werden, kann, anders als bei unlöslichen Partikeln, von einer großflächigen Verteilung und Verdünnung ausgegangen werden. Lungengängige unlösliche Partikel, die in den Alveolarraum gelangen, werden ebenfalls von Makrophagen aufgenommen und verlagert. Die dabei zurückgelegten Distanzen sind sehr unterschiedlich. Während ein Teil der Partikel über den ganzen Körper verteilt werden kann [10], verbleibt ein beträchtlicher Anteil der eingeatmeten Partikel im Lungengewebe.

Die Analytik der Belastung von Lungengewebe ist daher, sofern die Belastung nicht sehr kurze Zeit zurückliegt, eine Analytik von Partikeln. Eine detaillierte Beschreibung der Belastungssituation im Lungengewebe ist von daher lediglich durch Mikrosondenmethoden möglich.

Die Anzahl der in belastetem oder unbelastetem Lungengewebe gefundenen Partikeln ist sehr unterschiedlich und selbst bei demselben Individuum in verschiedenen Teilen der Lunge starken Schwankungen unterworfen. Generell können in 1 cm<sup>3</sup> Alveolargewebe zwischen 10<sup>6</sup> und 10<sup>9</sup> Partikel gefunden werden [11].

Der schädigende Einfluss von inhalierten Partikeln steht mit deren physikalisch-chemischen Eigenschaften, wie Größe, Beständigkeit und Biopersistenz, Oberflächenaktivität und chemischer Zusammensetzung in Zusammenhang [12, 13].

Epidemiologische Studien implizieren eine Verbindung zwischen der Form der inhalierten Partikel und der Entstehung von Lungenkrankheiten. Dabei kontrolliert die Partikelgröße und Form die Vorgänge der Deposition, Verteilung und Ausscheidung [14]. Man geht davon aus, dass Partikel kleiner als 10 µm (PM10) Lungenschädigungen hervorrufen [15]. Ebenso ist die Länge der Fasern von Bedeutung [16]. Neben der Form ist die biologische Persistenz und die Oberflächenaktivität bedeutend. Mit der Oberfläche treten die Partikel zuerst in Wechselwirkung mit dem Organismus und adsorbierte Stoffe, können damit zu unmittelbaren Effekten führen. Neben der Kenntnis der chemischen Zusammensetzung ist demnach auch Kenntnis der chemischen Verfügbarkeit oberflächengebundener Stoffe von Bedeutung. Eine umfassende Bewertung der von den Partikeln ausgehenden Schadeffekte setzt Kenntnis sowohl der chemischen Zusammensetzung der Partikel, ihrer Größe und Form sowie der Bindungsformen der Elemente voraus.

#### ***2.4 Bestimmung der Schwermetallverteilung in Lungengewebe***

Die Lunge ist ein kontinuierlicher Sammler atembare Stäube aus der Umgebung. Ein Teil des eingeatmeten Materials wird abgelagert und ein Anteil davon dauerhaft zurückgehalten. Wenn Lungengewebe durch Autopsie oder Biopsie verfügbar wird, kann dieses Archiv pulmonarer Staubbelastung ausgelesen werden. Aus der Staubbelastung lassen sich Schlussfolgerungen hinsichtlich Art und Umfang einer in der Vergangenheit stattgefundenen Exposition ziehen. Bestimmte Arten von Staubbelastung werden heute in Zusammenhang mit dem Auftreten verschiedener Lungenerkrankungen bis hin zum Lungenkrebs gesehen.

Durch zunehmende industrielle Aktivitäten aller Art sind Partikel-induzierte Lungenerkrankungen in den letzten Jahrzehnten ein ständig wachsendes Arbeitsgebiet von Arbeitsmedizinern und Pneumologen geworden. Eine große Menge an Informationen hinsichtlich makro- und mikroskopischer Pathologie und radiologischer Veränderungen sowie epidemiologischer Befunde nach Belastung mit verschiedensten Stäuben konnte gewonnen werden [17].

Die Belastung mit Partikeln, auch wenn sie beruflich bedingt ist, ist allerdings kaum jemals einheitlich. In der Mehrheit der Belastungssituationen treten Gemische von

Partikeln mit unterschiedlichen physiologische Wirkungen auf. Zur exakten Beschreibung einer pulmonaren Belastungssituation müssen die im Lungengewebe eingelagerten Partikel differenziert werden. Durch Vergleich mit dem ursprünglich eingeatmeten Material lassen sich dann Rückschlüsse auf Transport- und Ausscheidungsmechanismen ziehen. Von zentraler Bedeutung ist hierbei die Aufstellung von Dosis-Wirkungsbeziehungen für eine bestimmte Belastung mit einer bestimmten Sorte von Partikeln. Auf diese Weise lässt sich das Auftreten einer pathologischen Veränderung mit der Belastung einer bestimmten Menge einer bestimmten Sorte von Partikeln in Zusammenhang bringen.

Die Lunge ist ein Organ mit einer uneinheitlichen Erscheinungsweise sowohl in makroskopischer als auch in mikroskopischer Hinsicht. Der vielfältigen Strukturierung entsprechen die Verteilungsmuster von aufgenommenen Schadstoffen. Die Analyse größerer Areale kann daher immer nur die durchschnittliche Belastungssituation in diesem Areal wiedergeben. Punktuelle Belastungen, wie sie speziell durch eingelagerte Partikel entstehen, lassen sich zuverlässig nur durch Analysemethoden mit hoher Ortsauflösung beschreiben.

Zur Charakterisierung der Schadstoffbelastung eines Lungengewebes kommen grundsätzlich drei Vorgehensweisen in Frage. Jede Methode hat spezifische Vor- und Nachteile, so dass letztendlich nur eine Kombination von analytischen Ansätzen eine vollständige Beschreibung der Belastungssituation eines Lungengewebes erlaubt:

- Bestimmung der Stoffgehalte in makroskopischen Arealen (Bulkanalyse)

Hierdurch kann die durchschnittliche Belastung in größeren Arealen (von ganzen Lungen bis hinunter in den Millimeterbereich) ermittelt werden. Die Analyse geschieht durch „konventionelle“ Methoden der (Spuren)analytik (nasschemisch bis hin zu chemisch- physikalischen Methoden). Große Proben liefern zuverlässig repräsentative Werte für die jeweilige Lunge bzw. Substruktur. Aussagen über die räumliche Verteilung von Schadstoffen können nur durch die Analyse entsprechender Proben kleiner Bereiche gewonnen werden. Die Sensitivität (Detektionsgrenze) hängt wesentlich von der angewandten Analysemethoden ab und kann bis in den pg/ g- Bereich gehen. Es werden sowohl homogen verteilte Stoffe als auch in bzw. an Partikel gebundene Stoffe erfasst.

- Bestimmung der Stoffgehalte in extrahierten Partikeln



Nach schonendem Aufschluss ganzer Lungenteile können die übrig gebliebenen Partikel einzeln oder insgesamt analysiert werden. Durch die Analyse einzelner Partikel mit ortsauflösenden Analysenmethoden oder ihrer Gesamtheit mit herkömmlichen Methoden kann ein repräsentativer Überblick über die Belastungssituation im untersuchten Lungengewebe gewonnen werden. Daten über homogen im Gewebe verteilte (z.B. an zelluläre Bestandteile gebundene) Stoffe sind nicht erhältlich. Während des Aufschlusses in Lösung gegangene Partikel werden nicht erfasst. Lokale Gewebeveränderungen durch eingelagerte Partikel bzw. Stoffe können ebenfalls nicht untersucht werden.

- „*In situ*“- Analyse von Lungengewebe und darin eingelagerte Partikel

Die „in situ“- Analyse von Lungengewebe ermöglicht eine Beschreibung und Darstellung kleinräumiger Belastungen des Gewebes mit Fremdstoffen. Da der Zusammenhang zwischen Gewebe und Schadstoff im Idealfall ungestört bleibt, lassen sich Rückschlüsse auf den Zusammenhang zwischen der räumlichen Verteilung von Schadstoffen und der Reaktion des Gewebes ziehen. Damit ergibt sich die Möglichkeit, Dosis-Wirkungsbeziehungen bis hinunter auf die zelluläre Ebene zu studieren, vorausgesetzt, es werden Nachweismethoden mit ausreichend hoher Ortsauflösung eingesetzt.

Für die ortsauflösende „*in situ*“- Analyse von Lungengewebe wurde bisher vor allem die Elektronenstrahl- Mikrosonde („energy dispersive x-ray analysis“ (EDX)) [18, 19] auch in Kombination mit Energiefilternde Transmissionselektronenmikroskopie (EFTEM) [20] mit Erfolg eingesetzt. Vereinzelt kamen auch Ionenmikroskopie bzw. „Secondary Ion Mass Spectrometry Imaging“ [21] und Protonen- bzw. Partikel- induzierte Röntgenspektrometrie (PIXE) [22, 23] zur Anwendung. Weitere potentielle Methoden zur ortsauflösenden Analytik in Lungengewebe sind „Secondary Ion Mass Spectroscopy“ (SIMS), „Laser Microprobe Mass Analysis“ (LMMA) [24], und, in Sonderfällen, die Mikroautoradiographie [25].

Eine Alternative zu den oben genannten Methoden stellt die Röntgenmikrosonde mit Synchrotronstrahlung dar. Sie wurde im Rahmen des Fördervorhabens StSch 4150 entwickelt und prototypisch angewendet wurde in diesem Projekt erstmals routinemäßig zur Bestimmung der orts aufgelösten Elementverteilung in Gewebeproben aus verschiedenen Kompartimenten der Lunge, der Leber und Niere



eingesetzt. Durch Kombination mit Methoden der modernen Spurenanalyse sowie bildgebenden Verfahren wie Röntgen- und Elektronenmikroskopie wurden neuartige Erkenntnisse zur Spurenelement- und Partikelverteilung in Gewebeproben von Uranbergarbeitern erhalten.

### **3 Eingesetzte Methodik**

Die Beantwortung der eingangs genannten Fragestellungen ist nur durch den Einsatz vernetzter, optimal auf das Probenmaterial und die Beantwortung der komplexen wissenschaftlichen Fragestellungen abgestimmten analytischen Verfahren möglich. Im Rahmen des Projekts wurden neben der Röntgenmikrosonde unter Anwendung von Synchrotronstrahlung, die an zentraler Stelle für die Bestimmung der lokalen Elementverteilung Anwendung fand, Bulkanalysen mittels ICP-MS durchgeführt. Darüber hinaus wurde mit Hilfe der Röntgen- und Elektronenmikroskopie Informationen zur Partikelverteilung in den Geweben gewonnen. Besondere Sorgfalt wurde auf die Auswahl der Untersuchungsfälle und die Präparation des Probenmaterials gelegt.

#### **3.1 *Beschreibung der untersuchten Proben***

Wesentlich ist die Auswahl und Dokumentation der untersuchten Proben. Will man den Zusammenhang zwischen der Höhe der Elementkonzentration und der Intensität der Belastung aufdecken, müssen die zu untersuchenden Gewebeproben berufsanamnetisch gut dokumentierten Fällen entstammen, zu denen Informationen zur Belastungshistorie vorliegen. Die Auswahl der Fälle erfolgte deshalb in Zusammenarbeit mit der Hauptverband der Berufsgenossenschaftlichen Versicherungen (HVBG) und dem Besitzer der Proben, dem Bundesamt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin (BfA), die die Proben für die Untersuchung sowie die berufsanamnetischen Informationen zur Verfügung stellten und gleichzeitig Empfehlungen zur Auswahl der Fälle gaben. Die Probenübergabe erfolgte durch das Krebsforschungszentrum Heidelberg, wo das pathologische Archiv des Wismuts sich zu Projektbeginn befand. Durch den Projektpartner, das Pathologische Institut des

Universitätsklinikums Bergmannsheil Bochum wurden die Proben für die Messungen vorbereitet sowie histologisch sowie pathologisch dokumentiert.

### 3.1.1 Fälle und Berufsanamnesen

Tabelle 3 zeigt eine Zusammenstellung der untersuchten Fälle.

Für die Fälle der lfd. Nummern 1 bis 4 standen ganze Lungen zur Verfügung, denen Proben aus verschiedenen Bereichen (Alveolargewebe der verschiedenen Lungenlappen, Lymphknoten, Pleura viscelaris, Pleura parientalis, Bronchus etc.) der Lunge entnommen wurden und für die Untersuchungen bereit gestellt. Die Fälle der lfd. Nummern 5 bis 17 entstammen der im Auftrag des BfA durchgeführten „Leberstudie“, für die ausschließlich parafingebettete Gewebeblöcke von Alveolargewebe, Lymphknoten, Leber und z.T auch Niere im Archiv vorhanden waren.

Die Proben mit der Bezeichnung S 190/03 entstammen einem Fall, bei dem keine beruflich bedingte Staubbelastung vorhanden war, während die Proben S 355/04 einem Fall entnommen wurden, der zwar im Bergbau tätig war, jedoch nicht im Uranbergbau.

Tabelle 3: Zusammenstellung der untersuchten Fälle mit den abgeschätzten Belastungen.

Lfd. Nr.	Nr. Wismutarchiv	Nr. Pathologie Bochum	Tätigkeit	Belastung [WLM]
1	n.bekannt	W623/02	Hauer, Schießmeister	1700-1800
2	S 88-94	W1725/02	Hauer, Schießmeister	1400-1500
3	S 85-94	W2084/02	Hauer, Radiometrist	900-1000
4	S 111-94	W2083/02	Maschinist, Signalist	100-150
5	S 034-90	W204/03	Hauer, Steiger	2000-2100
6	S 550-89	W205/03	Zimmerling, Hauer	2000-2100
7	S 231-87	W2212/03	Fördermann, Hauer	1600-1700
8	S 182-87	W201/03	Arb. Grub.unterh.; Hauer	1500-1600
9	S 698-89	W203/03	Hauer, Sprengmittelversorger	1500-1600
10	S 281-90	W2216/03	Fördermann, Lokbegleiter	1200-1300
11	S 822-90	W2214/03	Lokfahrer (ü.T), Hauer	1000-1100
12	S 035-90	W2211/03	Markscheiderarb., Hauer	1000-1100
13	S 307-88	W2210/03	Fördermann, Hauer	850-900
14	S 894-90	W2213/03	Fördermann, Zimmerling	800-900
15	S 559-90	W202/03	Fördermann, Hauer	700-800
16	S 092-91	W2209/03	Lehrhauer, Zimmerling	650-700
17	S 329-90	W2215/03	Transportarb. (u.T.), Zimmerling	450-500
18	S 190-03	W2217/03	Kein Hinweis auf Belastung mit Stäuben	k.A.
19	S 355-04		Bergarbeiter, nicht Uranbergbau	k.A.

Die Belastung wird in Working Level Month angegeben. Das Working Level ergibt sich aus der Kombination der kurzlebigen Radonzerfallsprodukte in einem Liter Luft, die in einer ultimativen Emission von  $1.30 \times 10^5$  MeV potentieller Alphapartikelenergie resultiert. Für  $^{220}\text{Rn}$  Töchternuklide stehen  $^{216}\text{Po}$ ,  $^{212}\text{Pb}$ ,  $^{212}\text{Bi}$  und  $^{212}\text{Po}$ . Für  $^{222}\text{Rn}$  Töchter: die Nuklide  $^{218}\text{Po}$ ,  $^{214}\text{Pb}$ ,  $^{214}\text{Bi}$  und  $^{214}\text{Po}$ .

Ein Working Level Month entspricht der Exposition gegenüber einem Working Level von 170 h. Die Daten wurden durch die den HVBG und das BAUA zur Verfügung gestellt. Die Höhe der angegebenen individuellen Belastung wurde retrospektiv abgeleitet.

### 3.1.2 Probenpräparation

Die Probenpräparation für die orts aufgelösten Untersuchungen erfolgte in Zusammenarbeit mit dem Klinikum Bergmannsheil Bochum, wo die Gewebeproben auch histologisch begutachtet wurden. Von den paraffingebetteten Gewebeproben wurden vor Ort 10µm dicke Schnitte präpariert, die sofort auf den Probenträgern fixiert wurden. Bei Verwendung von Ga als quasi-internem Standardelement befand sich der Standard bereits auf dem Probenträger und die Probe wurde darüber geschichtet. Auf diese Weise wurden die im März und August 2002 gemessenen Proben hergestellt. Bei der Verwendung von Ge als quasi-internem Standardelement (Messungen im September 2002, im Januar und Juli 2003 sowie im Februar 2004) wurde die Probe auf eine leere Folie präpariert, deren Unterseite im Nachhinein mit dem Standardelement besputtert wurde.

Für die Bulkuntersuchungen wurden aus den ganzen Organen durch Mitarbeiter des DKFZ bzw. der Klinikums Bergmannsheil Gewebestücke entnommen und in Formaldehyd gelagert zur Verfügung gestellt.

### **3.2 Histologische Befundung**

Um eine Beziehung zwischen dem Zustand des Gewebes und den Elementgehalten herstellen zu können, wurden alle zu untersuchenden Proben pathologisch begutachtet und histologisch charakterisiert.

Die histologischen Befunde wurden durch den Projektpartner, dem Pathologischen Institut des Klinikums Bergmannsheil Bochum erstellt. Dazu wurden gefärbte Dünnschnitte lichtmikroskopisch dargestellt und fachgerecht begutachtet. Bereiche erhöhter Eisenanteile im Staub wurden mit Hilfe der Berlinerblaureaktion sichtbar gemacht, während Bereiche mit erhöhtem Quarzanteil im Mischstaub in der polarisationsoptischen Darstellung deutlich wurden.

Während gemeinsamer Besprechungen wurden Areale für die Untersuchung mittels hoch auflösender Röntgenmikrosonde ausgewählt.

Die histologischen Beschreibungen der untersuchten Proben wurden dem Projektträger übersandt und sind im Anhang zusammengestellt.

### **3.3 Bestimmung der Schwermetallverteilung in Gewebeproben mit Hilfe der Röntgenmikrosonde**

Die Bestimmung von Spurenelementverteilungen in biologischen Matrices ist nach wie vor ein schwieriges und herausforderndes analytisches Problem. Niedrige Konzentrationen vieler Elemente müssen in Gegenwart hoher Gehalte von Matrixelementen wie Wasserstoff, Kohlenstoff, Sauerstoff und Stickstoff bestimmt werden. Die Proben sind in weiten Bereichen sehr heterogen. Das Probenmaterial enthält zudem große Mengen an Feuchtigkeit, die eine exakte Bestimmung von Konzentrationen beeinflusst und oftmals vor der Analyse entfernt werden muss.

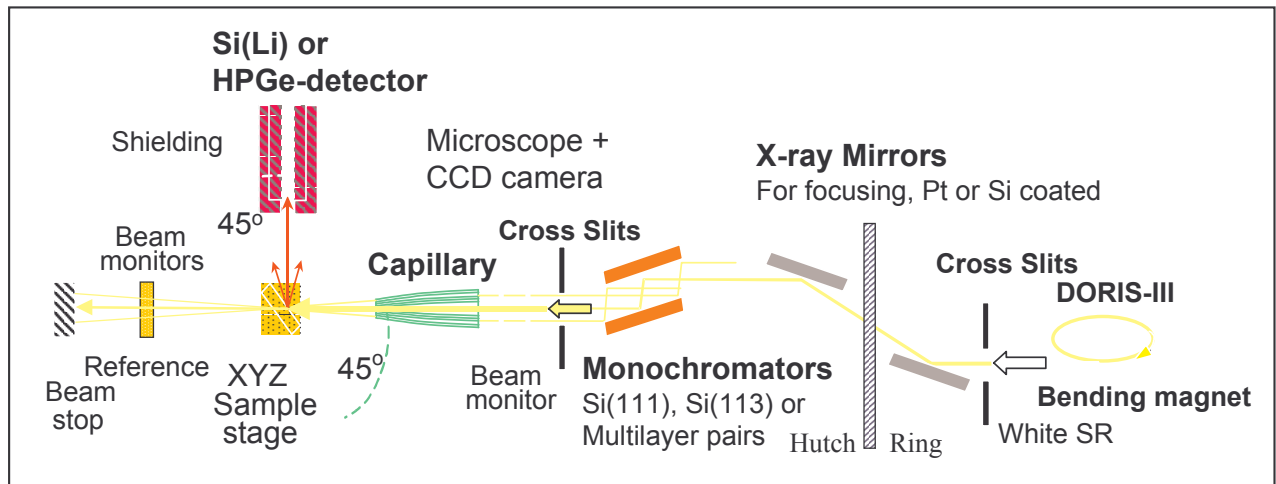
Die Haupteinsatzgebiete der Röntgenfluoreszenzanalyse (RFA) in ihrer klassischen Form sind nach wie vor die Materialwissenschaften. Die Entwicklung neuerer Varianten tangiert aber auch die Analytik biologischer Proben. Zu nennen sind hier die Röntgenfluoreszenzanalyse mit totalreflektierendem Probenträger (TRFA) für die Analyse von Aufschlusslösungen und Gewebedünnschnitten [30] sowie die Röntgenmikrosonde mit Synchrotronstrahlung. Als typische Multielementmethode erlaubt die Röntgenfluoreszenzanalyse die simultane Bestimmung einer großen Anzahl von Elementen während einer einzigen Messung. Die Röntgenmikrosonde verbindet darüber hinaus die Vorteile der klassischen Röntgenfluoreszenzanalyse (Zerstörungsfreiheit und einfache Handhabung ohne Notwendigkeit einer aufwendigen Probenvorbereitung) mit der Möglichkeit, die Elementverteilung in einer Probe bis in den Mikrometerbereich zu bestimmen.

#### **3.3.1 Die Röntgenmikrosonde am Strahl L des HASYLAB**

Die Abbildung 2 zeigt den Messplatz am Strahl L des HASYLAB, der für die vorliegenden Messungen eingesetzt wurde.

DORIS III erzeugt polychromatische Synchrotronstrahlung. Der in die Hütte eintretende Strahl kann entweder nach Kollimierung mit Hilfe von Spiegel- und Blendensysteme direkt zur Messung genutzt werden. Für bestimmte Fragestellungen ist die Verwendung von Strahlung eines begrenzten Energiebandes notwendig, die mit Hilfe von Monochromatoren erhalten wird. Am Strahl L stehen zwei Typen von Monochromatoren (Si 1,1,1 bzw. Si 1,1,3 und Multilayer) zur Verfügung. Letzterer wurde bei den Messungen eingesetzt.

Die weitere Fokussierung des Strahls erfolgt mit Hilfe von Kapillarlinsen: elliptische Bleigaskapillaren und Polykapillarlinsen, die auf einen XYZ-Hexapod gelagert sind.



□Abbildung 2: Messplatz am Strahl L des HASYLAB

Der fokussierte Strahl trifft im Winkel von  $45^\circ$  auf die Probe, die auf einem in X-Y- und Z-Richtung beweglichen Probenstisch montiert ist. Mit seiner Hilfe wird die Probe bei den Messungen unter dem Strahl bewegt. Ein Si- bzw. HPGe-Detektor ist im Winkel von  $90^\circ$  in Bezug auf den einfallenden Strahl angeordnet und registriert die Signale. Die eingezeichnete CCD-Kamera dient der Dokumentation der Messung.

Im Rahmen des Projekts wurden zwei verschiedene Messplatzkonstellationen eingesetzt:

- Anregung durch polychromatische Strahlung und Fokussierung durch eine bleihaltige Monokapillare Nr. 160600 (Gainfaktor 50, Fokus  $10 \times 10 \mu\text{m}$ )  
Dieser Aufbau wurde im Rahmen des Vorgängerprojekts etabliert.
- Anregung durch monochromatische Strahlung (Multilayermonochromator 19,9 keV) und Fokussierung mit Hilfe einer Polykapillare Fa. XOS (Gainfaktor: 2000, Fokus  $14 \times 14 \mu\text{m}$ )

Dieser Aufbau wurde durch die Beschaffung einer Polykapillare aus Projektmitteln des jetzt abgeschlossenen Projekts und die Weiterentwicklung des Messplatzes durch die Etablierung des Monochromatorsystems im Jahr 2002 sowie die Ausrüstung des Messplatzes mit einem digitalen Signalprozessor realisiert.

### 3.3.2 Methodische Entwicklungen

Die im Projekt durchgeführten methodischen Entwicklungen waren auf die Verbesserung der internen Standardisierung, der Fokussierung des anregenden Strahls sowie der Signaldetektion ausgerichtet. Um eine Verbesserung der Anregungsbedingungen zu erreichen, wurde aus Projektmitteln eine Polykapillare (Fa. XOS) beschafft. Ein wesentliches Problem der bisherigen Quantifizierung der Elementkonzentrationen mittels Röntgenmikrosonde war die gleichmäßige Verteilung des internen Standardelements und die Präparation der das Standardelement tragenden Kunststoffolien. Die Arbeiten des abgeschlossenen Projekts zielten deshalb auch auf eine Verbesserung der quasi-internen Standardisierung. Weiterhin führte die Etablierung eines neuen aus Projektmitteln beschafften HPGe-Detektors zu einer Verbesserung der Signalauflösung.

#### *3.3.2.1 Entwicklung einer neuartigen Methode zur internen Standardisierung*

Ein Ziel der Mikrostrahl-Röntgenspektroskopie ist die Quantifizierung von Spurenelementkonzentrationen unter Berücksichtigung der Probenmatrix. In vielen Anwendungen der  $\mu$ -XRF, insbesondere bei der Untersuchung biologischen Materials, ist die Dichte der Probe im  $\mu\text{m}$ -Bereich nicht homogen, so dass eine präzise Bestimmung der Darkmatter und der Oberflächenbeladung unmöglich ist.

Die Quantifizierung mit Bezug auf ein internes Element ist der beste Weg der Quantifizierung. Allerdings ist in solch heterogenen Materialien in der Regel kein Element gleichmäßig verteilt und eine Zufügung des internen Standards durch die Zugabe einer Flüssigkeit oder Abscheidung aus der Gasphase nicht möglich. Die Arbeit auf dünnen Filmen ermöglicht es, eine Probe auf einen anderen Film mit bekannten Bestandteilen zu präparieren. Damit hängen die Fluoreszenzsignale dieser Bestandteile von der spezifischen Probenmatrix ab. Durch Anwendung eines Auswerteprogramms, das gelayerte Materialien betrachten kann, wird die Analyse der Probe noch genauer. Idealerweise besteht die Folie aus einem Element, das in der Probe nicht enthalten und in einer nicht streuenden Matrix gleichmäßig verteilt ist.

Dabei muss die Folie folgende Spezifikationen aufweisen:

- gleichmäßige Verteilung eines Standardelements
- Hohe Reinheit des Folienmaterials
- Reproduzierbare Präparierbarkeit der Folien
- Keine spektrale Überlappung des Fluoreszenzsignals des Standardelements mit anderen Elementen der Probe

Für die Präparation dieser Folien gibt es zwei Möglichkeiten:

- Einlagerung eines Standardelements (Ga) in die Kunststoffmatrix der Folie [26].
- Aufbringen eines Elements auf geeignetes Folienmaterial beispielsweise durch Sputtern.

In der Vergangenheit wurden deshalb Versuche unternommen, das Standardelement in Form einer unter die Probe gelegten Elementfolie zu fixieren [26, 30]. Dabei ist das als Referenzelement verwendete Ga in Folie selbst enthalten. Die Standardfolien aus Polyacrylat wurden selbst hergestellt, wobei Ga-Sulfat der Acrylatmasse zugegeben und durch Rühren gleichmäßig verteilt wurde. Die Verteilung wurde infolge der Aushärtung fixiert.

Eine andere Möglichkeit ist die Aufbringung eines Standardelements auf eine geeignete Trägerfolie. Dies kann beispielsweise durch Sputtern erfolgen. Diese Methode wurde im Rahmen des laufenden Projekts entwickelt und evaluiert. Als Standardelement wurde das in der Probe nicht bzw. nur in sehr geringen Konzentrationen enthaltene Germanium verwendet.

Für das Sputtern wurde eine Baltec SCD 050 System mit einer Dicke von 1/8 Inch und einem Durchmesser von 2 Inch mit einem Germaniumtarget (99% Reinheit) benutzt. Damit wurde der Standard direkt auf eine 2 µm Polycarbonatfolie, die auf einem Aluminiumhalter mit einem Lochdurchmesser 2,5 cm fixiert war, aufgebracht. Gesputtert wurde 90 s mit einem Strom von 30 mA und einem Argondruck von 0.11 bar.

Die Homogenität der Germaniumfolien wurde an der HASYLAB-Beamline L untersucht. Dazu wurden auf verschiedene Folien Line- und Areascans ausgeführt, die unterschiedlich große Areale umfassten. Gearbeitet wurde mit weißer Anregung und Fokussierung mit einer Monokapillare.



Die aufgenommenen Germanium-K $\alpha$ -peaks wurden nach Korrelation mit dem Dorisstrom und Untergrundsubtraktion integriert.

Die Ergebnisse sind in den Abbildungen 3 bis 5 zusammengefasst.

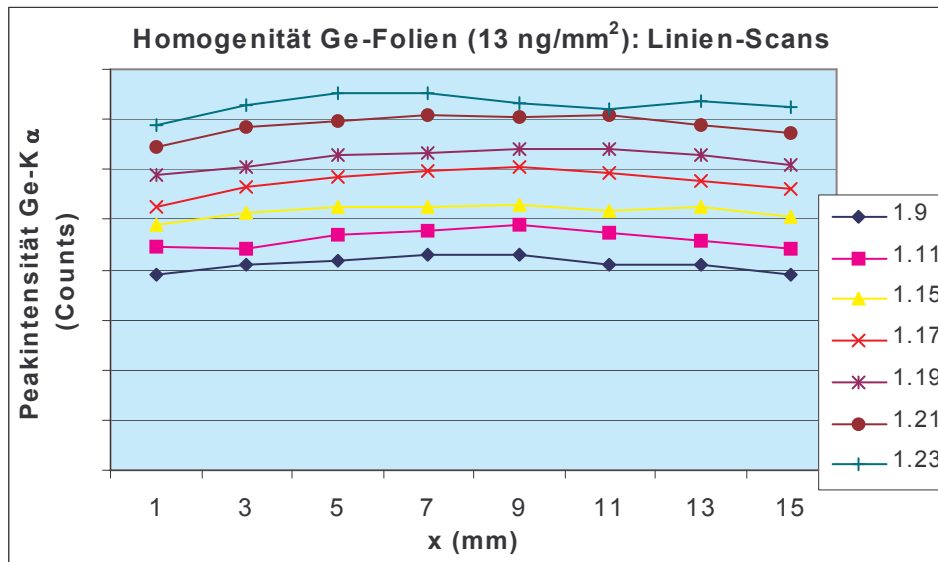


Abbildung 3: Ergebnisse von Linescans für 7 unterschiedliche Folien.

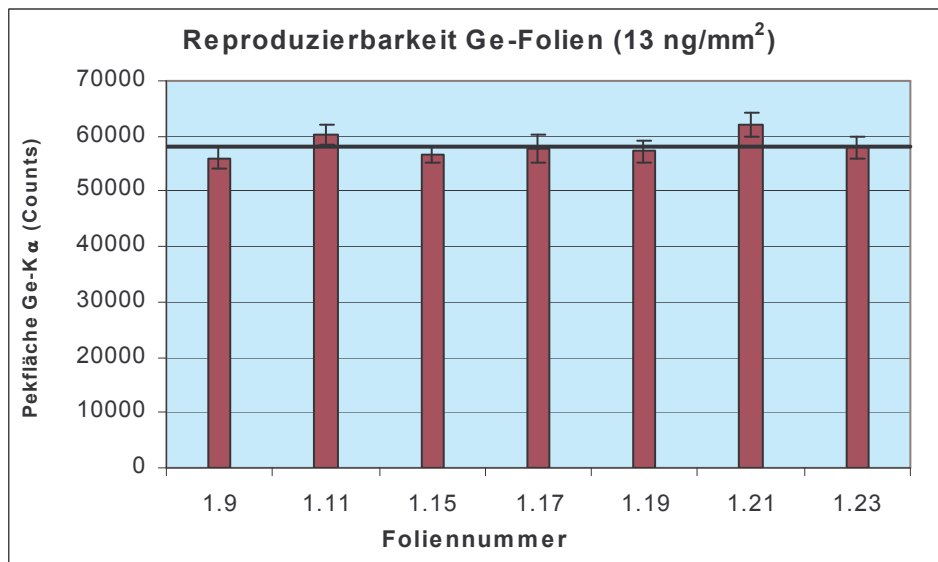


Abbildung 4: Mittelwerte der Ge-K $\alpha$ -Peakflächen der Linescans, dargestellter Fehler: Standardabweichung, Dicke Linie: Mittelwert = 58181 counts.

