

Relaxationszeiten des Elektronenspins von Radikalen in einigen bestrahlten Aminosäuren bei 4,2 °K

G. BÜRK und G. SCHOFFA

Physikalisches Institut der Technischen Hochschule, Karlsruhe

(Z. Naturforschg. 21 a, 296—300 [1966]; eingegangen am 8. November 1965)

Electron spin relaxation times of the irradiated amino acids acetyl valine, sarcosine, betaine, and glycine have been measured at 4.2 °K with two different methods. From the exponential decrease of signals due to saturation after rapid adjustment of the ESR spectrometer on resonance, the following spin-lattice relaxation times have been measured: acetyl valine $T_1=0.2$ sec, sarcosine $T_1=0.14$ sec, betaine $T_1=0.07$ sec, glycine $T_1 \sim 0.3$ sec. By the PORTIS saturation method the product $T_1 T_2$ was measured, and, T_1 being known, the following spin-spin relaxation times T_2 have been obtained: acetyl valine $2.1 \cdot 10^{-9}$ sec, sarcosine $1 \cdot 10^{-9}$ sec, betaine $9 \cdot 10^{-10}$ sec. All measured amino acids show the saturation behaviour of substances with "inhomogeneous" line broadening.

Die bisher einzigen Relaxationszeitmessungen an bestrahlten Aminosäuren wurden bei Zimmertemperatur von SIMMONS¹ ausgeführt. Die verhältnismäßig großen Spin-Gitter-Relaxationszeiten von $\sim 10^{-5}$ s wurden mit der Sättigungsmethode nach PORTIS² erhalten, wobei T_2 aus der Linienbreite der Hyperfeinstrukturlinien errechnet wurde. Messungen der Relaxationszeiten von bestrahlten Aminosäuren bei tiefen Temperaturen sind nicht nur vom Standpunkt der Festkörperphysik von Interesse. Die durch energiereiche Photonen oder beschleunigte Teilchen entstehenden Primärschäden an organischen Substanzen kann man meist nur bei tiefen Temperaturen untersuchen, da bei höheren Temperaturen die Strahlenschäden vom Ort der primären Entstehung zu anderen Stellen des Moleküls wandern. Wenn man die Zahl der bei der Bestrahlung entstehenden Radikale aus der Elektronenspinresonanz (ESR) bestimmen will, so ist die Kenntnis der Relaxationszeiten und damit des Sättigungsverhaltens der Substanz notwendig, da im Sättigungsbereich keine lineare Abhängigkeit der Signalthöhe oder der Fläche unter dem Absorptionssignal von der magnetischen Mikrowellenfeldstärke mehr besteht.

In dieser Arbeit wird über Messungen der Spin-Gitter-Relaxationszeit T_1 und der Spin-Spin-Relaxationszeit T_2 an den bestrahlten Aminosäuren Acetylvalin, Sarkosin, Betain und Glycin bei 4,2 °K berichtet.

Experimentelle Technik

Die Messungen der ESR und der Relaxationszeiten wurden mit einem kommerziellen ESR-Spektrometer bei 9200 MHz und etwa 3300 Gauß ausgeführt. Wegen der großen Spin-Gitter-Relaxationszeiten mußten

alle Messungen mit einer Modulationsfrequenz von 50 Hz oszillographisch ausgeführt werden. Die ESR-Spektren wurden vom Oszillographenschirm photographiert bzw. mit 48 Bildern pro Sekunde gefilmt. Als Mikrowellengenerator wurde ein 2K25-Klystron verwendet. Die Mikrowellenleistung am Resonatoreingang wurde mit einem kommerziellen Leistungsmesser gemessen. Die Berechnung der magnetischen Mikrowellenfeldstärke im Resonator wird im nächsten Kapitel behandelt.

