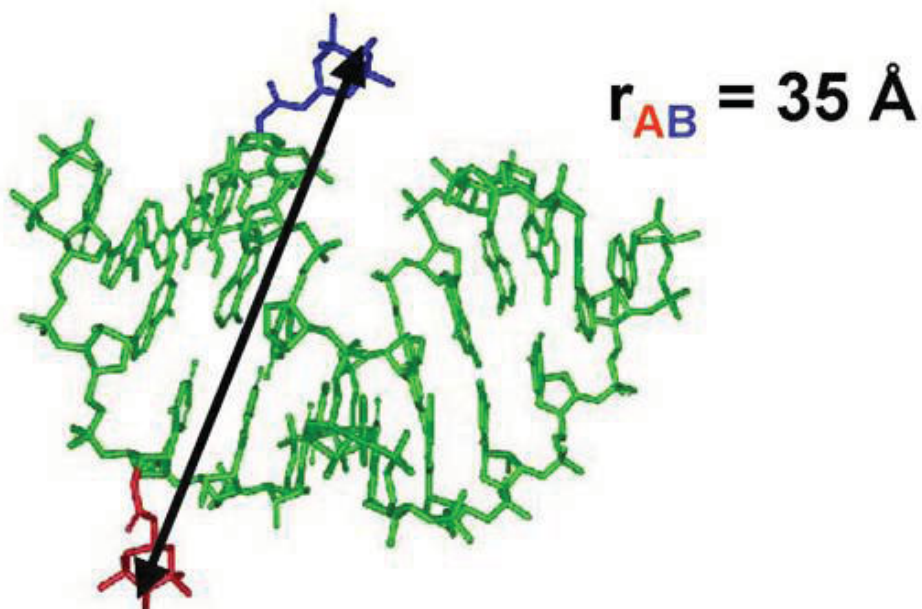
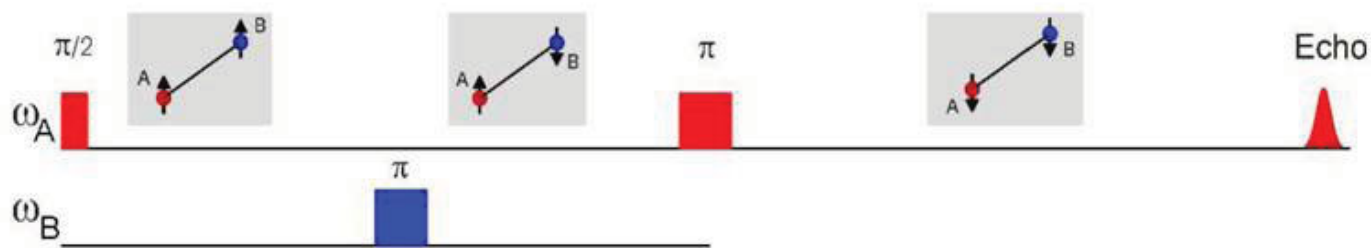


Entwicklung gepulster Elektronendoppelresonanz-Verfahren zur Abstandsmessung im Nanometerbereich



Entwicklung gepulster Elektronendoppelresonanz-Verfahren zur Abstandsmessung im Nanometerbereich

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Naturwissenschaften

vorgelegt beim Fachbereich Chemische und Pharmazeutische Wissenschaften
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
in Frankfurt am Main

von
Axel Weber
aus Bad Homburg v. d. Höhe

Frankfurt 2002
DF1

Die Deutsche Bibliothek - CIP-Einheitsaufnahme

Weber, Axel:

Entwicklung gepulster Elektronendoppelresonanz-Verfahren zur Abstandsmessung im Nanometerbereich / von Axel Weber. -

1. Aufl. - Göttingen : Cuvillier, 2002

Zugl.: Frankfurt am Main, Univ., Diss., 2002

ISBN 3-89873-526-5

Vom Fachbereich Chemische und Pharmazeutische Wissenschaften der Johann Wolfgang Goethe-Universität als Dissertation angenommen.

Dekan: Prof. Dr. W. E. Müller

1. Gutachter: Prof. Dr. T. F. Prisner

2. Gutachter: Prof. Dr. B. Brutschy

Datum der Disputation: 27. Juni 2002

© CUVILLIER VERLAG, Göttingen 2002

Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen

Telefon: 0551-54724-0

Telefax: 0551-54724-21

www.cuvillier.de

Alle Rechte vorbehalten. Ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages ist es nicht gestattet, das Buch oder Teile daraus auf fotomechanischem Weg (Fotokopie, Mikrokopie) zu vervielfältigen.

1. Auflage, 2002

Gedruckt auf säurefreiem Papier

ISBN 3-89873-526-5

Für Selina, Daniel und Claudia

„Wären überhaupt die Dinge das, was man ihnen sofort ansieht, so müßten jede Untersuchung und Wissenschaft sich erübrigen.“

Peter Sloterdijk

„Das Gehirn ist [...] kein Organ zur Erkenntnis der Natur, sondern ursprünglich entstanden als ein Organ zur Verbesserung unserer Überlebenschancen. Insofern könnte man seine Verwendung zu Erkenntniszwecken in verdeutlichender Zuspitzung sogar als eine Art ‚Zweckentfremdung‘ bezeichnen.“

Hoimar von Ditfurth

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
1.1	Geschichtliches.....	2
1.2	EPR heute	3
1.3	S-Band-EPR	6
1.4	Zielsetzung	8
1.5	Gliederung	9
2	Puls-S-Band-Spektrometer.....	10
2.1	Mikrowellenaufbau	10
2.1.1	mw-Erzeugung und -Regelung	10
2.1.2	Anregung im cw-Betrieb	13
2.1.3	Anregung im Pulsbetrieb	14
2.1.3.1	Phasennetzwerk	14
2.1.3.2	PELDOR-Einheit.....	15
2.1.3.3	Erzeugung der Hochleistungspulse	16
2.1.4	Detektion und Monitore.....	17
2.1.4.1	Detektion.....	17
2.1.4.2	Monitore	18
2.2	Magnetfelder	20
2.2.1	Elektromagnet.....	20
2.2.2	Magnetfeldmodulation	20
2.3	Spektrometersteuerung	21
2.4	Probentemperierung	22
2.5	Resonatoren	23
2.5.1	Einleitung.....	23
2.5.2	Charakterisierung	26
2.5.2.1	Design und Herstellung.....	26
2.5.2.2	Resonanzfrequenz und Güte	29
2.5.2.3	Zeitkonstante	34
2.5.2.4	Konversionsfaktor	39
2.5.3	Zusammenfassung	41

2.6	Empfindlichkeit.....	44
2.6.1	Theorie	44
2.6.2	Testmessungen	47
2.7	Zusammenfassung und Ausblick	51
3	Abstandsbestimmung mittels PELDOR	54
3.1	Einleitung	54
3.2	Theoretische Betrachtungen	59
3.3	Untersuchte Proben	67
3.4	Technische Aspekte.....	69
3.4.1	Rolle des S-Band-Resonators beim PELDOR-Experiment.....	69
3.4.2	PELDOR-Erweiterung des X-Band-Spektrometers.....	72
3.5	Messungen	73
3.5.1	Biradikal 1 in Polystyrol.....	73
3.5.2	Biradikal 1 in d8-Toluol	80
3.5.3	Biradikal 2 in d8- /h8-Toluol	87
3.5.4	BITPAB und BITPAP in d8- /h8-Toluol	99
3.5.5	BIESTERPHY und BIESTERBI in d8-Toluol.....	106
3.5.6	RNA	112
3.6	Diskussion	118
4	Zusammenfassung.....	123
5	Anhang.....	125
5.A	Schaltzeichen.....	125
5.B	Etymologie.....	126
5.C	mw-Bänder.....	127
5.D	Literatur.....	128
5.E	Danksagung.....	136

1 Einleitung

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wird ein gepulstes Elektronenspinresonanz-Spektrometer vorgestellt, welches bei S-Band-Frequenzen¹ arbeitet. Seine Konstruktion und Leistungsmerkmale werden in Kapitel 2 beschrieben. Mit diesem Spektrometer wurde erstmals eine Methode zur molekularen Abstandsmessung im Nanometerbereich (Pulsed ELection DOuble Resonance, PELDOR², siehe Kapitel 3) erfolgreich im S-Band durchgeführt. Die Zuverlässigkeit dieser Methode wurde zuerst anhand von zwei in der Literatur bekannten Biradikalen im Vergleich mit Messungen an einem kommerziellen X-Band-Spektrometer getestet, wofür es mit einer PELDOR-Einheit erweitert wurde. Darüber hinaus konnte durch Messungen an vier neu synthetisierten Biradikalen gezeigt werden, daß es mit Hilfe dieser Methode möglich ist, auch dann Abstände zuverlässig zu messen, wenn eine nicht zu vernachlässigende Austauschwechselwirkung zur Spin-Spin-Kopplung beiträgt. Hierbei kann, wie bei einer der neu synthetisierten Proben gezeigt wurde, nicht nur der Betrag, sondern auch das Vorzeichen der Austauschwechselwirkung bestimmt werden und damit, ob eine ferromagnetische oder eine antiferromagnetische Kopplung vorliegt. Desweiteren wurden an zwei Proben doppelt spingelabelter RNA erstmals erfolgreiche PELDOR-Messungen durchgeführt. Für eine Probe, die als starrer Doppelstrang vorliegt, konnte der Abstand zwischen den Spinlabeln bestimmt werden. Für die zweite Probe, die im Bereich der Spinlabel keine komplementäre Basenpaarung aufweist, liefert das PELDOR-Experiment keinen festen Abstand, sondern belegt aufgrund der auftretenden starken Relaxation die Beweglichkeit der Basen in der Nähe der Spinlabel.

Im Abschnitt 1.1 folgt ein kurzer geschichtlicher Abriß, bevor in Abschnitt 1.2 die modernen EPR-Techniken skizziert werden. Nach dem Abschnitt 1.3 zur Motivation für gepulste Niederfrequenz-EPR wird in 1.4 die Zielstellung der vorliegenden Arbeit dargelegt. Zum Schluß dieses Kapitels wird in 1.5 auf die Gliederung der Arbeit eingegangen.

¹ Für die in dieser Arbeit verwendeten Bezeichnungen der mw-Bänder siehe Anhang.

² Eine weitere Bedeutung des Begriffs „Peldor“ ist in [Hem00] zu finden.

1.1 Geschichtliches

Zur Prähistorie der EPR gehören die Entdeckung des Elektrons und des Spins sowie die Anfänge der Quantentheorie. Nachdem die Messungen der spezifischen Ladung des Elektrons an photo- und glühelektrisch ausgelösten Elektronen 1897-1899 durch Joseph John Thomson (*1856, †1940) übereinstimmende Ergebnisse geliefert hatten, war zusammen mit dem nach Pieter Zeeman (*1865, †1943) benannten und von Hendrik Antoon Lorentz (*1853, †1928) durch seine Elektronentheorie aus dem Jahre 1895 vorhergesagten Effekt von 1896, dessen Deutung eine spezifische Ladung derselben Größe als Bestandteil des Atoms forderte, die Existenz des Elektrons nachgewiesen. Als Zeeman-Effekt bezeichnet man das Aufspalten von Spektrallinien in einem Magnetfeld. Wenn auch der normale Zeeman-Effekt durch die klassische Theorie von Lorentz erklärt werden konnte, stellt dieser nur einen Spezialfall eines grundsätzlich quantenphysikalischen Effektes dar. Im sogenannten anomalen Zeeman-Effekt treten Aufspaltungsmuster auf, die mit klassischen Mitteln nicht zu deuten waren. Erst durch die Entdeckung der Richtungsquantelung des Drehimpulses im Stern-Gerlach-Versuch 1921/22 durch Otto Stern (*1888, †1969) und Walther Gerlach (*1889, †1979) und der um 1913 entwickelten „älteren“ Quantentheorie von Niels Hendrick David Bohr (*1885, †1962) konnte dieser erklärt werden. Allerdings ließ die zweite fundamentale Erkenntnis, die man aus dem Stern-Gerlach-Versuch ziehen mußte, noch bis 1925 auf sich warten.