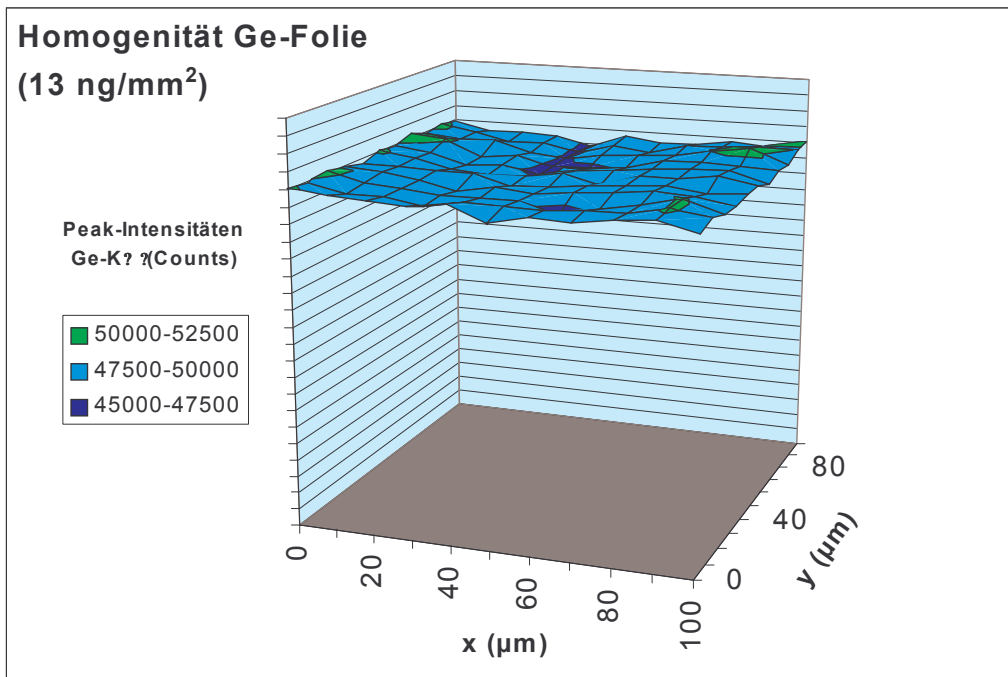


Abbildung 5: Ergebnisse eines Flächenscans auf einer Germaniumfolie, Darstellung der Flächen der Ge-K $\alpha$ -Peaks.

Die Mittelwerte der Ge-K $\alpha$ -Peakflächen der Linescans zeigen relative Standardabweichungen zwischen 2.27 und 4.94 % mit einem Mittelwert von 3.41 %. Die relativen Standardabweichungen der Flächenscans lagen zwischen 1.41 und 1.80 % mit einem Mittelwert von 1.55 %. Die Standardabweichung der Mittelwerte verschiedener Folien betragen 3.6 % bei Linescans und 2.3 % bei Flächenscans.

Mit der neu entwickelten Methode der quasi-internen Standardisierung werden reproduzierbar, sehr homogene Standardfolien gewonnen. Durch die neuartige Folienfixierung auf einem Aluminiumträger wird zudem eine größere analysierbare Fläche von einem Durchmesser von 2.5 cm erhalten, auf die die Gewebedünnschnitte vollständig aufgebracht werden können. Außerdem ist die Trägerfläche für die Probe weitaus planer als bei der bislang etablierten Methode. Die Probenpräparation, von der die Messung in starkem Maße abhängt, wird damit insgesamt erheblich erleichtert. Die Methode wurde erstmals während der Messzeit vom September 2002 eingesetzt und validiert. Alle nachfolgenden Messungen wurden mit Ge als internem Standard durchgeführt.

### *3.3.2.2 Verbesserung des Nachweisvermögens durch den Einsatz einer Polykapillare in Verbindung mit monochromatischer Anregung*

Neben der Weiterentwicklung der internen Standardisierung wurden Verbesserungen bei der Anregungsoptik vorgenommen. Dazu wurde aus Projektmitteln eine Polykapillare beschafft, die zur Strahlfokussierung eingesetzt wurde. Dadurch war es möglich, mit monochromatischer Strahlung zu arbeiten, die es erlaubt, bestimmte Elemente gezielt anzuregen.

Eine Polykapillare besteht aus einer Vielzahl von hohlen Glasfäden / Kapillaren. Durch wiederholte Totalreflexion an den inneren Wänden der einzelnen Kapillaren wird der Strahl durch die Optik geleitet. Durch die in Richtung eines einfachen Brennpunkts außerhalb der Optik gebeugten Kapillaren, werden die Photonen während der Passage fokussiert [27, 28]. Polykapillaren sind für Energiebereiche von 2 bis 30 keV geeignet. Bei niedrigeren Energien wird der Arbeitsbereich durch signifikante Absorption in Luft und Glas behindert, bei höheren Energien lässt sich der Strahl schlecht fokussieren. Sie weisen eine Reihe von Vorteilen auf. Der gut definierte Fokus liegt typischerweise einige mm außerhalb der Kapillare, so dass ein ausreichender Abstand zwischen Probe und Kapillarausgang gewährleistet ist. Die kompakte Gestalt dieser Optiken erleichtert das Arbeiten. Besonders vorteilhaft ist die relativ große Eingangsöffnung der Kapillare von mehreren Quadratmillimetern Größe, wodurch ein großer Anteil der Photonen aus dem Querschnitt des eintretenden Strahls eingefangen und fokussiert wird, was sich in einem hohen Gainfaktor niederschlägt. Die Verstärkung der Flussintensität ist derart hoch, dass in Kombination mit geeigneten Synchrotronquellen der 2. Generation sogar  $\mu$ -XANES Messungen möglich sind [30].

## Charakteristika der Kapillare

Im Rahmen des Projekts wurde eine Polykapillare der Firma X-Ray Optical Systems (XOS) (Albany, NY, USA) beschafft und eingesetzt. Das Auflösungsvermögen einer Kapillare wird durch ihren Fokus bestimmt, die Verstärkung des in die Kapillare eintretenden Strahles ist abhängig vom Gainfaktor. Beide Parameter wurden zunächst ermittelt.

Zur Charakterisierung des Fokus wurde bei 17.5 keV ein vertikaler Scan über einen Wolframdraht von 4  $\mu\text{m}$  Durchmesser aufgenommen. Die Schrittweite betrug 0.5  $\mu\text{m}$  und Messzeit pro Punkt 3 s. Gemessen wurde der W-L $\alpha$ -Fluoreszenzintensität. Die Ergebnisse wurden mit Axil gefittet und gegen die Totzeit normiert.

Abbildung 6 zeigt die gemessenen W-L $\alpha$ -Intensitäten aufgetragen gegen den Ort der Messung. Aus dem Gaussfit (rote Kurve) und der Halbwertsbreite (FWHM) wurde der Fokusbereich abgeleitet. Er beträgt 14.2  $\mu\text{m}$ .

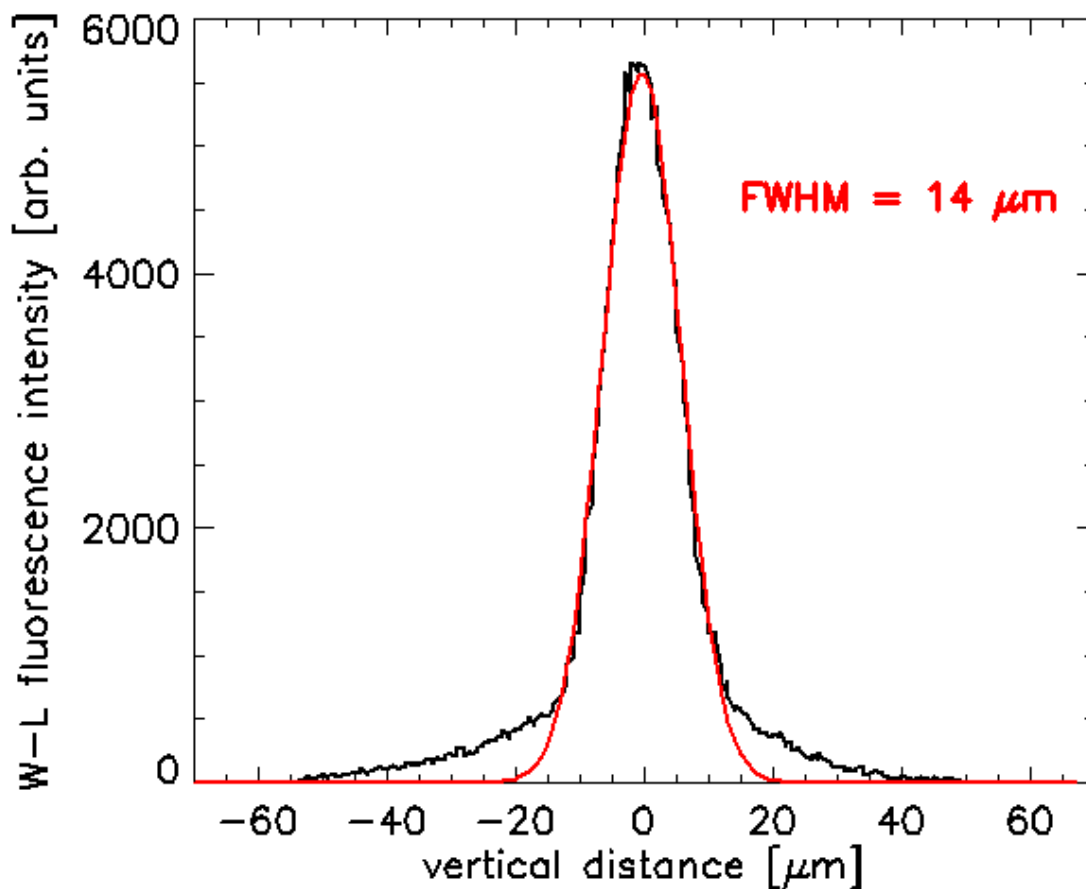


Abbildung 6: Korrigierte W-L-Intensitäten aufgetragen gegen den Abstand des Messpunktes vom Wolframdraht. Rote Kurve Gaussfit zur Ableitung der Fokusgröße.

Der Gainfaktor, der den Zuwachs an Flussintensität durch die Fokussierung beschreibt, wurde unter Berücksichtigung Transmissionseffektivität, der Eintrittsfläche und des Brennpunktquerschnitt ermittelt. Er ist abhängig von der Anregungsenergie und variiert in dem von uns für die Messungen verwendeten Energiebereich (17-21 KeV) zwischen 1500 und 2000.

Damit ist die beschaffte Kapillare ein hoch effektives Instrument zur Fokussierung der Strahlung. Der Einsatz der Polykapillare in Verbindung mit monochromatischer Anregung weist im Vergleich zum etablierten Einsatz einer Monokapillare aus Bleiglas in Kombination mit polychromatischer Anregung (s. Ergebnisbericht Fördervorhaben StSch 4150) folgende Vorteile:

- Reduzierung des Untergrunds

- Abstimmung der Anregungsenergie im Energiebereich <30 keV auf besonders interessierende Elemente
- Eliminierung der durch das Bleiglas verursachten Bleiliniem im Spektrum 29

Alles zusammen führte gegenüber der Messung mit polychromatischer Anregung und elliptischer Bleiglaskapillare zur Verbesserung des Nachweisvermögens.

Allerdings geht die Verwendung der Polykapillare zu Lasten der Multielementfähigkeit, da nur mit Anregungsenergien bis ca. 20 keV gearbeitet werden kann.

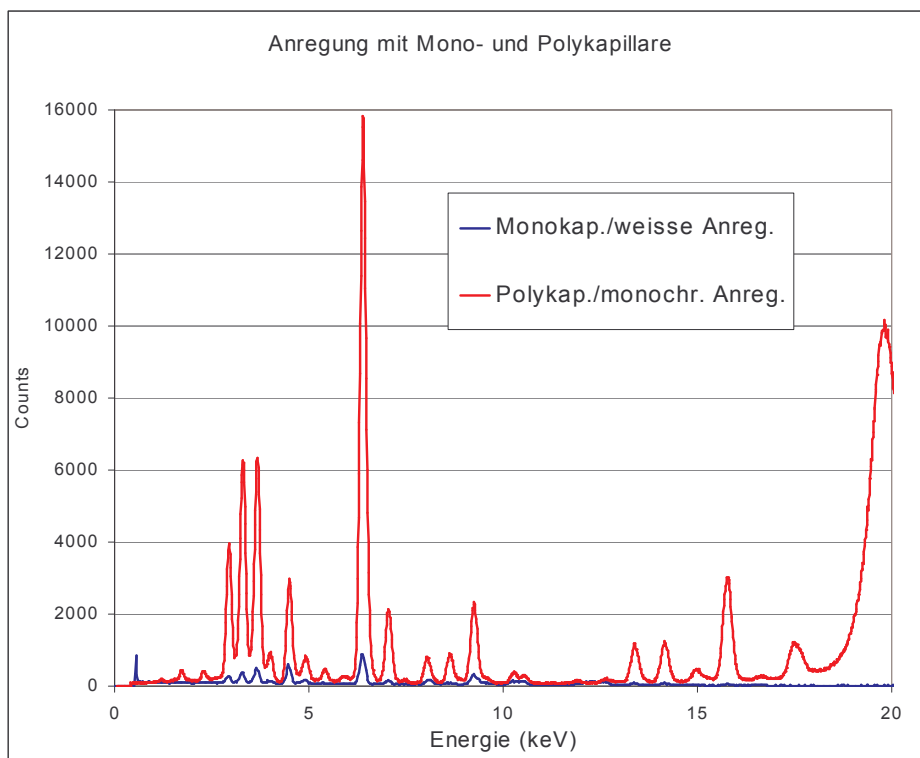


Abbildung 7: Gegenüberstellung der mit unterschiedlichen Anregungsbedingungen aufgenommenen Röntgenspektren. Probe W1725 6.

Abbildung 7 zeigt die Gegenüberstellung der mit den unterschiedlichen Anregungsbedingungen ermittelten Nachweisgrenzen, die nach folgender Formel berechnet wurden:

$$NWG = c \frac{3\sqrt{U}}{P}$$

NWG	Nachweisgrenze für ein Element
c	Konzentration des Elements in der Probe
P	Zählereignisse im Fluoreszenzpeak
U	Zählereignisse im Untergrund (unterhalb des Fluoreszenzpeaks)

Für jedes Spektrum wird eine separate Nachweisgrenze ermittelt, die entscheidend von der am jeweiligen Messpunkt vorliegende Matrix abhängt. Deshalb sind für Nachweisgrenzen der einzelnen Scans Ranges angegeben. Bezogen auf die Minima wurde durch den Einsatz der Polykapillare eine Verbesserung um den Faktor 1.7 (Zr) bis 10 (Cr) erreicht. Auch bei Uran und Arsen wurde das Nachweisvermögen entscheidend um den Faktor 2 bzw. 6 verbessert.

Tabelle 4: Gegenüberstellung der Nachweisgrenzen der Röntgenmikrosonde ermittelt mit Monokapillare und polychromatischer Anregung sowie Polykapillare und monochromatischer Anregung. Probe 1725 6b, Lymphknoten. Anzahl der Messungen pro Scan 195. Berechneter Verbesserungsfaktor bezogen auf Minima.

	Monocapillary		Polycapillary		Improvement (Factor ref. to min.)
	Maximum	Minimum	Maximum	Minimum	
<b>Ti</b>	110,7	30,0	52,4	6,0	5,0
<b>V</b>	63,3	20,0	18,8	4,0	5,0
<b>Cr</b>	42,0	12,4	5,4	1,3	9,5
<b>Mn</b>	33,4	12,2	4,8	2,3	5,3
<b>Fe</b>	22,7	3,6	8,7	1,7	2,1
<b>Co</b>	19,9	3,1	3,1	1,5	2,1
<b>Ni</b>	16,6	2,3	2,6	0,6	3,8
<b>Cu</b>	8,2	2,0	1,4	0,5	4,0
<b>Zn</b>	10,3	2,1	1,6	0,5	4,2
<b>As*</b>	22,0	15,0	9,1	7,0	2,1
<b>Br</b>	8,1	2,0	1,3	0,5	4,0
<b>Rb</b>	20,2	3,5	3,9	1,0	3,5
<b>Sr</b>	6,9	1,3	2,2	0,8	1,6
<b>Y</b>	9,1	1,1	1,5	0,4	2,8
<b>Zr</b>	6,9	0,5	1,6	0,3	1,7
<b>U*</b>	3,6	3,0	1,0	0,5	6,0

### 3.3.3 Messbedingungen

Im Rahmen der Projektlaufzeit wurden am Strahl L des HASYLAB im März 2002, im August 2002, im September 2002, im Januar 2003 im Juli 2003 sowie im Februar 2004 insgesamt 6 Messzeiten durchgeführt. Während dieser Messzeiten wurden die in Bochum präparierten Dünnschnitte auf ihre Elementverteilung untersucht. Dabei wurde in Abhängigkeit von der Verfügbarkeit der Polykapillare (Sie wurde erst im Verlauf des Jahres 2002 beschafft und stand für die Messzeit im September 2002 erstmals zur Verfügung.) mit folgenden Messplatzkonstellationen gearbeitet:

- Anregung: Polychromatische Strahlung

Kapillare: Monokapillare Nr. 160600 (Gainfaktor 50, Fokus 10x10  $\mu\text{m}$ )

Messzeit/Pixel (Spektrum): 360 s

Signalverarbeitung: AP

Dieser Aufbau wurde im Rahmen des Vorgängerprojekts etabliert und für die Messzeiten im Mai 2002, im August 2002 sowie im Juli 2003 eingesetzt.

- Anregung: Monochromatische Strahlung (Multilayermonochromator 19,9 keV)

Kapillare: Polykapillare Fa. XOS (Gainfaktor: 2000, Fokus 12x10  $\mu\text{m}$ )

Messzeit/Pixel (Spektrum): 180 s

Signalverarbeitung: DSP

Dieser Aufbau wurde bei allen anderen Messzeiten eingesetzt. Aufgrund des verbesserten Nachweisvermögens infolge des Einsatzes der Polykapillare sowie durch die Etablierung des DSC konnte die Messzeit pro Pixel ab Januar 2003 halbiert werden, wodurch die Aufnahme von mehr als 300 Spektren pro Scan und damit Untersuchung größerer Areale von 300 x300  $\mu\text{m}$  möglich wurde.

Darüber hinaus wurde mit zwei unterschiedlichen Systemen zur quasi-internen Standardisierung gearbeitet. Während der ersten Messzeiten im März und August 2002 wurde mit Ga als quasi-internem Standard gemessen. Bei dieser Methode wird das Standardelement in die unter der Probe montierte Folie eingelagert. Während der Messungen im September 2002, Januar und Juli 2003 sowie im Februar 2004 wurde die im Rahmen des Projekts neu entwickelte Methode eingesetzt, bei Ge als



quasi-interner Standard eingesetzt und auf die die Probe tragende Folie gesputtert wurde.

Für die Untersuchung der lokalen Elementverteilungen wurden sowohl Flächen- als auch Linescans durchgeführt. Insgesamt wurden 100 Einzelproben untersucht, für die mehr als 13000 Einzelspektren aufgenommen und ausgewertet wurden.

### 3.3.4 Auswertung der Messungen und Darstellung der Ergebnisse

Die aufgenommenen Spektren wurden mit Hilfe des Auswerteprogramms Spektran ausgewertet, das auf der Grundlage des Fundamentalparameteransatzes arbeitet.

Einzelheiten sind den Ausführungen in [26] zu entnehmen.

Die für die einzelnen Spektren erhaltenen Daten wurden auf ihre Plausibilität überprüft. Für die gemessenen Scans wurden die statistischen Grundparameter (Anzahl der Messwerte oberhalb der Nachweisgrenze, Minima, Maxima, Mittelwert, Median, Standardabweichung und relative Standardabweichung) berechnet und miteinander verglichen.

Die Messwerte der Flächenscans wurden mit Hilfe der Programms Origin in Form von 3D-Graphiken visualisiert. Für die Linienscans wurden Excelgrafiken erstellt.

### 3.3.5 Ergebnisse

Die Tabellen A1 bis A16 im Anhang zeigen eine Zusammenstellung der für die einzelnen Proben bzw. Fälle ermittelten Gehalte anhand statistischer Parameter.

In den Spektren der verschiedenen Proben wurden folgende Elemente identifiziert:

1. Ca, Fe, Zn, Cu, Sr
2. K, Ti, Rb, Zr, V, (Ba)
3. Cr, Ni, Se, Y, (Eu, Sn, Ag, La, Ce),
4. Mn, U, As

Die Elemente sind in der Reihenfolge ihrer Häufigkeit aufgeführt. Während die unter 1 genannten Elemente in nahezu allen Spektren beobachtet wurden, traten die unter 3 und 4 genannten Elemente nur in einigen Proben bzw. an einzelnen Messpunkten

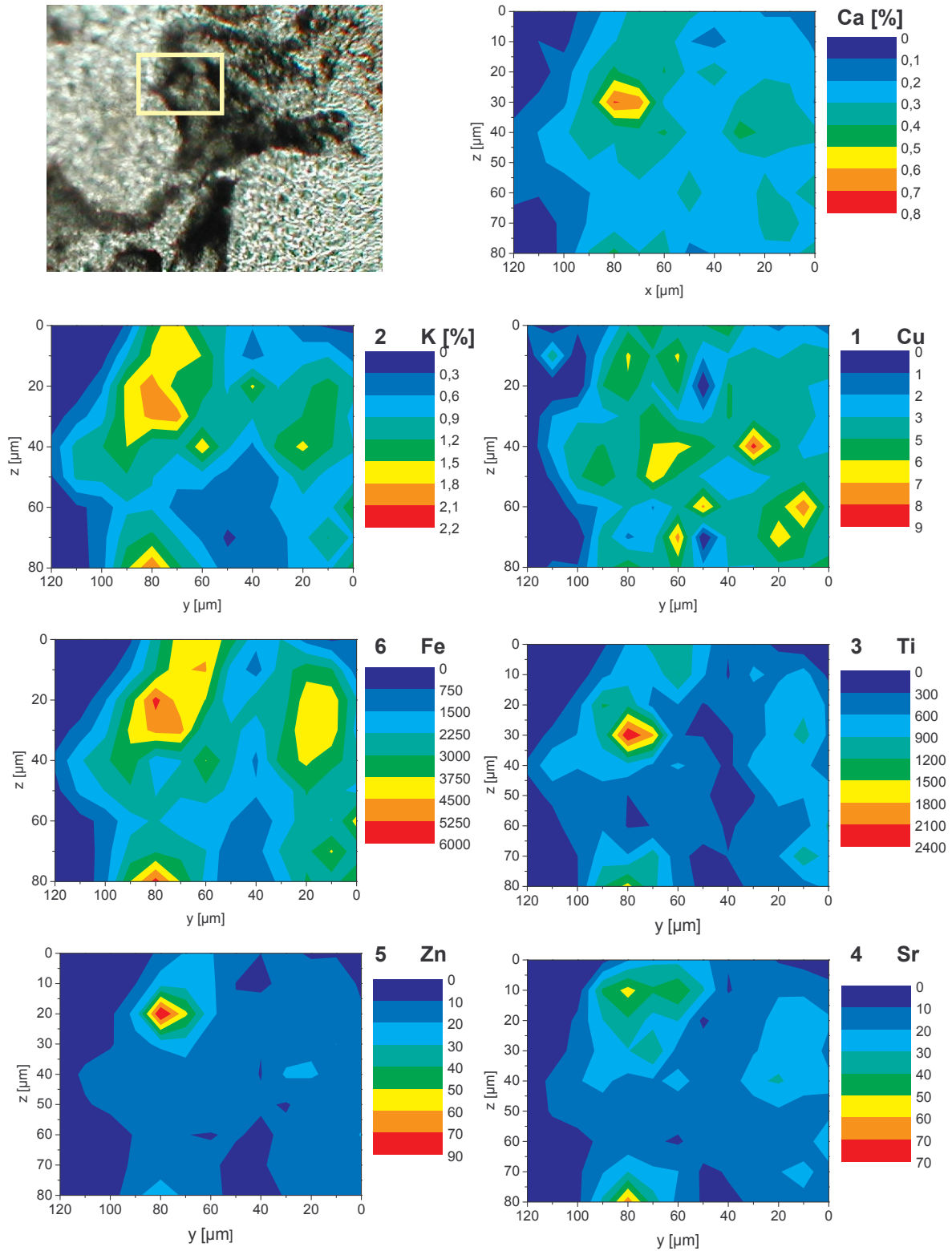
auf. Die Elemente der Gruppe 2 wurden in allen Lungen- und Lymphknotenproben gefunden, jedoch nicht in allen Spektren, während sie in Leber- und Nierenproben fast gar nicht auftraten.

Mit Verwendung der Polykapillare hat sich das Nachweisvermögen für die Elemente Sn, Ag, La, Ce, Y, Nb, Ba verschlechtert, da nur noch die L-Linien angeregt werden.

Die im Anhang aufgeführten Ergebnisse zeigen, dass die Konzentration der Elemente in den einzelnen Geweben sehr unterschiedlich ist, was auf eine inhomogene Verteilung deutet.

Dies wird auch anhand der für die Proben erstellten Verteilungsdiagramme der Elemente deutlich, die in den Abbildungen 7 bis 10 beispielhaft für einige untersuchte Flächen- und Linescans gezeigt ist.

Abbildung 8: Elementverteilung in einem 2D-Flächenscan der Probe LOL des Falls W623/02. 120x80  $\mu\text{m}$ , Auflösung 10 $\mu\text{m}$ , gemessen mit Monokapillare und polychromatischer Anregung. Messzeit 360 s. Interner Standard Ga.



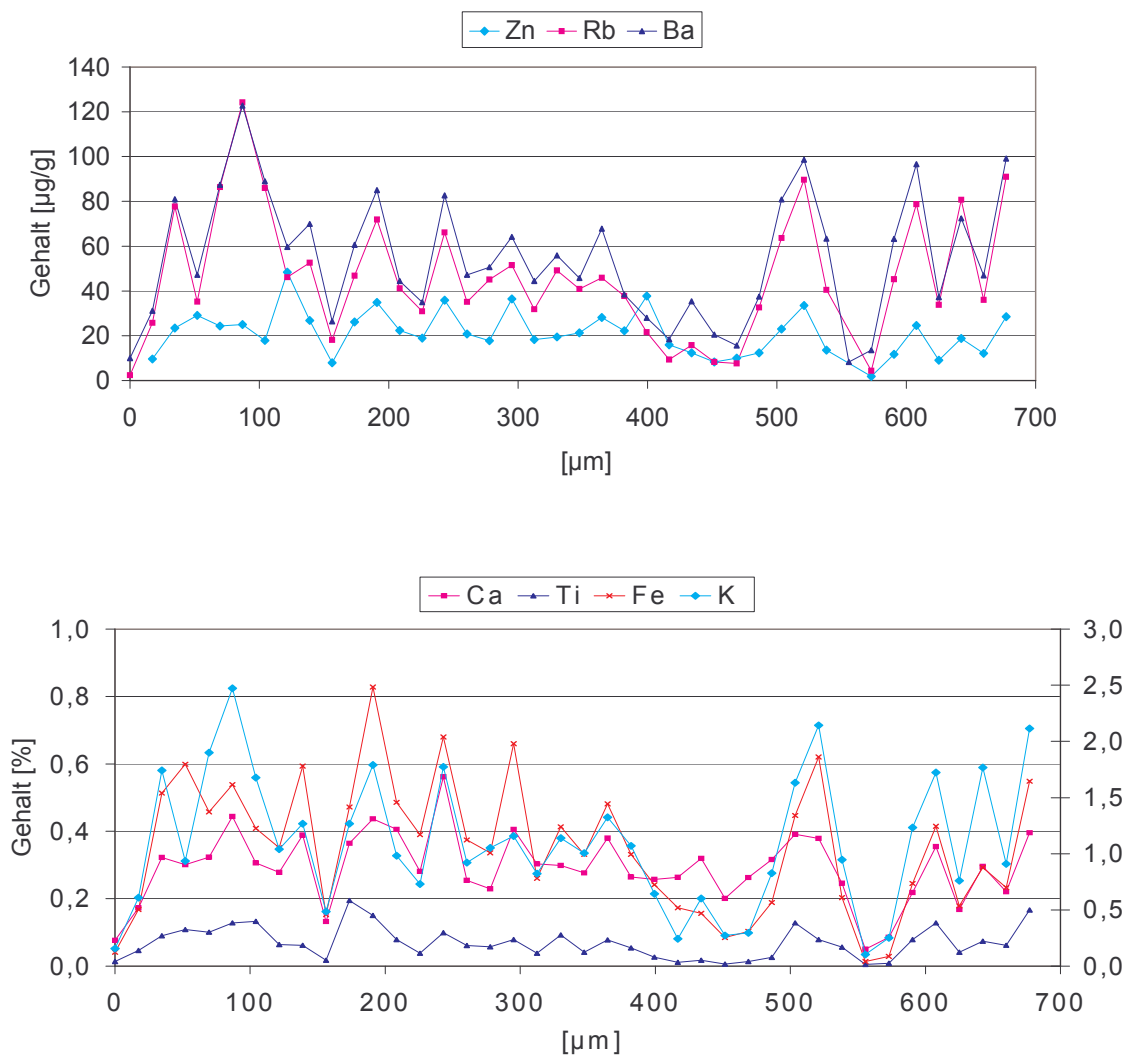
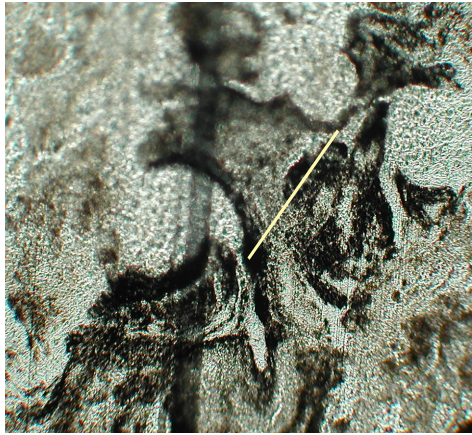


Abbildung 9: Elementverteilung in einem Linescan der Probe LOL (Area 1) des Falls W623/02. 680 µm, 40 Spektren, gemessen mit Monokapillare und polychromatischer Anregung. Messzeit 360 s. Interner Standard Ga.