Für die Messungen bei 4,2 °K wurde als Resonator ein zweiteiliger, innen versilberter H_{101} -Resonator aus Quarzglas verwendet. Die Ankopplung des Resonators erfolgte vor der Abkühlung mit einer Kopplungsschraube unmittelbar am Resonatoreingang und nach dem Einfüllen des Heliums durch zwei Teflonscheiben über dem Resonator, deren Abstand und Höhe über dem Resonator von außen verändert werden konnten. Einzelheiten des Kryostaten zeigt die Prinzipskizze Abb. 1.

Die verwendeten Aminosäuren wurden von Nutritional Biochemical Corp., USA, bezogen. Die Bestrahlung der Substanzen erfolgte mit einer 100 kV-Röntgen-Anlage bei 20 mA. Die verabreichte Dosis betrug etwa 1 Mrad und war in allen Fällen gleich. Die durch die Bestrahlung entstehenden freien Radikale blieben monatelang stabil.

Bei den Aminosäuren

Acetylvalin, $(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}(\text{HNCOCCH}_3)\text{COOH}$,
und Sarkosin, $\text{H}_2\text{C}(\text{HNCH}_3)\text{COOH}$,

führt die Bestrahlung zur Abspaltung eines α -Protons und zur Bildung eines α -Kohlenstoffradikals. Bei der Bestrahlung des Betains, $(\text{CH}_3)_3\text{N}^+\text{CH}_2\text{COO}^-$, wird die C—N-Bindung aufgetrennt und es entsteht ein Stickstoffradikal der Struktur $^+\text{N}(\text{CH}_3)_3$, während der Rest des Moleküls zu einer diamagnetischen Verbindung recombiniert³.

¹ J. A. SIMMONS, J. Chem. Phys. **36**, 469 [1962].

² A. M. PORTIS, Phys. Rev. **91**, 1071 [1953].

³ G. SCHOFFA, J. Chem. Phys. **40**, 908 [1964].



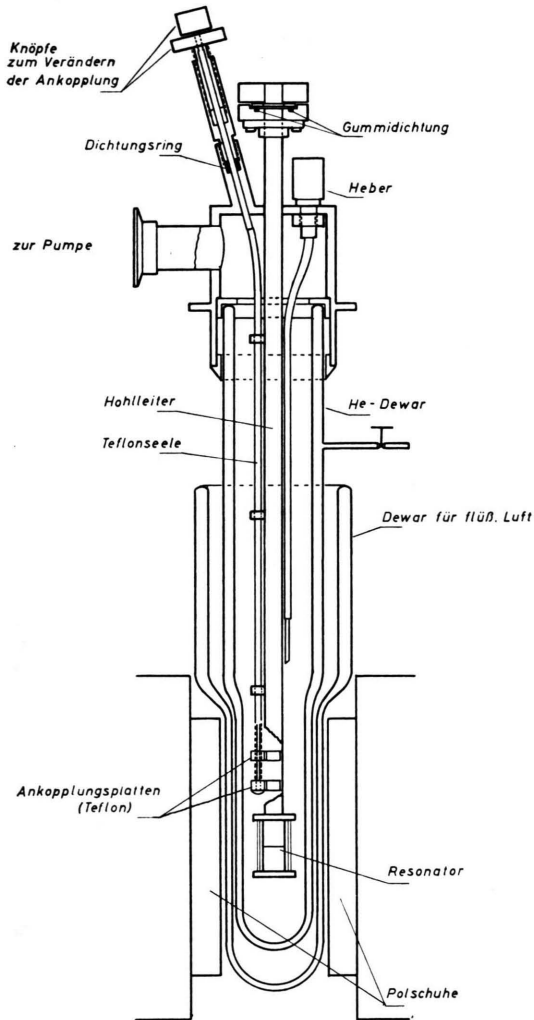


Abb. 1. Kryostat mit einigen Mikrowellenbauteilen zur Messung der Elektronenspinresonanz bei 4,2 °K.