Nach der damaligen Quantentheorie sollte ein einwertiges Atom, wie das im Versuch verwendete Silber, drei Projektionen des Bahndrehimpulses auf die Quantisierungsachse besitzen, also sollte auch der Atomstrahl entsprechend eines magnetischen Momentes von μ_{Bohr} in drei Komponenten aufspalten, wovon jedoch laut Vermutung Bohrs die z-Komponente ausgeschlossen sei. Dementsprechend war die Beobachtung einer Aufspaltung in zwei Komponenten und eines magnetischen Momentes von μ_{Bohr} in Übereinstimmung mit der Erwartung. Infolge der Entwicklung der Quantenmechanik durch Werner Karl Heisenberg 1925 und Erwin Schrödinger 1926 gewann man jedoch die Einsicht, daß Silber (mit dem Grundzustand $^2\text{S}_{1/2}$) keinen Bahndrehimpuls besitzt und daher auch keine Aufspaltung hätte zeigen

dürfen. Diesen Widerspruch und das 1924 von Wolfgang Pauli (*1900, †1958) formulierte Ausschließungsprinzip konnten 1925 Samuel Abraham Goudsmit (*1902, †1978) und George Eugene Uhlenbeck (*1900, †1988) durch axiomatische Einführung eines halbzahligen Drehimpulses aufklären, der Spin genannt wird und ein Ergebnis der 1930 entwickelten relativistischen Quantenmechanik von Paul Adrien Maurice Dirac (*1888, †1969) ist, aus welcher sich auch das beobachtete gyromagnetische Verhältnis für den Elektronenspin $g_s = 2$ im Gegensatz zu dem eines Bahndrehimpulses $g_l = 1$ herleiten läßt. Die genauere Messung ergibt eine Abweichung von etwa 0,1%, welche in der Quantenelektrodynamik durch die Wechselwirkung des Elektrons mit seinem Strahlungsfeld gedeutet und mit einer eindrucksvollen relativen Genauigkeit von 10^{-12} in Experimenten an einzelnen Elektronen und Positronen von Hans-Georg Dehmelt (*1922, [Deh90, Dyc87]) gemessen wurde.

1.2 EPR heute

Schon bald nach Einführung der Magnetischen Resonanzspektroskopie 1945 in Form der Elektronenspinresonanz (EPR), [Zav45] bzw. 1946 in Form der Kernspinresonanz (NMR), [Blo46], wurden neben der klassischen „continuous wave“(cw)-Methode, bei der die Resonanz entweder durch langsames Ändern des Magnetfeldes oder der Frequenz durchlaufen wird, auch gepulste Messungen durchgeführt (EPR: [Blu58], NMR: [Blo46]). Mit der Pulsmethode kann man je nach der Natur der untersuchten Probe dieselben Meßgrößen in kürzerer Zeit, mit höherer Empfindlichkeit oder besserer Auflösung gewinnen, oder aber durch Vereinfachung von komplexen Spektren die separate Messung einzelner Beiträge sogar erst ermöglichen. Obwohl die grundlegenden theoretischen Konzepte für die EPR und die NMR sehr ähnlich sind, haben die Vorteile und Eleganz der gepulsten Methode in der Anfangsphase nur auf dem Gebiet der NMR zu einer rasanten Entwicklung geführt. Wegen des 658fach stärkeren magnetischen Moments des Elektronenspins gegenüber dem des Protons sind die Energielücken zwischen den Zeeman-Termen sehr viel größer und die Relaxationszeiten sehr viel kleiner. Hinzu kommt, daß es im Gegensatz zur NMR nur in den seltensten Fällen möglich ist, das gesamte EPR-

Spektrum gleichzeitig anzuregen, da die auftretenden Wechselwirkungen häufig in der Größenordnung von einigen % (Hyperfeinstruktur) der Zeeman-Aufspaltung liegen oder in bestimmten Fällen diese auch weit übertreffen können (Feinstruktur). Deshalb sind die technischen Anforderungen für die Puls-EPR sehr groß und viele Komponenten, wie ausreichend schnelle Mikrowellen(mw)-Schalter und schnelle Elektronik zur Datenverarbeitung, erst seit etwa 20 Jahren kommerziell erhältlich. Seit diesem Zeitpunkt, also mit einer Verzögerung von ca. 30 Jahren gegenüber der NMR, erlebt auch die Puls-EPR einen großen Aufschwung.

Dennoch ist im Gegensatz zur NMR in der EPR heute noch die cw-Methode für viele Anwendungen die am häufigsten verwendete. In der Fülle der Fragestellungen der EPR, die aus Physik, Chemie, Biologie, Medizin, Materialwissenschaften, Mineralogie und vieler interdisziplinärer Wissenschaften kommen, hat man es allerdings häufig mit ungeordneten Proben (Pulver oder gefrorene Lösungen) zu tun, die dazu noch mehr als ein paramagnetisches Zentrum enthalten und daher verbreiterte und überlappende Linien enthalten, so daß eine cw-Messung bei einer Frequenz alleine keine eindeutige Bestimmung aller spektralen Beiträge erlaubt. Um in solchen Fällen die Auflösung und Empfindlichkeit zu verbessern, wurden und werden Doppelresonanz- und gepulste Methoden teils neu entworfen, teils aus bekannten Methoden der NMR abgeleitet. Diese Methoden bestehen einerseits aus Pulssequenzen, welche bei einer Frequenz arbeiten (z.B. Electron Spin Echo Envelope Modulation, ESEEM [Mim61, Row65] oder HYperfine Sublevel COrRElation, HYSCORE [Höf86]). Um weitere Dimensionen zur Separation der Beiträge verschiedener paramagnetischer Zentren einzuführen, werden andererseits Messungen bei zwei (oder mehr) verschiedenen Frequenzen durchgeführt, die weit auseinander (gepulste Electron Nuclear DOuble Resonance, ENDOR³ [Mim65, Dav74]) oder relativ nahe zusammen liegen (PELDOR [Mil84a], vgl. Kapitel 3). Außerdem werden für einige spezielle Anwendungen Magnetfeldsprünge innerhalb einer Pulssequenz eingesetzt (hyperfeinselektives ENDOR [Büh89], „stepped-field“ ELDOR⁴: [Hor83, Mar92], Elektron-Zeeman-aufgelöste EPR [Sie91] oder Kern-Zeeman-aufgelöste ESEEM-Spektroskopie [Wil97, Wil98]).

³ Alternative Bedeutungen von „Endor“: 1. Ort in Palästina - siehe [BRO] und [BIB], 2. siehe [Luc01]

⁴ EElectron DOuble Resonance [Hyd68].

Eine weitere Dimension eröffnet sich durch Untersuchung derselben Probe bei unterschiedlichen Frequenzen bzw. Magnetfeldern. Dies hat nicht nur zur Entwicklung von Spektrometern geführt, deren Betriebsfrequenzen vom oberen Radiofrequenzbereich (z.B. Imaging bei 700 MHz [Yok96]) über das gesamte mw-Gebiet (z.B. das erste erfolgreiche EPR-Experiment von Zavoisky bei ca. 2,2 GHz [Zav45, Ram85]) bis hin zum fernen Infrarot (z.B. Puls-EPR mit Laser-Quelle bei 604 GHz [Mol99]) reichen, sondern auch zur Entwicklung von verschiedenen Multifrequenz-Spektrometern (S-/C-Band: [Kop97, Ast00], C-/X-Band: [Fla87, Sha93], X-/Ku-Band: [Bor97]).

Neben diesem Multifrequenz-Motiv hat analog zur NMR in den letzten zwei Dekaden das Streben nach größerer Empfindlichkeit und vor allem nach höherem Auflösungsvermögen vorwiegend zu einem Trend in Richtung höherer Frequenzen und Feldern geführt [Pri97]. Parallel dazu haben aber auch einige Entwicklungen stattgefunden, die bei Frequenzen unterhalb des traditionellen X-Bandes angesiedelt sind. Ebenso wie aus der NMR mit Hilfe der sogenannten Zeugmatographie [Lau73] als Bildgebungsverfahren mit einer Auflösung, die um Größenordnungen unterhalb der verwendeten Wellenlänge liegt, die Kernspintomographie hervorging, wurden in der EPR Imaging-Spektrometer entwickelt. Für große wäßrige Probenvolumen, wie es tierisches oder menschliches Gewebe darstellt, muß man wegen zu großer mw-Absorption bei niedrigen Frequenzen arbeiten. Als Beispiel sei hier ein Instrument erwähnt, welches zugleich NMR- und EPR-Bilder (bei 28 MHz bzw. 680 MHz) der selben Probe liefern kann [Sat97]. In der ESEEM-Spektroskopie, einer gepulsten Methode zur Untersuchung von Hyperfein- und Kernquadrupol-Wechselwirkungen, steigt die Empfindlichkeit bei schwach gekoppelten Kernen mit sinkender Frequenz. Dieser Vorteil wird bei einigen gepulsten Spektrometern, die in den unteren mw-Bändern arbeiten (L- [Qui96], S- [Kur95, Wil00] und C-Band [Sha93]), ausgenutzt. Zur Ermittlung von kleinen Elektron-Elektron-Abständen aus dem frequenz-abhängigen Verhältnis der Intensitäten ($\sim \nu^{-2}$) von verbotenen Halbfeld- ($\Delta m_S = 2$) zu Hauptfeldsignalen ($\Delta m_S = 1$) können Messungen bei niedrigen Frequenzen vorteilhaft sein.

1.3 S-Band-EPR

Diesen zuletzt genannten Vorteil niedrigerer Frequenzen gegenüber dem konventionellen X-Band konnten Eaton et al. [Eat83] anhand von S-Band-Messungen an Nitroxid-Biradikalen mit Spin-Spin-Abständen von 9 bzw. 11 Å⁵ belegen. Neben dem oben erwähnten Multifrequenz-Motiv, welches komplementären Charakter besitzt (wie z.B. in [Mad00] bei Untersuchungen zu Mo-Enzymen mittels S-, X- und Q-Band-EPR), kann für bestimmte Anwendungen EPR-Spektroskopie im S-Band auch eigenständige Antworten zu Strukturfragen liefern. So konnten mittels cw-EPR bei 2,6 und 3,8 GHz von Froncisz et al. [Fro79] Kupfer-Hyperfeinkopplungen in Cytochrom-C-Oxidase aufgelöst werden. Will man Imaging nicht an voluminösen wäßrigen Proben, sondern nur an Oberflächen geringer Tiefe durchführen, so erreicht man im S-Band einen optimalen Kompromiß zwischen Eindringtiefe und Empfindlichkeit [Pet01].