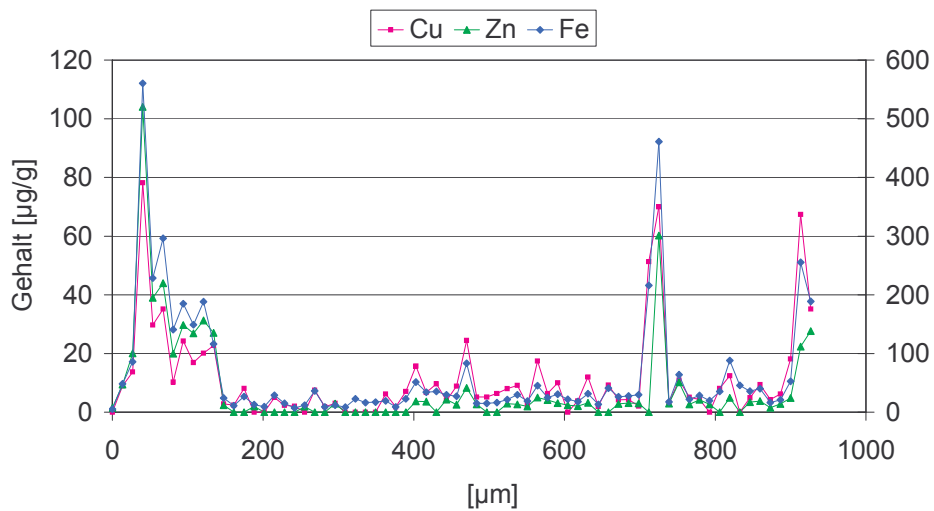
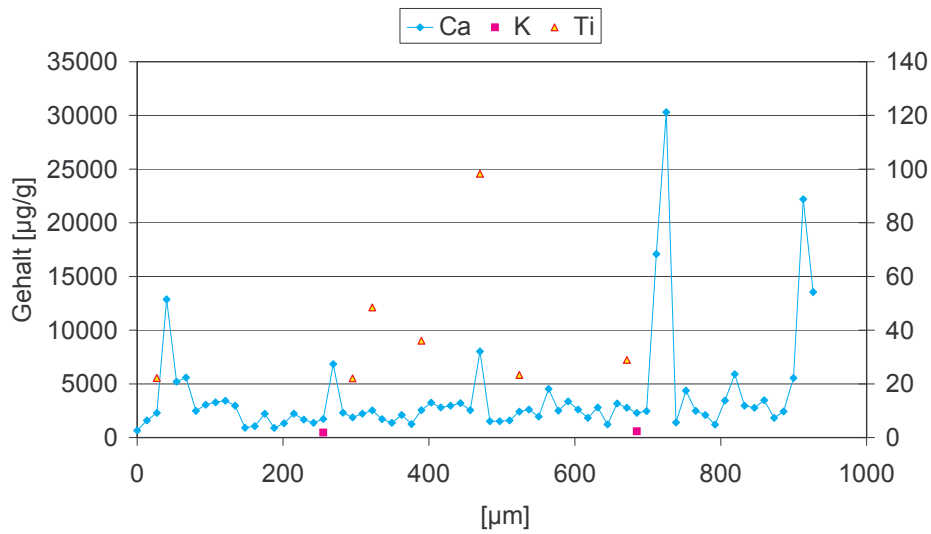
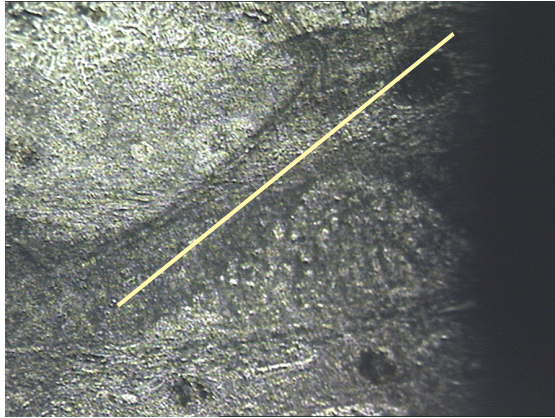
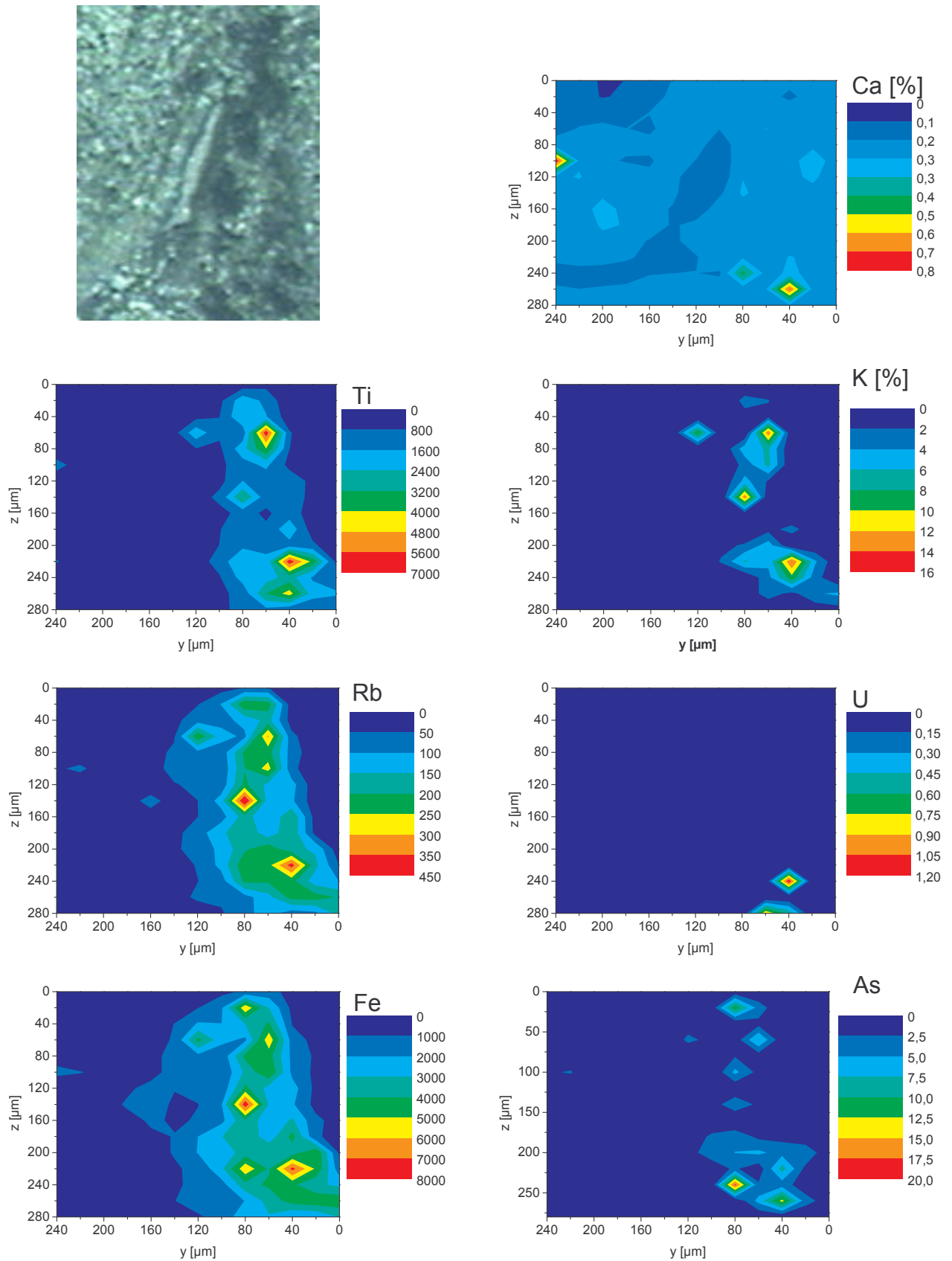


Abbildung 10: Elementverteilung in einem Linescan der Probe LOL (Area 1) des Falls W623/02. 680 μm, 40 Spektren, gemessen mit Monokapillare und polychromatischer Anregung. Messzeit 360 s. Interner Standard Ga.

Abbildung 11: Elementverteilung in einem 2D-Flächenscan der Probe W 2084-02 Pleura viscularis: Fläche: 300 x 260  $\mu\text{m}$  (Auflösung 20  $\mu\text{m}$ ), gemessen mit Polykapillare und monochromatischer Anregung (Multilayer-Monochromator) 19.8 keV, Messzeit 360 s, Interner Standard Ge.



Wie daraus ersichtlich gibt es Unterschiede zwischen den Verteilungsmustern der einzelnen Elemente. Während die Elemente Ca, Zn und Cu eher gleichmäßig auf den Arealen verteilt sind, können für Elemente, wie K, Ti, Rb, Sr aber auch Fe Regionen mit starken Anreicherungen identifiziert werden, die mit der Partikelverteilung in den gemessenen Arealen korrelieren. Dies deutet auf eine starke Partikelassoziation dieser Elemente hin. Arsen und Uran wurden nur an einzelnen Messpunkten in Konzentrationen oberhalb der Bestimmungsgrenze gefunden. Ihre Lokalisierung legt ebenfalls die Bindung an Partikel nahe.

Eine inhomogene Elementverteilung ist jedoch nicht zwangsläufig mit einer Partikelassoziation verbunden. Wie Abbildung 9 zeigt, kann sie auch bei Abwesenheit von Partikeln vorliegen. Dieser Scan verläuft quer über ein Blutgefäß. Die Spektren in diesem Bereich weisen erhöhte Gehalte an Cu, Zn, Ca und Fe aus, während die Gehalte typisch partikelassoziierter Elemente wie K, Rb, Sr unterhalb der Bestimmungsgrenze lagen.

Abhängig von den Partikelgehalten in den erfassten Regionen bestehen teilweise erhebliche Unterschiede zwischen den auf ein- und derselben Probe gemessenen Arealen. Ebenso werden deutliche Unterschiede zwischen den verschiedenen Kompartimenten der Lunge bzw. zwischen Lunge und Leber beobachtet, wie Abbildungen 11 bis 14 verdeutlichen.

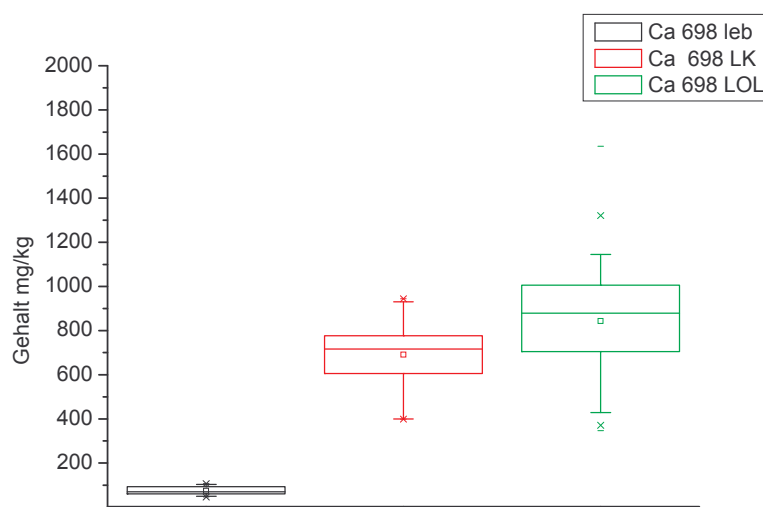


Abbildung 12: Box and Whisker Plots für die in Lunge (ROL n=280), Lymphknoten (LK, n=35) und Leber (leb, n=50) gemessenen Calciumgehalte des Falls S698-89

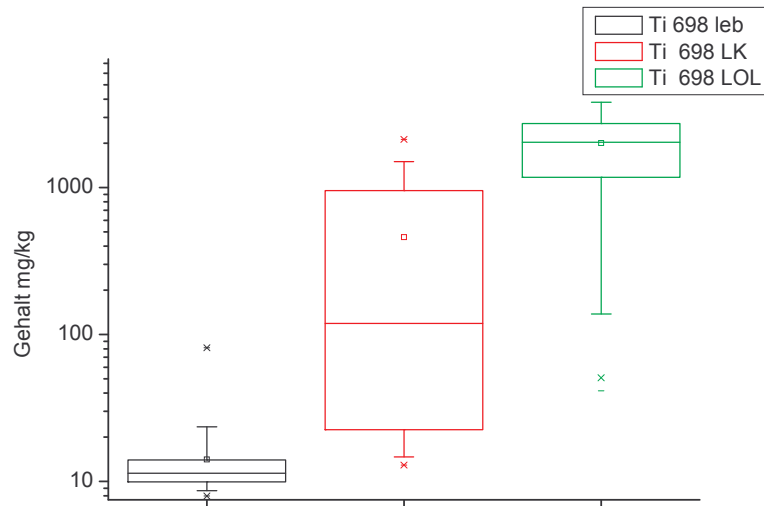


Abbildung 13: Box and Whisker Plots für die in Lunge (ROL n=280), Lymphknoten (LK, n=35) und Leber (leb, n=50) gemessenen Titangehalte des Falls S698-89

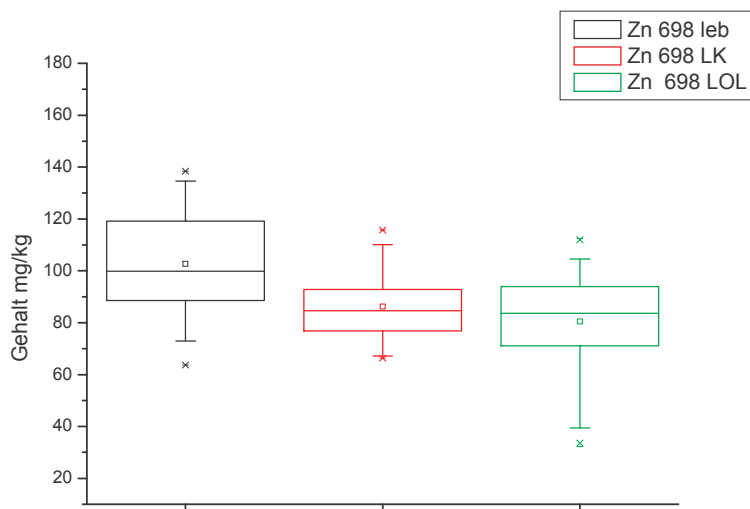


Abbildung 14: Box and Whisker Plots für die in Lunge (ROL n=280), Lymphknoten (LK, n=35) und Leber (leb, n=50) gemessenen Zinkgehalte des Falls S698-89



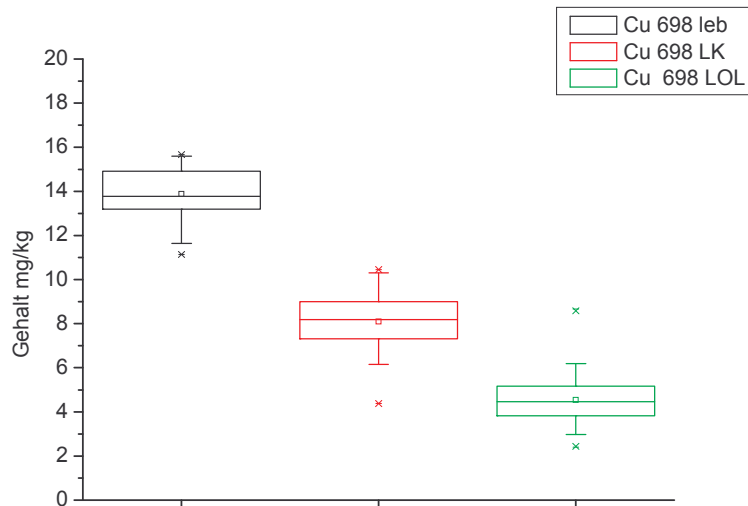


Abbildung 15: Box and Whisker Plots für die in Lunge (ROL n=280), Lymphknoten (LK, n=35) und Leber (leb, n=50) gemessenen Kupfergehalte des Falls S698-89

Es zeigt sich ein Bild, das typisch für die untersuchten Probenmaterialien ist. Die überwiegend partikelgebundenen Elemente wie Ti und z.T. auch Ca weisen in den Bereichen der Lungen und Lymphknoten besonders hohe Gehalte auf, die teilweise über mehrere Größenordnungen variieren können (s. Abbildung 13)), während die Konzentrationen dieser Elemente in der Leber auf deutlich niedrigerem Niveau liegen und gleichzeitig einen engeren Konzentrationsbereich überstreichen. Andere Elemente, wie z.B. Zn liegen in Lymphknoten und Lunge in vergleichbaren Konzentrationen vor, während in der Leber tendenziell höhere Gehalte gefunden werden. Beim Kupfer zeigt sich ein ganz anderes Bild. Hier wurden bei diesem Fall in den untersuchten Punkten der Leber die höchsten Konzentrationen gefunden, während die Konzentrationen, die im Lungengewebe gefunden wurden am niedrigsten waren. Dieses Bild wurde vergleichbar auch in den anderen Fällen gefunden.

### 3.4 Bulkanalysen

Durch die Ermittlung von Elementgehalten in makroskopischen Arealen (Bulkanalysen) kann die durchschnittliche Belastung in größeren Arealen von Lungen und anderen Organen ermittelt werden. Die Analyse geschieht durch „konventionelle“

Methoden der (Spuren)analytik (nasschemisch bis hin zu chemisch- physikalischen Methoden). Große Proben liefern zuverlässig repräsentative Werte für die jeweilige Lunge bzw. Substruktur. Es werden sowohl homogen verteilte Stoffe als auch in bzw. an Partikel gebundene Stoffe erfasst.

Für die Plausibilitätsuntersuchungen wurden größere Proben (Bulkproben) (ca. 200 mg Trockengewicht) mittels Druckaufschluss in einer Mischung aus Salpetersäure und HF aufgeschlossen. Die Elementgehalte wurden mit Hilfe der ICP-MS und in Einzelfällen mit der AAS. Zur Überprüfung der Richtigkeit dieser Messungen wurden Standardreferenzmaterialien untersucht.

Allerdings konnten nur Probenmaterial aufgeschlossen werden, das in ausreichender Menge zur Verfügung stand. Deshalb wurden nur die Proben aufgeschlossen, bei denen ganze Lungen zur Verfügung standen.

### 3.4.1 Probenvorbereitung

Die Proben wurden zunächst gefriergetrocknet. Anschließend wurden 100-200mg eingewogen und einem Mikrowellendruckaufschluss in 3 ml Salpetersäure und 1 ml Flusssäure ausgesetzt. Das verwendete Mikrowellenprogramm ist in Tabelle 5 dargestellt.

Tabelle 5: Mikrowellenprogramm für biologische Matrices [30]

<b>Programm 94</b>	
250 Watt	10 min
0 Watt	2 min
400 Watt	10 min
0 Watt	2 min
250 Watt	10 min

### 3.4.2 Messbedingungen

Für die Analyse mit dem ICP-Massenspektrometer Perkin-Elmer/Sciex Elan 6000 wurde eine Meßmethode erstellt, die das Probeneintragssystem konfiguriert, die Messparameter und die Störungskompensationen über Korrekturrechnungen festlegt. Die Geräteparameter sind in Tabelle 6 angegeben.

Tabelle 6: Geräteparameter des ICP-MS PE/ Sciex Elan 6000

Geräteparameter:	
Plasmaleistung	1000 W
Plasmaargonfluss	15 L/ min
Hilfsgasfluss	1 L/ min
Zerstäubergasfluss	0,8 L/ min
Zerstäuber	Crossflow mit Scott-Sprühkammer
Detektor	Dual-Detektor (Pulse/Analog)
Ionenlinse	AutoLens-Scan
Probeneintrag	
Spülung mit Probe	45 s bei 36 U/ min
Equilibrierungszeit	10 s bei 24 U/ min
Pumprate	24 U/min entspricht ca.: 1,5 L/ min
Spülung mit Blanklösung	45 s bei 36 U/ min
Messparameter	
Messzeit (Dwelltime)	50 ms
Wiederholungen (Sweeps)	20
Integrationszeit (Reading)	1000ms
Parallelmessungen (Replicates)	5
Scanning Mode	Peakhopping
Anzahl Punkte pro Peak	1

Für die Untersuchung der Interferenzen wurden zwei Lösungen mit den in Tabelle 7 dargestellten Elementgehalten und Matrixgehalten präpariert.

Tabelle 7: Matrixangepasste Standardlösungen für die Interferenzuntersuchungen

Analytelemente	Blindwertlösung	Analytlösung
C, Na, Mg, Al, P, S, K, Ca	100 mg/ L	100 mg/ L
Cl, NO <sub>3</sub>	1000 mg/ L	1000 mg/ L
Fe, Zn, As, Se	100 µg/ L	100 µg/ L
Li, Be, B, V, Cr, Mn, Co, Ni, Rb, Sr, Mo, Cd, Sb, Ba, Tl, Pb, Bi, U	10 µg/ L	10 µg/ L

Die Auswertung der Ergebnisse für beide Lösungen führte zu der in Tabelle 8 dargestellten ICP-MS-Methode für die Untersuchung von Wasserproben und Aufschlusslösungen aus dem Umweltbereich.

Tabelle 8: Analytotope und Korrekturgleichungen für die ICP-MS


Analyt	Massen	Störungen	Störungskompensation/Korrekturen
Cr	53	Cr-52 durch ArC	Ausweichen auf Cr-53
Mn	55	ArNH	Kompensation durch Blindwert
Fe	57	CaOH	$Fe = \text{mass } 57 - 0,05 \cdot Ca-43$
Co	59		
Ni	60	Ni-58 durch Fe	Ausweichen auf Ni-60
Cu	65		
Zn	64,66		
As	75		$As-75 = \text{mass } 75 - 3,127 \cdot (\text{ArCl } 77 - (0,815 \cdot Se-82))$
Rb	85		
Sr	88		
Mo	98		$Mo-98 = \text{mass } 98 - 0,110588 \cdot Ru-101$
Rh	103		internes Standardelement
Cd	111,112,114		
Sb	121,123		$Sb-123 = \text{mass } 123 - 0,127189 \cdot Te-125$
Pb	206,207,208		
U	235,238		Informationswert

### 3.4.3 Nachweis der Richtigkeit der Messungen

Um die Richtigkeit der ICP-MS Messungen zu überprüfen wurde regelhaft bei jeder Messserie eine Standardreferenzsubstanz gemessen. Verwendet wurde das SRM 1566 b (Oyster tissue) von BCR. Die zusammengefassten Ergebnisse verschiedener Messserien zeigt Tabelle 9. Der Vergleich mit den zertifizierten Werten erfolgte mittels t-Sollwerttest (vergl. [31]).

Im Ergebnis wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den zertifizierten und gemessenen Daten festgestellt. Lediglich bei Al, Sr und Ba wurden Minderbefunde festgestellt, was möglicherweise auf einen unvollständigen Aufschluss zurückzuführen ist.

Tabelle 9: Vergleich der mittels ICP-MS gemessenen Werte mit den zertifizierten Gehalten des Standardreferenzmaterials 1566 b, n=4, Vergleichswert des t-Sollwerttests bei f=3 und P=95%: 3,128

 Element	z	Gemessen Mittelwert	Stabw	Zertifiziert Mittelwert	Stabw	t-Sollwerttest
<b>B</b>	11	10,41	4,33	4,5	1,9	2,73
<b>Na</b>	23	3095	137	3297	53	2,95
<b>Mg</b>	24	1031	33	1085	23	3,27
<b>Al</b>	27	131	26	197,2	6,0	5,10
<b>K</b>	39	6215	229	6520	90	2,67
<b>Ca</b>	43	829	31	838	20	0,60
<b>V-2</b>	51	0,63	0,09	0,577	0,023	1,18
<b>Mn</b>	55	18,91	0,70	18,5	0,2	1,18
<b>Fe</b>	57	196	10	205,8	6,8	1,90
<b>Co</b>	59	0,38	0,02	0,371	0,009	0,54

Das optimierte und auf seine Zuverlässigkeit geprüfte Analysenverfahren wurde für die Untersuchung von Bulkproben eingesetzt. Insgesamt wurden 36 Einzelproben untersucht, an denen nach Möglichkeit Doppelbestimmungen durchgeführt wurden.

Im Einzelnen wurden folgende Proben untersucht:

Fall	Proben entstammen
W623/02	LOL, ROL, zentraler Lymphknoten, Pleura, Lk ip, Tumor
W 1725/02	ROL, RUL, Zentraler Bronchus, Pleura visceralis, Pleura parietalis, zentraler Lymphknoten, Lk ip, RML, LUL
W 2083/02	LUL, RUL, intrapulmonaler Lymphknoten, Hauptbronchus rechts, Pleura visceralis
W2084/02	ROL, RUL, LK ip, Hauptbronchus, Pleura visceralis
W 190/03	Lunge (nicht näher spezifiziert), Lymphknoten, Leber, Niere
W 355/04	Lymphknoten

ROL/LOL: Rechter bzw. linker Lungenoberlappen  
 RUL/LUL: Rechter bzw. linker Lungenunterlappen  
 RML/LML: Rechter bzw. linker Lungenmittellappen  
 Lk ip: Intrapulmonaler Lymphknoten

Die Ergebnisse sind im Anhang in den Tabellen A17-A22 zusammengestellt.

Tabelle 9 zeigt eine Zusammenstellung der in den verschiedenen Lungenproben der einzelnen Fälle festgestellten Konzentrationsbereiche.

Die in den Lungenproben ermittelten Konzentrationsbereiche liegen für die untersuchten Fälle der Uranbergarbeiter (623, 1725, 2083 und 2084) in der gleichen Größenordnung. Erhöhte Werte für Fe, Al und Sr wurden beim Fall 623 festgestellt. Der potentiell unbelastete Fall 190 weist gegenüber den anderen niedrige U, Al, Ca und V-Gehalte auf, während sich die Gehalte der anderen Elemente nicht wesentlich von denen der Uranbergarbeiter unterscheiden.

Schaut man sich die Zuordnung der ermittelten Minimal- und Maximalwerte an (s. Tabelle 11), so wird deutlich, dass die Belastung der einzelnen Kompartimente recht unterschiedlich ist. Die Maximalwerte lassen sich dem zentralen Lymphknoten des Falls W623/02, dem intrapulmonalen Lymphknoten des Falls W2083/02 sowie dem Lymphknoten des Falls S190/03 sowie bei den Elementen Cu und Mg der Tumorprobe des Falls W623/02 zuordnen lassen. Die niedrigsten Belastungen wurden bei den Pleuraproben der Fälle W 2084/02, 2083/02 sowie 1725/02 sowie dem Intrapulmonalen Lymphknoten des Falls W 1725 beobachtet. Die geringste Uranbelastung wurde in der Lungenprobe des unbelasteten Falls S 190/03 gefunden.

Tabelle 10: Zusammenstellung der mittels ICP-MS ermittelten Konzentrationsbereiche in den Lungenproben

Elemente	623		1725		2083		2084		190	
	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max
<b>B</b>	<NG	<NG	1,39	2,43	1,46	11,09	0,39	8,04	n.b.	n.b.
<b>Mg</b>	255	551	49	310	163	226	89	299	187	254
<b>Al</b>	734	2541	26	2139	3	4357	5	690	41	270
<b>K</b>	1216	4662	1309	5574	1310	2479	463	2762	n.b.	n.b.
<b>Ca</b>	2065	8964	690	6121	3509	4525	452	1469	997	1001
<b>V</b>	2,47	7,53	0,93	8,84	0,52	15,04	0,41	2,90	1,53	1,70
<b>Mn</b>	2,37	11,54	0,19	7,78	0,83	3,69	0,36	0,68	1,26	1,80
<b>Fe</b>	1341	3048	68	990	294	2237	139	1011	1257	1406
<b>Co</b>	0,08	0,21	0,03	0,13	0,10	0,24	0,03	0,12	0,38	0,40
<b>Ni</b>	0,71	1,16	0,07	0,71	0,10	1,52	0,20	1,13	0,74	1,36
<b>Cu</b>	9,05	14,76	2,31	8,66	3,47	7,59	3,27	13,99	4,22	4,37
<b>Zn</b>	56	206	11,8	95,5	51	91	29	153	35	39
<b>As</b>	0,32	0,98	0,08	0,38	0,11	0,64	0,08	0,60	0,32	0,40
<b>Se</b>	0,77	1,28	0,09	1,16	0,44	1,46	0,33	1,22	0,30	0,38
<b>Sr</b>	10	21	0,68	6,39	2,20	6,97	0,51	2,11	4,74	5,88
<b>Ag</b>	0,04	0,10	0,01	0,10	0,06	0,12	0,01	0,04	<NG	>NG
<b>Cd</b>	0,40	3,30	0,04	1,06	0,26	0,45	0,16	0,70	0,87	0,98
<b>Sn</b>	0,73	1,75	0,09	0,70	0,22	0,96	0,15	0,39	1,49	2,29
<b>Sb</b>	0,09	0,18	0,02	0,17	0,05	0,47	0,03	0,18	0,39	0,68
<b>Ba</b>	9	22	0,97	26,44	0,62	50	0,18	9	2,02	4,86
<b>Pb</b>	1,71	31	0,12	0,74	0,14	2,17	0,23	0,52	0,32	0,59
<b>U</b>	0,18	0,52	0,01	0,19	0,07	0,51	0,03	0,17	0,01	0,05

Tabelle 11: Zuordnung der mittels ICP-MS beobachteten Min- und Max-Werte

Elemente	Min [ $\mu\text{g/g}$ ]	Min bei	Max [ $\mu\text{g/g}$ ]	Max bei
<b>B</b>	0,39	Pleura viscelaris 2084	11,1	RUL 2083
<b>Mg</b>	49	Pleura parientalis 1725	551	Tumor 623
<b>Al</b>	3	Pleura viscelaris 2083	4357	Lk ip 2083
<b>K</b>	463	Lk ip 2084	5574	RUL 1725
<b>Ca</b>	452	Pleura viscelaris 2084	8964	LK zentr 623
<b>V</b>	0,41	Lk ip 2084	15,0	Lk ip 2083
<b>Mn</b>	0,19	Lk ip 1725	11,5	LK zentr 623
<b>Fe</b>	68	Zentr. Bronchus 1725	3048	LK zentr 623
<b>Co</b>	0,03	Pleura viscelaris 2084	0,40	Lk 190
<b>Ni</b>	0,071	LUL 1725	1,52	Lk ip 2083
<b>Cu</b>	2,31	Zentr. Bronchus 1725	14,8	Tumor 623
<b>Zn</b>	11,84	Lk ip 1725	206	LK zentr 623
<b>As</b>	0,077	Pleura viscelaris 2084	0,98	LK zentr 623
<b>Se</b>	0,087	Pleura parientalis 1725	1,46	Lk ip 2083
<b>Sr</b>	0,51	Pleura viscelaris 2084	21,1	LK zentr 623
<b>Ag</b>	0,006	Lk ip 1725	0,12	Hauptbronchus 2083
<b>Cd</b>	0,045	Lk ip 1725	3,30	LK zentr 623
<b>Sn</b>	0,094	Lk ip 1725	2,29	Lk 190
<b>Sb</b>	0,017	Zentr. Bronchus 1725	0,68	Lk 190
<b>Ba</b>	0,18	Pleura viscelaris 2084	49,6	Lk ip 2083
<b>Pb</b>	0,12	Lk ip 1725	30,6	LK zentr 623
<b>U</b>	0,007	Lunge 190	0,52	LK zentr 623

Die gemessenen Werte stehen in guter Übereinstimmung mit Literaturdaten [8, 5], wie Tabelle 18 Tabelle 18 verdeutlicht.

### **3.5 Untersuchung der Proben mittels bildgebender Verfahren in Kombination mit einem Elementmapping**

Die Schadwirkung eingelagerter Partikel wird nicht allein von deren Schadstoffgehalt bestimmt, sondern wesentlich durch deren Form, Größe, Beständigkeit [32, 33] sowie Lage. Für die umfassende Bewertung der vorstehenden Befunde sind neben Informationen zum Verhalten der Partikel sowie zur Mobilität der Elemente auch Kenntnisse zur Lage und Form der im Gewebe abgelagerten Partikel zu erarbeiten. Hierzu bietet sich die Nutzung von elektronen- und röntgenmikroskopischen Verfahren an, wodurch in kurzer Zeit Partikel- und Elementverteilungsbilder in sehr hoher Auflösung erhalten werden können. Allerdings ist das Nachweisvermögen dieser Verfahren relativ schlecht, so dass nur die Elemente wie Fe, Si, C, Ca, K, Ti, die in hohen Konzentrationen vorkommen detektiert werden.



### 3.5.1 Elektronenmikroskopische Verfahren

Bei elektronenmikroskopischen Verfahren werden die Bilder bzw. Elementverteilungen durch die Wechselwirkung der Probe mit einem Elektronenstrahl erhalten.

#### *3.5.1.1 Rasterelektronenmikroskopie, Scannende Elektronenmikroskopie und Energiedispersive Röntgenmikroanalyse (EDX)*

Die Rasterelektronenmikroskopie (REM) ist ein bildgebendes Verfahren, bei der die Oberfläche der Proben dargestellt wird. Mit Hilfe der scannenden Elektronenmikroskopie können Elementverteilungen und Konzentrationen an definierten Messpunkten ermittelt werden.

Im Rahmen dieses Projekts wurden am Institut für Anorganische und Angewandte Chemie Bilder mit Hilfe eines REM Hitachi S-2500 aufgenommen, das eine experimentelle Auflösung von 20 nm besitzt.

Es wurden verschiedene Gewebeproben, daraus heraus präparierte Partikel, eine Probe des in den folgenden Extraktionsuntersuchungen verwendeten Uranyloxids sowie Staubproben, die Probebohrungen aus dem Abbaugelände Niederschlema-Alberoda entstammen, die im Rahmen von Probebohrungen in Ganggestein und Nebengestein entnommen wurden, untersucht. Letztere wurden vom DKFZ (Herrn Dr. Wesch) zur Verfügung gestellt. Näheres zur Probennahme ist dem Bericht: „Untersuchungen zur Staub- und Schwermetallbelastung sowie zur Strahlenbelastung durch Radionuklide in Stäuben in der Gang-Erzlagerstätte Schlema-Alberoda der WISMUT“ [34] zu entnehmen.

Vor den Messungen wurden die Proben 4 min bei 15mA mit Gold/Palladium bedampft, wodurch eine Metallschicht von ca. 10nm auf der Probe abgeschieden wurde.

Neben den REM-Aufnahmen wurden im SEM-Modus Verteilungsbilder der Elemente aufgenommen. Elementgehalte/Elementzusammensetzungen an einzelnen Punkten auf der Probe wurden mit einer am Messplatz installierten Energiedispersiven Röntgenmikroanalyse (EDX) bestehend aus einem Si(Li) Detektor mit SUTW (Auflösung 133eV) und entsprechender Auswertesoftware bestimmt.

Die Eindringtiefe des Elektronenstrahls beträgt nur wenige nm, deshalb ist bei den untersuchten Gewebeproben (100µm Schnitte) lediglich die Elementverteilung an der Oberfläche bestimmbar. Es wurden jedoch auch Elementmuster detektiert, die vorhandenen Partikeln zugeordnet werden können. Um eine Information zur Form und Zusammensetzung der eingelagerten Partikel zu bekommen, wurden Partikel aus dem Gewebe heraus präpariert. Dazu wurden die Proben mit kalter Salpetersäure behandelt. Die separierten Partikel wurden mittels REM und EDX untersucht. Abbildung 16 zeigt eine REM-Aufnahme dieser Partikel.

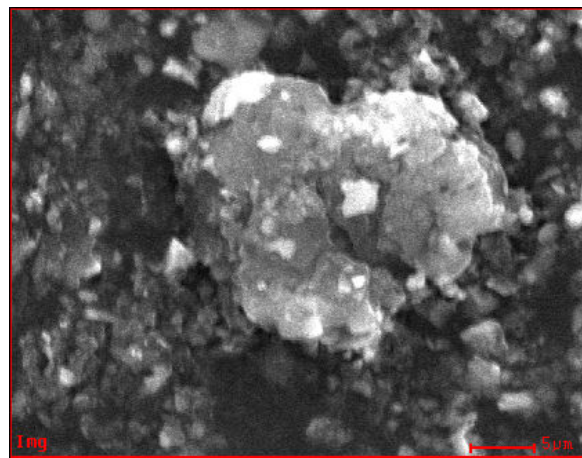


Abbildung 16: REM-Aufnahmen von Partikeln heraus präpariert aus einer Lymphknotenprobe des Falls S34-90.