Bestimmung der Produkte der Relaxationszeiten nach der Sättigungsmethode

a) Theoretische Grundlagen

Die Intensität I eines ESR-Absorptionssignals bei der Resonanzfrequenz ω_0 ist proportional zu $H_1 \chi''(\omega_0)$, d. h. zur magnetischen Mikrowellenfeldstärke H_1 und zu dem Imaginärteil der magnetischen Suszeptibilität χ'' der Substanz. Solange χ'' von H_1 unabhängig ist, erhält man beim Auftragen der Linienintensität gegen H_1 eine Gerade (Abb. 2). Dieser lineare Zusammenhang zwischen I und H_1 gilt aber nur bei relativ kleinen Mikrowellenfeldstärken.

Bei größeren Feldstärken treten Abweichungen auf, die von der Spin-Gitter-Relaxationszeit T_1 und der Spin-Spin-Relaxationszeit T_2 herrühren. Dieser sogenannte Sättigungseffekt läßt sich in einfachen Fällen theoretisch beschreiben, so daß man T_1 und T_2 aus dem Sättigungsverhalten der Substanzen ermitteln kann.

Wenn sich das Spinsystem infolge dipolarer Spin-Spin-Wechselwirkung oder anderer schnell fluktuierender Wechselwirkungen im Resonanzfall stets im thermodynamischen Gleichgewicht befindet, so sind die ESR-Linien „homogen verbreitet“ und es gilt nach PORTIS²

$$\chi''(\omega_0, H_1) = \frac{1}{2} \chi_0 \omega_0 T_2 (1 + \frac{1}{4} \gamma^2 T_1 T_2 H_1^2)^{-1}.$$

Hierbei ist χ_0 die statische Suszeptibilität und γ das gyromagnetische Verhältnis des Elektrons. Wenn das thermodynamische Gleichgewicht im Resonanzfall nicht gewährleistet ist, weil z. B. die Spin-Spin-Wechselwirkung klein gegen die Spin-Gitter-Wechselwirkung ist oder weil eine nicht aufgelöste Hyperfeinstruktur vorhanden ist, so tritt nun die „inhomogene Linienverbreiterung“ auf, für die nach SIMMONS¹

$$\chi''(\omega_0, H_1) = \frac{1}{2} \chi_0 \omega_0 T_2^* (1 + \frac{1}{4} \gamma^2 T_1 T_2 H_1^2)^{-1/2}.$$

gilt. T_2^* ist durch $T_2^*/\pi = \hbar(\omega_0)$ definiert, wobei $h(\omega - \omega_0)$ die normierte Linienformfunktion der Einhüllenden des Spektrums darstellt. Die Änderung der Signalthöhe bei „homogener“ und „inhomogener“ Linienverbreiterung, wie sie sich aus diesen Gleichungen ergibt, ist in Abb. 2 dargestellt.

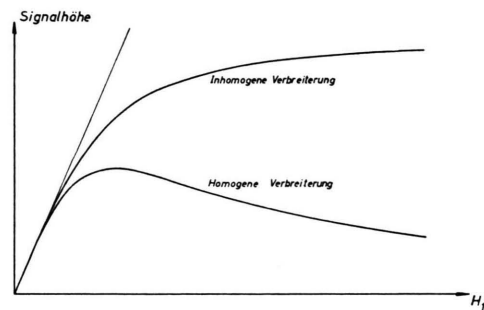


Abb. 2. Abhängigkeit der Signalthöhe bei ESR-Absorption in Resonanz von der Hochfrequenzmagnetfeldstärke H_1 für „homogen“ und „inhomogen“ verbreiterte Linien. Solange χ'' von H_1 unabhängig ist, gilt eine lineare Abhängigkeit zwischen der Signalthöhe und H_1 . Bei größeren H_1 tritt eine Abweichung von dieser Linearität auf, die für „homogen“ und „inhomogen“ verbreiterte Linien verschieden ist.