Das erste gepulste S-Band-Spektrometer ist von Clarkson et al. [Cla89] beschrieben und die theoretisch erwartete Erhöhung der Empfindlichkeit für schwach gekoppelte Kerne im ESEEM-Experiment bestätigt worden. Für schwach gekoppelte Kerne mit Quadrupolmoment und nur leicht anisotropem Hyperfeintensor können sich bei kleinem Magnetfeld die Kern-Zeeman- und Hyperfeinwechselwirkung (HF-WW) in einer Elektronenmannigfaltigkeit aufheben, so daß das ESEEM-Spektrum hauptsächlich reine Quadrupol-Übergangsfrequenzen enthält [Fla88]. So konnte die ¹⁴N-Quadrupolkopplung in DPPH ($\alpha\alpha'$ -Diphenyl- β -picrylhydrazyl) mit diesem Instrument in Übereinstimmung mit C-Band-Messungen bestimmt werden [Cla92].

⁵ nicht gesetzliche Längeneinheit, 1 Å = 10⁻¹⁰ m, nach Anders Jonas Ångström, *1814, †1874

In der Arbeitsgruppe von L. Kevan wurden ebenfalls ein gepulstes S-Band-Spektrometer entwickelt [Han93] und ausführliche ESEEM-Simulationen (für reine HF-WW mit ^{13}C und ^{15}N [Rom92a], für HF- und schwache Quadrupol-WW mit ^2H und ^7Li [Rom92b] und für starke Quadrupol-WW mit ^{27}Al und ^{14}N [Rom92c]), sowie Messungen an einer Kohleprobe und einem Kupferkomplex durchgeführt [Rom94]. In Modellsystemen für Molybdän-Kofaktoren verschiedener Enzyme konnte mittels S-Band-ESEEM der Abstand zwischen Molybdän und Phosphor ermittelt werden [Kur95].

Die Arbeitsgruppe von S. und G. Eaton hat ein cw-S-Band-Spektrometer entwickelt, das unter Verwendung eines Bimodalresonators („Crossed-Loop Resonator“, siehe Kapitel 2.5.1) und Heterodyntechnik⁶ [Eng50, Poo67] als Ersatz für die konventionelle Feldmodulation zur Vermeidung des sogenannten „Passage-Effektes“ [Bug62], der bei Proben mit sehr langen Relaxationszeiten auftritt, ermöglicht, Dispersionsspektren mit deutlich gesteigertem Signal-zu-Rausch-Verhältnis zu gewinnen [Rin96]. Dieses Spektrometer wurde darüber hinaus für Pulsexperimente erweitert. In [Rin99b] wurden absolute Intensitäten von Elektronenspin-Echos und Rauschen im S-Band und in [Rin99c] die Frequenzabhängigkeit des Signal-zu-Rausch-Verhältnisses (speziell im Vergleich von S-Band zu X-Band) mit der Theorie verglichen.

Das dritte bisher in der Literatur beschriebene Puls-S-Band-Spektrometer [Will97, Wil00] befindet sich in der Gruppe von A. Schweiger und bietet vier Hochleistungspuls-Kanäle sowie einen Niederleistungspuls-Kanal, der auch für cw-Messungen verwendet werden kann, einen Pulsform-Modulator und die Möglichkeit für ENDOR-Experimente.

⁶ Erstmals 1913 in der Telegraphie von R. A. Fessender eingesetzt und ab dem 1. Weltkrieg durch E. H. Armstrong im Rundfunk eingeführt.

1.4 Zielsetzung

Im Rahmen dieser Arbeit sollte ein gepulstes EPR-Spektrometer zur Untersuchung von biologischen und biologisch relevanten Proben, z. B. aus der mitochondrialen Atmungskette oder der Photosynthese, und deren Cofaktoren, entwickelt werden. Wie im vorigen Abschnitt erläutert, liefern solche Proben in Experimenten bei nur einer einzigen Frequenz wegen der Vielfalt der Wechselwirkungsbeiträge häufig nur „unterbestimmte“ Spektren. Ein Vergleich der Spektren bei mindestens einer zweiten Frequenz kann die verbliebenen Mehrdeutigkeiten aufklären. Für viele dieser Systeme stellt die ESEEM-Spektroskopie eine besonders hilfreiche Methode dar, um über die Bestimmung der lokalen Umgebung paramagnetischer Zentren in an bioenergetischen Prozessen beteiligten Proteinen zu deren Struktur- und Funktionsaufklärung beizutragen. Dies ist ein spektroskopischer Aspekt des Sonderforschungsbereichs (SFB) 472 „Molekulare Bioenergetik“, in dessen Rahmen diese Arbeit angefertigt wurde. Die potentielle Erhöhung der ESEEM-Empfindlichkeit bei sinkender Frequenz soll auch hier nutzbar gemacht werden, weshalb im Kompromiß zu dem erwarteten Empfindlichkeitsverlust (siehe Kapitel 2.7) das S-Band als Arbeitsfrequenz gewählt wurde.

Als zusätzliches Leistungsmerkmal des Spektrometers ist im Zuge der Beantragung des SFBs 579 „RNA-Liganden-Wechselwirkungen“ eine Erweiterung zur Durchführung von PELDOR-Messungen implementiert worden. Ziel dieses SFBs ist die Erarbeitung von Kenntnissen über die molekularen Wechselwirkungsmechanismen verschiedener Liganden mit RNA und deren Auswirkung auf die biologischen Funktionen als Grundlage zur Wirkstoffentwicklung. In dem EPR-spektroskopischen Teilprojekt A6 sollen Struktur und Dynamik von RNA-Oligonukleotiden und Strukturänderungen bei spezifischen Wechselwirkungen mit Effektoren untersucht werden. Strukturinformationen sollen hierbei durch doppeltes Spin-Labeling und nachfolgende Abstandsmessung mittels PELDOR-Spektroskopie gewonnen werden. Um in diesem Fall die zu bestimmenden Dipol-Dipol-Wechselwirkungen zwischen den paramagnetischen Zentren zweifelsfrei von Hyperfeinwechselwirkungen unterscheiden zu können, sind auch hier unabhängige

Messungen bei zwei verschiedenen Frequenzen wünschenswert, z.T. sogar erforderlich. Deshalb sollte ein kommerzielles X-Band-Spektrometer mit einer selbst entwickelten PELDOR-Einheit erweitert und die S-Band- mit den X-Band-Messungen verglichen werden.

1.5 Gliederung

Im folgenden Kapitel 2 werden ausführlich die technischen Aspekte des Spektrometers erläutert. Zuerst wird der mw-Aufbau mit den sich daraus ergebenden Funktionen und Betriebsmodi beschrieben. Es folgen kurze Abschnitte über den verwendeten Elektromagneten, die Spektrometersteuerung und die Proben-temperierung. Größeren Raum nehmen die Abschnitte über die zur Verfügung stehenden Resonatoren ein, da der jeweils verwendete Resonator in erheblichem Maße die Eigenschaften des gesamten Spektrometers bestimmt. Zum Abschluß des technischen Kapitels werden Theorie und Experimente zur Empfindlichkeit des Spektrometers präsentiert. Nachdem die Eigenschaften des Spektrometers auf technische Weise quantifiziert wurden, folgt das experimentelle Kapitel, in dem anhand von PELDOR-Messungen (Kapitel 3) an Modellsystemen und an biologisch relevanten Proben die anwendungsbezogene Leistungsfähigkeit des Spektrometers demonstriert wird. Dieses Kapitel gliedert sich in eine Einleitung, eine zusammengefaßte Darstellung der zugrunde liegenden Theorie, eine Beschreibung des untersuchten Probenmaterials, eine Darstellung der durchgeführten Messungen, sowie eine Diskussion. Im letzten Kapitel folgt eine Zusammenfassung und ein Ausblick auf weitere Messungen und technische Entwicklungen.

2 Puls-S-Band-Spektrometer

2.1 Mikrowellenaufbau

Im Folgenden wird der mw-Aufbau des Spektrometers (siehe Abb. 2.1) in der Reihenfolge der Propagationsrichtung der mw von den Quellen bis hin zur Digitalisierung der transienten Signale beschrieben:

2.1.1 mw-Erzeugung und -Regelung

Für die Ankopplung des Resonators und die Ermittlung seiner Resonanzfrequenz wird ein Sweeper (HP 8690B) benutzt, der mit einem RF-Modul (HP 8699B) ausgestattet ist, mit dem im gesamten Bereich des S-Bandes Frequenzen durchfahren werden können. Wegen der Instabilität in mw-Frequenz und -Amplitude und des starken Phasenrauschens dieser Quelle wird nach der Ankopplung des Resonators auf einen Synthesizer (HP 8672A) mittels eines Relais (Dow Key 401-2308) umgeschaltet, um anschließend die gewünschten Messungen durchzuführen. Da beide Quellen lediglich Leistungen bis 10 mW ($= +10 \text{ dBm}^7$) zur Verfügung stellen, was nicht für alle folgenden Funktionen ausreicht, wird als nächstes dieser Pegel von einem rauscharmen Verstärker (Miteq AMF-3B-020040-15-25P) um 35 dB^7 verstärkt, wobei eine Leistung von ca. $+27 \text{ dBm}$ ($= 500 \text{ mW}$) erreicht wird. Damit stehen abzüglich der geringen Verluste von etwa 1 - 2 dB durch die folgenden Koaxialleiter, den folgenden Isolator (Sierra Microwave SMI2040), den 10dB-Richtkoppler (Narda 3003-10) und die beiden mw-Schalter, mit denen zwischen cw- und Pulsbetrieb umgeschaltet werden kann (ein weiteres Relais Dow Key 401-2308

⁷ Dezibel: $1 \text{ dB} = 0,1 \text{ B}$ (Bel). Maß für Verstärkung oder Abschwächung [Ber99]. Bel bezeichnet den dekadischen Logarithmus des Quotienten zweier physikal. Größen der gleichen Größenart. Nach Alexander Graham Bell, *1847, †1922 [BRO]. Die dBm-Skala wird bei Leistungen verwendet und besitzt als Bezugspegel $P = 1 \text{ mW}$.

und ein manueller 3-Wege-Schalter Sage SAN3120) mindestens 400 mW für cw-Messungen zur Verfügung. Das ausgekoppelte Signal wird über einen Phasenschieber (Sage 6803-23) einem 4-Wege-Leistungsteiler (ARRA A4200-4) zugeführt, von dem über je einen Ausgang ein mw-Zähler (HP 5342A mit Option zur Amplitudenmessung) und alle drei nachfolgend (siehe 2.2.4 Detektion und Monitore) beschriebenen mw-Mischer ihr Referenzsignal („local“) von jeweils +10 dBm erhalten. Dadurch, daß verschiedene Resonatoren von 2,7 bis 3,7 GHz Resonanzfrequenz zur Verfügung stehen (siehe Kapitel 2.6), und darüber hinaus auch für die Anwendung weiterer zu entwickelnder Resonatoren eine optimale local-Leistung (= +10 dBm) für alle Mischer einzustellen ermöglicht werden soll, müssen geringe frequenzabhängige Leistungsschwankungen (z. B. des Verstärkungsfaktors des Verstärkers) überwacht werden, um sie durch Anpassung der Ausgangsleistung der jeweiligen Quelle kompensieren zu können. Das wird mittels der Amplitudenmessung des mw-Zählers erreicht. Im Anregungsweig folgt nun ein variabler „Rotary Vane“-Abschwächer (HP S382C), an dessen Ein- bzw. Ausgang sich je ein Adapter (HP S281A) befindet, um die mw von Koaxialleiter auf Rechteckhohlleiter zu übertragen. Dieser Abschwächertyp hat wegen seiner Hohlleiterbauart den Vorzug, mw-Leistung über einen großen Bereich (0 bis ca. 90 dB) sehr phasentreu abzuschwächen. Variable Abschwächer in Koaxialtechnik weisen dagegen große nichtlineare Phasenänderungen auf, die über einen zusätzlich einzufügenden elektronisch gekoppelten Phasenschieber kompensiert werden müßten. Mit Ausnahme dieses Abschwächers sind alle mw-Leiter als halbstarre Kupfermantel-Koaxialleiter (Huber&Suhner EZ141Cu mit SMA- bzw. N-Typ-Verbindern) ausgeführt, da die für höhere Frequenzen üblichen Rechteckhohlleiter wegen der größeren Wellenlänge von ca. 10 cm bei 3 GHz schon durch ihre räumlichen Dimensionen nachteilig wären (Rechteckhohlleiter vom Typ WR284 für 2,60 – 3,95 GHz haben Innenabmessungen von ca. 3,4 x 7,2 cm!).