Zu sehen ist ein heterogenes Gemisch verschieden großer Partikel unterschiedlichster Formen, deren Größe zwischen 2 und 10 µm variiert. Auffällig ist die kantige Struktur dieser Partikel.

Abbildung 17 zeigt das für diese Probe gefundene Elementmuster. Zu erkennen sind Si, Al, K, Na, Ti, Fe sowie C und O, was Indiz für das Vorhandensein mineralischer Partikel ist. Allerdings wurden aufgrund des beschränkten Nachweisvermögens dieser Methode keine Spurenelemente identifiziert.

Dass mittels EDX auch Uran nachweisbar ist, konnte anhand der untersuchten Pechblende und der Ganggesteine gezeigt werden. Abbildung 18 zeigt die qualitative und quantitative Elementzusammensetzung der in den Extraktionsversuchen eingesetzten Pechblende. Die mittels EDX erhaltenen Konzentrationen stimmen mit denen mit Hilfe der ICP-MS ermittelten überein. Bei den untersuchten

Gangerzproben konnte ebenfalls Uran nachgewiesen werden. Allerdings schwankte die Konzentration innerhalb der Probe erheblich.

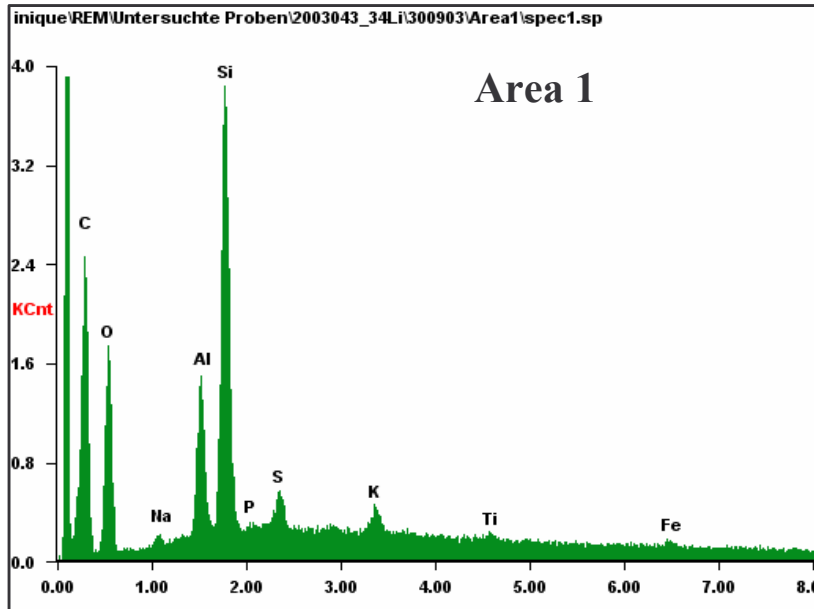


Abbildung 17: Elementmuster der oben gezeigten Partikelprobe

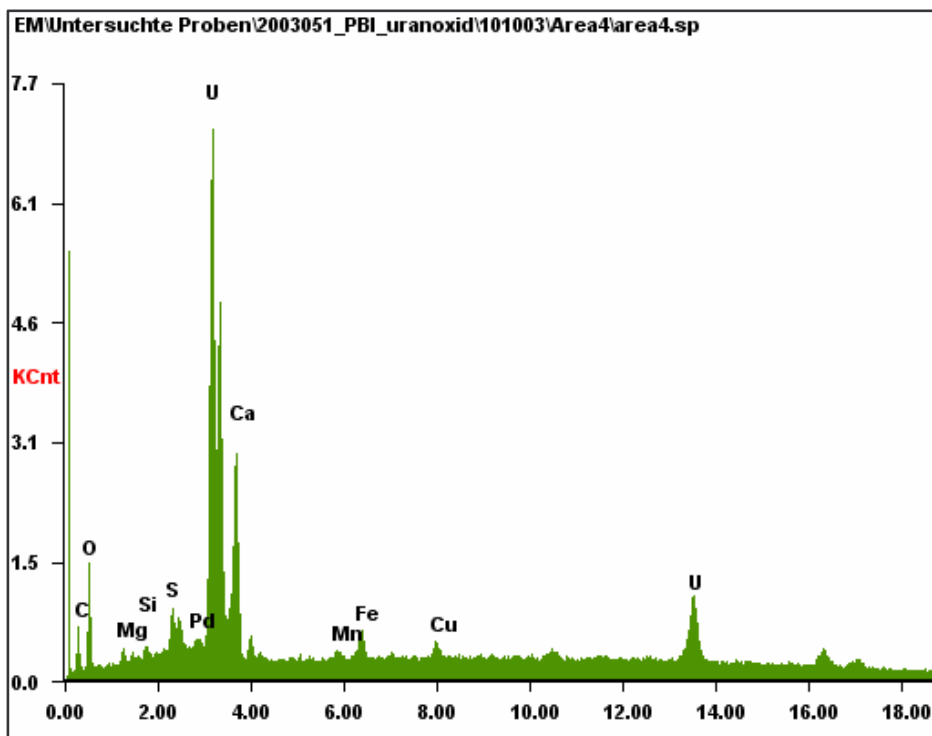
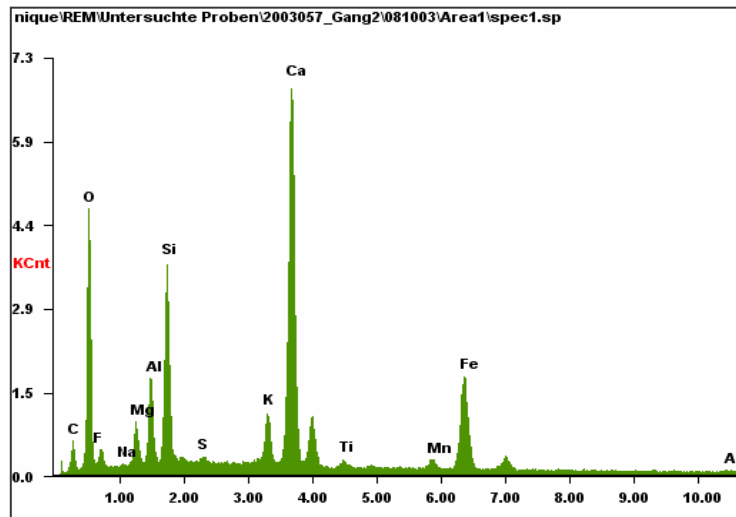


Abbildung 18: EDX-Spektrum der in den Extraktionsversuchen eingesetzten Pechblende mit den ermittelten Gehalten.



SEC Table : Default  
Area1

Elem	Wt %	At %
C K	16.01	23.92
O K	49.85	55.91
F K	4.16	3.93
NaK	0.16	0.13
MgK	2.76	2.03
AlK	4.53	3.02
SiK	8.13	5.19
S K	0.20	0.11
K K	1.16	0.53
CaK	8.26	3.70
TiK	0.22	0.08
MnK	0.33	0.11
FeK	3.95	1.27
AsK	0.26	0.06
Total	100.00	100.00

Abbildung 19: EDX-Spektrum der einen Erzprobe (Gang 2) aus dem Bereich Schlema-Alberoda mit den ermittelten Gehalten

### 3.5.1.2 Energy-Filtering Transmission Electron Microscopy (EFTEM)

Die EFTEM ist eine leistungsstarke Technik zur Charakterisierung der Mikro- und Nanochemie dünner Proben. Mit ihrer Hilfe kann die laterale Elementverteilung in extrem hoher Auflösung (ca. 1 nm) bei sehr kurzen Aufnahmezeiten bestimmt werden [35].

Wenn Elektronen eine dünne Probe in der TEM passieren, werden sie durch die Atomkerne und die sie umgebenden Elektronen abgelenkt. Diese elastische Streuung verursacht den Masse-Dicke-Kontrast in einem TEM-Image bzw. den Beugungskontrast für kristalline Proben. Alternativ werden die schnellen Elektronen von den inneren Elektronen gestreut. Dieser inelastische Prozess umfasst beides: Momenttransfer und Energieverlust. Die inelastisch gestreuten Elektronen werden im Elektronen Energieverlust Spektrum (EELS) aufgezeichnet. Werden diese Spektren im TEM-Modus aufgenommen, enthalten EELS-Daten auch räumliche Informationen. Durch Kombination eines fixen Strahls mit einem Energiefilter (EFTEM), können ganze Bereiche in einer Messung untersucht werden.

Mit Hilfe der EFTEM können Partikel, die darin enthaltenen Elemente und deren chemische Struktur visualisiert werden. Diese Methode wurde bereits erfolgreich zur

Charakterisierung von partikulären Ablagerungen in menschlichen Lungen eingesetzt [36, 37].

Mit den im Rahmen des Projekts durchgeführten Untersuchungen zielten auf die Beantwortung folgender Fragestellungen:

- Wo sind die Partikel lokalisiert?
- Welche Elementverteilung weisen die identifizierten Partikel auf?
- Können uranhaltige Partikel visualisiert werden?

Für diese Untersuchungen wurden Proben der Fälle S111-94, S85-94, S88-94 sowie S190-03 zur Verfügung gestellt. Die Messungen wurden beim Max-Planck-Institut für Biochemie in Martinsried durchgeführt.

Die Proben wurden in Acryl gebettet und für die Messungen in 100nm dicke Scheiben geschnitten. Es wurden sowohl ungefärbte als auch mit Osmium- bzw. Uranylacetat gefärbte Schnitte vermessen. Letzteres diente dazu Zellstrukturen sichtbar zu machen.

Abbildung 20 zeigt das Bild einer mittels TEM abgebildeten Gewebeprobe. Es zeigte sich, dass die Partikel überwiegend innerhalb von Zellen zu finden sind.

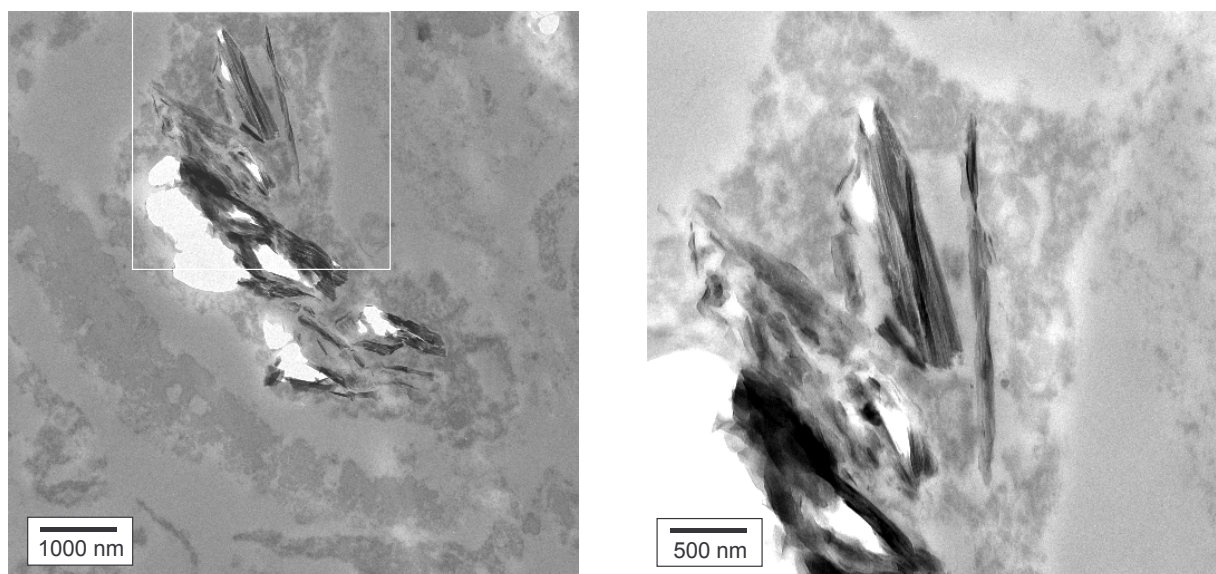


Abbildung 20: TEM-Darstellung von Partikeln in einem gefärbten Schnitt einer Alveolarprobe des Falls S88-94



Sichtbar sind längliche, nadelartige Partikel (Länge ca. 1,5  $\mu\text{m}$ , Breite ca. 250 nm) kristalliner Struktur, die sich offensichtlich innerhalb einer Zelle befinden.

Sollen Elementverteilungen sichtbar gemacht werden, werden die EFTEM-Bilder mit Energien in der Nähe der Ionisationskante des interessierenden Elements aufgenommen. Generell kann die Verteilung der Elemente von Li bis U mittels EFTEM dargestellt werden, da diese Elemente inner-shell Ionisationskanten in der Energieverlustregion (0-3000eV) besitzen [38]. Wegen des starken Untergrunds in diesem Energiebereich wird in der Regel mit der so genannten Drei-Fenster-Methode gearbeitet, wobei in der Nähe der Ionisationskante drei energiegefilterte Bilder aufgenommen werden, zwei unterhalb und eines oberhalb der Kante. Letzteres enthält das elementspezifische Signal, das durch Subtraktion eines extrapolierten Backgroundbildes vom Nachkantenbild erhalten wird.

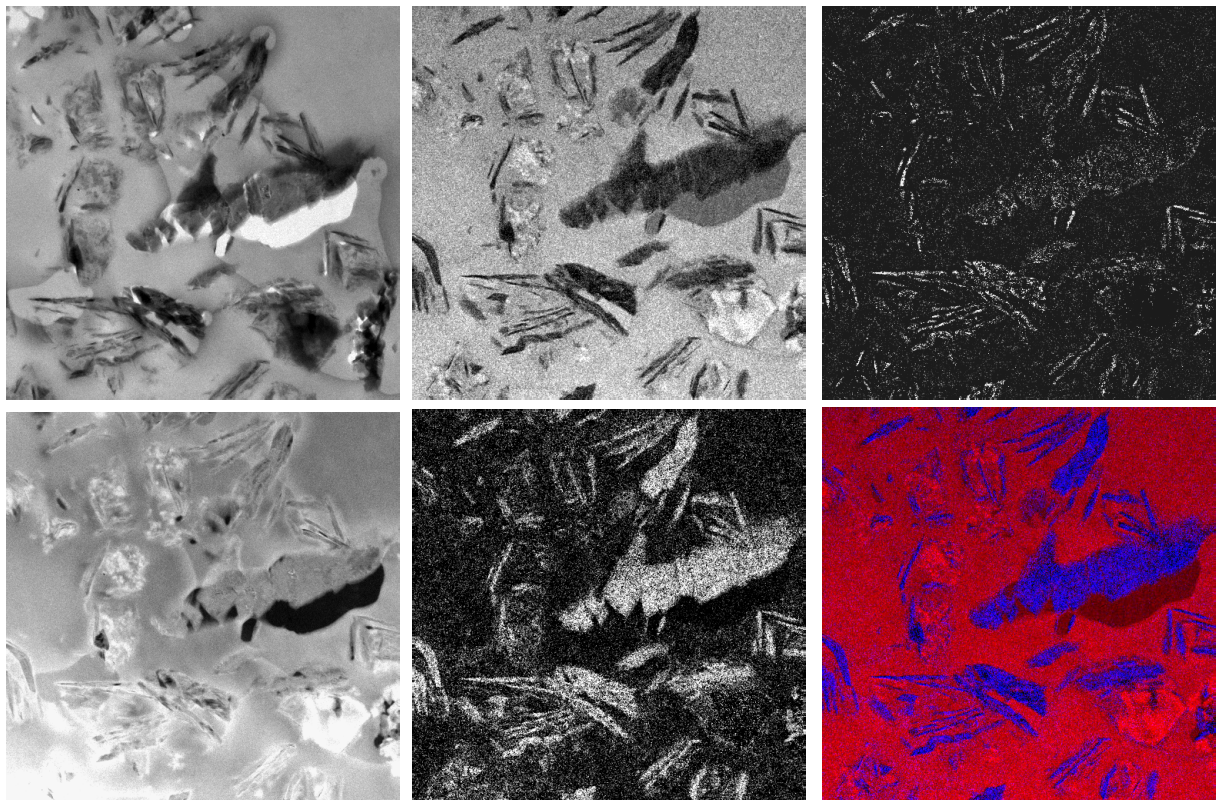


Abbildung 21: EFTEM-Bilder einer Alveolarprobe des Falls 88-94, oben links: Hellfeld-TEM-Image, unten links: energiegefiltertes Bild im Plasmonbereich (40eV), Oben Mitte C-map (K-edge, 298 eV), unten Mitte: O-map (K-edge, 535 eV), oben rechts: U-Map (O 4,5-edge, 96eV), unten rechts, Farbmap (C rot, O blau)

Im Hellfeldbild sind eine Reihe faseriger Partikel zu erkennen, deren Größe zwischen 0.5 und 2  $\mu\text{m}$  variiert. In den Elementverteilungen zeigen helle Bereiche einen hohen Anteil dieses Elements an, während dunklere Regionen eher geringe Anteile dieses Elements aufweisen. Sowohl die Kohlenstoff- als auch die Sauerstoffabbildung wiesen starke Kontraste auf. Beide Elemente wurden nachgewiesen. Beim Uran dagegen ist das Bild kaum strukturiert, was darauf hindeutet, dass die dargestellten Partikel kein Uran enthalten. Offensichtlich handelt es sich um silikatische Partikel.

Es wurde eine Reihe von Dünnschnitten auf uranhaltige Partikel untersucht, allerdings wurden derartigen Teilchen entdeckt.

Mit Hilfe dieser Methode wurden also Partikel identifiziert, sowie deren Form und Lage visualisiert. Mit Hilfe der Drei-Fenster-Methode wurden hoch aufgelöste Verteilungsbilder von Elementen aufgenommen und visualisiert. Es ist möglich auch die Verteilung von Uran zu bestimmen. Eine Limitierung dieser Methode ist die Notwendigkeit, sehr dünne Schnitte (100nm) für die Messungen einzusetzen, wodurch es nicht möglich ist, eine vollständige Zelle zu untersuchen.

### 3.5.2 Röntgenmikroskopie

Eine weitere Methode Partikel und ihre Lage in biologischen Materialien sichtbar zu machen, ist die Röntgenmikroskopie unter Verwendung von Synchrotronstrahlung. Transmissions Röntgenmikroskopie (TXM) benutzt Wellenlängen im Bereich von 0,3 bis 5 nm, wodurch eine 10fach höhere Auflösung als bei einem Lichtmikroskop erreicht wird [39]. Im Gegensatz zur TEM ist es möglich, mittels TXM Schichten von 10  $\mu\text{m}$  Dicke und damit im Grunde auch ganze Zellen zu untersuchen. Ein weiterer Vorteil ist, dass C und O unterschiedliche photoelektrische Absorptionen aufweisen, wenn Wellenlängen zwischen 2,4 und 4,5 nm benutzt werden [40].

Im Rahmen des Projekts wurden TXM-Untersuchungen durchgeführt, die darauf zielten, Lage und Form von eingelagerten Partikeln abzuklären.

Dazu wurden sowohl am ESRF in Grenoble an der Beamline ID21 bei 4 keV als auch am BESSY bei 0,5 keV in Berlin Aufnahmen gemacht.

Abbildung 22 zeigt eine TXM-Aufnahme einer Lungenprobe des Falls S 550-89, die an der Beamline ID 21 beim ESRF in Grenoble aufgenommen wurde. Die verwendeten Optiken liefern eine Auflösung von 60 nm.

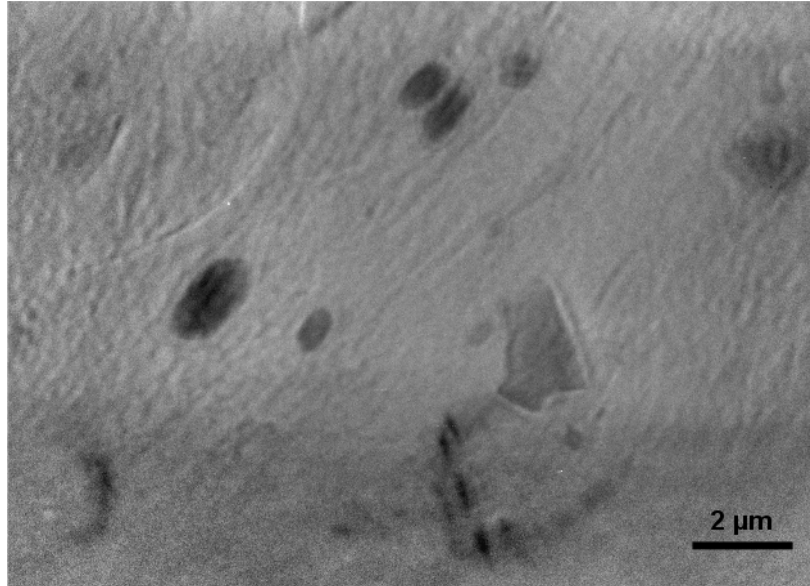


Abbildung 22: TXM-Image einer Gewebeprobe (ROL) des Falls S 550-89 aufgenommen an der Beamline ID 21 des ESRF in Grenoble, Probendicke 10µm.

In Abbildung 23 ist das TXM-Bild einer Lungenprobe, das am BESSY in Berlin aufgenommen wurde, dargestellt.

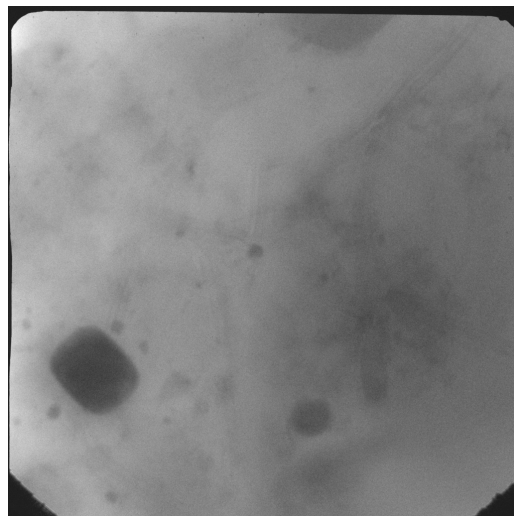


Abbildung 23: TXM-Image einer Gewebeprobe (LOL) des Falls S 550-89 aufgenommen am BESSY in Berlin, Probendicke 5 µm.



Mit beiden Systemen wurden im Rahmen dieser prototypischen Anwendungen die im Gewebe abgelagerten Partikel dargestellt. Die gefundenen Partikel einer Größe von 2  $\mu\text{m}$  haben eine rundliche Form. Da das organische Gewebe bei den verwendeten Konstellationen wenig Kontrast zeigt, kann nicht festgestellt werden, wo die Partikel sich befinden – intra- oder interzellulär. Um dazu eine Aussage zu erhalten, können verschiedenen Phasenkontrastverfahren genutzt werden [41], durch deren Hilfe die uranhaltigen Partikel sowohl von anderen Partikeln als auch vom Gewebe unterschieden werden können. Leider konnten die dafür am ESRF genehmigte Messzeit nicht realisiert werden, da die Optiken längerfristig ausgefallen waren.

### **3.6 Atomic Force Microscopy (AFM)**

Eine weitere Methode, Informationen zur Oberflächenstruktur von Geweben und Partikeln zu erhalten, ist die Atomic Force Microscopy (AFM). Dabei wird die Probe mit einer sehr feinen Sonde (Durchmesser 10 bis 100 nm) abgerastert.

Untersuchungen dazu wurden am Institut für Angewandte Physik der Universität Hamburg durchgeführt. Untersucht wurden Proben des Falls W623-02. Die aufgenommenen Bilder waren jedoch aufgrund gravierender Schrumpfungerscheinungen nicht auswertbar und der Ansatz wurde im Rahmen des Projekts nicht weiter verfolgt. Dennoch können durch den Einsatz dieser Methode in situ wertvolle Informationen über die Wirkung von Noxen oder Stäuben auf Zellverbände und Gewebe erhalten werden.

### **3.7 Untersuchungen zum Verhalten von uranhaltigen Staubpartikeln im Lungengewebe**

Gegenstand der vorliegenden Untersuchungen ist die Auflösbarkeit uranhaltiger inhalierter Partikel unter physiologischen Bedingungen. Hierzu wurden verschiedene natürliche Uranminerale in Modellversuchen durch lymphähnliche Flüssigkeiten ausgelaugt. Die eingesetzten Mineralstäube, die erhaltenen Extraktionslösungen sowie die nach der Auslaugung verbliebenen Rückstände wurden hinsichtlich möglicher Unterschiede und Veränderungen ihrer Oxidationsstufe und Koordinationssphäre charakterisiert.

#### 3.7.1 Grundlagen

Das Verhalten von Staubpartikeln in der Lunge wird von zwei Prozessen bestimmt:

- Dem Transport der Partikel aus der Lunge in den Gastrointestinaltrakt und die tracheobronchialen Lymphknoten  
sowie
- der Auflösung der Partikel und dem Übergang in Lymphe und Blut und damit einer Verteilung der in ihnen gebundenen Schadstoffe im Gesamtorganismus.

Während der mechanische Transport durch die Cilien der Schleimhaut und die Aufnahme durch Makrophagen von verschiedenen Substanzen gleicher Partikelform ähnlich verläuft, sind die Auflösungs- und Auslaugungsprozesse stark von der Art der inhalieren Substanzen abhängig.

Das ICRP-Lungenmodell versucht, die Prozesse durch Halbwertszeiten in und Transferraten zwischen den verschiedenen Kompartimenten zu beschreiben und daraus Strahlungsdosen für inhalede Radionuklide abzuschätzen [42].

##### 3.7.1.1 Allgemeines

Die Bestimmung der Löslichkeit inhalierter Partikel sollte, wenn möglich, durch *in vivo*-Untersuchungen erfolgen. Anderenfalls muss sie auf Grund von *in vitro*-

Versuchen abgeschätzt werden.

Anhand der so gewonnenen Ergebnisse werden die inhalierten Partikel in drei Klassen eingeordnet:

Typ F: Löslichkeits-Halbwertszeit < 10 Tage

Typ M: Löslichkeits-Halbwertszeit 10-100 Tage

Typ S: Löslichkeits-Halbwertszeit > 100 Tage

Hierbei kann die Löslichkeit einzelner in den Partikeln enthaltener Substanzen auch durch unterschiedliche, verschiedenen Klassen zuzuordnender Anteile bedingt sein.

### 3.7.1.2 Löslichkeit von Uranverbindungen

In zahlreichen Untersuchungen wurde die Löslichkeit von Uranverbindungen aus industriellen Prozessen sowohl *in vivo* als auch *in vitro* bestimmt [43, 44].  $UF_6$  und  $UO_2(NO_3)_2$  wurden z.B. als leicht löslich klassifiziert ( $t_{1/2} < 1$  d) [45, 46],  $UF_4$  und  $UO_3$  ( $t_{1/2}$ : 1-70 d) [47, 48, 49] als mäßig löslich und  $U_3O_8$  sowie  $UO_2$  als größtenteils schwer löslich ( $t_{1/2}$ : 100-2400 d) [50, 51, 52, 53].

Anhand der großen Unterschiede in den Halbwertszeiten in der Lunge wird deutlich, wie wichtig die genaue Spezifizierung der untersuchten Uranverbindungen ist, um deren Risikopotential richtig einschätzen zu können. Das wird auch in den wenigen bisher durchgeführten Studien an uranhaltigen Mischstäuben erkennbar. Sie wurden nicht näher klassifiziert und die resultierenden Halbwertszeiten sind widersprüchlich und reichen von 60% leicht löslich (Typ F) bis zu größtenteils unlöslich (Typ S) [54, 55, 56].

Untersuchungen, die die Löslichkeit des Urans in verschiedenen, in der Natur vorkommenden Uranmineralien beschreiben, sind bisher nicht bekannt.

### 3.7.1.3 *In vitro*- Löslichkeitsuntersuchungen

Aufgrund ihrer einfachen Durchführbarkeit, verglichen mit *in vivo*-Studien an diversen Tiermodellen wie Ratten, Hunden, Eseln oder Affen, sind zahlreiche *in vitro*-Untersuchungen erfolgt. Dabei wurden als Methoden angewandt [57, 58, 59]:

1. Durchflusssysteme

2. Parallelflosssysteme
3. Statische Systeme mit Sandwich-Filtern
4. *Batch*-Untersuchungen

Im Gegensatz zu Durchflusssystemen und den statischen Systemen ist bei *Batch*-Versuchen der Einsatz von proteinhaltigen Lösungen möglich.

Wenn eine größere Anzahl verschiedener Substanzen in mehreren, unterschiedlichen Medien parallel untersucht werden soll, ist der *Batch*-Ansatz eine besonders effektive Möglichkeit, Löslichkeiten zu bestimmen. Voraussetzung ist, dass gelöste und partikuläre Substanz durch Zentrifugieren und Filtration weitestgehend voneinander getrennt werden können [52, 57, 60, 61].

#### 3.7.1.4 *Uranspeziation*

Die Oxidationsstufe einer Uranspezies ist von zentraler Bedeutung für ihre Löslichkeit. Daneben sind die Art der Liganden und die Koordinationssphäre des Urans von großer Wichtigkeit.

Zur ihrer Bestimmung eignet sich besonders die Röntgenabsorptionsspektroskopie (X-Ray Absorption Spectroscopy, XAS), da sie sowohl elementsensitiv und zerstörungsfrei als auch in größerer Verdünnung und in amorphen Proben anwendbar ist. Darüber hinaus ermöglicht sie die Analyse von festen und flüssigen Proben gleichermaßen [62, 63, 64].

Hierbei wird zwischen Extended X-Ray Absorption Fine Structure (EXAFS) und X-Ray Absorption Near Edge Structure (XANES) –Bereichen unterschieden. Für die Interpretation von XANES-Spektren gibt es keine einfache mathematische Beschreibung, aber dennoch enthalten sie Informationen über die Oxidationsstufe und die Koordinationssphäre des Zentralatoms.

Diese können aus der Position der Absorptionskante und dem Verlauf (Fingerprint) des Spektrums abgeleitet werden.

Für die Charakterisierung von Uranverbindungen ist die XANES-Spektroskopie mehrfach erfolgreich eingesetzt worden. Es konnte gezeigt werden, dass auf diese

Weise die Oxidationsstufe von Uran selbst in Mischproben bestimmbar ist [65, 66, 67, 68, 69].

### 3.7.2 Modellversuche zur Löslichkeit von Uranmineralien

Für Löslichkeitsuntersuchungen sind bisher verschiedene wässrige Salzlösungen entwickelt worden, um die chemische Zusammensetzung von Lungenflüssigkeit nachzubilden, welche meist auf Studien von Gamble basieren [52, 59, 70].

Hierbei wurde, wenn überhaupt, versucht, den Proteingehalt durch Beigaben von Cystein und Glycin zu einer carbonatgepufferten Salzlösung zu simulieren.

#### 3.7.2.1 *Verwendete Extraktionslösungen*

Da auf Grund ihrer zahlreichen, flexiblen Donorfunktionen Proteine für die Komplexierung von Uranylionen größere Bedeutung haben dürften [58, 71], wurde in Vorversuchen zunächst die Auswirkung von unterschiedlichen Proteingehalten in der Extraktionslösung auf den Grad der Auslaugung von uranhaltigen Gesteinspartikeln untersucht.

Dazu wurden Lösungen mit jeweils

- 114 mmol NaCl
- 4 mmol KCl
- 30 mmol NaHCO<sub>3</sub>
- 0.1 % NaN<sub>3</sub> (zu Konservierungszwecken)

hergestellt und diese mit

A) 0 %      B) 0.1 %      C) 0.5%      D) 1.0 %

Rinderserumalbumin versetzt.

Zu jeweils 10 mL dieser Lösungen wurden 100 mg einer Pechblende (Urangehalt 9%) gegeben, welche mit einer Kugelmühle bis zu einer Korngröße von 1 µm aufgemahlen worden war. Die Suspensionen wurden im Batch-Ansatz 2, 25, 50, 100, 250 und 600 Stunden geschüttelt. Anschließend wurden die Urangehalte in den erhaltenen Lösungen durch ICP-MS-Messungen bestimmt. Abbildung 24 zeigt die Ergebnisse.