Der Klammerausdruck in der letzten Gleichung für χ'' wird als Sättigungsparameter S bezeichnet:

$$S = \frac{\chi''(\omega_0, H_1)}{\lim_{H_1 \rightarrow 0} \chi''(\omega_0, H_1)} = (1 + \frac{1}{4} \gamma^2 T_1 T_2 H_1^2)^{-1/2}.$$

Bei fehlender Sättigung ist $S=1$, mit zunehmender Sättigung nimmt S ab und geht gegen Null.

b) Ergebnisse und Diskussion

Zur Bestimmung der Relaxationszeiten der bestrahlten polykristallinen Aminosäuren Acetylvalin, Sarkosin und Betain wurde die Intensität der ESR-Signale bei Resonanz in Abhängigkeit von der Mikrowellenleistung gemessen. Die Linienintensitäten wurden gegen die Wurzel der normierten Mikrowellenleistung aufgetragen, da $(P/P_0)^{1/2}$ proportional zu H_1 ist. P_0 ist die größte im Versuch eingestrahlte Leistung, die bei allen drei Aminosäuren $3 \cdot 10^{-6}$ W betrug. Wie aus Abb. 3–5 zu sehen ist, konnte in allen Fällen ein Sättigungsverhalten nachgewiesen werden.

Da in den hier untersuchten Proben die Radikale diamagnetisch $1 : 10^4$ verdünnt waren, ist eine dipolare Spin-Spin-Wechselwirkung nicht zu erwarten, und es muß sich daher um das Sättigungsverhalten, wie oben unter „inhomogene Verbreiterung“ beschrieben, handeln. Das wird im Experiment bestätigt durch die gute Übereinstimmung zwischen den Meßpunkten der Abb. 3–5 und den dort eingezeichneten theoretischen Kurven für inhomogen verbreiterte Linien, die den Meßpunkten durch optimale Wahl von $T_1 T_2$ angepaßt sind.

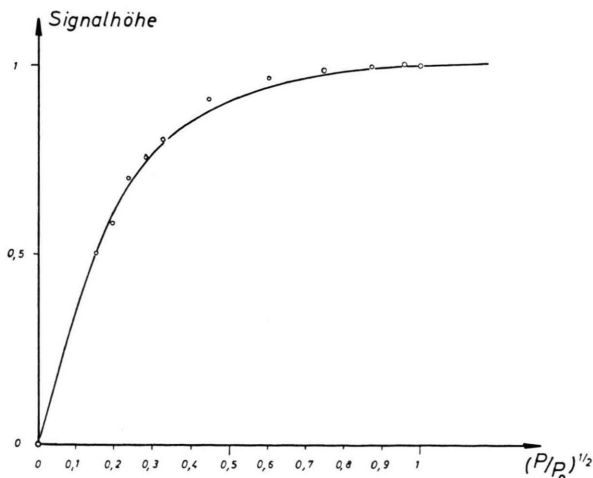


Abb. 3. Die Sättigungskurve von strahlenerzeugtem Acetylvalin-Radikal bei 4,2 °K.

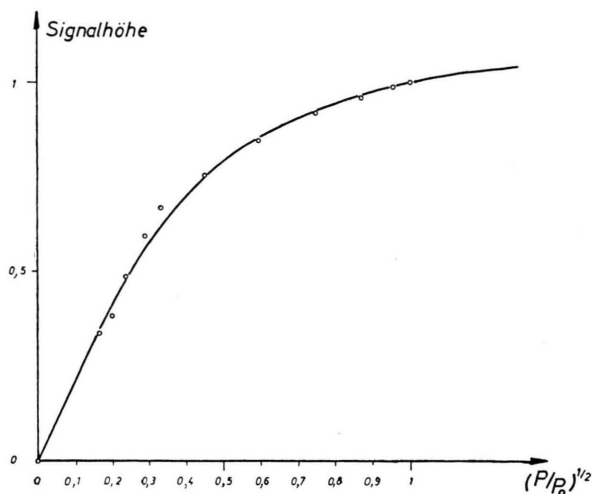


Abb. 4. Die Sättigungskurve von strahlenerzeugtem Sarkosin-Radikal bei 4,2 °K.