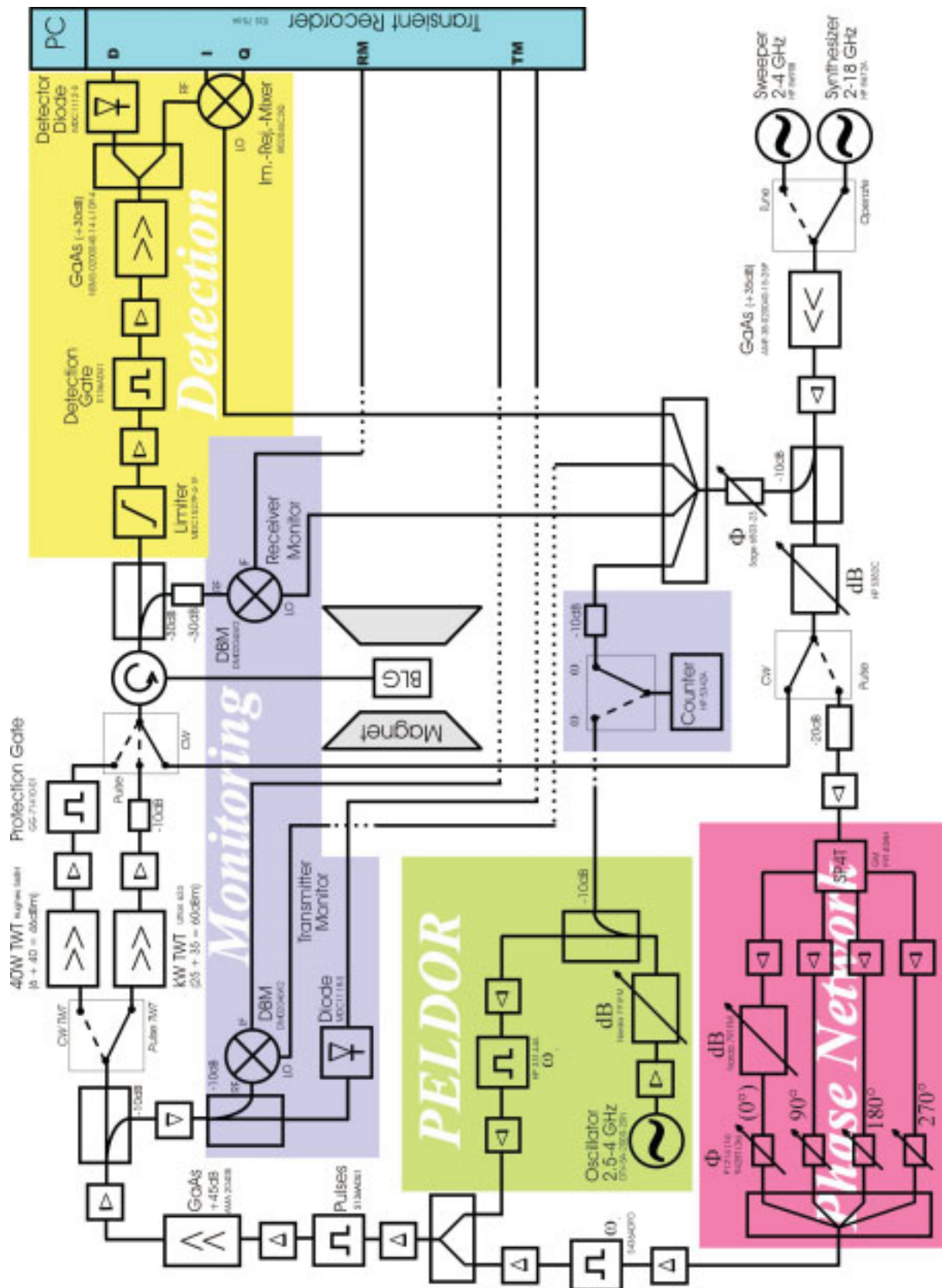


Abb. 2.1: Blockschaltbild (zur Erläuterung der verwendeten Schaltzeichen siehe Anhang 5.A)

2.1.2 Anregung im cw-Betrieb

Der für cw- und Pulsmessungen verwendete mw-Synthesizer (HP 8672A) erreicht im dem relevanten Frequenzband von 2 - 6 GHz einen Signal-zu-Phasenrausch-Abstand von -78 dB bei einem Offset von 1 kHz zur Trägerfrequenz. Die relative Frequenzstabilität und -genauigkeit dieses Synthesizers ist mittels eines internen thermostatisierten 10MHz-Referenzoszillators besser als 5×10^{-10} /Tag. Sein Signal wird wie oben beschrieben von einem rauscharmen Verstärker mit einem Rauschmaß von 1,25 dB bei 3,0 GHz auf einen Pegel von +27 dBm angehoben. Die spektralen Eigenschaften der Anregung sind damit bei den gegebenen Güten der zur Verfügung stehenden Resonatoren (siehe 2.5) ausreichend, um die Empfindlichkeit der cw-Messungen nicht zu limitieren. Bei großen Leistungen ($> \text{ca. } 1 \text{ mW}$) können jedoch thermische Effekte zu einer Frequenzdrift des Resonators führen, die mit einer AFC (Automatic Frequency Control), welche die Frequenz der mw-Quelle auf die Resonanzfrequenz des Resonators nachregelt, kompensiert würden. Das Anregungssignal für cw-Messungen wird wie oben erwähnt über ein Relais und einen manuellen 3-Wege-Schalter an der Pulsbrücke vorbeigeleitet, um direkt den Zirkulator (Narda 4923) zu erreichen, von dem aus das Signal in den Resonator eingekoppelt wird. Dieser befindet sich in einem kommerziellen Probenkopfhalter (Bruker ER 4118SPT Flexline), der mit einem S-Band-Split-Ring-Modul (Bruker ER 4118S-MS-5W1) ausgestattet ist. Dieses Modul besitzt ein optisches Fenster zur Bestrahlung der Probe und Modulationsspulen für Magnetfeldmodulationen bis zu maximal 30 G^8 . Das Modul ist standardmäßig mit einem Bridged-Loop-Gap-Resonator [Pfe88] ausgestattet, der eine Resonanzfrequenz in leerem und kritisch gekoppeltem Zustand von 2,98 GHz und eine Güte von ca. 500 besitzt. Für Pulsexperimente wurden noch weitere Loop-Gap- [Fro82] und Bridged-Loop-Gap-Resonatoren hergestellt. Die genauere Charakterisierung des Resonators von Bruker und der selbst hergestellten befindet sich in Kapitel 2.5.

⁸ nicht gesetzliche Einheit der magnetischen Flußdichte, $1 \text{ G} = 10^{-4} \text{ T}$, nach Carl Friedrich Gauß, *1777, †1855 bzw. nach Nikola Tesla, *1857, †1943

2.1.3 Anregung im Pulsbetrieb

2.1.3.1 Phasennetzwerk

Im Pulsbetrieb wird zuerst ein Phasennetzwerk durchlaufen, welches zur Durchführung von Pulssequenzen mit Phasenzyklen dient („phase cycling“). Es besteht im wesentlichen aus vier Kanälen, mit denen innerhalb einer Sequenz Pulse unterschiedlicher Phase (und Leistung) angewendet werden können. Nach einem 20dB-Abschwächer (EMCT 4420) folgt ein SP4T(Single Pole 4 Throw)-Schalter (General Microwave F9140AH). Hierbei handelt es sich um einen schnellen PIN-Schalter mit Schaltzeit von 10 ns (definiert als Dauer zwischen den 10%- und 90%-Punkten des Leistungsanstiegs bzw. -abfalls), der ein Eingangssignal mittels TTL-Ansteuerung auf 4 verschiedene Ausgänge transferiert. Seine Ausgänge sind durch doppelte Isolatoren (Aerotek FG1-1 L1FFL1) vor reflektierter mw geschützt, die bei Durchgangsverlusten von < 0.6 dB eine Isolation in Rückrichtung von > 40 dB aufweisen. Über die unterschiedliche Kabellänge der vier folgenden Kanäle wird ein Laufzeitunterschied bewirkt, der zu einer Phasendifferenz von ca. 90° zwischen jeweils benachbarten Kanälen führt. Da eine gewisse Auswahl von Resonatoren und damit unterschiedlicher Betriebsfrequenzen besteht, muß die Möglichkeit vorhanden sein, diese Phasendifferenz in Abhängigkeit von der Frequenz abzugleichen, was in den Kanälen „+Y“ (90°), „-X“ (180°) und „-Y“ (270°) durch drei Phasentrimmer (ARRA 9428T) erreicht wird, die einen Bereich von einigen Grad abdecken. Im Kanal „+X“ (0°) befindet sich ein Phasenschieber (Sage P1214), mit dem im gesamten Frequenzband bei großer Amplitudentreue die mw-Phase um mehr als 360° gedreht werden kann. Ihm geht zusätzlich ein variabler Abschwächer (Narda 791FM, Abschwächung 0 - 40 dB) voraus, so daß es mit diesem Kanal auch möglich ist, Sequenzen von Pulsen unterschiedlicher mw-Leistung anzuwenden. Die Signale aller vier Kanäle werden in einem 4-Wege-Leistungsteiler/-verbinder (Midisco MDC 2425) zusammengeführt und erreichen danach einen reflektiven SPST(Single Pole Single Throw)-Schalter (HP 33144A) mit Schaltzeiten von ca. 10 ns. Um Störungen durch die im Isolationszustand des Schalters erzeugte Reflektion der mw zu minimieren, ist dem Schalter ein doppelter Isolator (Aerotek FG1-1 L1FFL1) vorange-

stellt. In geöffnetem Zustand gelangt die mw zu einem 2-Wege-Leistungsverbinder (ANAREN 41130), über den (in der Regel alternierend) ein mw-Signal einer zusätzlichen Quelle in das Experiment eingespeist werden kann (siehe Kapitel 3).