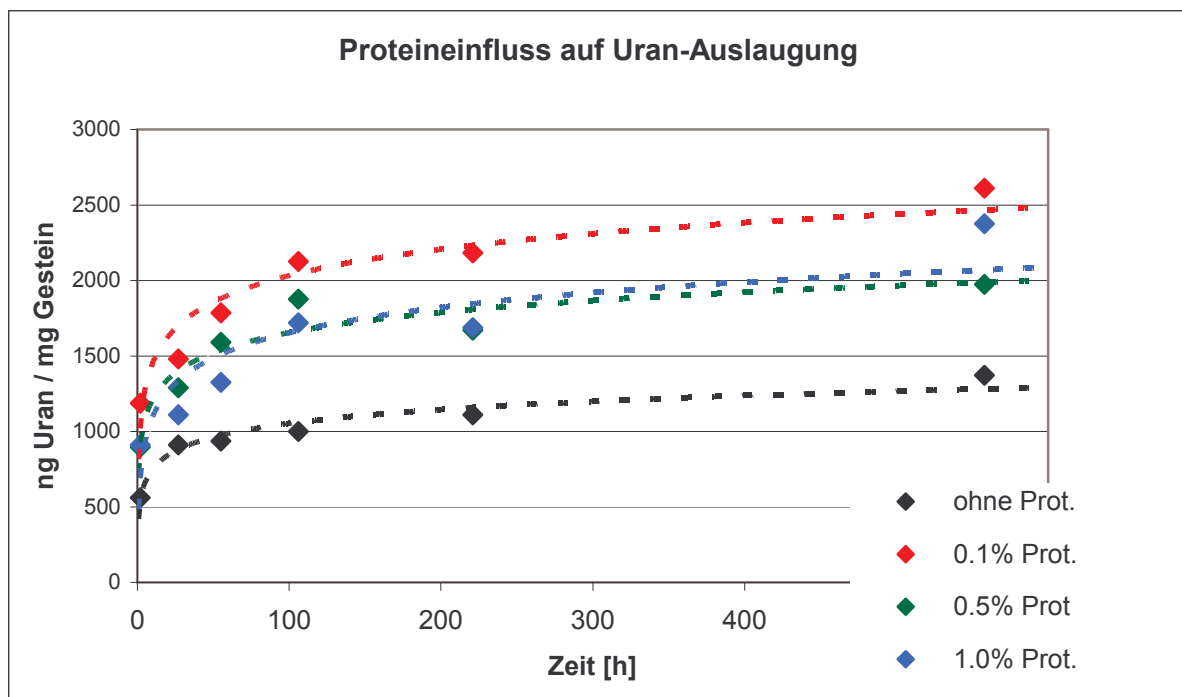


Abbildung 24: Uranauslaugung bei unterschiedlichen Proteingehalten der Extraktionslösung

Bei Anwesenheit von Proteinen in der Lösung wird bis zu doppelt soviel Uran aus dem Mineralstaub gelöst wie ohne Protein.

Der uneinheitliche Trend bei den verschiedenen Proteinkonzentrationen ist wahrscheinlich auf Sättigungs- und Koagulationsphänomene zurückzuführen.

Auf Grund dieser Ergebnisse wurden für die Auslaugungsversuche folgende Extraktionslösungen verwandt:

- 114 mmol NaCl
- 4 mmol KCl
- 30 mmol NaHCO<sub>3</sub>
- 0.1 % NaN<sub>3</sub> (zu Konservierungszwecken)

+ A) 0.1%      B) 0.5 %      Protein (BSA).

Die Bedingungen in der Lunge werden am ehesten durch Lösung A wiedergegeben. Da aber die Proteinkonzentration Schwankungen unterworfen ist, können höhere Proteingehalte durchaus auftreten.

### 3.7.2.2 *Eingesetzte Uranminerale*

In den Uranerzlagern der SDAG Wismut sind folgende Phasen der Mineralisation zeitlich und stofflich zu unterscheiden [72]:

- Die spätvariszische Phase mit Kammquarz-Kalzit-Pechblende-Formation.
- Die postvariszische Phase mit Magnesiumcarbonat-Stinkspat-Pechblende-Formation.
- Die Wismut-Cobalt-Nickel-Formation.

Vorherrschendes Uranerz in den Lagern ist die Pechblende (Uraninit). Dieses Mineral wird am ehesten durch die chemische Formel  $UO_{2+x}$  mit  $0 < x \leq 0.6$  dargestellt. Durch Verwitterungsprozesse wie Oxidation und Hydratisierung entsteht aus dem ursprünglich vorliegenden  $UO_2$  teilweise  $U_3O_8$ , wobei kein scharfer Übergang festzustellen ist [73]. Stoffliche Heterogenität kann selbst innerhalb eines Kristalls auftreten. Man findet daher eine große Zahl struktureller Varianten mit niedriger Symmetrie.

Als sekundäre Uranminerale werden oxidierte Uranerze, insbesondere Uranylminerale wie Autunit ( $Ca(UO_2)_2(PO_4)_2$ ), Gummit (nicht näher spezifiziertes Gemenge von Uran- u. Uranylmineralen), Zeunerit ( $Cu(UO_2)_2(AsO_4)_2$ ), oder Torbernit ( $Cu(UO_2)_2(PO_4)_2$ ) angegeben [74, 75, 76].

Für die Löslichkeitsuntersuchungen wurden folgende Mineralien beschafft und eingesetzt:

- Pechblende 1 (Niederschlema/Alberoda), Wismut GmbH, „PWI“
- Pechblende 2 (Schneeberg), Mineralog. Inst. d. Bergakademie Freiberg, „PFG“

- Autunit 1 (Mineral. Sammlung), Mineralog. Inst. d. Bergakademie Freiberg, „Aut1“
- Autunit 2 (Mineral. Sammlung), Mineralog. Inst. d. Bergakademie Freiberg, „Aut2“
- Gummit 1 (Schneeberg, „Weißer Hirsch“), Wismut GmbH, „Gum1“
- Gummit 2 (Schneeberg, „Weißer Hirsch“), Wismut GmbH, „Gum2“
- Referenzmaterial BL5 (Uraninit), CANMET, „BL5“

Sämtliche Minerale wurden mit einer Kugelmühle auf eine Korngröße von 1 µm aufgemahlen.

### 3.7.2.3 Versuchsdurchführung

Zu ca. 100 mg Mineralstaub wurden jeweils 10 mL Extraktionslösung A (0.1 % Protein) gegeben und nach Auslaugung im Batchbetrieb die Urangehalte der erhaltenen Lösungen bestimmt.

Insgesamt wurden über ca. 1000 h in größer werdenden Intervallen (12 h – 95 h) 20 mal die Extraktionslösungen erneuert. Dazu wurden die Proben 15 Minuten zentrifugiert, die Lösung abpipettiert und filtriert (Filtergröße 0.2 µm). Anschließend wurde zum verbliebenen Gesteinsstaub 10 mL frische Lösung gegeben und dieser 10 Minuten im Ultraschallbad suspendiert. Dann wurde die Auslaugung fortgesetzt.

Das Wechseln der Lösungen dauerte jeweils ca. 1.5 h, welche in die Extraktionszeit nicht eingerechnet wurden.

In gleicher Weise wurden die Pechblende 1 (PWI), Gummit 1 und 2 und der Uraninit BL5 auch mit Lösung B (0.5% BSA) versetzt, um den Einfluss der Proteinkonzentration zu untersuchen.

Außerdem wurden jeweils zwei Parallelansätze für beide Pechblenden und das Referenzgestein durchgeführt, um die Reproduzierbarkeit der Auslaugungen zu



untersuchen und eventuelle Fehler durch unvollständiges Abtrennen der partikulären Anteile aufzuklären.

Die Urangehalte der Lösungen und der ursprünglichen sowie der ausgelaugten Mineralstäube wurden durch ICP-MS-Messungen bestimmt.

#### 3.7.2.4 Ergebnisse

##### Urangehalt der Minerale

Zunächst wurde der Urangehalt der eingesetzten Minerale bestimmt.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 12 dargestellt.

Tabelle 12: Urangehalte der eingesetzten Minerale

<b>Mineral</b>	<b>Urangehalt (%)</b>
Pechblende 1 (PWI)	52.98
Pechblende 2 (PFG)	49.95
BL 5	7.15
Autunit 1	48.87
Autunit 2	44.90
Gummit 1	29.80
Gummit 2	55.84

##### Anteile an ausgelaugtem Uran in Lösung A

Die jeweils ausgelaugten Mengen an Uran wurden für jedes Mineral über die einzelnen Extraktionsschritte aufaddiert und auf den Gesamturangehalt bezogen.

In Abbildung 25 sind die so erhaltenen relativen ausgelaugten Urananteile dargestellt.

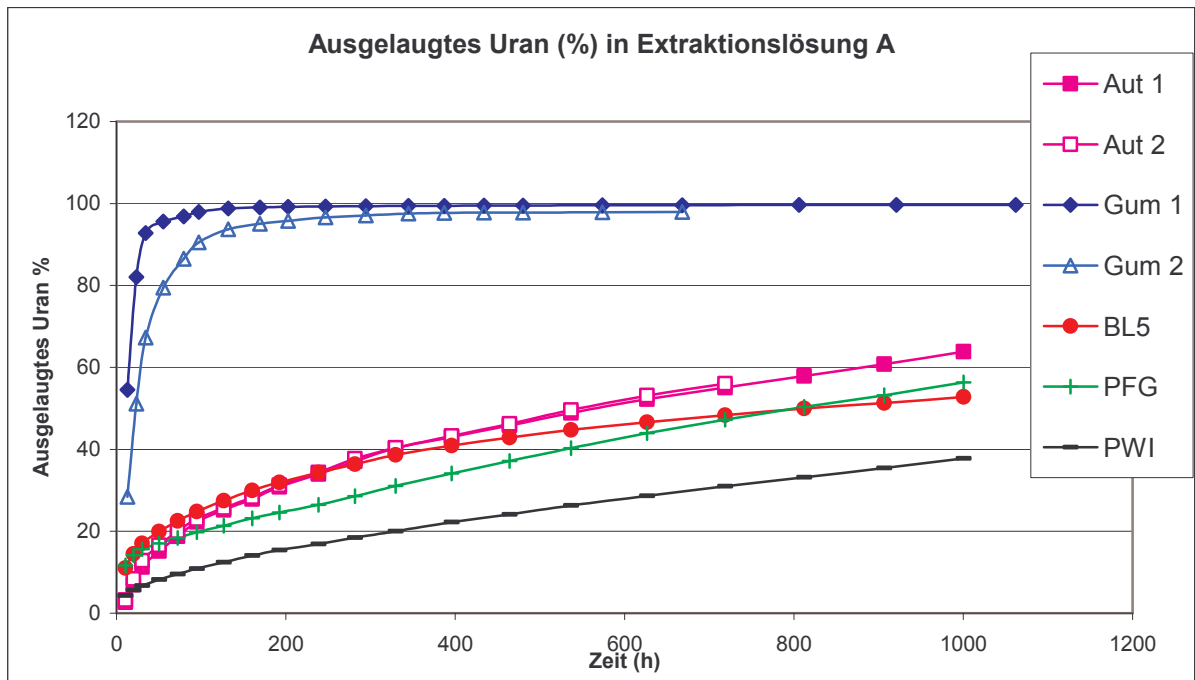


Abbildung 25: Relative Anteile (%) ausgelaugtes Uran in Extraktionslösung A

Das Verhalten der einzelnen Minerale ist sehr unterschiedlich.

Tabelle 13 verdeutlicht die Unterschiede anhand der jeweils ausgelaugten Anteile nach 100 und 1000 h.

Tabelle 13: Ausgelaugte Urananteile nach 100 und 1000 h

Mineral	Gelöster Anteil nach 100 h (%)	Gelöster Anteil nach 1000 h (%)
PWI	10.9	37.8
PFG	19.8	56.3
BL 5	24.8	52.8
Autunit 1	19.8	63.9
Autunit 2	22.2	56.0 (nach 700 h)
Gummit 1	98.0	99.8
Gummit 2	90.5	98.7 (nach 670 h)

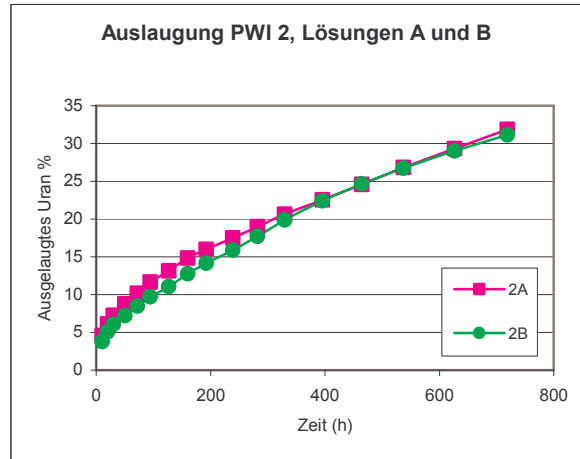
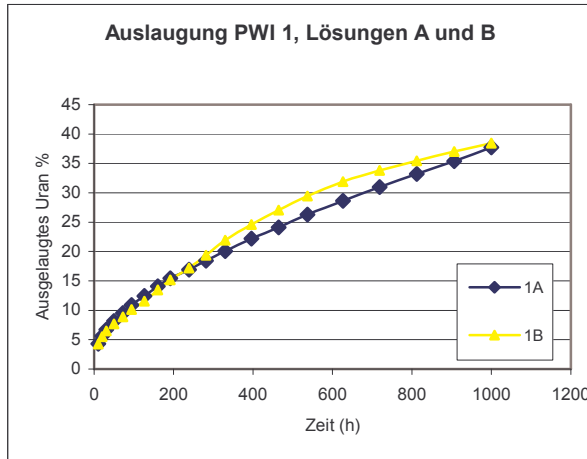
Anhand der erhaltenen gelösten Anteile lässt sich das Verhalten der Minerale in 3 Klassen unterteilen:

- 1) Die beiden Gummite sind bereits nach wenigen Stunden zum größten Teil ausgelaugt. Nach 400 h ist der Auslaugungsprozess nahezu vollständig. Gummit 2 hat sich nach 670 h komplett aufgelöst.
- 2) Die beiden Autunite zeigen nahezu identisches Verhalten und sind nach 100 h zu ca. 20% und nach 1000 h zu mehr als 50% ausgelaugt. Ähnliche Anteile sind sowohl bei der Pechblende PFG als auch beim Referenzgestein BL 5 ausgelaugt worden.
- 3) Die Pechblende PWI löst sich am langsamsten. Nach 100 h sind erst gut 10%, nach 1000 h knapp 40% des Urans in Lösung gegangen.

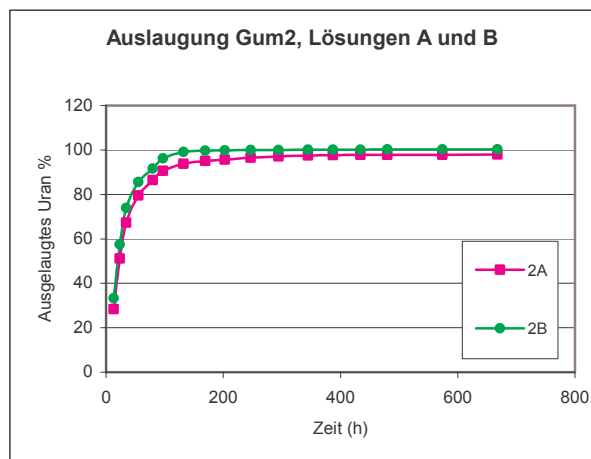
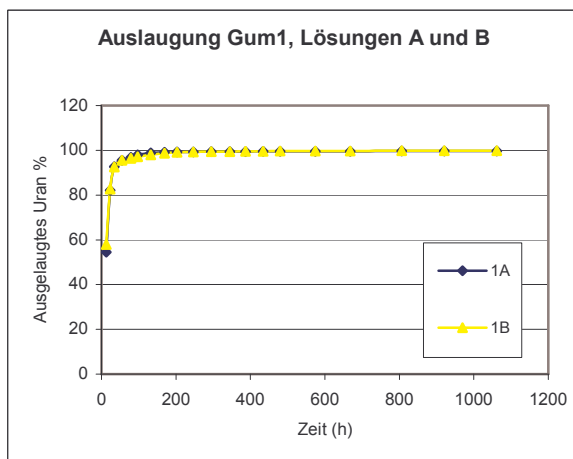
#### Abhängigkeit der Auslaugung vom Proteingehalt der Lösung

Zur Untersuchung der Abhängigkeit des Löslichkeitsverhaltens der Gesteinsstäube vom Proteingehalt der Extraktionslösung wurden die Pechblende 1 (Parallelansätze 1 u. 2), die Gummite 1 und 2 sowie das Referenzgestein (Parallelansätze 1 u. 2) zusätzlich mit Lösung B (0.5% BSA) ausgelaugt.

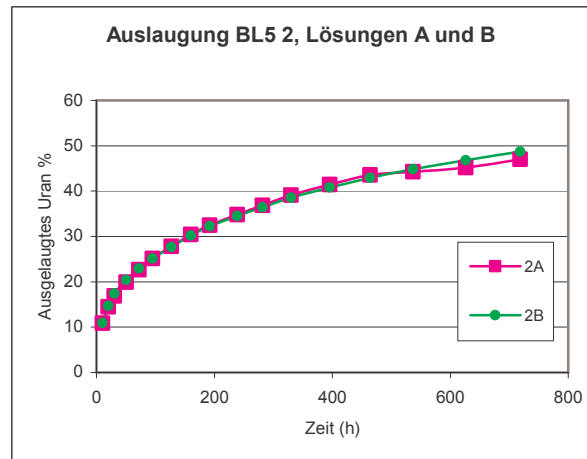
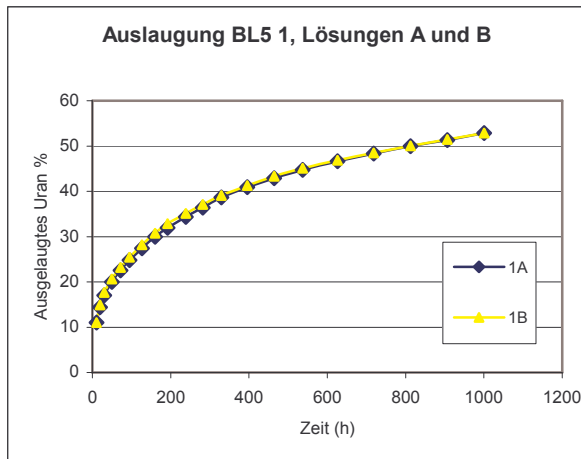
Die erhaltenen gelösten Anteile sind in den Abbildungen 26 und 31 dargestellt.



Abbildungen 26 u. 27: Relative Anteile ausgelaugtes Uran der Pechblende 1 (PWI) in 2 Parallelansätzen in den Extraktionslösungen A und B



Abbildungen 28 u. 29: Relative Anteile ausgelaugtes Uran der Gummite 1 und 2 in den Extraktionslösungen A und B



Abbildungen 30 u. 31: Relative Anteile ausgelaugtes Uran des Referenzgesteins BL 5 in 2 Parallelansätzen in den Extraktionslösungen A und B

In keinem der Ansätze sind innerhalb der Schwankungsbreite von 95 % deutliche Unterschiede festzustellen. Beim Gummit 2 wird in der proteinreicheren Flüssigkeit bis zu 6 % weniger Uran gelöst. Diese Abweichung beträgt beim ersten Extraktionsschritt bereits 4.7 % und in den letzten vier Extraktionen konstant 2.4%.

Unterschiede im Proteingehalt im untersuchten Bereich zwischen 0.1 und 0.5 % haben demnach keinen Einfluss auf den Verlauf der Auslaugungen.

### Reproduzierbarkeit der Auslaugungen

In keinem der einzelnen Extraktionsschritte oder im Gesamtanteil des ausgelaugten Urans der 5 Parallelansätze sind große Abweichungen festzustellen.

Die größte Differenz tritt bei der Pechblende PWI in Lösung B mit 2.5 % auf.

Da alle Parallelansätze gleichförmig verlaufen, kann davon ausgegangen werden, dass sowohl die Abtrennung der Partikel von der Lösung als auch die Resuspension nach Erneuerung der Flüssigkeit erfolgreich und reproduzierbar durchgeführt wurden.

### 3.7.3 Bindungsformen und Oxidationsstufen des Urans- Xanes-Untersuchungen

Die Bindungsform und Oxidationsstufe des in den Mineralien und in den Lösungen vorliegenden Urans wurden mit Hilfe der Röntgenabsorptionsspektroskopie im XANES-Bereich bestimmt.

#### 3.7.3.1 Versuchsdurchführung

Die Messungen wurden am Deutschen Elektronensynchrotron (DESY) im Hamburger Synchrotronstrahlungslabor (HASYLAB) an der Beamline A1 sowohl im Fluoreszenz- als auch im Transmissionsmodus durchgeführt.

Die Spektren wurden an der Uran-L<sub>3</sub>-Kante mit Hilfe eines Si(311)-Doppelkristallmonochromators im Energiebereich von 16950 bis 18200 eV (im XANES-Bereich von 17130 bis 17180 in 0.5 eV-Abständen) durchgeführt.

Die Energiekalibrierung erfolgte an Hand mit gespeicherter Heidenhainwinkel (ROD 800), welche in die entsprechenden Energien umgerechnet wurden.

Zur Aufnahme der Fluoreszenzspektren diente ein 7-Elemente-Siliziumdetektor. Hierbei wurde bei jedem Energieschritt die Intensität der erhaltenen spezifischen Uranfluoreszenz für sämtliche Detektor-Pixel aufaddiert.

Da bei geringen Gehalten in Feststoffproben, bei Inhomogenitäten in den Proben und generell in Flüssigkeiten das Signal-Rausch-Verhältnis in Fluoreszenzspektren im Allgemeinen besser ist als in Transmissionsspektren, wurden zur Auswertung der Untersuchungen die Fluoreszenzspektren herangezogen.

Jeweils 50 – 100 mg Gesteinsstaub wurden im Achatmörser 1:1 mit Polyethylen vermischt und zu Pillen (Durchmesser 12 mm) gepresst.

Die Untersuchung der flüssigen Proben erfolgte direkt mit Hilfe einer eigens entwickelten Messzelle, welche fünf verschiedene Lösungen aufnehmen kann (Abbildung 32).

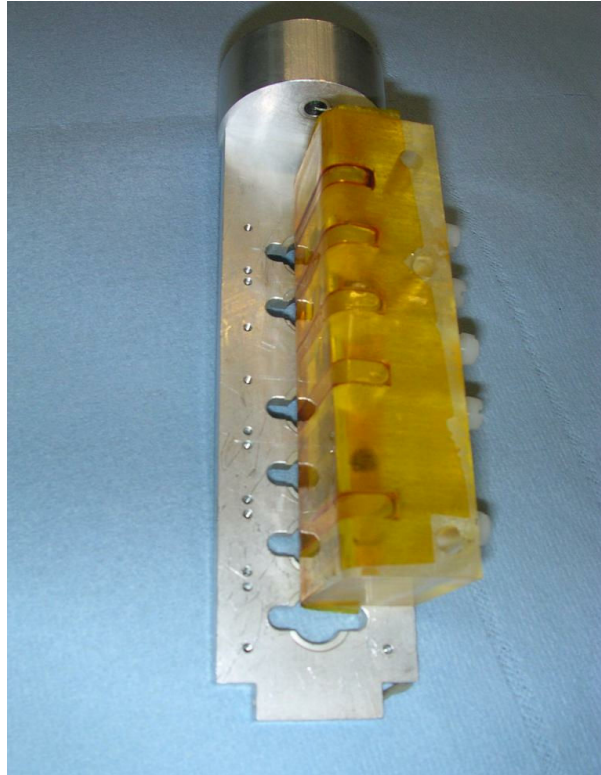


Abbildung 32: Verwendete Flüssigkeitenmesszelle

Untersucht wurden die in Kapitel 3.7.2.2 beschriebenen Uranminerale, ihre Auslauglösungen und die nach der Auslaugung verbliebenen Rückstände.

Die erhaltenen Einzelspektren wurden von Strahlschwankungen befreit, energiekalibriert und zur Verbesserung der Zählstatistik addiert.

Die Auswertung erfolgte mit Hilfe des Software-Pakets Athena [77]. Hierbei wurden die Spektren nach Untergrundkorrektur normiert und die erste Ableitung der Absorption berechnet.

### 3.7.3.2 Ergebnisse

#### Untersuchung der Uranminerale

Die Fluoreszenzspektren der eingesetzten Minerale sind in Abbildung 33 dargestellt.

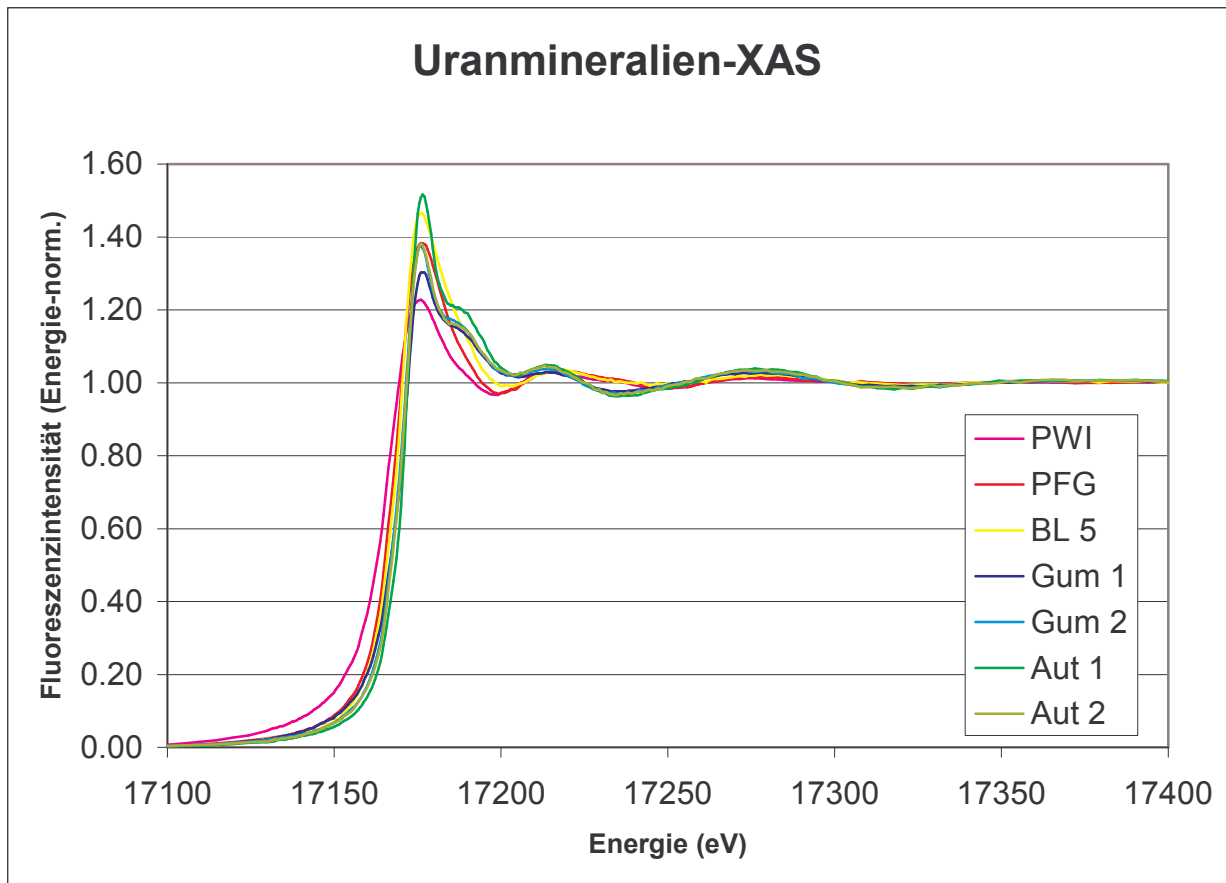


Abbildung 33: Fluoreszenzspektren der Uranminerale

Um Unterschiede im Spektrenverlauf verdeutlichen zu können, wird der XANES-Bereich in Abbildung 34 näher betrachtet.



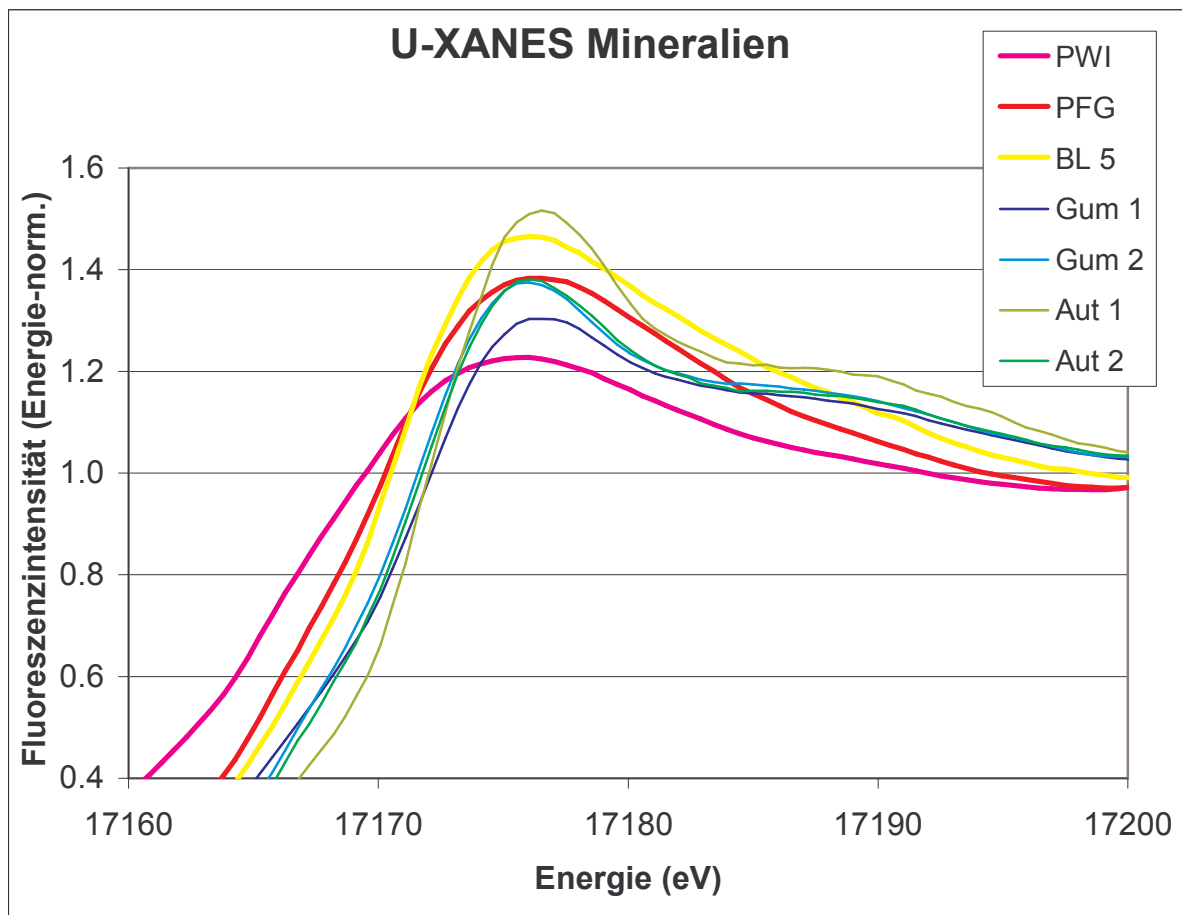


Abbildung 34: XANES-Bereich der Uranmineralien

Hier zeigt sich, dass die Uraninite (PWI, PFG, BL5) einen anderen Kurvenverlauf nehmen als die Uranyle (Gummite und Autunite). Bei ersteren fällt die Kurve nach dem Maximum ziemlich gleichmäßig ab, während die Uranyle im Bereich zwischen 17183 und 17190 eV eine deutliche Schulter aufweisen.

Zur besseren Beschreibung des Kurvenverlaufs, insbesondere der Maxima und der Schultern, sind in Abbildung 35 die ersten Ableitungen der Spektren dargestellt.

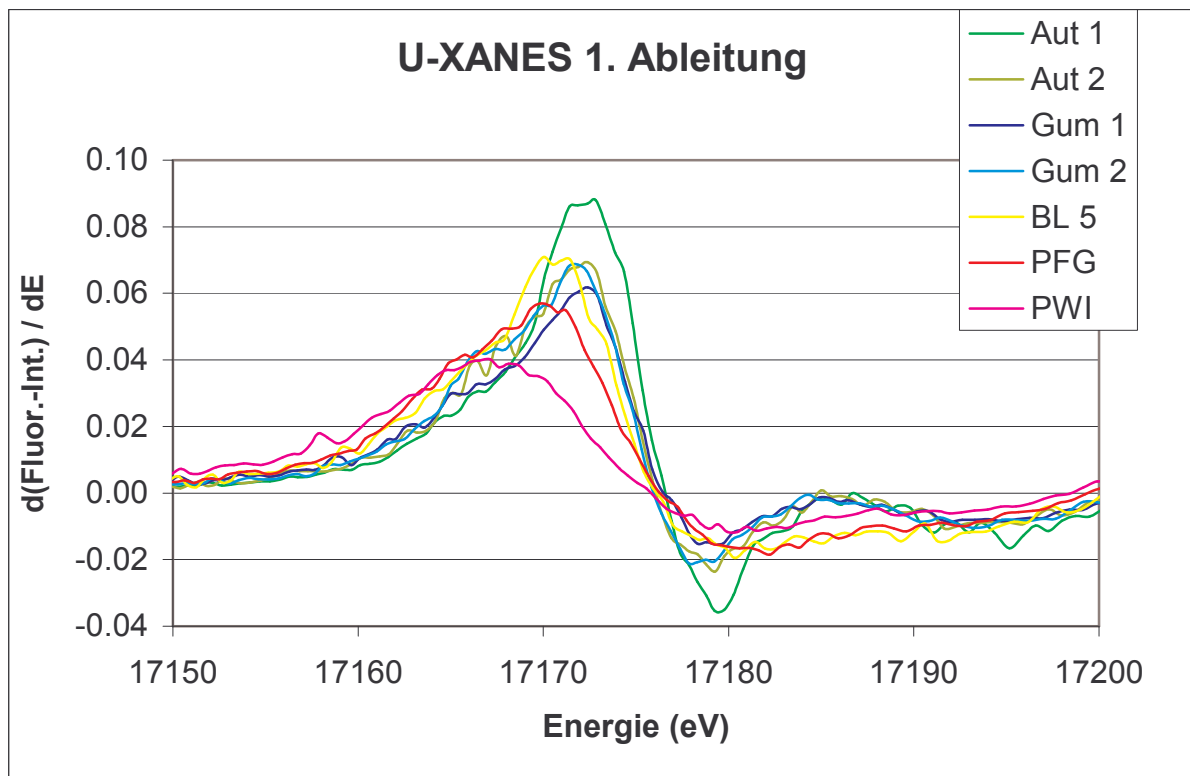


Abbildung 35: 1. Ableitung der Fluoreszenzspektren

In der Region von 17185 eV erreichen die Ableitungen der Uranylspektren ein zweites Maximum mit einem absoluten Wert von beinahe 0, während die der Uraninite hier praktisch kein Maximum aufweisen.