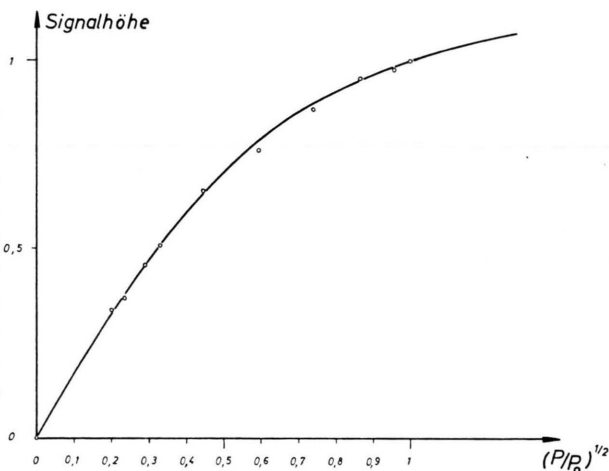


Abb. 5. Die Sättigungskurve von strahlenerzeugtem Betain-Radikal bei 4,2 °K.

Aus den Sättigungskurven kann man leicht das Produkt $T_1 T_2$ bestimmen, indem man z. B. denjenigen Wert von H_1 herausgreift, bei dem $S=1/2$ wird, bei dem also die gemessene Signalhöhe die Hälfte der nach $I \sim H_1 \chi''$ berechneten Signalhöhe beträgt. Für diesen Fall erhält man aus der letzten Gleichung

$$T_1 T_2 = 12 / (\gamma^2 H_1^2).$$

Da die Spektren aller Substanzen beim gleichen g -Faktor lagen, wurde für alle Substanzen das gleiche gyromagnetische Verhältnis

$$|\gamma| = \frac{\omega_0}{H_1} = \frac{5,9 \cdot 10^{10} \text{ sec}^{-1}}{2680 \text{ A/cm}} = 2,2 \cdot 10^7 \text{ cm/As}$$

verwendet.

Die Bestimmung von H_1 im Resonator geschah in folgender Weise: Für die magnetische Energiedichte gilt:

$$u_{\text{magn}} = \frac{1}{2} \mu_0 H_1^2.$$

Die magnetische Energiedichte im Resonator ist:

$$u_{\text{magn}} = P_0 Q (1 - |I|^2) / \omega_0 V.$$

Hierbei sind: $\mu_0 = 1,256 \cdot 10^{-8} \text{ Vs/Acm}$, P_0 die Mikrowellenleistung, Q die Güte des Resonators, I der Reflexionskoeffizient, ω_0 die Resonanzfrequenz und V das Resonatorvolumen.

Aus den beiden Gleichungen erhält man, wenn man berücksichtigt, daß die Resonanz nur durch eine zirkular polarisierte Welle erfolgt, für das Quadrat der magnetischen Feldstärke:

$$H_1^2 = \frac{8 P_0 Q (1 - |I|^2)}{\omega_0 \mu_0 V}.$$

Die aus den Meßwerten für H_1 bei $S = 1/2$ und aus dem bekannten γ erhaltenen Produkte der Relaxationszeiten sind:

Acetylvalin:	$T_1 T_2 = 4,3 \cdot 10^{-10} \text{ sec}^2$;
Sarkosin:	$T_1 T_2 = 1,4 \cdot 10^{-10} \text{ sec}^2$;
Betain:	$T_1 T_2 = 6,3 \cdot 10^{-11} \text{ sec}^2$.

Bestimmung der Spin-Gitter-Relaxationszeit aus der zeitlichen Änderung der Signalhöhen nach schneller Einstellung auf Resonanz

a) Theoretische Grundlagen

Bei der ESR-Absorption kommt es zu einer Änderung der Besetzungszahlen der Spinzustände, die im Falle einer Substanz mit dem Spin $1/2$ durch die Gleichung

$$\frac{dn}{dt} = \left(\frac{dn}{dt} \right)_S + \left(\frac{dn}{dt} \right)_{\text{HF}}$$

beschrieben wird. Hier ist n die Besetzungszahldifferenz der beiden Spinzustände, $(dn/dt)_S$ die Änderung der Besetzungszahldifferenz durch strahlungslose Übergänge und $(dn/dt)_{\text{HF}}$ die Änderung der Besetzungszahldifferenz durch eingestrahlte Hochfrequenzenergie.