2.1.3.2 PELDOR-Einheit

Für PELDOR-Experimente ist es wie oben beschrieben notwendig, innerhalb einer Pulssequenz Pulse mit unterschiedlicher Frequenz auf die Probe einzustrahlen. Zu diesem Zweck stehen zwei zusätzliche Quellen zur Verfügung. Erstens ein Gunn⁹-Oszillator (Miteq OTV-5A-2000-20N), der zwischen 2,5 und 4,0 GHz betrieben werden kann und zweitens für höhere Ansprüche an Stabilität ein Synthesizer (Schlumberger 4002), der nur Frequenzen bis zu 2,16 GHz erreicht und deshalb durch einen Frequenzdoppler (Miteq MX2J020040) ins S-Band hochgemischt wird. Die Rauscheigenschaften dieser zusätzlichen Quelle sind generell irrelevant, da auf dieser Frequenz nicht detektiert wird und sie somit die Empfindlichkeit der Messung nicht beeinflussen kann. Bei kleinen Unterschieden zwischen den beiden benötigten Frequenzen wird eine Frequenzdrift der zusätzlichen Quelle jedoch dann störend, wenn sie in die Anregungsbandbreite der Detektionsfrequenz gelangt, weil dadurch die Empfindlichkeit des PELDOR-Experiments herabgesetzt und ungewünschte Signale verstärkt werden (siehe Abschnitt 3.1). Wenn in diesem Fall die für das Experiment benötigte Leistung auch von dem durch die Verluste des Frequenzdopplers auf maximal -4 dBm reduzierten Leistung des Synthesizer von Schlumberger erreicht wird, ist der Synthesizer als Quelle dem Gunn-Oszillator vorzuziehen. Zur Kontrolle dieser zweiten Frequenz, falls nicht der Schlumberger-Synthesizer benutzt wird, an dem die Frequenz weit über die nötige Genauigkeit hinaus eingestellt und abgelesen werden kann (in Schritten von 40 Hz), wird ein Teil dieses Signals mittels eines 10db-Richtkopplers (Narda 3003-10) auf den oben beschriebenen mw-Zähler gegeben, an dessen Eingang über ein weiteres Relais (Dow Key 401-2308) ausgewählt werden kann, ob das Signal der originalen oder das

⁹ Nach dem 1963 von J. B. Gunn gefundenen Effekt der Stromoszillationen im mw-Bereich in Halbleitern durch Anlegen einer großen Spannung.

dieser zusätzlichen Quelle überwacht werden sollen. Zur Einstellung der mw-Leistung auf diesem Kanal folgt ein variabler Abschwächer (Narda 791FM).

Danach gelangt das mw-Signal zu einem doppelten Isolator (Aerotek FG1-1 L1FFL1), der die von einem nachfolgenden PIN-Schalter (HP 33144A) in geschlossenem Zustand reflektierte Leistung absorbiert. In geöffnetem Zustand dieses PIN-Schalters wird das Signal dem o.g. 2-Wege-Leistungsverbinder zugeführt, dort mit dem Signal der ursprünglichen Quelle kombiniert und in die Hochleistungs-Pulsform-Einheit geleitet.

2.1.3.3 Erzeugung der Hochleistungspulse

Ein schneller PIN-Schalter (Miteq S136ADU1) mit Schaltzeiten $< 2 \text{ ns}$ wird als eigentlicher Pulsformer verwendet. Da auch dieser Schalter in geschlossenem Zustand reflektiv ist, wurde ihm ein Isolator (Midisco M3I2040) vorangestellt. Die auf diese Weise erzeugten Pulse werden zuerst von einem GaAs-Verstärker (AMA2040B) mit einem Verstärkungsfaktor von ca. 45 dB auf +30 dBm angehoben. Dies ist notwendig, um nach Abzug der Verluste durch einen weiteren Isolator (Midisco M3I2040) und einen 10dB-Richtkoppler (Narda 3003-10), der zum Zwecke der Beobachtung der Anregungspulse eingefügt ist (siehe Abschnitt 2.1.4.2), den gepulsten 1kW-TWT-Verstärker (Litton 624, „Travelling Wave Tube“, dt.: Wanderfeldröhre) mit einem Verstärkungsmaß von 35 dB voll auszusteuern, so daß das von ihm zusätzlich erzeugte Rauschen minimiert und damit die Empfindlichkeit nicht zusätzlich eingeschränkt wird (siehe Kapitel 2.6). Zum Schutz des TWT-Verstärkers vor Reflektionen durch schlechte Impedanzanpassung folgt ein Hochleistungsisolator (Microtek I20S40A3). Da für die meisten Anwendungen Pulsleistungen von bis zu 100 W ausreichen, wird, statt den Verstärker mit verringerter Leistung anzusteuern, ein 10dB-Abschwächer (Weinschel WAS6-10) am Ausgang des TWT-Verstärkers benutzt, um diesen näher an seiner Maximalleistung betreiben zu können, wodurch der Signal-zu-Rausch-Abstand maximal bleibt.

2.1.4 Detektion und Monitore

2.1.4.1 Detektion

Wegen des ursprünglichen Konzeptes, das die PELDOR-Einheit noch nicht beinhaltete, ein möglichst einfaches und leistungsfähiges gepulstes Spektrometer zu bauen, wurde größerer Wert auf die Empfindlichkeit bei Pulsexperimenten gelegt als auf solche im cw-Betrieb. Wollte man im Gegenzug dieses Spektrometer auf die Empfindlichkeit in cw-Experimenten optimieren, ohne die Pulsfunktion aufzugeben, würde man einen aufwendigeren Aufbau benötigen. Dazu gehört einerseits wie in 2.1.2 erwähnt die Verwendung einer AFC und zweitens sollten die im folgenden beschriebenen Schutzeinrichtungen (Limiter und Detektorschutzschalter), die den Detektionskanal vor den sehr harten Anregungspulsen schützen, im cw-Betrieb mittels weiterer Relais umgangen werden, da diese, wie in Kapitel 2.6 beschrieben, den überwiegenden Beitrag zur Rauschzahl des Detektionsarms ausmachen. Als erstes hinter dem Zirkulator befindet sich zur Beobachtung der vom Resonator reflektierten Pulse (siehe Abschnitt 2.1.4.2 b) ein 30dB-Richtkoppler (Midisco MDC6225-30). Es folgt ein Limiter (passiver Diodenschalter zur Leistungsbegrenzung, Midisco MDC1527P-4-1F), der die nachfolgenden Bauteile vor großen mw-Leistungen, wie sie die Anregungspulse darstellen, schützt (max. Transmissionsleistung +17 dBm). Nach einem weiteren Isolator (Sierra Microwave SMI2040) wird durch einen PIN-Schalter (Miteq S136ADU1) die restliche Leistung der Pulse um weitere 80 dB abgeschwächt, damit der folgende rauscharme Detektionsverstärker (Miteq NSM3-0200040-14-L-10P-4, Rauschmaß = 1,25 dB bei 3,0 GHz, Verstärkungsmaß = 30 dB) nicht durch die Anregungspulse in Sättigung getrieben wird. Von einer eventuellen Schädigung abgesehen, kann eine Sättigung des Verstärkers zu einer beträchtlichen Totzeit führen, so daß die zu messenden transienten Signale erst über die Ausklingzeit des Resonators hinaus verzögert verstärkt werden können.

Ein 2-Wege-Leistungsteiler (ANAREN 10016-3) liefert die verstärkten Signale einerseits einer Detektordiode (Midisco MDC1112-S), die zur Einstellung der Ankopplung des Resonators vor jedem Experiment dient, und andererseits einem Quadratur-Phasendetektor (Miteq IR0204LC2Q), der sowohl für cw- als auch für Pulsexperimente die hochfrequenten transienten Signale zur Registrierung homodyn auf niedrige Frequenzen (mit einer Bandbreite von 500 MHz) heruntermischet. Die Weiterverarbeitung dieser Videosignale wird in Kapitel 2.3 beschrieben.

2.1.4.2 Monitore

Neben der Detektion der transienten mw-Signale für EPR-Messungen ist es für manche Zwecke notwendig, Informationen über die mw-Pulse vor und/oder nach dem Resonator zu erhalten. Das sind im einzelnen:

a) „Transmitter Monitor“-Mischer für Phase Cycling-Experimente

Sollen Messungen mit phase cycling mittels Phasennetzwerk (Abschnitt 2.1.3.1) durchgeführt werden, so ist zuvor die korrekte Phasenlage der verwendeten Kanäle zu überprüfen. Dazu werden von den vorverstärkten Pulsen, wie in Abschnitt 2.1.3.3 erläutert, direkt vor dem Eingang des TWT-Verstärkers 10 dB ausgekoppelt. Von diesen Signalen werden weitere 10 dB durch einen Richtkoppler (Narda 3004-10) ausgekoppelt und phasenempfindlich von einem Mischer (Miteq DM0204LW2) registriert, der sein local-Signal von dem in Abschnitt 2.1.1 erwähnten Leistungsteiler (ARRA A4200-4) bezieht, wie auch der in b) beschriebene „Receiver Monitor“-Mischer.

b) „Receiver Monitor“-Mischer für Resonator-Testexperimente

Zur Beurteilung der Güte und der Ankopplung des Resonators kann neben der üblichen cw-Methode, bei der reflektierte mw-Leistung in Abhängigkeit der mw-Frequenz beobachtet und ausgewertet wird, auch die „Reflektion“ von mw-Pulsen verwendet werden. Da im Falle von Resonanz natürlich nicht nur Reflektion stattfindet, sondern über Ein- und Ausschwingvorgänge mw auch absorbiert bzw. emittiert wird, ist man hierbei neben dem zeitlichen Verlauf auch an der Phase interessiert, weshalb direkt nach dem Zirkulator wiederum ein Teil der mw-Leistung zur Detektion mittels Mischer (analog a)) ausgekoppelt wird, diesmal von einem 30dB-Richtkoppler (Midisco MDC6225-30). Zwischen ihm und dem Mischer (Miteq DM0204LW2) befindet sich zusätzlich ein 30dB-Abschwächer (MCLI FAS3-30), um die Leistung der Signale in den Empfindlichkeitsbereich des Mischers zu senken.

c) „Transmitter Monitor“-Diode für PELDOR-Experimente und technische Tests

An dem zweiten Ausgang des unter a) genannten Richtkopplers befindet sich eine Detektordiode (Midisco MDC1118-S). Sie wird bei PELDOR-Experimenten benötigt, um die Amplitude der Pulse aus der zweiten mw-Quelle mit derjenigen der ersten zu vergleichen und zu regeln. Da der zuvor beschriebene Mischer sein local-Signal nur von einer der beiden verwendeten Quellen beziehen kann, kann er auch nur die Pulse einer Quelle kohärent herunter mischen und ist daher für diesen Zweck nicht geeignet.

2.2 Magnetfelder

2.2.1 Elektromagnet

Zur Magnetfelderzeugung wird ein Elektromagnet (AEG EPR-11/25-230) verwendet, der über ein selbstgebautes Interface mittels RS232-Schnittstelle von einem PC extern gesteuert werden kann (siehe 2.3). Seine Polschuhe haben einen Luftspalt von 62 mm zur Aufnahme eines Kryostaten (2.4), in dem der Probenkopf montiert ist. Die Feldinhomogenität über das Probenvolumen beträgt weniger als 30 mG.

2.2.2 Magnetfeldmodulation

Als Wechselspannungsquelle für die Feldmodulation wird ein Synthesizer (HP 3325A) verwendet, der Sinusschwingungen bis zu einer Spannungen von 10 V an 50 Ω liefert. Da der Verbraucher aber im wesentlichen aus einer Spule mit einer Induktivität von 250 μ H besteht (der ohmsche Widerstand beträgt insgesamt nur ca. 5 Ω), werden vor allem bei hohen Frequenzen nicht immer ausreichende Ströme und damit Modulationsfeldstärken erreicht (bei 10 kHz beträgt die maximale Modulationsamplitude noch 8,8 G, bei 100 kHz nur noch 2,3 G). Deshalb wurde ein Verstärker gebaut, der einerseits auch an niedrigen Impedanzen deutlich höhere Ströme erreicht, der aber zusätzlich am Ausgang über Kapazitäten von 1 μ F, 100 nF, 22 nF, 15 nF bzw. 10 nF verfügt, die, in Serie zur Spule geschaltet, Schwingkreise mit Resonanzfrequenzen von 10, 30, 70, 80 oder 100 kHz erzeugen. Auf diese Weise werden auch bei 100 kHz Modulationsamplituden von über 20 G ohne Verwendung allzu großer Spannungen möglich.