Als Maß für den Oxidationszustand eines Minerals bestimmt man die Kantenlage, d. h. den Wendepunkt, also das Maximum der 1. Ableitung, des Intensitätsanstiegs in Nähe der Absorptionskante.

Der Fehler der Wendepunktsbestimmungen beträgt hierbei ca.  $\pm 0.25$  eV, da der Energiescan in 0.5 eV-Schritten durchgeführt wurde.

Die energetischen Lagen der Wendepunkte sind in Tabelle 14 angegeben.

Tabelle 14: Wendepunkte der Spektren

<b>Mineral</b>	<b>Wendepunkt (eV)</b>
PWI	17167.1
PFG	17169.8
BL 5	17170.8
Aut 1	17172.8
Aut 2	17172.4
Gum 1	17172.4
Gum 2	17171.9

Die Unterschiede zwischen den untersuchten Mineralen betragen mehr als 5 eV und reichen von der Pechblende (PWI, Niederschlema) bis zum Autunit 1.

Hierbei kann man 3 Gruppen unterscheiden:

- 1) PFG und BL5 (17170 – 17171 eV) als teilweise oxidierte Uraninite, also als Mischoxide
- 2) Autunite und Gummite ( $\geq 17172$  eV) als Uranylminerale der Oxidationsstufe +VI

#### Untersuchung der Auslauglösungen

Um die Bindungssituation der ausgelaugten Uranspezies zu untersuchen, wurden die erhaltenen Lösungen in gleicher Weise untersucht.

Die erhaltenen Fluoreszenzspektren sind in Abbildung 36 dargestellt.

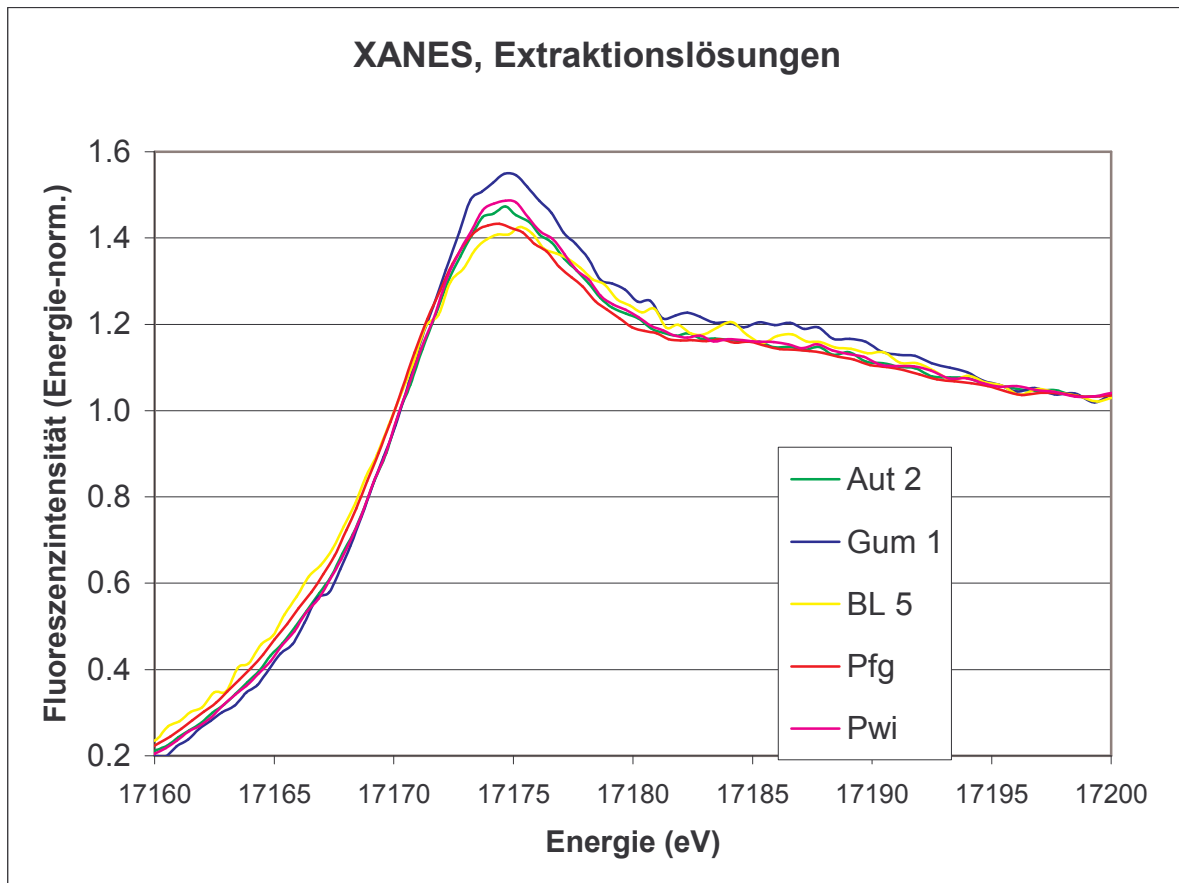


Abbildung 36: Fluoreszenzspektren der Extraktionslösungen im Bereich der Absorptionskante

Der Verlauf der Spektren ist für die verschiedenen Minerale sehr ähnlich. Auch hier kann man deutlich die Schulter im Bereich von 18183 bis 17188 erkennen.

Ein Vergleich der 1. Ableitungen (Abbildung 37) verdeutlicht dies.

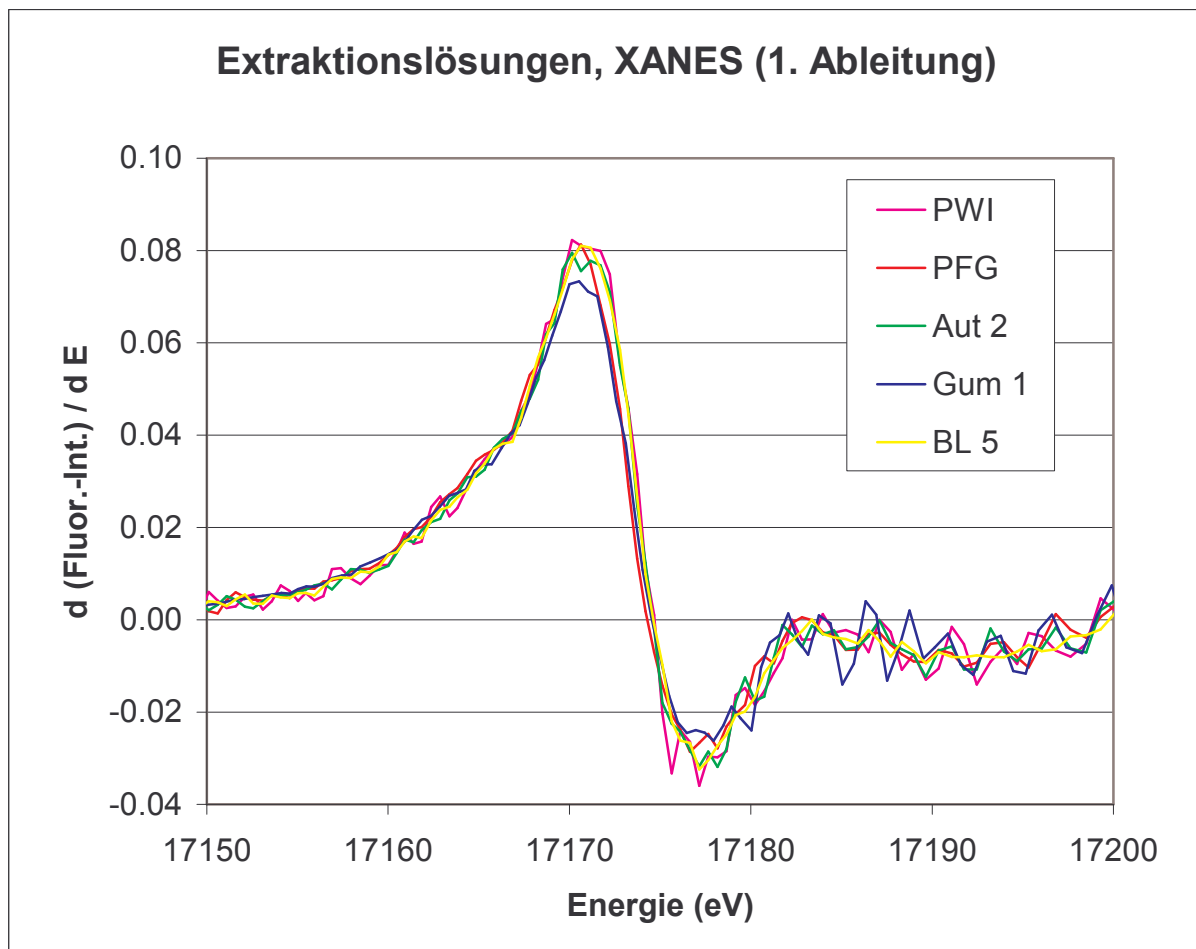


Abbildung 37: 1. Ableitungen der Spektren der Extraktionslösungen

Sowohl das 1. Maximum als auch der Nulldurchgang der Ableitungen sind für alle erhaltenen Lösungen, unabhängig vom eingesetzten Mineral, beinahe gleich. Jede der Lösungen zeigt ein weiteres Maximum nahe 0 bei einer Energie von ca. 17184 eV, analog zu den Uranylmineralen.

Um weitere Informationen über die Uranylspezies in Lösung zu erhalten, wie z. B. Bindungsabstände zwischen Absorberatom und Nachbaratomen, und um den Koordinationszustand mit theoretischen Modellen zu vergleichen, wurde für die Extraktionslösungen eine EXAFS-Auswertung durchgeführt.

Hierzu wurde das Spektrum in den Wellenraum (k-Raum) transformiert, ein  $\mu_0$ -Fit durchgeführt, d.h. der atomare Absorptionshintergrund festgelegt, eine  $k^n$ -Wichtung (Amplitudenanpassung) vorgenommen und durch eine Fourier-Transformation eine modifizierte radiale Verteilungsfunktion (RDF) berechnet. Diese gibt die

Elektronendichte und Abstände der Nachbaratome in Form von Koordinationsschalen wieder. Die so ermittelten Abstände differierten um ca. 50 pm von den realen Abständen, was durch eine Phasenkorrektur zu beheben war.

Für die Extraktionslösungen ergab sich im  $k$ -Bereich 3 bis 11 ( $1/\text{\AA}$ ) bei einer Wichtung von 2 eine  $\chi(k)k^2$ -Funktion, welche gut mit einer berechneten Funktion der ersten beiden Koordinationsschalen eines Uranylions übereinstimmt.

Dies ist in Abbildung 38 dargestellt.

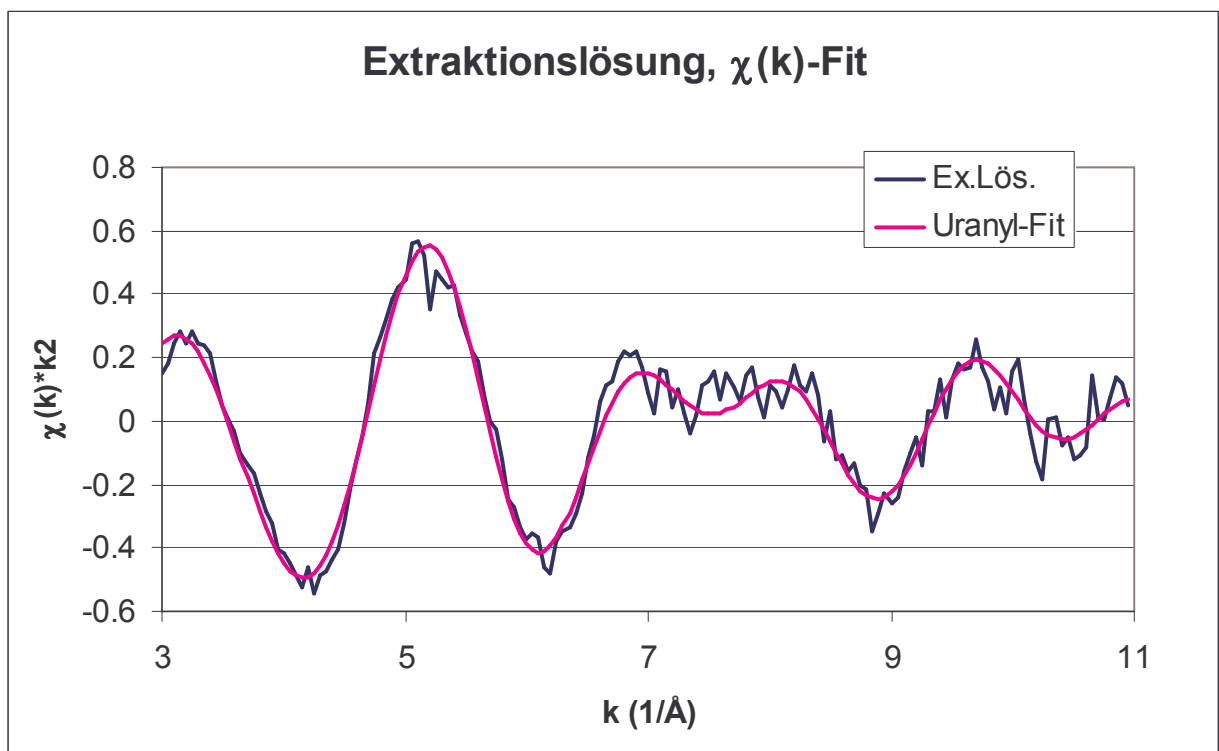


Abbildung 38:  $\chi(k)k^2$ -Funktion der Extraktionslösungen und der Fit der ersten beiden Schalen eines Uranylions

Die gute Übereinstimmung zwischen Experiment und Fit zeigt sich auch bei den erhaltenen Radialfunktionen (Abbildung 39).

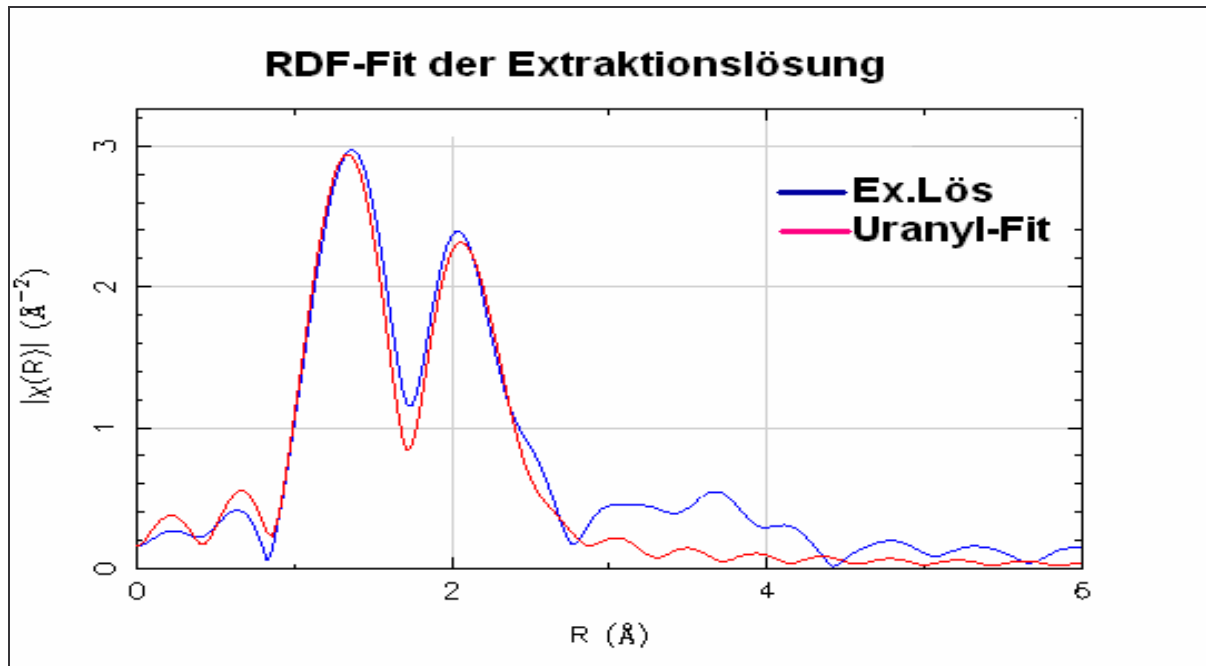


Abbildung 39: Radialfunktion der Extraktionslösungen und des Fits eines Uranylions (**nicht phasenkorrigiert**)

Man erhält als Ergebnis des Fits zwei Sauerstoffschalen mit Abständen von 180 und 240 pm für die axialen und äquatorialen Sauerstoffatome des hydratisierten Uranylions.

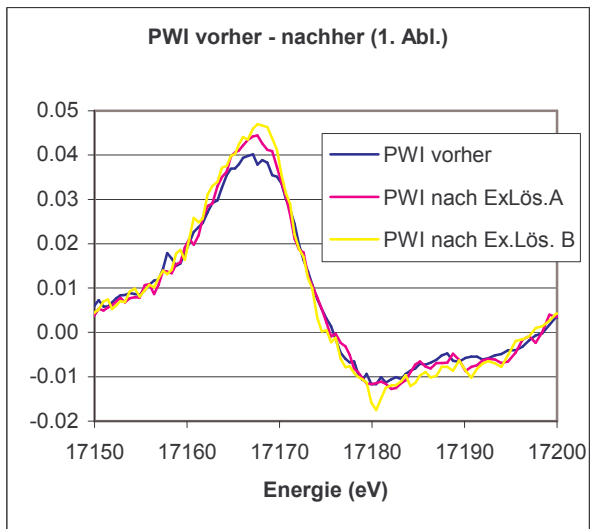
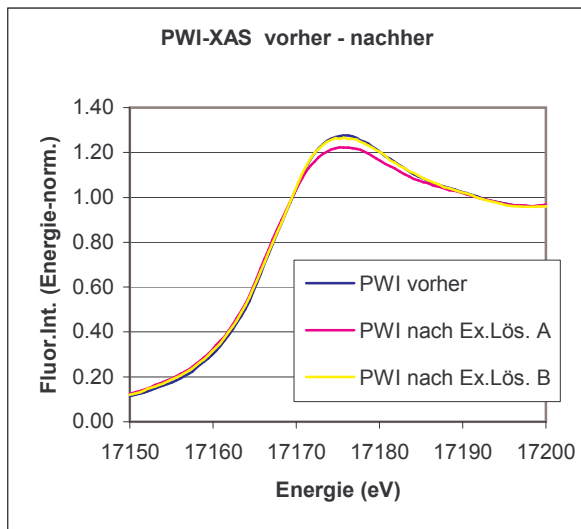
Daher ist davon auszugehen, dass in allen erhaltenen Lösungen das ausgelaugte Uran als Uranylion vorliegt.

#### Vergleich der ursprünglichen und ausgelaugten Mineralstäube

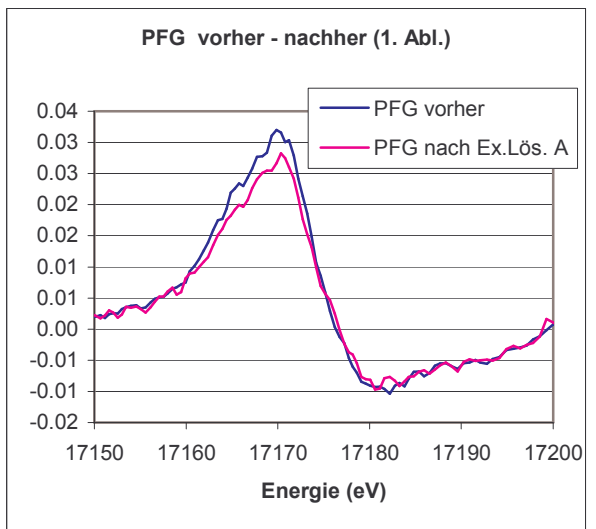
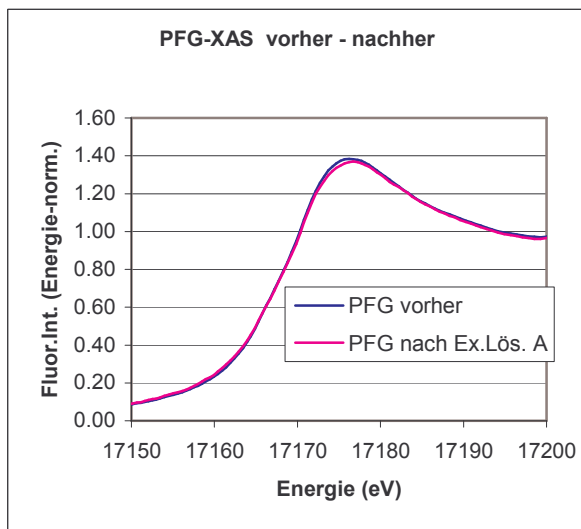
Um Auswirkungen der Auslaugung auf die Mineralien zu untersuchen, wurden die nach der Extraktion verbliebenen Rückstände ebenfalls vermessen.

Für Untersuchungen an den Gummiten stand keine ausreichende Menge an Substanz mehr zur Verfügung.

Ein Vergleich der erhaltenen Spektren vor und nach den Extraktionen und die jeweiligen ersten Ableitungen sind in den Abbildungen 4040 bis 47 ersichtlich.

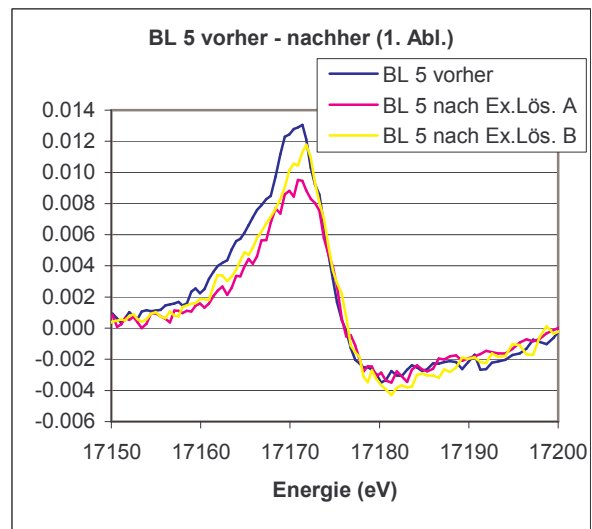
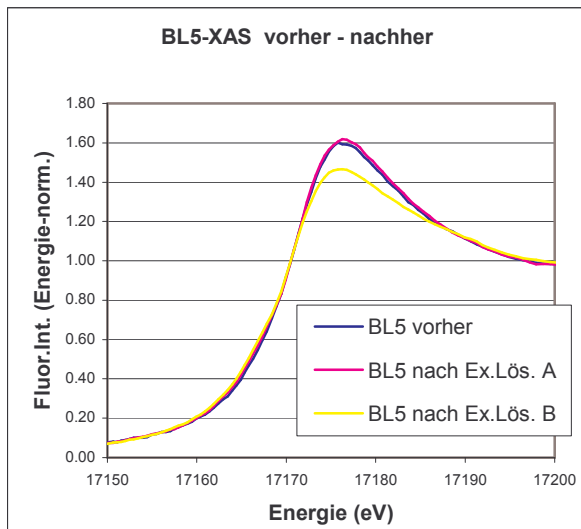


Abbildungen 40 u. 41: PWI-XAS vor und nach den Auslaugungen durch Lösungen A und B sowie deren 1. Ableitungen

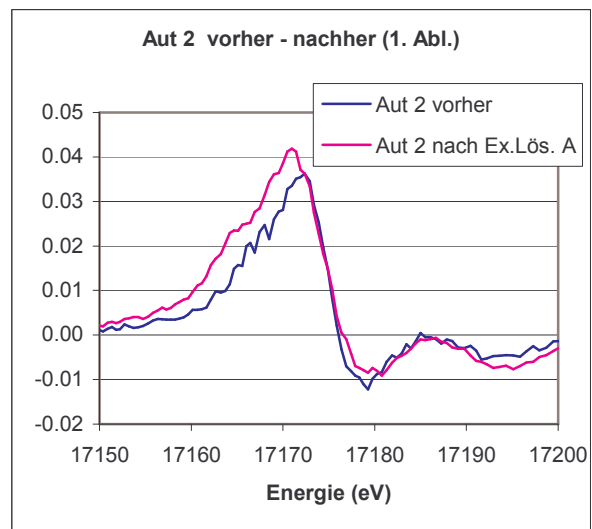
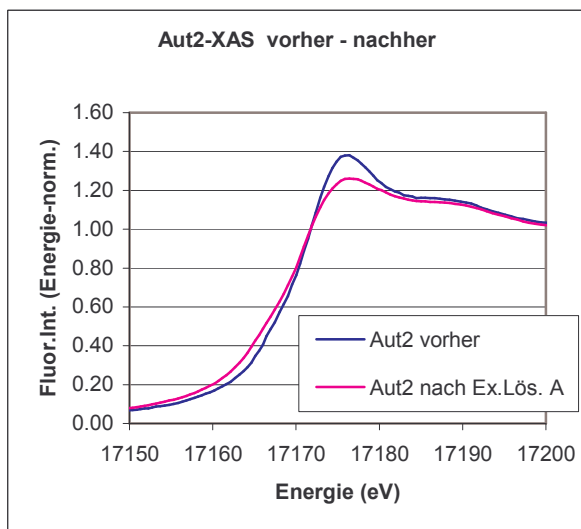


Abbildungen 42 u. 43: PFG-XAS vor und nach der Auslaugung durch Lösungen A sowie deren 1. Ableitungen





Abbildungen 44 u. 45: BL 5-XAS vor und nach den Auslaugungen durch Lösungen A und B sowie deren 1. Ableitungen



Abbildungen 46 u. 47: Autunit 2-XAS vor und nach der Auslaugung durch Lösung A sowie deren 1. Ableitungen

Die Maxima der 1. Ableitungen, d.h. die Kantenlage der XAS-Spektren, wurden für die einzelnen Gesteinsstäube bestimmt. Sie sind in Tabelle 15 dargestellt.

Tabelle 15: Wendepunkte der Fluoreszenzspektren vor und nach den Auslaugungen

<b>Mineral</b>	<b>Wpkt. vorher (eV)</b>	<b>Wpkt. nach Ex.Lös. A (eV)</b>	<b>Wpkt. nach Ex.Lös. B (eV)</b>
<b>PWI</b>	17167.1	17167.6	17168.1
<b>PFG</b>	17169.8	17170.3	17170.3
<b>BL 5</b>	17170.8	17170.9	17171.8
<b>Aut 2</b>	17172.4	17170.9	17171.4

Die erhaltenen Veränderungen betragen maximal 1.5 eV (Autunit) und minimal 0.5 eV (PFG). Tendenziell verschiebt sich die Kantenlage bei den Uraniniten (PWI, PFG, BL5) durch die Extraktion um ca. 1 eV zu höheren Energien, während beim Uranylerz (Autunit) um ca. 1 eV verringerte Werte erhalten wurden.

Die Daten deuten daraufhin, dass es während des Auslaugens nur wenig Veränderungen in den Stäuben gibt. Die erhöhten Kantenlagen der Uraninite können von einer teilweisen Oxidation herrühren, welche nicht zum sofortigen Lösen des betroffenen Staubanteils führt. Die leicht verringerten Werte beim Autunit zeigen das Herauslösen von besonders mobilen Anteilen an, welche schwächer in den Staubpartikeln gebunden waren als die fester gebundenen Uranylionen in anderen Kristallstrukturen.

## 4 Diskussion

Im Rahmen des vorliegenden Projekts wurde die SyRFA-Mikrosonde, die im Verlauf des Forschungsvorhabens StSch 4150 an der Beamline L des HASYLABS etabliert wurde, routinemäßig auf die Untersuchung der lokalen Elementverteilung in 100 Gewebeproben des Wismutarchivs eingesetzt. Die untersuchten Proben entstammen 19 Fällen, die unter berufsanamnetischen Gesichtspunkten ausgewählt wurden. Die zur Auswahl der Proben notwendigen Belastungsdaten wurden vom BAUA bzw. von der HVBG zur Verfügung gestellt. Neben 17 Fällen aus dem Wismutarchiv wurden 1 Fall untersucht, der keine nachweisliche berufsbedingte Staubexposition ausgesetzt war, sowie Gewebe eines Bergarbeiters untersucht, der nicht im Bergbau tätig war.

Die Proben wurden im Pathologischen Institut des Klinikums Bergmannsheil der Ruhruniversität Bochum histologisch begutachtet und für die orts aufgelösten Messungen präpariert.

Neben den orts aufgelösten Untersuchungen wurden ausgewählte Proben auch im Rahmen von Bulkuntersuchungen mittels ICP-MS hinsichtlich ihres mittleren Elementgehalts untersucht, um die Plausibilität der Daten zu überprüfen.

Die Schadwirkung der in den Geweben deponierten Partikel hängt nicht allein von deren Schadstoffgehalt ab, sondern wird wesentlich durch deren Form, Lage und chemischer Beständigkeit beeinflusst. Ein weiterer Schwerpunkt des Projekts war deshalb die Untersuchung des Freisetzungsverhaltens ausgewählter Stoffe aus den deponierten Partikeln unter dem Einfluss der physiologischen Bedingungen. Dazu wurden Modellexperimente konzipiert und durchgeführt. Außerdem wurden Röntgen- und elektronenmikroskopische Verfahren zum Auffinden und visualisieren deponierter Partikel durchgeführt.

### 4.1 *Methodische Entwicklungen*

Die Beantwortung der aufgezeigten Fragestellungen war nur durch die Anwendung eines komplexen Systems leistungsstarker Analysenverfahren möglich. An zentraler Stelle des Projekts wurde die Röntgenmikrosonde mit Synchrotronstrahlung

eingesetzt. Notwendige Weiterentwicklungen betrafen die Verbesserung der fokussierenden Kapillaroptiken sowie eine Verbesserung der quasiinternen Standardisierung.

#### 4.1.1 Neuartige Standardelementfolien

Da die Hauptelemente der Probenmatrix einen starken Einfluss auf die Fluoreszenzintensität der zu analysierenden Spurenelemente ausüben, ist die Quantifizierung problematisch [78, 79, 80, 81], insbesondere deshalb weil die Probenmatrix innerhalb der Probe auf mikroskopischer Ebene teilweise erheblich variiert. Idealerweise quantifiziert man deshalb indem man die Gehalte auf ein internes Standardelement bezieht, das entweder homogen verteilt in der Probe enthalten ist, homogen verteilt in die Probe eingebracht bzw. aufgebracht werden kann.

Letzterer Ansatz wird seit längerem in unserer Arbeitsgruppe verfolgt. Dazu wurden Elementfolien entwickelt die unter der Probe montiert werden [26]. Das Referenzelement Ga, das in der Probe nicht enthalten sein darf, wurde in einer Polyacrylatfolie fixiert. Mit dieser Methode wurden bereits gute Resultate erzielt, allerdings war die Probenpräparation wegen der geringen Folienoberfläche und der häufig notwendigen Vorbehandlung (Streckung) der Folie schwierig.

Im Rahmen des laufenden Projekts wurde deshalb ein neuartiges Verfahren zur quasi-internen Standardisierung und Probenpräparation erarbeitet, das eine gleichmäßigere Verteilung des Standardelements Ge bei gleichzeitig einfacherer und reproduzierbarer Präparation der Standardfolien realisiert. Durch Verwendung eines neuen Trägersystems für die Proben wurde die Probenpräparation insgesamt verbessert.

Es wurde gezeigt, dass die Elementverteilung auf den Standardfolien homogen ist. Die Montage der hochreinen Polycarbonatfolie auf Aluminiumprobenträgern mit einem Loch von 2,5 cm, erleichtert die Probenpräparation insgesamt erheblich. Auf die Folienfläche, die nach dem Aufbringen der Probe auf der Unterseite besputtert wird, können ganze Dünnschnitte präpariert werden. Während der Messung können dann einzelne Areale separat angefahren werden. Besonders vorteilhaft ist die Glatte Oberfläche der Folie, auf die die Probe gleichmäßig haftend aufgebracht werden

kann. Insgesamt bietet die neue Methode der Standardisierung erhebliche Vorteile. Die Anwendung ist nicht allein auf Gewebeprobe n beschränkt.