Die Übergangswahrscheinlichkeit für strahlungslose Übergänge W_S wird durch die Spin-Gitter-Relaxationszeit $T_1 = 1/(2W_S)$ definiert, wobei für den ersten Teil der Gleichung

$$(dn/dt)_S = (n_0 - n)/T_1$$

gilt; n_0 ist die Besetzungszahldifferenz im thermischen Gleichgewicht.

Für die durch die eingestrahlte Hochfrequenzleistung induzierten Übergänge gilt:

$$(dn/dt)_{\text{HF}} = -2 W_I n.$$

Hier ist W_I die Übergangswahrscheinlichkeit bei Einstrahlung der Hochfrequenzleistung. Der Faktor 2 ergibt sich dadurch, daß bei jedem Übergang die Besetzungszahldifferenz um 2 geändert wird. Für Spin $1/2$ gilt⁴:

$$W_I = \frac{1}{4} \gamma^2 H_1^2 T_2.$$

Die Lösung der Differentialgleichung

$$dn/dt = (n_0 - n)/T_1 - 2 W_I n$$

lautet mit der Anfangsbedingung, daß $n = n_0$ für $t = 0$,

$$n = \frac{n_0}{1 + 2 W_I T_1} [1 + 2 W_I T_1 \exp\{-t/T_{\text{eff}}\}],$$

wobei

$$T_{\text{eff}} = T_1 / (1 + 2 W_I T_1)$$

ist. Für $t \rightarrow \infty$ geht

$$n \rightarrow n_0 / (1 + 2 W_I T_1) = n_s$$

über, wobei n_s die Besetzungszahldifferenz nach dem Erreichen des stationären Zustandes ist.

Da die Signalhöhe proportional zur Besetzungszahldifferenz ist, läßt sich aus dem zeitlichen Abklingen der Signalamplitude bei bekannten S die Spin-Gitter-Relaxationszeit T_1 berechnen.

b) Ergebnisse und Diskussion

Zur Messung der Relaxationszeit T_1 von polykristallinen Aminosäuren Acetylvalin, Sarkosin, Betain und Glycin bei $4,2^\circ \text{K}$ wurde die Mikrowellenleistung nur soweit abgeschwächt, daß bei schneller Einstellung auf Resonanz auf dem Oszillographenschirm im ersten Augenblick ein großes Signal beobachtet wurde. Infolge der zunehmenden Sättigung nahm dann dieses Signal schnell ab, bis in etwa 1 bis 2 Sekunden ein stationärer Zustand erreicht wurde. Die zeitliche Änderung der Signalhöhen wurde am Oszillographenschirm nach drei verschiedenen Methoden beobachtet:

a) Der Elektronenstrahl des Oszillographen wurde durch die Spannung der Magnetfeldmodulation horizontal abgelenkt und dabei gleichzeitig das statische Magnetfeld langsam verschoben, so daß viele verschieden große Spektren im zeitlichen Abstand gemäß $1/(2\nu_m)$ (ν_m = Modulationsfrequenz) als Verti-

⁴ E. R. ANDREW, Nuclear Magnetic Resonance, Cambridge University Press, London 1955.

kalauslenkung des Strahls beobachtet und photographiert werden konnten.

b) Der Elektronenstrahl des Oszillographen wurde durch interne Ablenkung so langsam abgelenkt, daß außerhalb der Resonanz der Strahl als ein Punkt und bei Anlegung des Signals an den Vertikalverstärker als ein über den Schirm wandernder Strich beobachtet werden konnte. Unmittelbar nach der schnellen Einstellung auf Resonanz war dieser Strich groß und nahm dann bis zum Erreichen der Sätti-