2.3 Spektrometersteuerung

Die Steuerung des Spektrometers erfolgt von einem Linux-PC, in den eine GPIB-Karte eingebaut ist. Über diese Karte kommuniziert **fsc2** („Frankfurt spectrometer control 2“) mit den einzelnen Geräten des Spektrometers. **fsc2** ist ein von Jens T. Törring geschriebenes Programm zur Steuerung von cw- und Pulsspektrometern, was nicht nur für das hier beschriebene S-Band-Spektrometer, sondern auch für zwei an der FU Berlin gebaute X-Band, ein W-Band- und ein 360GHz-Spektrometer verwendet wird. Es ist im wesentlichen ein Interpreter von Programmen, die vom Experimentator zur Beschreibung eines Experimentes in der sog. „Experiment Description Language“ (EDL) geschrieben werden. Für jedes Gerät, das im Experiment benutzt werden soll, muß in C je ein Modul geschrieben werden, was einen Satz von Funktionen für die Kontrolle jener Geräte definiert. Daher ist es relativ einfach möglich, eines der Geräte auszutauschen oder ein neues hinzuzufügen, ohne an **fsc2** selbst Veränderungen vornehmen zu müssen. Es muß lediglich ein neues C-Modul geschrieben werden. Die im Moment zur Verfügung stehenden Module bzw. die von ihnen kontrollierten Geräte werden nachfolgend zusammengefaßt:

Im Falle von Pulsexperimenten wird als Transientenrekorder üblicherweise ein Digital-Speicher-Oszilloskop (Tektronix TDS 754A) verwendet. Dieses Gerät ist in der Lage, mit einer Rate von etwa 200 Hz Datenzüge á 500 Punkte zu mitteln.

In Fällen sehr kurzer Relaxationszeiten, die eine größere Wiederholrate erlauben, ist es möglich, einen sog. „Boxcar-Averager“ zur Aufnahme und Digitalisierung der Daten zu verwenden, der mit bis zu 10 kHz arbeitet. Dieser besteht aus einem „Power Supply & Display Module“ SR280, einem schnellen Vorverstärker SR240, einem „Gated Integrator & Boxcar Averager“ SR250 und einem „Computer Interface“ SR245 von Stanford Research Systems. Diese befinden sich in einem NIM-Überrahmen (Nuclear Instrument Module Standard).

Mit einem Pulser (Tektronix DG2020) wird das Timing aller aktiv zu schaltenden Bauteile durchgeführt. Das sind einerseits alle mw-Schalter, wie Pulsformer, Detektionsschalter, Phasenschalter und für PELDOR die beiden Schalter zum „togglen“ zwischen beiden mw-Quellen und andererseits das Triggern des Oszilloskops, bzw. Boxcar-Integrators und das Ansteuern des Gates des TWT-Verstärkers. Da dieses TWT-Gate einen Schaltpegel von +10 V benötigt, der Pulser aber nur Pegel bis max. +7 V ausgeben kann, ist hier eine selbstgebaute Elektronik zwischengeschaltet, um das Ansteuersignal auf den benötigten Pegel anzuheben.

Die Signale von cw-Messungen werden von einem Lock-In-Verstärker (Stanford Research Systems SR510) zuerst verstärkt, dann demoduliert, gefiltert und nach nochmaliger Verstärkung digitalisiert.

Die Magnetfeldmessung geschieht mit einem „Field Controller“ (Bruker B-H15), der hier lediglich als Gaußmeter verwendet wird. Die Genauigkeit des von seiner Hall-Sonde registrierten Magnetfeldes beträgt etwa 50 mG.

2.4 Probentemperierung

Für die Temperierung der Proben steht ein Heliumtemperiersystem von Oxford zur Verfügung. Der Hauptbestandteil ist ein Durchflußkryostat (CF935), passend für den o.g. Probenkopfhalter. Er bietet ebenfalls mittels Vakuumfenster die Möglichkeit, die Probe bei den erreichbaren Temperaturen von 3,8 bis 300 K zu belichten. Das System besteht weiterhin aus einer Membranpumpe (GF3) zur Erzeugung des für den Heliumfluß notwendigen Unterdrucks, einem Heliumheber (GFS600) für den Transfer des Kühlmittels vom Behälter zum Kryostaten, einem Gasdurchflußregler (VC31) und einem Temperaturregler (ITC502).

2.5 Resonatoren

2.5.1 Einleitung

Die in der EPR registrierten Signale sind der Magnetisierung der Probe proportional. Die Magnetisierung der Probe steigt linear mit dem angewendeten Magnetfeld, solange die paramagnetische Suszeptibilität für nicht zu große Magnetfelder unabhängig von der mw-Leistung bleibt. Durch Verwendung eines Resonators erreicht man eine Steigerung der mw-Feldstärke damit auch der Empfindlichkeit. Diese ist fast immer notwendig, da im Vergleich zur ^1H -NMR drastisch viel weniger paramagnetische Zentren zum Nachweis zur Verfügung stehen, als Protonen vorhanden sind, die zu einem NMR-Signal beitragen.

Die ursprünglichen und auch heute noch häufig verwendeten Resonatoren sind geschlossene Kavitäten, die sich aus den gebräuchlichen zylindrischen oder rechteckigen mw-Hohlleitern entwickelt haben (z.B. Zylinderresonator TE_{011} oder Rechteckresonator TE_{102} , [Kä91]). Da man mit solchen Resonatortypen große Güten erreicht, sind sie für cw-Messungen meist sehr gut geeignet. Für Messungen bei hohen Frequenzen werden vielfach Fabry-Pérot-Resonatoren verwendet, die in höheren TEM_{00m} -Moden arbeiten, wobei $m = 4 - 12$ ist (z.B. bei 95 GHz: [Bur91] und bei 250 GHz [Bud89] oder für gepulste EPR bei 140 GHz als „crossed wave guide Fabry-Pérot-Resonator“ [Pri92]).

Für Pulsmessungen sind diese Resonatoren allerdings nur bedingt (d.h. bei sehr großen Frequenzen) geeignet, da sie mit ihren großen Güten lange Zeitkonstanten für Ein- und Ausschwingvorgänge haben und daher große Spektrometertotzeiten verursachen und die Zeitauflösung von gepulsten Messungen verschlechtern (siehe 2.6.2). Einen möglichen Ausweg stellt die Reduktion der Güte durch Überkoppeln des Resonators dar, was aber in Verbindung mit den eher schlechten Füll- und Konversionsfaktoren dieser Resonatortypen einen häufig nicht akzeptablen Verlust

an Empfindlichkeit impliziert. Eine Resonatorentwicklung speziell zur Messung des linearen elektrischen Feldeffektes ist der sog. „Mims-Resonator“ [Mim74], der bei 9,2 GHz in Transmission arbeitet und im Vergleich mit einem Rechteckresonator einen 10fach besseren Konversionsfaktor aufweist. Dieser Typ wurde für ENDOR-Experimente weiterentwickelt [Dav78].

Ein großer Nachteil dieser geschlossenen Strukturen ist, daß ein Probenwechsel mit dem Aus- und wieder Einbau des Resonators verbunden ist. Um dieses Problem zu eliminieren und für entsprechende Anwendungen auch eine Belichtung der Probe zu ermöglichen, wurden deshalb viele Resonatoren in Form von offenen Strukturen entwickelt. Eine Reihe solcher Resonatoren sind aus Vorlagen der NMR für die gepulste EPR weiterentwickelt worden, wie z.B. der „Slotted-Tube-Resonator“ (STR, für optisch detektierte magnetische Resonanzspektroskopie bei 1 - 10 GHz: [Meh80]), der „Folded Half-Wave Resonator“ (FHWR, bei 9 GHz: [Lin85]) und der „Loop-Gap Resonator“ (LGR, S- und X-Band: [Fro82], L-Band: [Mom83], Q-Band [Fro86]). Diese Resonatoren haben außer den o.g. Vorteilen gegenüber Rechteckresonatoren wegen ihrer geometrischen Anordnung die Eigenschaft, elektrische und magnetische Felder räumlich sehr gut voneinander zu separieren, weshalb sie auch für Proben mit großen dielektrischen Verlusten geeignet sind. Wiederum eine Weiterentwicklung des LGRs stellt der „Bridged Loop-Gap Resonator“ (BLGR, bei 9 GHz: [Pfe88]) dar, der, bedingt durch seine Geometrie, nahezu kein elektrisches Feld im Probenraum zuläßt. Dagegen sind beim „Helixresonator“ [Vol68] die elektrische und die magnetische Feldverteilung praktisch identisch. Weiterhin finden „dielektrische Resonatoren“ aus synthetischem Leukosaphir oder ähnlichen dielektrischen Keramiken Verwendung. Sie wurden ursprünglich zur Entwicklung von hochstabilen mw-Quellen eingesetzt, wo man bei tiefen Temperaturen eine Güte von $\sim 10^6$ erreicht [Bra80]. Für die EPR werden diese Resonatoren in vielen verschiedenen Bauformen verwendet [Dyk86, Jaw97].

Der erfolgreiche Bau von EPR-Resonatoren durch Herunterskalieren von NMR-Resonatoren in den mw-Bereich gab Anlaß dazu, die gleiche Strategie auf weitere gut erprobte NMR-Resonatoren wie den „Alderman-Grant Resonator“ (AGR, [Ald79]), den „Bird-Cage Resonator“ (BCR, [Sot86]) und den „Cross-Ellipse Resonator“ (CER, [Red84]) anzuwenden [Kop98].

Um bei gepulsten Experimenten den Kompromiß zwischen großer Totzeit bei hoher Güte oder niedriger Empfindlichkeit bei kleiner Güte zu umgehen, sind zwei Ansätze möglich: Ivannikov et al. [Iva95] haben einen Hauptresonator mit einer hohen Güte von $Q \sim 7500$ mit einem zuschaltbaren Hilfsresonator ($Q \sim 1000$) versehen, der im gewünschten Augenblick die Dissipation der gespeicherten Energie auf eine Zeitkonstante von $\tau \sim 25$ ns beschleunigt. Diese Methode wird allerdings nur für wenige spezielle Anwendungen sinnvoll sein, da man auf diese Weise nur eine sehr schmale Anregungsbandbreite und geringe zeitliche Auflösung erreicht, weil lediglich lange und weiche Pulse anwendbar sind.

Der weitaus fruchtbarere Weg ist die Realisierung von bimodalen Resonatoren, die zwei in der Regel orthogonale Moden mit nahe beieinander liegenden Resonanzfrequenzen besitzen. Dabei müssen die Moden einen räumlichen Überlapp haben, um dort die Probe zu positionieren. Jedoch sollten sie eine möglichst große Isolation von Hochfrequenzstrahlung gegeneinander aufweisen. Mit solchen Resonatortypen ist es außerdem auf einfache Weise möglich, die für Elektron-Elektron-Doppelresonanzexperimente benötigte zweite mw-Frequenz einzustrahlen (beispielsweise durch Kombination eines Zylinderresonators mit einem Helixresonator: [Vie71]). Weiterhin ist die potentielle Beeinträchtigung der Empfindlichkeit durch Quellrauschen eliminiert. Eine Isolation von 80 dB und dadurch eine Reduktion der Totzeit auf 30 ns wird mit einem doppelzylindrischen Bimodalresonator von Biehl et al. erreicht [Bie82, Bar84], wobei der gemeinsame Raum beider Moden sehr klein ist.