#### 4.1.2 Neuartige Kapillaro ptiken im Vergleich zu den Bleiglas kapillaren

Um eine für die Fragestellung adäquate örtliche Auflösung zu erreichen, werden an der Beamline L des HASYLAB Kapillaro ptiken eingesetzt. Bis zum Beginn des Projekts wurden dazu Monokapillaren aus Bleiglas verwendet, die zwar eine ausreichende örtliche Auflösung gewährleisten, deren Leistungsfähigkeit jedoch durch den Bleigehalt im Glas sowie den vergleichsweise niedrige Verstärkungsfaktoren limitiert ist. Die durch das Blei aus dem Glas verursachten L-Linien interferieren mit den K-Linien des Arsens, das dadurch nicht quantifiziert werden kann.

Seit Anfang 2002 gibt es am Messplatz der Beamline L zwei Monochromatorsysteme, mit deren Hilfe die Anregungsenergien variiert und gezielt bestimmte Elemente angeregt werden können. Die im Vergleich zur polychromatischen Anregung geringere Intensität des monochromatischen Anregungsstrahls, wird durch den Einsatz einer Polykapillare zur Fokussierung des Strahls mehr als kompensiert werden. Die aus Projektmitteln beschaffte Polykapillare der Firma XOS hat einen Gainfaktor von ca. 2000 bei einer mit der Monokapillare vergleichbaren Auflösung. Es wurde gezeigt, dass die Nachweisgrenzen durch die neue Art der Anregung insbesondere auch für Uran und Arsen z.T. erheblich reduziert wurden.

Damit ist die beschaffte Kapillare ein hoch effektives Instrument zur Fokussierung der Strahlung. Der Einsatz der Polykapillare in Verbindung mit monochromatischer Anregung weist im Vergleich zum etablierten Einsatz einer Monokapillare aus Bleiglas in Kombination mit polychromatischer Anregung (s. Ergebnisbericht Fördervorhaben StSch 4150) folgende Vorteile:

- Reduzierung des Untergrunds
- Abstimmung der Anregungsenergie im Energiebereich <30 keV auf besonders interessierende Elemente
- Eliminierung der durch das Bleiglas verursachten Bleilinen im Spektrum.

Alles zusammen führt gegenüber der Messung mit polychromatischer Anregung und elliptischer Bleiglaskapillare zur deutlichen Verbesserung des Nachweisvermögens. In Kombination mit einem digitalen Signalprozessor (DSP), der in der Lage ist große Mengen an Signalen zu verarbeiten, konnte die Messzeit pro Spektrum halbiert werden. Die Untersuchung größerer Areale war dadurch möglich.

Allerdings geht die Verwendung der Polykapillare zu Lasten der Multielementfähigkeit, da nur mit Anregungsenergien bis ca. 20 keV gearbeitet werden kann. Dadurch nimmt das Nachweisvermögen für solche Elemente wie Ag, Sn, Ba, deren K-Linien oberhalb von 20 keV liegen, deutlich ab und die in den Proben vorhandenen relativ niedrigen Gehalte sind nicht mehr bestimmbar.

#### ***4.2 Darstellung von Form und Lage der deponierten Partikel***

Form und Lage der Partikel wurde mit Hilfe mikroskopischer Verfahren dargestellt. Mit Hilfe der Lichtmikroskopie wurden zunächst die zu untersuchenden Proben begutachtet und charakterisiert. Durch Untersuchung von unterschiedlich gefärbten Präparaten oder durch polarisationsoptische Darstellung der Gewebe wurden Areale mit besonderen Staubanreicherungen für die Messungen mit der SyRFA-Mikrosonde identifiziert, lichtmikroskopisch charakterisiert und histologisch evaluiert. Die beigefügten Bilddokumente dienen der Orientierung bei der Auswahl der Messbereiche. Allerdings ist die Auflösung der Lichtmikroskopie nicht sehr groß so dass in der Regel größere Partikelassoziationen nicht aufgelöst wurden. Die Form der Einzelpartikel wurde nicht dargestellt.

Mit Hilfe der REM/EDX wurden aus den Geweben heraus präparierte Partikel dargestellt. Gewebeassoziierte Partikel konnten in situ bei den untersuchten Proben nicht dargestellt werden. Lediglich die beobachtete Elementverteilung deutet auf das Vorhandensein von Partikeln an der Gewebeoberfläche. Die separierten Partikel haben eine Größe zwischen 2 und 10  $\mu\text{m}$ , wobei ihre Form sehr unterschiedlich ist. Es wurden u.a. Elemente wie Si, Na, Mg, Ca, Ti, Fe identifiziert, wobei die Elementzusammensetzung in den verschiedenen Partikeln gefundene Elementzusammensetzung nicht einheitlich ist.

Eine gute Darstellung von Größe und Form der im Gewebe deponierten Partikel ist mit Hilfe der EFTEM und Röntgenmikroskopie gelungen. Mit beiden Methoden

wurden gewebeassoziierte Partikel mit einer Größe von wenige  $\mu\text{m}$  dargestellt und im Fall der EFTEM weiter charakterisiert. Die Ergebnisse, die für die gefärbten Schnitte erhalten wurden, deuten auf eine Festlegung der Partikel innerhalb von Zellen. Dies ist nicht verwunderlich, da allgemein von einer starken Beteiligung von Macrophagen bei der Festlegung und Clearance von inhalieren Staubpartikeln ausgegangen wird [32]. Mittels EFTEM ist es möglich, die Elementzusammensetzung einzelner dieser kleinen Partikel zu bestimmen. Damit wären auch uranhaltige Partikel direkt identifizierbar. Bislang wurden noch keine derartigen Partikel gefunden. Allerdings können diese Analysen nur an sehr dünnen Schnitten durchgeführt und damit ganze Zellen nicht dargestellt werden.

Im Gegensatz zur EFTEM vermag die TXM auch dickere Gewebeschichten zu durchleuchten. Diese Methode wurde bereits erfolgreich zur Darstellung ganzer Zellen eingesetzt [82, 83]. Dabei werden die Messungen häufig an Kryoproben durchgeführt, die nicht so empfindlich gegen eine Zerstörung durch den Röntgenstrahl sind. Mit Hilfe verschiedener Kontrasttechniken z.B. Zernike-Phasenkontrast [41], können die Bilder der TXM kontrastreicher gemacht werden und es ist möglich uranhaltige Partikel darzustellen.

Die TXM hat ein geringeres Auflösungsvermögen als die EFTEM, das jedoch größer als das der Lichtmikroskopie ist. Dadurch, dass mit TXM auch dickere Proben darstellbar sind, wird eine lange Zeit bestehende Lücke geschlossen.

Im Vergleich zur SyRFA-Mikrosonde zeichnen sich EDX, TXM und EFTEM durch ein besseres Auflösungsvermögen aus. Allerdings sind die Nachweisgrenzen der EDX mit  $1000\mu\text{g/g}$  deutlich oberhalb derer der SyRFA-Mikrosonde, die orts aufgelöst Schwermetallgehalte ermitteln kann. Im Gegensatz zu den elektronen- und röntgenmikroskopischen Methoden sind allerdings keine Einzelpartikel in den im Rahmen des Projekts untersuchten Proben darstellbar. Im Verbund eingesetzt, trägt jede einzelne Methode dazu bei, das Verständnis über den Zusammenhang zwischen Elementgehalt, Form, Lage, chemische Beständigkeit der Partikel und Entstehung von Krankheitsbildern zu verbessern.

### 4.3 Schwermetallgehalte in Gewebeproben

Die Schwermetallgehalte in den Gewebeproben aus Lunge, Lymphknoten, Leber und Nieren wurde mit Hilfe der SyRFA- Mikrosonde untersucht. Zusätzlich wurden unter Anwendung der klassischer spurenanalytischer Methoden wie ICP-MS und AAS, die mittleren Elementgehalte in den Proben bestimmt.

#### 4.3.1 Gegenüberstellung der orts aufgelösten Daten mit denen der Bulkanalysen

Tabelle 16 und 17 zeigen eine Zusammenstellung der mittels SyRFA-Mikrosonde und Bulkanalyse ermittelten Elementgehalte.

Tabelle 16: Gegenüberstellung der Ergebnisse der Röntgenmikrosonde und der Bulkanalysen, Probe S 85-94, Pleura viscelaris, Gehalte in µg/g, Flächenscan: Anzahl der Spektren 195.

	Röntgenmikrosonde			Bulk
	Range	Mittelwert	n	ICP-MS
<b>Ca</b>	1200-43000	12100	195	1500
<b>Ti</b>	8-6000	670	149	224
<b>V</b>	7-260	49	110	2,9
<b>Cr</b>	2.1-45	9,9	158	4,9
<b>Mn</b>	4-20	10	4	0,7
<b>Fe</b>	147-770	1520	195	920
<b>Cu</b>	1,8-60	7,7	195	10,8
<b>Zn</b>	10-277	35,5	195	90
<b>As</b>	8-18	10,5	5	0,66
<b>Sr</b>	0,8-740	34,1	195	2,1
<b>U</b>	0,6-1,2	0,87	3	0,17



Tabelle 17: Gegenüberstellung der Ergebnisse der Röntgenmikrosonde und der Bulkanalysen, Probe S 190-03, Lymphknoten, Gehalte in µg/g, Flächenscan: Anzahl der Spektren 150.

	Röntgenmikrosonde			Bulk
	Range	Mittelwert	n	ICP-MS
<b>Ca</b>	304-2906	924	141	997
<b>Ti</b>	16-4400	241	139	30
<b>V</b>	14,3-69	30	6	1,7
<b>Cr</b>	6,9-226	22	125	5,54
<b>Mn</b>	8,3-115	14,5	10	1,8
<b>Fe</b>	600-3960	1570	141	1257
<b>Cu</b>	3,1-54	6,9	141	4,22
<b>Zn</b>	25-334	63	141	35,2
<b>As</b>		<NG		0,4
<b>Sr</b>	1-27,9	6,02	140	5,9
<b>U</b>		>NG		0,05

Die mittleren mit Hilfe der Mikrosonde und mittels Bulkanalyse gemessenen Gehalte liegen in der gleichen Größenordnung wie die der Bulkanalysen. Allerdings werden bis auf bei Cu und Zn tendenziell höhere Gehalte bei den SyRFA-Untersuchungen gefunden. In Anbetracht der Tatsache, dass die mit der SyRFA untersuchten Proben höhere partikuläre Anteile umfassten als sie im Mittel im gesamten Gewebe vorhanden sind, ist dieses Verhältnis erklärbar. Insbesondere die Elemente, die vorwiegend partikulär vorkommen, wie Ti, V, Cr, Sr aber auch Fe und Zn weisen Maximalwerte auf, die deutlich oberhalb der mittleren Gehalte liegen, d.h. lokal sind auf mikroskopischer Ebene Belastungsniveaus möglich, die die mittleren Gehalte deutlich übersteigen. Wenn man gleichzeitig annimmt, dass die erfassten Partikel z.T. nur eine Größe von 1-2 µm haben und nur ein Partikel im Strahldurchmesser (14µm) erfasst wird, sogar die Möglichkeit, dass auf zellulärer Ebene noch deutlich höhere Elementkonzentrationen auf das Gewebe wirken. In diesem Zusammenhang

gewinnt die Frage nach der chemischen Stabilität der deponierten Partikel an Bedeutung.

Wie Tabelle 18 verdeutlicht, sind die gemessenen Werte in guter Übereinstimmung mit Literaturdaten [8, 5].

Tabelle 18: Vergleich der in den Lungenproben bestimmten Schwermetallgehalte mit Literaturdaten

<b>Element</b>	<b>Konzentration [ng/ g] untersuchte Lungen</b>	<b>Konzentration [ng/ g] in Lungenproben von „Wismut“-Bergarbeiter (n = 6)</b>	<b>Konzentration [ng/ g] in Lungenproben anderer Arbeiter (n = 7)</b>	<b>Konzentration [ng/ g] „normaler Bevölkerung“ [84, 85]</b>
<b>Co</b>	28-242	157 - 525	46 - 86	70 - 110
<b>As</b>	77-981	136 - 956	17 - 95	50 - 70
<b>Se</b>	87-1456	410 - 1180	420 - 880	1.100 – 1.360
<b>U</b>	12-524	130 - 264	6 - 18	5 - 17

Die Konzentrationen dieser verglichenen Elemente sind bis auf Selen und Kobalt im Vergleich mit Nichtbergarbeitern der ehemaligen SDAG Wismut und der so genannten normalen Bevölkerung signifikant erhöht.

Ebenso wie in der Literatur [5] beschrieben wurden die erhöhten Konzentrationen insbesondere bei den Elementen Arsen und Uran in den Alveolarregionen, der visceral Pleura sowie in Lymphknoten nachgewiesen. Dagegen wiesen Bronchien und Tumorgewebe keine signifikanten Depositionen dieser Elemente auf. Allerdings waren die Pleuraproben sehr unterschiedlich belastet. Einige Proben waren sehr gering belastet (s. Tabelle 11), während andere ebenfalls erhöhte Werte aufwiesen.

#### 4.3.2 Bezug der ermittelten Gehalte zu den Berufsanamnesen

Tabelle 19 zeigt die mittels SyRFA-Mikrosonde in den Lungen- und Lymphknotenproben der verschiedenen Fälle der Leberstudie gefundenen Minimal- und Maximalkonzentrationen.

Bei den Lungenproben wurden die Maximalwerte für K, Ca, Cr, Cu, Zn und Rb beim Fall 307 gefunden, während die Maximalwerte für die Elemente Ti, V, Sr und Zr dem Fall 35-90 zuzuordnen waren. Die höchsten Ni-, Mn- und Se-gehalte der untersuchten Lungengewebe wurden im Fall 822-90 identifiziert. Die höchsten U- und Fe-Gehalte sind dem Fall 550-89 und die maximalen As-Konzentrationen dem Fall 698-89 zuzuordnen.

Damit können im Fall der Lungenproben die Maximalwerte nur teilweise den aus berufsanamnetischer Sicht am stärksten belasteten Fällen zugeordnet werden. Dies sind die Fälle S 34-90 (Y) sowie S 550-89 (U, Fe) mit jeweils mit 2000-2100WLM. Die Maximalwerte der anderen Elemente wurden bei Fällen gefunden, die mittlere Belastungen aufweisen, z.B. S307-88 (850-900 WLM) sowie S35-90 (1000-1100 WLM).

Tabelle 19: In den Lungen- und Lymphknotenproben gefundene Minimal- und Maximalgehalte der Proben der Leberstudie. Gehalte in µg/g.

	Lunge			LK	Max bei		
	Min	Max	Fall		Min	Max	Probe
<b>K</b>	36	28202	<b>307</b>	49	43428	<b>231</b>	
<b>Ca</b>	60	302703	<b>307</b>	17	31957	<b>231</b>	
<b>Ti</b>	13	6632	<b>35</b>	6	14009	<b>231</b>	
<b>V</b>	4,44	450	<b>35</b>	1,69	2883	<b>231</b>	
<b>Cr</b>	3,58	2240	<b>307</b>	1,62	2305	<b>329</b>	
<b>Mn</b>	5,58	1962	<b>822</b>	2,30	3225	<b>231</b>	
<b>Fe</b>	217	160255	<b>550</b>	19	42171	<b>231</b>	
<b>Ni</b>	1,40	649	<b>822</b>	0,93	407	<b>231</b>	
<b>Cu</b>	1,55	373	<b>307</b>	1,35	151	<b>231</b>	
<b>Zn</b>	1,86	1767	<b>307</b>	2,53	1683	<b>894</b>	
<b>As</b>	2,00	13,20	<b>698</b>	2,00	17,83	<b>281</b>	
<b>Se</b>	0,38	5,08	<b>822</b>	0,32	8,27	<b>92</b>	
<b>Rb</b>	0,33	184	<b>307</b>	0,21	457	<b>231</b>	
<b>Sr</b>	0,64	437	<b>35</b>	0,50	2453	<b>92</b>	
<b>Y</b>	0,21	256	<b>34</b>	0,18	1611	<b>231</b>	
<b>Zr</b>	0,46	1605	<b>35</b>	0,19	6597	<b>231</b>	
<b>U</b>	1,78	82,49	<b>550</b>	3,16	75,40	<b>231</b>	

Die am stärksten belastete Lymphknotenprobe ist offensichtlich die des Falls 231-87, bei der bis auf As, Cr, Zn, Se und Sr alle Elemente Maximalwerte aufweisen. Dieser Fall gehört mit 1600-1700 WLM zu den aus berufsanamnetischer Sicht am stärksten belasteten Fällen. Erstaunlicherweise wurde der Maximalwert für Cr bei dem beruflich am niedrigsten belasteten Fall gefunden. Die höchsten Gehalte von As, Zn, Se und Sr sind demgegenüber Fällen zuzuordnen, die einer mittleren Strahlenexposition ausgesetzt waren. Diese Ergebnisse deuten auf einen Zusammenhang zwischen Stärke der beruflichen Exposition und in den Geweben angereicherten Elementgehalten. Trägt man allerdings die in Lymphknoten- und Lungengewebe gefundenen Elementgehalte (sowohl Maximal- als auch Medianwerte) für die verschiedenen Fälle gegen die WLM auf, wie beispielhaft in Abbildung für Ti gezeigt, ist kein Zusammenhang zu erkennen. Die Korrelationskoeffizienten liegen allesamt unterhalb des Vergleichswerts von 0,55 für  $f = 11$  und  $P = 95\%$ . Dieser Befund ist nicht überraschend, wenn man bedenkt, dass durch die SyRFA-Mikrosonde nur sehr kleine Areale von  $100 \times 100$  bis  $300 \times 300 \mu\text{m}^2$  erfasst werden, die teilweise sehr unterschiedlich mit Staub belastet sind, der selbst auch nicht homogen zusammengesetzt ist (s. histologische Befunde).

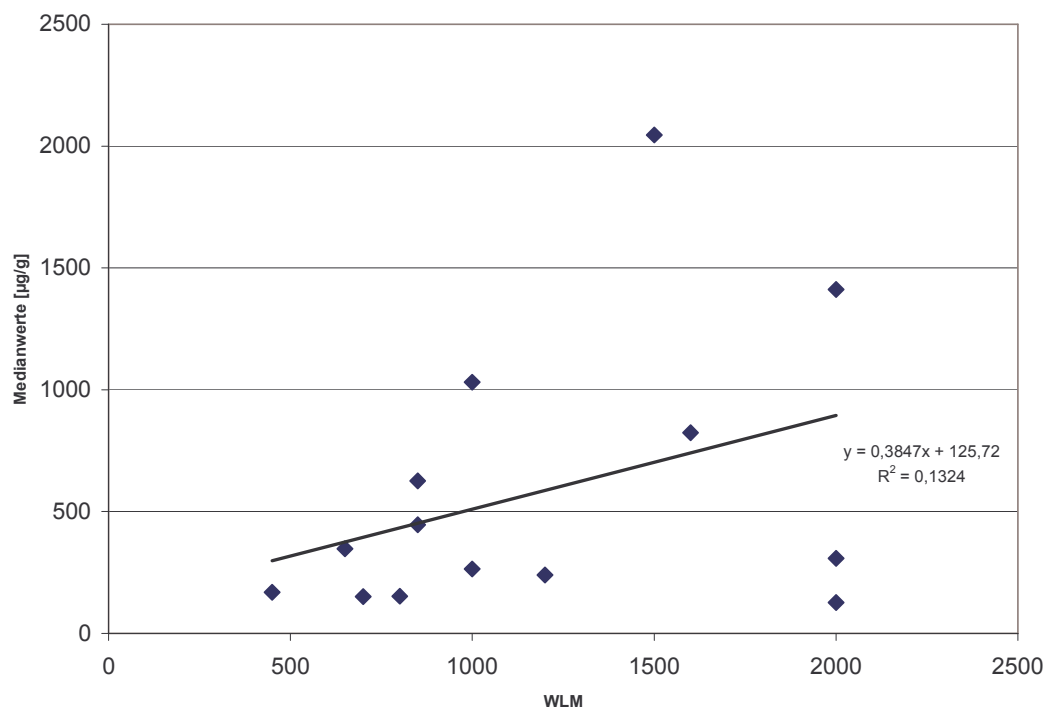


Abbildung 48: Mittlere in den Lungen der Fälle der Leberstudie gefundenen Ti-Gehalte [ $\mu\text{g/g}$ ] aufgetragen gegen die WLM.

Es sind gewisse Zusammenhänge zur histologischen Bewertung festzustellen. So wird das Messareal der Lungenprobe des Falls S 698 beispielsweise als belastet mit Mischstaubpartikeln, die einen „hohen Anteil an eisen-positiven Partikeln“ aufweisen, beschrieben. Dieser Befund wird durch die Ergebnisse der ortsaufgelösten Untersuchungen bestätigt, bei der in dieser Probe vergleichsweise hohe Fe-Konzentrationen von bis zu 14500 µg/g bei einem Medianwert von 8700 µg/g gefunden wurden.

Die in Leber und Nieren gefundenen Elementgehalte liegen deutlich unter denen, der Lungen- und Lymphknotenproben. Typisch partikelassoziierte Elemente, wie Ti, V, Zr aber auch K, Rb und Sr wurden entweder überhaupt nicht oder nur an wenigen Punkten und dort auch nur in geringen Konzentration, die den Minimalgehalten der Lungen und Lymphknotenproben entsprechen gefunden. Urangehalte oberhalb der Nachweisgrenze wurden überhaupt nicht gefunden.

Obwohl die höchsten Urankonzentrationen in den Lungenproben eines der am stärksten exponierten Fälle (S550-89) gemessen wurde, ist unter Einbeziehung aller untersuchten Fälle wiederum kein Zusammenhang zwischen der Höhe der Exposition und der gefundenen Konzentration festzustellen. Die wesentliche Ursache hierfür ist in der heterogenen Partikel- und damit Elementverteilung zu sehen. Ein weiterer Aspekt ist die Probennahme selbst. Für die Untersuchungen standen nur jeweils sehr kleine Bereiche der Lunge zur Verfügung. Zu ihrer Auswahl und Entnahme gab es keine Informationen. Zudem lag nach den berufsanamnetischen Daten die Zeit der Exposition unabhängig von der erfahrenen Exposition zum Zeitpunkt der Probenentnahme unterschiedlich lange zurück, so dass davon auszugehen ist, dass makrophageninduzierte Prozesse der Partikelaufnahme, Umlagerung und Clearance unterschiedlich weit fortgeschritten sind und zu einer Verschiebung des ursprünglich mit dem Bergstaub eingetragenen Elementmusters geführt haben. Für die Abschätzung des von den Partikeln ausgehenden Gefährdungspotentials sind neben der chemischen Zusammensetzung, der Form und Lage der Partikel deshalb vor allem auch deren Oberflächenaktivität und chemische Beständigkeit ausschlaggebend.

#### **4.4 Mobilisierungsverhalten von Uran aus den deponierten Staubpartikeln**

Um toxische und radiotoxische Effekte von inhalierten uranhaltigen Partikeln abschätzen zu können, ist es notwendig, das Lösungsverhalten der betreffenden Substanzen zu kennen. Nur dadurch können Stoffwechselprozesse wie Deposition, Transport und Verteilung in andere Organ- und Körperteile sowie Exkretion hinreichend genau beschrieben werden.

Um das ICRP-Lungenmodell zur Berechnung von Verweilzeiten und Transferraten für inhalierte Stäube von Uranmineralien einsetzen zu können, müssen die Löslichkeiten der Uranerzpartikel in Lungenflüssigkeiten bekannt sein.

Im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen wurden daher für den Bergbau relevante Uranerze hinsichtlich ihrer Bindungssituation und ihres Auslaugungsverhaltens in lymphähnlichen Flüssigkeiten charakterisiert.

##### 4.4.1 Lösungsverhalten uranhaltiger Partikel unter physiologischen Bedingungen

###### *4.4.1.1 Löslichkeitsuntersuchungen*

Um das Lösungsverhalten von inhalierten uranhaltigen Partikeln zu beschreiben, sind Ergebnisse aus Tierversuchen oder menschliche Daten am aussagekräftigsten.

Letztere stehen nur in sehr beschränktem Maße zur Verfügung, nämlich nach Unfällen oder Versuchsreihen mit Freiwilligen. Zur sehr geringen Anzahl dieser Datensätze [46] kommt erschwerend hinzu, dass die dort angewandte Methode der Uranquantifizierung in den Exkrementen wenig aussagekräftig ist. Die Bestimmung von Urangelhalten in Urin oder Fäkalien lässt keine verlässliche Aussage über die Gesamtbelastung oder gar die Belastungen in einzelnen Organen zu, sondern gibt eher den Grad der akuten Uranzufuhr an [48, 86].

In Tierversuchen wurde das Verhalten von einigen Uranverbindungen, hauptsächlich industriell hergestelltem  $UO_2$ , nach Inhalation durch Ratten, Hunde oder Affen untersucht [45, 50, 51, 70, 87, 88, 89].

Die Gewinnung solcher Daten ist aufwendig, und genaue Aussagen sind von einer organbezogenen Urangelhaltsbestimmung und damit von weitergehenden pathologischen Arbeiten abhängig.

Da die Bestimmung der Löslichkeiten für viele Substanzen auf diesem Wege nicht zu erreichen ist, wurden *in vitro*-Untersuchungen entwickelt und vielfach angewandt. Dabei wird von einer Konkurrenz zwischen Abtransport und Absorption der Partikel nach Inhalation ausgegangen. Während der Transport von Partikeln speziesunabhängig erfolgen dürfte, hängt die Absorption sehr stark vom Lösungsverhalten der einzelnen Substanzen ab. Daher wird die Toxikologie einer Substanz durch ihre Löslichkeit bedingt, ist also abhängig von den physikalisch-chemischen Eigenschaften, welche durch *in vitro*-Studien charakterisiert werden können.

Für diese Untersuchungen sind verschiedene Methoden entwickelt worden [59]. Alle basieren auf dem Ansatz, Staubpartikel von einer Lösung umspülen zu lassen und auf diese Weise auszulaugen. Hierbei gilt es, die Partikel quantitativ zurückzuhalten, eine ausreichende Kontaktzeit zwischen Partikeloberfläche und Lösung zu gewährleisten, ohne dass es zu Sättigungsphänomenen kommt, aber trotzdem die Zufuhr von frischer Flüssigkeit sicherzustellen. Da in der Lunge die Verweilzeiten von Partikeln, die Strömungsgeschwindigkeit der Flüssigkeit und auch die Größenverteilung der inhalierten Partikel (von 5 µm bis in den nm-Bereich) sehr unterschiedlich sein können, haben alle diese Ansätze nur Modellcharakter. Letztlich kann nur der Vergleich mit *in vivo*-Untersuchungen die Tauglichkeit einer Methode nachweisen.

Verschiedene Flüssigkeiten wurden für Löslichkeitsuntersuchungen entwickelt. Die Grundlage bildet meist eine carbonatgepufferte Salzlösung, deren Hauptbestandteil NaCl ist. Weitere Zugaben an Ionen (wie  $Mg^{2+}$ ,  $K^+$ ,  $NH_4^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $SO_4^{2-}$ ,  $H_2PO_4^-$ ) variieren, sind aber weniger relevant.

Für die Komplexierungseigenschaften natürlicher Lungenflüssigkeit sind die Donorfunktionen der enthaltenen Proteine von großer Bedeutung [90,91]. Daher wurden Versuche unternommen, natürliches Blutplasma oder Lymphflüssigkeit einzusetzen, welche aber durch bakteriellen Befall scheiterten. Ersatzweise wurden Glycin und Cystein oder Komplexbildner wie Citrat oder Acetat zugegeben [59].

Die Zugabe von Proteinen ist nur bei Batch-Untersuchungen möglich, da sie die bei statischen oder Durchflussmethoden eingesetzten Filter nicht passieren können [47, 92].

#### 4.4.1.2 *Verwendete Methode*

Um die Bedingungen in der Lunge möglichst realistisch simulieren zu können, wurde der Einfluss von Proteinen in der Lymphe auf die Auslaugung einer Pechblende untersucht. Hierbei stellte sich heraus, dass Rinderserumalbumin in der Extraktionslösung die Auslaugung der Staubpartikel stark beschleunigte. Durch proteinhaltige Lösungen konnte bis zu doppelt soviel Uran aus den Partikeln mobilisiert werden wie durch eine reine Salzlösung. Innerhalb des überprüften Bereichs von 0.1 bis 1.0 % Albumin konnte allerdings keine konzentrationsabhängige Tendenz festgestellt werden. Dies kann auf Agglomerationsphänomenen der Moleküle beruhen, welche bei höherer Proteinkonzentration nicht zu einer Erhöhung der Zahl der verfügbaren komplexierenden Gruppen führen.

Da der Einsatz von Proteinen für physiologisch aussagekräftige Untersuchungen erforderlich war, wurde der Batch-Ansatz für die Auslaugungsversuche gewählt.

Die Methode wurde in mehreren Studien angewandt und ihre Ergebnisse auch im Vergleich mit *in vivo*-Untersuchungen validiert [52, 57, 59, 61, 93].

Durch mathematische Betrachtungen ist versucht worden, die Aussagekraft von Auslaugungsmethoden in Frage zu stellen. Es wurde postuliert, dass die ausgelaugten Anteile von der Anzahl der Flüssigkeitenwechsel (Batch-Ansatz) oder von der Flüssigkeitsmenge (Durchflussmethoden) abhängen, weil Sättigungseffekte aufträten [94, 95]. Das müsste allerdings konstante Mengen an ausgelaugtem Uran in den aufeinander folgenden Extraktionen nach sich ziehen, was in den hier vorliegenden Untersuchungen nicht der Fall war. Außerdem basiert eine der Nachberechnungen zum Beispiel auf einer Extraktion von einem bei 800°C getrockneten  $U_3O_8$ , aus welchem selbst nach 360 Stunden keine 1.5% des enthaltenen Urans gelöst wurden. Die beobachteten Abweichungen zwischen verschiedenen Auslaugungszeiten sind daher im Verhältnis zum statistischen Fehler der Uranbestimmungen in den erhaltenen Lösungen gering, aber eine Fehlerbetrachtung wurde nicht durchgeführt. Die genannten Beschränkungen sind



also nicht methodenspezifisch, sondern durch geeignete Wahl der Versuchsbedingungen zu vermeiden.

Wenn bei der Durchführung von Auslaugungsuntersuchungen im Batch-Ansatz sichergestellt ist, dass eine Sättigung der Lösung vermieden wird, sind die erhaltenen Ergebnisse daher aussagekräftig.

#### *4.4.1.3 Lösungsverhalten von uranhaltigen Mineralstaubpartikeln*

Das Löslichkeitsverhalten von inhalierten Uranmineralpartikeln in der Lunge wurde an Hand von Batch-Versuchen untersucht. Dazu wurden sieben verschiedene Minerale eingesetzt: Drei Pechblenden (Uraninite) und vier Verwitterungsprodukte (Uranyle). Es handelte sich hierbei um sechs natürliche Uranminerale des sächsischen Erzgebirges und ein kanadisches Referenzmaterial.

Die Versuche zeigten, dass die Auslaugungen sehr unterschiedlich verliefen. Am schnellsten lösten sich die beiden Uranyle Gummit 1 und 2 auf: Nach weniger als 10 Tagen waren jeweils mehr als 95% des enthaltenen Urans mobilisiert und nach ca. 20 Tagen war die Auslaugung vollständig abgeschlossen.

Die geringste Löslichkeit wurde bei der Pechblende PWI beobachtet, in der auch nach 40 Tagen das Uran noch zu mehr als 60 % partikulär gebunden vorlag.

Tendenziell werden Uranylminerale schneller als Uraninite ausgelaugt, wobei es aber innerhalb beider Mineralgruppen zu beträchtlichen Abweichungen kommen kann. So ist das Verhalten der Autunite 1 und 2 durchaus mit dem der Pechblende PFG vergleichbar. Aus einer rein mineralogischen Klassifizierung der Uranerze können daher noch keine Aussagen über ihr Löslichkeitsverhalten abgeleitet werden.

Bei näherer Betrachtung der Extraktionsverläufe ist zu bemerken, dass der Anteil an schnell mobilisierbarem Uran stark unterschiedlich ist: Innerhalb des ersten Tages werden beim Gummit 1 mehr als 80 % des Urans gelöst, bei den Autuniten und der Pechblende PWI jedoch weniger als 10%.

Im weiteren Fortgang der Auslaugung zeigen die Autunite sowie die Pechblenden PWI und PFG einen ähnlichen Kurvenverlauf, wenn auch auf unterschiedlichem Niveau. Beim Referenzgestein BL 5 nimmt die zu Beginn relativ gute Mobilisierbarkeit (25 % nach 100 Stunden) im weiteren Verlauf stärker ab als bei den

natürlichen Mineralen. Dies wird deutlich, wenn die Auslaugungsdauer bis zur 95 %igen Mobilisierung extrapoliert wird: Man erhält für die Autunite einen Zeitraum von 100 - 150 Tagen, für die Pechblenden 130 - 180 (PFG) und 170 - 220 Tage (PWI) und für das Referenzgestein 250 - 350 Tage.