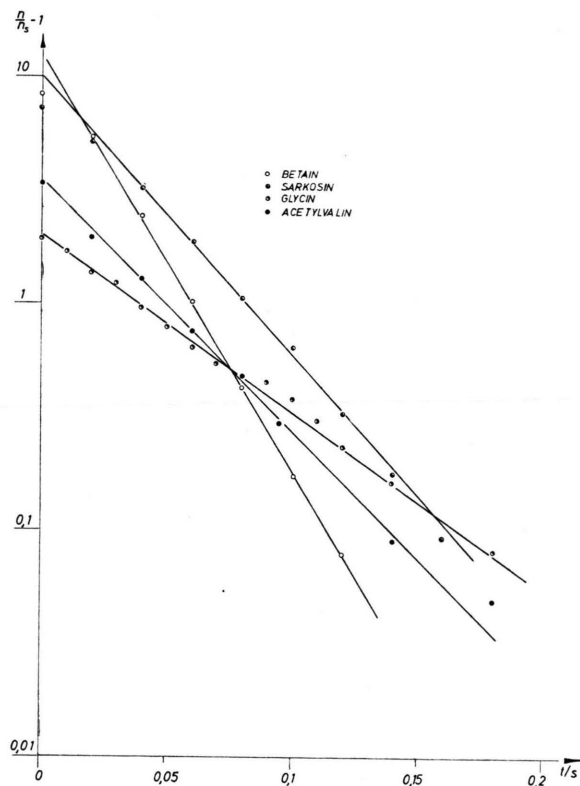


Abb. 6. Exponentieller Abfall der Signalhöhen nach schneller Einstellung auf Resonanz für verschiedene Aminosäuren in einfachlogarithmischer Darstellung.

gung schnell ab. Bei photographischen Aufnahmen vom Schirm konnte man eine Folge von verschiedenen großen Strichen sehen, deren Abstände von der Zeitablenkung und die Höhen von der Besetzungsdifferenz abhängig waren.

c) Die Abnahme der Intensität des Signals nach plötzlicher Einstellung auf Resonanz wurde mit 48 Bildern pro Sekunde gefilmt.

Die Auswertung der Experimente zeigte eine gute Erfüllung des exponentiellen Abfalls, wie aus der halblogarithmischen Darstellung auf der Abb. 6 zu sehen ist.

Aus der Steigung der Geraden auf der Abb. 6 und aus den bekannten Werten für den Sättigungsparameter S ergeben sich folgende Spin-Gitter-Relaxationszeiten:

	$T_{\text{eff}}/\text{sec}$	$1/S$	T_1/sec
Acetylvalin	0,040	5	0,2
Sarkosin	0,035	4	0,14
Betain	0,023	3	0,07
Glycin	0,0055	4–6	0,22–0,33

Nachdem mit der Sättigungsmethode das Produkt $T_1 T_2$ und soeben die Relaxationszeit T_1 an denselben Substanzen gemessen wurden, liegt es auf der Hand, T_2 zu berechnen. Die erhaltenen Werte sind:

$$\begin{aligned} \text{Acetylvalin:} \quad T_2 &= 2,1 \cdot 10^{-9} \text{ sec;} \\ \text{Sarkosin:} \quad T_2 &= 1,0 \cdot 10^{-9} \text{ sec;} \\ \text{Betain:} \quad T_2 &= 9,0 \cdot 10^{-10} \text{ sec.} \end{aligned}$$

Wir danken Herrn Prof. W. BUCKEL für die Ermöglichung der Messungen bei 4,2 °K und für die stetige Förderung dieser Arbeit. Herrn Prof. H.-G. KAHLE danken wir für die anregende Diskussion bei Fertigstellung des Manuskripts, Herrn Dr. KALBFLEISCH für die Durchsicht des Manuskripts und einige Hinweise bezüglich der Auswertung der Meßergebnisse. Diese Arbeit wurde durch eine Sachbeihilfe der Deutschen Forschungsgemeinschaft unterstützt.