Eine vielversprechende Neuentwicklung ist der „Crossed-Loop Resonator“ (für S-Band [Rin96] und für L-Band [Rin00]), bei dem der Nachteil eines kleinen gemeinsamen Raumes beider Moden trotz großer Isolation stark herabgesetzt werden konnte. Andere Bimodalresonatoren sind aus den o.g. Grundstrukturen abgeleitet, wie z.B. der „Crossed TM_{110} Resonator“ [Mai80] oder der „Bimodal Loop-Gap Resonator“ (für das X-Band [Tsa92], für das S-Band [Pia96]).

2.5.2 Charakterisierung

Mit dem in 2.2.2 genannten kommerziellen Probenkopf der Firma Bruker wurde ein Bridged-Loop-Gap-Resonator mitgeliefert, der bei ca. 3,0 GHz arbeitet und kritisch gekoppelt eine Güte von ca. 550 besitzt (leer und bei Raumtemperatur). Um erstens das Problem der langen Totzeit trotz starker Überkopplung des Resonators zu verringern und zweitens eine größere Auswahl an Betriebsfrequenzen zur Verfügung zu haben, wurden unter Berücksichtigung der durch den vorhandenen Probenkopf gegebenen Beschränkungen weitere BLGR und LGR hergestellt. Im folgenden Abschnitt werden kurz die Geometrie beider verwendeten Resonatortypen und ihre Herstellung beschrieben.

2.5.2.1 Design und Herstellung

Als Stützkörper des mit dem kommerziellen Probenkopf gelieferten BLGR (im folgenden „Original“ genannt) dient ein zylindrisches Quarzröhrchen mit einer Länge von 25 mm, einem Innendurchmesser von 5,5 mm und einer Wandstärke von 0,3 mm. Die metallische resonante Struktur hat eine Höhe von 10 mm und ist in vier getrennte Flächen unterteilt. Jeweils zwei dieser Flächen befinden sich an der Innen- bzw. Außenwand des Quarzkörpers (Abb. 2.2 a). Die Flächen auf der Innenseite sind durch zwei diametrale und 0,4 mm breite Aussparungen voneinander getrennt, die der Außenseite durch 2,5 mm breite, wobei die diametralen Achsen der Außenwand von oben gesehen (Abb. 2.2 b) um 90° gegen die der Innenwand gedreht ist. Zur Bestrahlung der Probe mit Licht ist der Resonator auf halber Länge durchbohrt. Der Durchmesser des Lochs beträgt ca. 2,5 mm.

Die Abb. 2.2 c) zeigt den geöffneten Probenkopf von unten mit Resonator, Ankopplung und Abschirmung. Zur Ankopplung dient der Innenleiter eines starren Koaxialkabels, welches die eingespeiste mw durch den Probenkopf zum Resonator leitet. Dieser Innenleiter ist durch die Abschirmung geführt, zu einem 90°-Bogen mit minimal größerem Durchmesser als der des Resonators gebogen und schließlich an

die Abschirmung gelötet. Die Abschirmung und die Ankopplung sind auf einem Schlitten befestigt, der über das starre Koaxialkabel mittels Hebelmechanismus am oberen Ende des Probenkopfes relativ zum Resonator in axialer Richtung bewegt werden kann, um den Abstand der Ankoppelschleife zum Resonator und damit den Kopplungsgrad zu variieren.

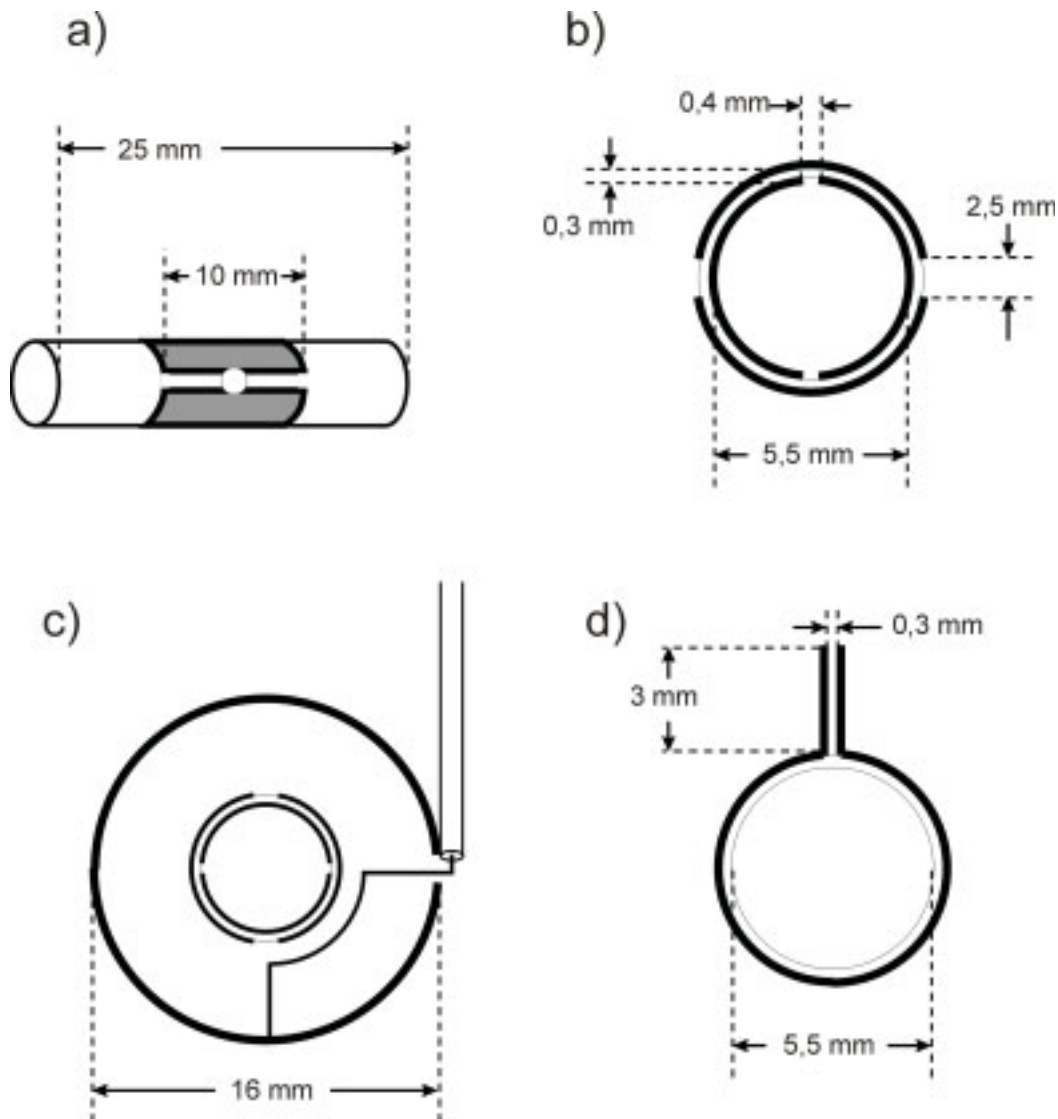


Abb. 2.2 Original BLGR von der Seite a) und von oben b) und seine Positionierung in der Abschirmung incl. Ankopplung c). Alle BLGRs sind nach dieser Vorlage gefertigt. d) zeigt einen LGR von oben.

Wegen des o.g. Mechanismus und der Geometrie der Ankopplung waren dem wählbaren Durchmesser und der Höhe sehr enge Grenzen gesetzt. Für alle Resonatoren dienten daher Quarz- oder Duranglasröhrchen von sehr ähnlichen Abmessungen als Grundkörper: Die Länge betrug 25(1) mm, der Außendurchmesser

6,1(1) mm und die Wandstärke 0,3(1) mm. Ein BLGR („Al_BLGR“) wurde durch Bekleben des Quarzröhrchens mit 4 Rechtecken aus 16 µm starker Alu-Folie mittels 2K-Kleber („UHU plus endfest 300“) hergestellt. Alle anderen BLGR („Ag_BLGR_1“ bis „Ag_BLGR_4“) wurden durch Beschichten der Röhrchen mit Leitsilberlack (von Conrad Elektronik) in mehreren Lagen hergestellt. Dabei muß die leitende Schicht mindestens eine Dicke d' aufweisen, die größer ist als die Eindringtiefe d der mw gegebener Frequenz ν für dieses Material. Diese Eindringtiefe ist diejenige Oberflächenschichtdicke, auf die die Stromdichte des hochfrequenten Wechselstromes aufgrund des induktiven Widerstandes beschränkt wird („Skinneffekt“, [Ber99]). Sie ist gegeben durch:

$$d = \sqrt{\frac{\rho}{\pi \mu_0 \nu}}$$

Der spezifische Widerstand des verwendeten Materials Silber beträgt $\rho = 0,016 \mu\Omega\text{m}$ (bei einer Temperatur von $T = 20^\circ\text{C}$). $\mu_0 = 4\pi \cdot 10^{-7} \text{ N/A}^2$ ist die magnetische Feldkonstante. Damit ergibt sich für eine typische Frequenz von $\nu = 3 \text{ GHz}$ eine Eindringtiefe von $d = 1,2 \mu\text{m}$. Die tatsächliche Schichtdicke konnte über die Berechnung der Flächen des Resonators, die Dichte des leitenden Materials und die Bestimmung des Massenunterschiedes vor und nach der Beschichtung kontrolliert werden. Nach dem Beschichten wurde der Lack an der Luft getrocknet und nach Einfügen der 4 Spalten und Begradigung aller Ränder in einem Ofen bei 650°C (außer „Ag_BLGR_3“) eingebrannt.

Jeder LGR („Cu_LGR_1“ bis „Cu_LGR_3“) besitzt eine aus einem Rechteck von 0,2 mm starken Kupferblech geformten Leiterschleife, die entsprechend der Abb. 2.2 d) um ein Quarzröhrchen gebogen ist. Bei diesem Resonatortyp bedarf es, entsprechend den Ausführungen des vorigen Abschnitts, bei gegebenem Umfang von ca. 20 mm einer relativ großen Kapazität, um eine Resonanzfrequenz im S-Band zu erreichen. Deshalb muß die Fläche des kapazitiven Elementes durch Ausbildung zweier „Fähnchen“, welche wegen des von der Abschirmung begrenzten Raumes maximal 3 mm lang sein konnten, stark vergrößert werden. Da diese Maßnahme noch nicht ausreichte, wurden zusätzlich Dielektrika zwischen die Fähnchen eingebracht.