Aus diesen Ergebnissen ist zu folgern, dass die Mineralform für die Löslichkeit zwar bedeutsam, aber nicht entscheidend ist.

In verschiedenen Untersuchungen wurde nachgewiesen, dass sowohl der Grad der Kristallinität als auch Veränderungen des Wassergehalts, z.B. durch Trocknungs- oder Sinterprozesse, das Auslaugungsverhalten von uranhaltigen Materialien um Faktoren von bis zu 4 verändern können [43, 52, 96, 97].

Diese Parameter betreffen die Oxidationsstufe und die koordinative Umgebung des Urans.

Um sie in Mineralstäuben zu bestimmen, kann man weitergehende Untersuchungen, wie XRD-Messungen, Bestimmung des Glühverlustes und elementaranalytische Untersuchungen durchführen oder man wendet direkte Untersuchungsmethoden zur Bestimmung des Bindungszustands, wie z.B. XAS-Messungen, an.

Wenn man die Auslaugungsergebnisse hinsichtlich einer Klassifizierung gemäß ICRP-Modell bewerten will, so kann man die beiden Gummite in die Gruppe F einordnen. Bei den anderen Uranerzen ist dies nicht so einfach.

Jedes Mineral enthält Anteile an schnell mobilisierbarem Uran, welche bei der Pechblende PWI kleiner und z.B. beim Referenzgestein BL 5 größer sind. Der größte Anteil des in diesen Erzen vorliegenden Urans zeigt eine Löslichkeit der Klasse M, wie die Abschätzungen der Dauer bis zur 95 %igen Auslaugung zeigen. Ein geringer Anteil an schwerlöslichem Uran (Klasse S) ist bei keinem Mineral auszuschließen. Dieser Anteil scheint beim Referenzgestein BL 5 größer als bei den übrigen Erzen zu sein. Dies mag zum einen daran liegen, dass es sich hierbei um eine Mischprobe von verschiedenen Probennahmepunkten handelt, welche nicht näher charakterisiert wurden, zum anderen an der Herstellungsweise durch Trocknung bei mehr als 100°C.

Wenn man die hier erhaltenen Ergebnisse mit denen anderer Auslaugungen vergleicht, ist das Verhalten der Gummite mit dem von  $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  vergleichbar, während die anderen Minerale Löslichkeiten wie  $\text{UO}_3$ , einige Mischoxide ( $\text{U}_3\text{O}_8$ ) oder Yellowcake aufzeigen [43, 44, 47, 52,54].

#### 4.4.2 Charakterisierung der Bindungsformen des Urans

Die Oxidationsstufen der Uranminerale wurden mit Hilfe der XANES-Spektroskopie bestimmt. Hierbei ergaben sich Unterschiede in den Kantenlagen von bis zu 6 eV. Die untersuchten Pechblenden zeigten Unterschiede von 3.7 eV und lassen sich als teilweise (BL5) oder kaum (PWI) oxidierte Uraninite einordnen. Die Absorptionskanten der Uranylminerale waren alle hochenergieverschoben, unterschieden sich aber untereinander kaum ( $< 1$  eV). Bei sämtlichen Uranylen war eine charakteristische Schulter bei ca. 17185 eV zu beobachten, welche von Mehrfachstreuungen des Uranylions herrührt [71].

Die Differenzen der Kantenlagen befinden sich im Einklang mit anderen Untersuchungen, die für Uranoxide der Oxidationsstufen IV und VI eine Verschiebung von 5 eV beschreiben [67].

Wenn man die ermittelten Kantenlagen der Staubpartikel mit ihrem Auslaugungsverhalten vergleicht, findet man für die drei Pechblenden sehr deutliche Parallelen zwischen Ausmaß der Löslichkeit und der Höhe der Oxidationsstufe. Je stärker eine Pechblende oxidiert ist, desto schneller löst sich das Uran in Lympfflüssigkeit. Bei den Uranylen korrespondiert die Oxidationsstufe nicht direkt mit der Löslichkeit. Obwohl zwischen den Autuniten und den Gummiten kaum Unterschiede in den Absorptionskanten festzustellen sind, verläuft die Auslaugung wesentlich anders.

Um hierfür verantwortliche Strukturunterschiede wie Bindungsabstände oder Koordinationszahlen zu bestimmen wäre eine EXAFS-Auswertung nötig, die die Qualität der erhaltenen Spektren aber nicht zuließ. Die unterschiedlichen Löslichkeiten bei ähnlicher Oxidationsstufe können aber durch verschiedene Kristallstrukturen der Uranyle oder mit amorphen Anteilen erklärt werden.

Weitere Informationen kann man gewinnen, wenn man die Auswirkungen der Auslaugungen auf die Staubpartikel betrachtet.

In allen erhaltenen Lösungen liegt das gelöste Uran als  $\text{UO}_2^{2+}$ , also in der Oxidationsstufe +VI vor, wie die XANES- und EXAFS-Auswertungen zeigten. Dieses Ergebnis wurde erwartet, da Uran(IV)-Verbindungen im Allgemeinen in wässrigen Systemen nur wenig löslich sind.

Interessanter ist aber der Vergleich der Staubpartikel vor und nach den Auslaugungen.

Hier werden nur geringe Veränderungen beobachtet. Das bedeutet, dass der vorherrschende Vorgang die Lösung von an der Partikeloberfläche vorliegenden Uranylmolekülen ist, wenn erforderlich, nach vorangegangener Oxidation.

Das selektive Herauslösen von im Inneren der Partikel vorliegenden Uran(VI)-Anteilen findet nur untergeordnet statt, wie die geringen Veränderungen der Kantenlagen nach den Auslaugungen zeigen:

Bei den Pechblenden ist eine Tendenz zu höheren Absorptionskanten zu beobachten, was durch eine fortschreitende Oxidation der äußeren Uranoxide zu erklären ist, bei der schrittweise Uranyle gebildet werden, die dann in Lösung gehen können [98].

Bei den Uranylen spielen dagegen Bindungsstärken und Kristallstrukturen eine wesentliche Rolle. Das wird beim Autunit deutlich: Man beobachtet einen kleinen, sehr mobilen Anteil und einen größeren, fester gebundenen Rest, der eine kleine Verschiebung der Kantenlage zu niedrigerer Energie zur Folge hat.

Die Bestimmung der Bindungsformen des Urans in den Mineralen konnte also nicht nur die Aussagen der Löslichkeitsversuche untermauern und erklären, sondern auch den Mechanismus des Lösungsvorgangs aufklären. Demnach findet keine selektive Extraktion von Uranylmolekülen in den gesamten Partikeln statt, sondern die Löslichkeit der Moleküle an der Partikeloberfläche ist entscheidend, so dass die Oxidation von Uran-IV-Verbindungen den Verlauf der Auslaugung bestimmen kann.

#### 4.4.3 Fazit und Ausblick

Das Lösungsverhalten und die Bindungssituation von natürlichen uranhaltigen Mineralstäuben wurden durch Auslaugungsversuche und röntgenabsorptions-

spektroskopische Untersuchungen bestimmt. Die Erze konnten hinsichtlich ihres Verhaltens in lymphähnlicher Flüssigkeit und ihrer Oxidationsstufe klassifiziert werden.

Die Umsetzung dieser Ergebnisse in Verweilzeiten oder Dosisabschätzungen mit Hilfe des ICRP-Lungenmodells ist nicht trivial.

Die Verstoffwechslung von uranhaltigen Staubpartikeln, d.h. ihre Aufnahme, Verteilung und Ausscheidung, ist neben der Löslichkeit noch von weiteren Faktoren bestimmt.

Individuelle Parameter, wie der Zustand des Immunsystems, das Atemvolumen und der allgemeine körperliche Gesundheitszustand sind hierbei von untergeordneter Bedeutung, da sie nur Einfluss auf die Ausprägung der Belastung haben.

Entscheidender sind jedoch der zeitliche Verlauf und der Umfang der Belastung. Bei einer einmaligen Aufnahme von uranhaltigen Staubpartikeln sind Transport, Ablagerung und Ausscheidung gut vorhersagbar, wenn die Belastung aber über einen längeren Zeitraum oder in verstärktem Ausmaß erfolgt, können Stoffwechselprozesse deutlich verändert werden [45, 48, 50, 55, 86, 89].

So beobachtet man eine verminderte prozentuale Ausscheidung nach mehrmaliger Inhalation von  $UO_2$ , eine verstärkte Ablagerung von Staubpartikeln im Gewebe (Hot Spots) und eine Steigerung der Transferraten in andere Organe und Knochen.

Weiter wird nach einer so genannten „Staubüberlastung“ eine wesentliche Reduktion der Makrophagentätigkeit und ein vermehrtes Absterben derselben beobachtet, was zu einer erhöhten Retention der Partikel in der Pleura und in Lymphknoten führt. Zusätzlich ist bei dauerhaftem Eintrag von Stäuben, wie auch beim Rauchen, eine Veränderung des Lungengewebes zu beobachten. Die dabei auftretende Vernarbung verhindert die weitere Auflösung der Partikel oder den Transport der Schadstoffe.

All diese Prozesse führen zu einer verstärkten Retention von Uran in der Lunge oder anderen Körperteilen.

Um diese Einflüsse in die Abschätzung von toxischen und radiotoxischen Effekten der inhalieren uranhaltigen Mineralstäube einbeziehen zu können, muss der Umfang der Staubbelastung und deren Dauer bekannt sein. Weiterhin sollten Informationen über den Umfang der Lungenfunktion vorliegen.

Unter Berücksichtigung dieser zahlreichen Faktoren kann dann eventuell an Hand der Löslichkeiten der betreffenden Minerale eine erste Abschätzung der Belastungssituation durch inhalierte uranhaltige Staubpartikel vorgenommen werden

## **5 Zusammenfassung und Bewertung der Ergebnisse sowie Schlussfolgerungen**

Im Rahmen des Projekts wurde die lokale Elementverteilung in verschiedenen Kompartimenten der Lunge, der Leber und Niere untersucht. Die Proben wurden Fällen entnommen, die auf der Basis berufsanamnetischer Aspekte ausgewählt wurden. Für die orts aufgelösten Untersuchungen wurde die am Strahl L des HASYLAB etablierte Röntgenmikrosonde eingesetzt. Insgesamt wurden 100 Einzelproben untersucht.

Im Ergebnis hat sich gezeigt, dass die Elemente inhomogen verteilt sind, was im Wesentlichen mit deren Partikelassoziation begründet ist. Zusammenhänge zwischen der Stärke der Exposition und den lokal gefundenen Elementkonzentrationen wurden nicht festgestellt. Ebenso wie keine Zusammenhänge zwischen Elementgehalt und pathologischer Veränderung des Gewebes festgestellt werden konnte. Um hier Informationen zu erhalten, müssten Versuche mit Zellkulturen oder Tiermodellen durchgeführt werden. Bei den Zellkulturen bietet sich die Verfolgung von Effekten mit Hilfe der AFM an, mit deren Hilfe Prozesse an den Zelloberflächen beobachtet werden können.

Mit Hilfe verschiedener mikroskopischer Verfahren wurden die in den Geweben deponierten Partikel dargestellt. Die haben unterschiedliche Größe und Form. Die meisten sind innerhalb von Zellen (oft Macrophagen) deponiert.

Uran wurde in Konzentrationen bis 80 µg/g gefunden, was mehr als 100-fach über der mittleren Konzentration liegt. Es muss davon ausgegangen werden, dass diese

extremen Konzentrationen lokal pathologische Effekte auslösen. Dabei muss Augenmerk auf die Beobachtung der Mobilität gerichtet werden.

Die durchgeführten Untersuchungen zur Mobilität des Urans unter physiologischen Bedingungen haben gezeigt, dass sich die verschiedenen natürlichen Uranminerale unterschiedlich verhalten.

## 6 Literatur

---

- [1] C. Piekarski, P. Morfeld, *Appl. Occup. Environ. Hyg.* **12** (12) (1997) 915
- [2] G. J. Enderle, K. Friedrich, *Stem Cells* **13** (suppl 1) (1995) 78
- [3] J. Böttcher, W. Büder, M. Hamann, S. Hamann, K.-H. Linkert, V. Lipp, F. Müller, D. Rochhausen, L. Rodenhahn und K.-H. Schwarze, *Seilfahrt – Auf den Spuren des sächsischen Uranerzbergbaus*, Doris Bode Verlag, Haltern (1994)
- [4] P. Kahn, *Science* **259** (1993) 448
- [5] T. Wiethege, H. Wesch, K. Wegener, K.-M. Müller, J. Mehlhorn, A. Spiethoff, D. Schömig, M. Hollstein, H. Bartsch, *Radiation Research* **152** (1999) S52
- [6] H. Wesch, T. Wiethege, A. Spiethoff, K. Wegener, K.-M. Müller, J. Mehlhorn, *Radiation Research* **152** (1999) S48
- [7] C. Piekarski und P. Morfeld, *Appl. Occup. Environ. Hyg.* **12** (1997) 915
- [8] A. Spiethoff, T. Wiethege, M. Hollstein, H. Wesch, *Appl. Occup. Environ. Hyg.* **12** (12) (1997) 964
- [9] F.D. Pooley, N.J. Clark in J. C. Wagner (Hrsg.): *Biological effects of mineral fibers*, International Agency of Cancer Research (IARC) Publ. No. 30, Lyon, Frankreich (1980) 79
- [10] J. L. Abraham, B. R. Burnett, *Scann. Electron Microscop.* 1983/II (1983) 681
- [11] J. P. Mastin, L. E. Stettler, J. D. Shelburne, *Scann. Microscop.* **2**(3) (1988) 1613



- 
- [12] B., Fubini, A.E. Aust, R.E. Bolton, P.J. Bom, J. Bruch, G.Giapetti, K. Donaldson, Z. Elias, J. Gold, M.-C. Jaurand, A.B. Kane, D. Liason, H. Muhle. *ATLA* 26, (1998), 579-617.
- [13] A.B. Kane, Mechanisms of mineral fibre Carcinogenesis. In *Mechanisms of Fibre Carcinogenesis*. A:B: Kane, P. Bofetta, R.Saracci, J.D. Wilbourn eds. International Agency for Research of Cancer, Lyon, (1996) 11-34
- [14] D. Vanhe, A. Gosset, A. Boitelle, B. Wallaert, A.B. Tonnel, *Eur. Respir. J.* 8, (1995), 834-842.
- [15] A. Peters, , H.E. Wichmann, T. Tuch, J. Heinrich, J. Heyder. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 155 (1997) 1376
- [16] F. Pott, K.H. Friedrichs, *Naturwissenschaften* 59 (1972), 318
- [17] J.P. Mastin, L.E. Stettler, J.D. Shelburne, *Scann. Microscopy* 2(3) (1988) 1613
- [18] J.L. Abraham, B.R. Burnett, *Scann. Electr. Microsc.* **1983/II** (1983) 681
- [19] J.A. Terzakis, *Ultrastruct. Pathol.* **19** (1983) 167
- [20] F. Hofer, M. A. Pabst, *Micron* 29 (1), 7 (1998)
- [21] M. Meignan, J.P. Berry, F. Escaig, A. Joczsa, J.P. Delaunay, R. Masse, G. Madelaine, P. Galle, *Phys. Med. Biol.* **29(8)**, 927 (1984)
- [22] P. Bartsch, A. Collignon, G. Weber, G. Robaye, J.M. Delbrouck, I. Roelandts, J. Yujie, *Arch. Environ. Health* **37(2)**, 111 (1982)
- [23] A.S. Paschoa, M.E. Wrenn, S.C. Miller, K.W. Jones, M. Cholewa, A.L. Hanson, *Neurotoxicology* **4(3)**, 205 (1983)

- 
- [24] V.L. Roggli, P. Ingram, R.W. Linton, W.F. Gutknecht, P. Mastin, J.D. Shelburne, *Environ. Health Perspect.* **56**, 163 (1984)
- [25] P. Massiot, C. Lizon, I. Bailly, L. Le Foll, G. Rateau, P. Fritsch, *J. Trace Microprobe Techn.* **16**(2), 183 (1998)
- [26] A. Knöchel, F. Lechtenberg, M. Paulsen, A. Ranck, S. Staub, G. Weseloh; Ortsabhängige *Multielementanalyse in schadstoffbelasteten Lungengewebe*n, Schlussbericht zum Fördervorhaben StSch 4150, ISBN 3-924330-417, Hamburg, Juni 2001
- [27] M.A. Kumakhov, F.F Komarov. *SPIE Proc.* 2515, 86 (1995)
- [28] M.A. Kumakhov, *Nucl. Instrum Methods B* **48**, 283 (1990)
- [29] K. Proost, L. Vincze, K. Janssens, N. Gao, E. Bulska, M. Schreiner, G. Falkenberg, *Y-Ray Spectrum.* **32**, (2003), 215
- [30] T. Brandenburg, Dissertation, Hamburg, 1994
- [31] K. Doerffel, *Statistik in der analytischen Chemie*, VCH, Weinheim, 4. Auflage (1987)
- [32] M. Dröger, F. Krombach, *Journal of Aerosol Medicine*, **13** (4),(2000) 369-380
- [33] K.-M. Müller, Kanzerogenität von Quarz – eine Standortbestimmung, Sonderdruck aus der Schriftenreihe „Berufskrankheiten in der chemischen Industrie“ Heft 40, (1999)
- [34] H.-D. Bauer, F. Lehmann, T. Ludwig, U. Terschat, U. Schulze, G. Seitz, Untersuchungen zur Staub- und Schwermetallbelastung sowie zur Strahlenbelastung durch Radionuklide in Stäuben in der Gang-Erzlagerstätte

- 
- Schlema-Albereoda der WISMUT. Bergbau Berufsgenossenschaft Bochum. (1995)
- [35] F. Hofer, W. Grogger, P. Warbichler, I. Papst, *Microchim.Acta* **132**, (2000), 273-288
- [36] F. Hofer, M.A. Papst, *Micron* **29**, (1998), 7
- [37] M.A. Papst, F. Hofer, *Am.J. Phys.Anthropol.* 107, (1998), 1
- [38] C.C. Ahn, O.L. Krivanek, *EELS Atlas*, Center for Solid State Science, Arizona State University, Tempe USA, (1983)
- [39] J. Kirz, C. Jacobsen, M. Howells, *Q. Rev. Biophys.* **28**, (1995), 33-130
- [40] H. Wolter, *Ann. Phys.* **10**, (1952), 94-114
- [41] U. Neuhäusler, G. Schneider, W. Ludwig, M.A. Meyer, E. Zesch, D. Hambach, *ESRF Highlights*, (2002) 84-85
- [42] International Commission on Radiological Protection. *Human Respiratory Tract Model for Radiological Protection*. Ann. ICRP **24** (1-4), Publication 66, (1994).
- [43] Eidson, A. F.; *The Effect of Solubility on Inhaled Uranium Compound Clearance: A Review*. *Health Physics* **67**(1), 1-14 (1994).
- [44] Ansoborlo, E.; Guilmette, R. A.; Hoover, M. D.; Chazel, V.; Houpert, P.; Hengé-Napoli, M. H.; *Application of In Vitro Dissolution Tests to Different Uranium Compounds and Comparison with In Vivo Data*. *Radiation Protection Dosimetry* **79**(1-4), 33-37 (1998).

- 
- [45] Morrow, P.; Gelein, R.; Beiter, H.; Scott, J.; Picano, J.; Yuile, C.; *Inhalation and Intravenous Studies of UF<sub>6</sub>/UO<sub>2</sub>F<sub>2</sub> in Dogs*. Health Physics, **43**(6), 859-873 (1982).
- [46] Hodge, H. C.; Stannard, J. N.; Hursh, J. B.; Handbook of Experimental Pharmacology, **36**: Uranium, Plutonium, Transplutonic Elements. Springer, New York 1973.
- [47] Cooke, N.; Holt, F. B.; *The Solubility of Some Uranium Compounds in Simulated Lung Fluid*. Health Physics **27**(1), 69-77 (1974).
- [48] Morrow, P. E.; Gibb, F. R.; Beiter, H. D.; *Inhalation Studies of Uranium Trioxide*. Health Physics **23**(3), 273-280 (1972).
- [49] Beiter, H. D.; Gibb, F. R.; Morrow, P. E.; *Intramuscular Retention of Uranium Trioxide and Uranium Dioxide*. Health Physics **29**(2), 273-277 (1975).
- [50] Leach, L. B.; Yuile, C. L.; Hodge, H. C.; Sylvester, G. E.; Wilson, H. B.; *A Five-Year Inhalation Study with Natural Uranium Dioxide (UO<sub>2</sub>)Dust – II. Postexposure Retention and Biologic Effects in the Monkey, Dog and Rat*. Health Physics **25**(3), 239-258 (1973).
- [51] Morrow, P. E.; Gibb, F. R.; Leach, L. B.; *The Clearance of Uranium Dioxide Dust from the Lungs Following Single and Multiple Inhalation Exposures*. Health Physics **12**, 1217-1223 (1966).
- [52] Dennis, N. A.; Blauer, H. M.; Kent, J. E.; *Dissolution Fractions and Half-Times of Single Source Yellowcake in Simulated Lung Fluids*. Health Physics **42**(4), 469-477 (1982).
- [53] Eidson, A. F.; Mewhinney, J. A.; *In Vitro Solubility of Yellowcake Samples from Four Uranium Mills and the Implications for Bioassay Interpretation*. Health Physics **39**(Dec), 893-902 (1980).

- 
- [54] Duport, R.; Robertson, R.; Ho, K.; Horvath, F.; *Flow-Through Dissolution of Uranium-Thorium Ore Dust, Uranium Concentrate, Uranium Dioxide, and Thorium Alloy in Simulated Lung Fluid*. Radiation Protection Dosimetry **38**(1/3), 121-133 (1991).
- [55] Fisher, D. R.; Jackson, P. O.; Brodaczynski, G. G.; Scherpelz, R. I.; *Levels of  $^{234}\text{U}$ ,  $^{238}\text{U}$  and  $^{230}\text{Th}$  in Excreta of Uranium Mill Crushermen*. Health Physics **45**(3), 617-629 (1983).
- [56] Heffernan, T. E.; Lodwick, J. C.; Spitz, H.; Neton, J.; Soldano, M.; *Solubility of Airborne Uranium Compounds at the Fernald Environmental Management Project*. Health Physics **80**(3), 255-262 (2001).
- [57] Eidson, A. F.; Griffith Jr., W. C.; *Techniques for Yellowcake Dissolution Studies In Vitro and Their Use in Bioassay Interpretation*. Health Physics **46**(1), 151-163 (1984).
- [58] Ansoborlo, E.; Chalabreysse, J.; Hengé-Napoli, M. H.; Pujol, E.; *In Vitro Chemical and Cellular Tests Applied to Uranium Trioxide with Different Hydration States*. Environmental Health Perspectives **97**, 139-143 (1992).
- [59] Ansoborlo, E.; Hengé-Napoli, M. H.; Chazel, V.; Gibert, R.; Guilmette, R. A.; *Review and Critical Analysis of Available In Vitro Dissolution Tests*. Health Physics **77**(6), 638-645 (1999).
- [60] Thein, M.; Maitz, A. H.; Austin, M. A.; Rao, G. R.; Gur, D.; *Dissolution Rates of Airborne Uranium in Simulated Lung Fluid*. Health Physics **43**(4), 587-590 (1982).
- [61] Lee, S. Y.; Bondietti, E. A.; Tamura, T.; *Dissolution Characteristics of Pu-Contaminated Soils and Sediments in Lung Serum Simulant Solution*. Health Physics **43**(5), 663-668 (1982).

- 
- [62] Koningsberger, D. C.; Prins, R. (Hrsg.); X-Ray Absorption: Principles, Applications, Techniques of EXAFS, SEXAFS and XANES. John Wiley & Sons, Inc., New York 1988.
- [63] Welter, E.; *Direct Speciation of Solids: X-ray Absorption Fine Structure Spectroscopy for Species Analysis in Solid Samples*; in: Cornelis, R.; Crews, H.; Caruso, J.; Heumann, K.; Handbook of Elemental Speciation: Techniques and Methodology. John Wiley & Sons, Ltd., 2003.
- [64] Thompson, H. A.; Brown Jr., G. E.; Parks, G. A.; *XAFS Spectroscopic Study of Uranyl Coordination in Solids and Aqueous Solution*. American Mineralogist **82**, 483-496 (1997).
- [65] Kalkowski, G.; Kaindl, G.; Brewer, W. D.; Krone, W.; *Near-edge X-ray Absorption Fine Structure in Uranium Compounds*. Physical Review B **35**(6), 2667-2677 (1987).
- [66] Salbu, B.; Krekling, T.; Lind, O. C.; Oughton, D. H.; Drakopoulos, M.; Simionovici, A.; Snigireva, I.; Sigirev, A.; Weitkamp, T.; Adams, F.; Janssens, K.; Kashparov, V. A.; *High Energy X-ray Microscopy for Characterisation of Fuel Particles*. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A **467-468**, 1249-1252 (2001).
- [67] Bertsch, P. M.; Hunter, D. B.; Sutton, S. R.; Bajt, S.; Rivers, M. L.; *In Situ Chemical Speciation of Uranium in Soils and Sediments by Micro X-ray Absorption Spectroscopy*. Environ. Sci. Technol. **28**, 980-984 (1994).
- [68] Moyes, L. N.; Parkman, R. H.; Charnock, J. M.; Vaughan, D. J.; Livens, F. R.; Hughes, C. R.; Braithwaite, A.; *Uranium Uptake from Aqueous Solution by Interaction with Goethite, Lepidocrocite, Muscovite, and Mackinawite: An X-ray Absorption Spectroscopy Study*. Environ. Sci. Technol. **34**, 1062-1068 (2000).

- 
- [69] Hudson, E. A.; Allen, P. G.; Terminello, L. J.; Denecke, M. A.; Reich, T.; *Polarized X-ray-Absorption Spectroscopy of the Uranyl Ion: Comparison of Experiment and Theory*. Physical Review B **54**(1), 156-165 (1996).
- [70] Eidson, A. F.; Damon, E. G.; Hahn, F. F.; Griffith Jr., W. C.; *The Utility of In Vitro Solubility Testing in Assessment of Uranium Exposure*. Radiation Protection Dosimetry **26**(1/4), 69-74 (1989).
- [71] Denecke, M. A.; Reich, T.; Pompe, S.; Bubner, M.; Heise, K. H.; Nitsche, H.; Allen, P. G.; Bucher, J. J.; Edelstein, N. M.; Shuh, D. K.; Czerwinski, K. R.; *EXAFS Investigations of the Interaction of Humic Acids and Model Compounds with Uranyl Cations in Solid Complexes*. Radiochimica Acta **82**, 103-108 (1998).
- [72] Bauer, H. D.; Studie zur retrospektiven Analyse der Belastungssituation im Uranerzbergbau der ehemaligen SDAG Wismut mit Ausnahme der Strahlenbelastung für die Zeit von 1946 bis 1990. Hauptverband der gewerblichen Berufsgenossenschaften (HVBG), Sankt Augustin 2000, 79ff.
- [73] Prof. Dr. Wolf, Institut für Mineralogie, TU Bergakademie Freiberg; persönliche Mitteilung (2003).
- [74] Bauer, H. D.; Lehmann, F.; Ludwig, T.; Petschat, U.; Schulze, U.; Seitz, G.; Untersuchungen zur Staub- und Schwermetallbelastung sowie zur Strahlenbelastung durch Radionuklide in Stäuben in der Gang-Erzlagerstätte Schlema-Alberoda der WISMUT. Bergbau-Berufsgenossenschaft (BBG), Bochum, 16ff.
- [75] Bauer, H. D.; Golder, U.; Lehmann, F.; Linkert, K. H.; Ludwig, T.; Petschat, U.; Renner, H. J.; Schulze, U.; Seitz, G.; Untersuchungen zur Staub- und Schwermetallbelastung sowie zur Strahlenbelastung durch Radionuklide in Stäuben in der Gang-Erzlagerstätte Johanngeorgenstadt der WISMUT. Bergbau-Berufsgenossenschaft (BBG), Bochum 1995, 12ff.

- 
- [76] Bauer, H. D.; Golder, U.; Lehmann, F.; Linkert, K. H.; Ludwig, T.; Petschat, U.; Renner, H. J.; Schulze, U.; Seitz, G.; Untersuchungen zur Staub- und Schwermetallbelastung sowie zur Strahlenbelastung durch Radionuklide in Stäuben in der Gang-Erzlagerstätte Schneeberg der WISMUT. Institut für Strahlenforschung der BG der Feinmechanik und Elektrotechnik und der BG der chemischen Industrie, Köln 1996, 12ff.
- [77] <http://eff.phys.washington.edu/~ravel/software/atoms/aboutathena.html>
- [78] R. Tertian, F. Claisse, *Principles of Quantitative X-Ray Fluorescence Analysis*, Heyden, London (1982)
- [79] E. Bertin, *Principles and Practice of X-Ray Spectrometric Analysis*, Plenum, New York (1984)
- [80] R. Klockenkämper, X-Ray Spectral Analysis, *Spectrochim. Acta B* **42** (1987) 423
- [81] R. Jenkins, X-Ray Fluorescence Spectrometry, Chem. Anal. Vol. 99, Wiley, Chichester (1988)
- [82] G. Schneider, E. Anderson, S. Vogt, C. Knöchel, D. Weiss, M. Legros, C. Larabell, *Surface Review and Letters*, 9, (1), (2002), 177-183
- [83] G. Schneider, *Ultramicroscopy* 75, (1998), 85
- [84] L. Gerhardsson und G. F. Nordberg, *Scand. J. Work. Environ. Health* **19** (Suppl. 1) (1993) 90
- [85] M. E. Wrenn, P. W. Durbin, B. Howard, J. Lipsztein, J. Rundo, E. T. Still und D. L. Willis, *Health Phys.* **48** (1985) 601



- 
- [86] Downs, W. L.; Wilson, H. B.; Sylvester, G. E.; Leach, L. J.; Maynard, E. A.; *Excretion of Uranium by Rats Following Inhalation of Uranium Dioxide*. Health Physics **13**, 445-453 (1967).
- [87] Morris, K. J.; Khanna, P.; Batchelor, A. L.; *Long-term Clearance of Inhaled  $UO_2$  Particles from the Pulmonary Region of the Rat*. Health Physics **58**(4), 477-485 (1990).
- [88] Morris, K. J.; Barker, C. L.; Batchelor, A. L.; Khanna, P.; *Temporal Variation in the Micro-Distribution of Enriched  $UO_2$  Particles Deposited in the Left Lung of the Rat*. Radiation Protection Dosimetry **38**(1-3), 221-227 (1991).
- [89] Leach, L. B.; Maynard, E. A.; Hodge, H. C.; Scott, J. K.; Yuile, C. L.; Sylvester, G. E.; Wilson, H. B.; *A Five-Year Inhalation Study with Natural Uranium Dioxide ( $UO_2$ ) Dust – I. Retention and Biologic Effect in the Monkey, Dog and Rat*. Health Physics **18**, 599-612 (1970).
- [90] Task Group on Lung Dynamics; *Deposition and Retention Models for Internal Dosimetry of the Human Respiratory Tract*. Health Physics **12**, 173-207 (1966).
- [91] Edel, J.; Sabbioni, E.; Pietra, R.; Rossi, A.; Torre, M.; Rizzato, G.; Fraioli, P.; *Trace Metal Lung Disease: In Vitro Interaction of Hard Metals with Human Lung and Plasma Components*. Sci. Tot. Environ. **95**, 107-117 (1990).
- [92] Kanapilly, G. M.; Raabe, O. G.; Goh, C. H. T.; Chimenti, R. A.; *Measurement of In Vitro Dissolution of Aerosol Particles for Comparison to In Vivo Dissolution in the Lower Respiratory Tract After Inhalation*. Health Physics **24**, 497-507 (1973).
- [93] Kalkwart, D. R.; *Dissolution Rates of Uranium Compounds in Simulated Lung Fluid*. Sci. Tot. Environ. **28**, 405-414 (1983).

- 
- [94] Carter, M. W.; *Is Measurement of Transportability Class of Inhaled Material by In Vitro Dissolution Satisfactory?* Health Physics **69**(4), 549-552 (1995).
- [95] Cusbert, P. J.; Carter, M. W.; Woods, D. A.; *In Vitro Dissolution of Uranium.* Radiation Protection Dosimetry **55**(1), 39-47 (1994).
- [96] Ansoborlo, E.; Chazel, V.; E.; Hengé-Napoli, M. H.; Pihet, P.; Rannou, A.; Bailey, M. R.; Stradling, N.; *Determination of the Physical and Chemical Properties, Biokinetics and Dose Coefficients of Uranium Compounds Handled During Nuclear Fuel Fabrication in France.* Health Physics **82**(3), 279-289 (2002)
- [97] Dhanpat, R.; Felmy, A. R.; Ryan, J. L.; *Uranium (IV) Hydrolysis Constants and Solubility Product of  $UO_2 \cdot x H_2O$  (am).* Inorg. Chem **29**(2), 260-264 (1990)
- [98] Gmelin Handbook of Inorganic Chemistry (8th Edition), Uranium, Suppl. Vol. C6, *Chemical Behaviour of  $UO_2$ .* Springer, Berlin Heidelberg, (1996), 28 ff