2.5.2.2 Resonanzfrequenz und Güte

Die wesentlichen Kriterien eines EPR-Resonators sind neben der Resonanzfrequenz ν_0 seine Güte Q , die man wie folgt definieren kann [Feh57]:

$$\text{Güte } Q = \frac{\omega_0 \cdot \text{gespeicherte Energie}}{\text{Verlustleistung}} \quad \text{mit } \omega_0 = 2\pi\nu_0$$

und bei idealer Anpassung, d.h. verlustfreier, kritischer Kopplung:

$$\text{Güte } Q = \frac{\omega_0 \cdot \text{gespeicherte Energie}}{\text{Generatorleistung}}$$

Die Güte ist ein Maß für die Überhöhung des Magnetfeldes B_1 der mw, die zu einer größeren Absorption und damit einer Steigerung der Empfindlichkeit führt. Im Falle von Pulsexperimenten soll die Zeitkonstante τ des Resonators für Ein- und Ausschwingvorgänge möglichst klein sein, um die Totzeit zu minimieren. Weiterhin ist eine möglichst große Anregungsbandbreite für den überwiegenden Teil aller biologisch relevanten Proben wegen ihrer spektralen Breite wünschenswert. Die zuletzt genannten Anforderungen konkurrieren jedoch aufgrund des invers proportionalen Zusammenhangs von der Halbwertsbreite $\Delta\omega$ des Resonators mit seiner Güte Q :

$$Q = \omega_0 / \Delta\omega$$

Bei vielen Pulsspektrometern, die auch für cw-Betrieb geeignet sind, werden Resonatoren verwendet, die in kritisch gekoppeltem Zustand eine ausreichende Güte für empfindliche cw-Experimente besitzen, die aber für Pulsexperimente zur Erniedrigung der Güte und damit der Totzeit überkoppelt werden. Die Alternative wäre, entweder einen Resonator zu verwenden, der schon konstruktionsbedingt eine deutlich reduzierte Güte durch erhöhten ohmschen Widerstand besitzt, oder aber

durch Einbringen von Material mit großen dielektrischen Verlusten (z.B. antistatische Verpackungsfolie) eine ursprünglich hohe Güte herabzusetzen. Im ersten Fall wäre die Reduktion der Güte irreversibel, so daß dieser Resonator für cw-Experimente unbrauchbar ist. Für beide Fälle wurde von Rinard et al. [Rin94] gezeigt, daß sowohl die Echoamplitude als auch der Konversionsfaktor (siehe 2.5.2.4) im Vergleich zu einem überkoppelten Resonator mit der selben Güte kleiner sind.

Die Ersatzschaltung für einen Reflektionsresonator besteht gemäß Abb. 2.3 aus einem Reihenschwingkreis mit einem ohmschen Widerstand R , einer Induktivität L und einer Kapazität C , der über einen (als ideal angenommenen) $N:1$ -Transformator eine Anpassung an die Impedanz Z_0 des Generators erfährt, der eine Wechselspannung der Amplitude V_G erzeugt.

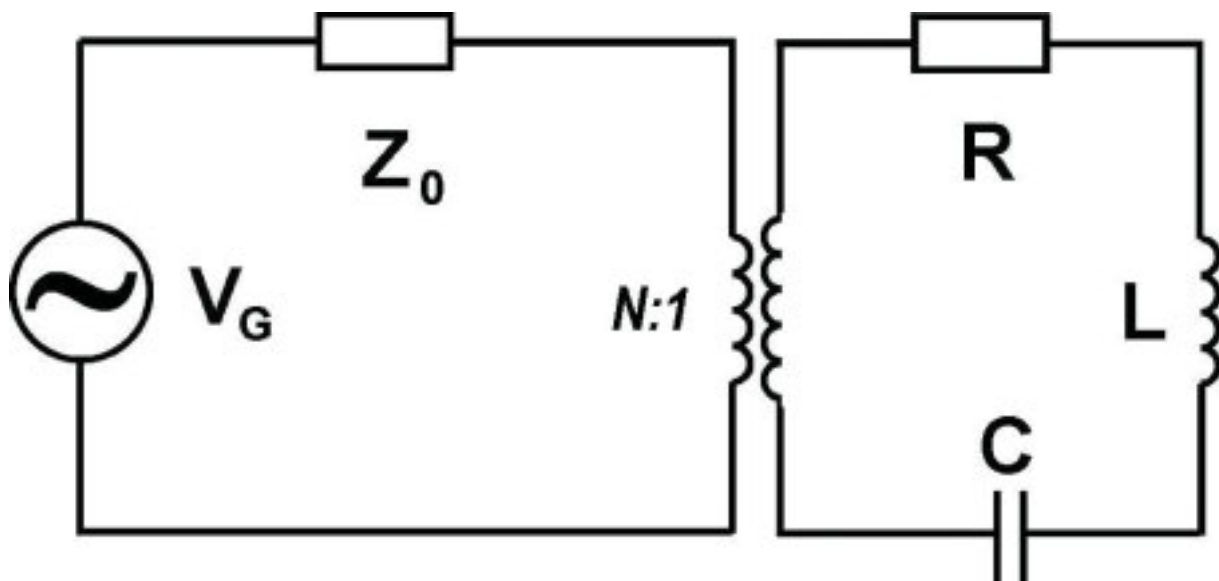


Abb. 2.3: Ersatzschaltbild eines Reflektionsresonators mit Ankopplung an einen Generator

Die Impedanz Z dieses RLC-Reihenschwingkreises setzt sich zusammen aus einem reellen Anteil, dem Wirkwiderstand R und einem imaginären Anteil, der einen induktiven und einen kapazitiven Beitrag enthält:

$$Z = R + i\omega L + \frac{1}{i\omega C}$$

Wenn die Kreisfrequenz ω den Wert

$$\omega_0 = \frac{1}{\sqrt{LC}}$$

annimmt, werden die beiden imaginären Anteile von Induktivität und Kapazität entgegengesetzt gleich groß, d.h. der Blindwiderstand verschwindet. Die Impedanz wird reell, ihr Betrag minimal und damit der Strom durch den Schwingkreis maximal. Die Breite $\Delta\omega$ dieser Resonanz wird als Halbwertsbreite der Leistungsresonanz definiert. Folglich ist es die Breite der Stromresonanz, bei der der Strom um einen Faktor $1/\sqrt{2}$ in Bezug auf v_0 abgesunken ist. Für diese Frequenzen werden Blindwiderstand und Wirkwiderstand gleich groß. Diese Breite wird von der Dämpfung bestimmt, die ihre Ursache in dem ohmschen Widerstand R hat [Ber99]:

$$\Delta\omega = \frac{R}{L}$$

Damit folgt aus der Definition der Güte im unbelasteten Fall:

$$Q_0 = \frac{\omega_0 L}{R} = \sqrt{\frac{L}{C}} / R$$

Die Wirkung der Ankopplung kann als $N:1$ -Transformator (mittels N Windungen der Primär- und einer Windung der Sekundärspule) beschrieben werden, der für eine Impedanzanpassung sorgen soll:

$$R = N^2 Z_0$$

Für den Fall einer beliebigen, im allgemeinen nicht kritischen Ankopplung wird der Kopplungskoeffizient β definiert als:

$$\beta = \frac{N^2 Z_0}{R}$$

Für kritische Kopplung ist $\beta = 1$, d.h. die Impedanzanpassung ist ideal und es findet vollständige Leistungsübertragung statt. Für unterkritische ($\beta < 1$) und überkritische Kopplung ($\beta > 1$) tritt teilweise Reflexion der Quellenleistung ein.

Da die Ankopplung des Resonators einen zusätzlichen Verlust darstellt, wird seine Güte gemäß der zusätzlichen, vom Resonator aus gesehenen Last $\beta R = N^2 Z_0$ erniedrigt:

$$Q_i = \frac{\omega_0 L}{(1 + \beta) R}$$

Der Kopplungskoeffizient β bestimmt den Anteil der reflektierten Leistung K_P und den Anteil der dem Resonator übertragenen Leistung T_P in Bezug auf die eintreffende Generatorleistung [Rin94]:

$$K_P = \frac{(1 - \beta)^2}{(1 + \beta)^2} \quad \Rightarrow \quad T_P = 1 - K_P = \frac{4\beta}{(1 + \beta)^2}$$

Die einfachste Methode zur groben Bestimmung der Güte besteht darin, die mw-Frequenz durchzufahren und dabei die reflektierte mw-Leistung zu beobachten. Anhand des „Resonatordips“ kann die Frequenz und die Halbwertsbreite des Resonators ausgemessen und seine Ankopplung eingestellt werden. Die Güte auf diese Weise zu bestimmen, birgt zwei gravierende Nachteile. Erstens ist die Bestimmung der Halbwertsbreite immer mit einem großen Fehler durch die Nichtlinearität des verwendeten Detektors behaftet, was mittels Eichkurve korrigiert werden muß, falls man quantitative Vergleiche machen will. Zweitens stören frequenzabhängige Amplitudenschwankungen und netzwerkbedingte Reflexionen die Bestimmung des Referenzpunktes für vollständige Reflexion. Dies gilt besonders für den Fall einer starken Überkopplung des Resonators bei Pulsexperimenten (siehe Abb. 2.4).

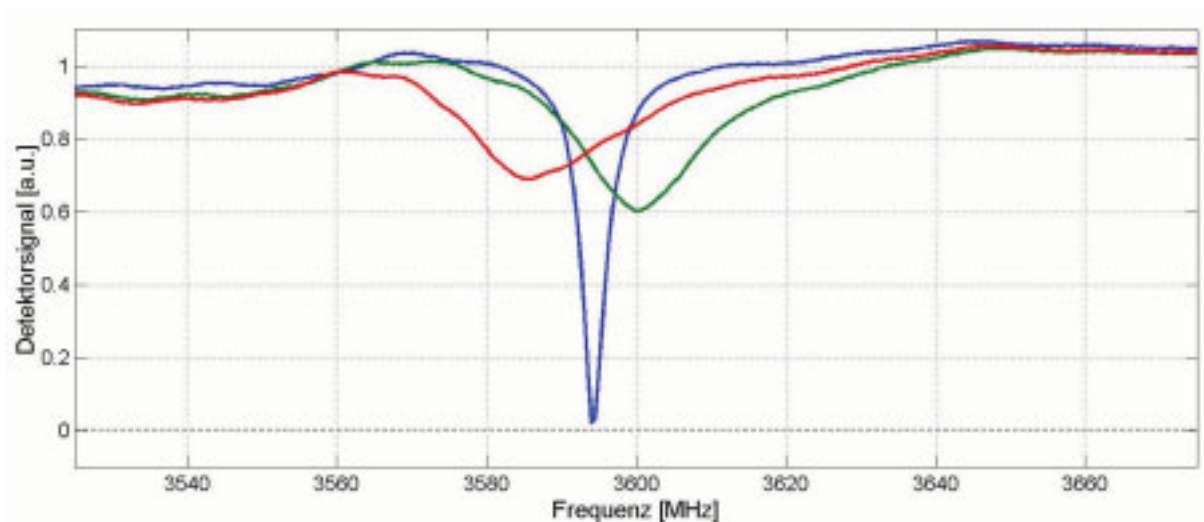


Abb. 2.4: Dips des Resonators Ag_BLGR_4 bei $T = 10$ K ohne Probe in kritisch gekoppeltem Zustand (blau), in mechanisch größtmöglich überkoppeltem Zustand ohne Probe (grün) und mit Probe (4mm-EPR-Röhrchen mit Toluol gefüllt, rot).

In blau ist der Dip des Resonators Ag_BLGR_4 bei einer Temperatur von $T = 10$ K in kritisch gekoppeltem Zustand ohne Probe dargestellt. Man erkennt die scharfe Resonanz, die bei 3,594 GHz nahezu vollständige Absorption der eingestrahlten mw-Leistung zeigt. Auch außerhalb der Resonanz ist die detektierte Leistung stark frequenzabhängig, was die genaue Bestimmung der Güte beeinträchtigt.

Die grüne Kurve zeigt den Resonator dip in stark überkoppeltem Zustand. Es findet nun auch bei der Resonanzfrequenz eine beträchtliche Reflektion statt. Die reflektierte Leistung beträgt etwa 60% der Generatorleistung, woraus für den Kopplungskoeffizient folgt, daß entweder $\beta \sim 0,13$ oder $\beta \sim 7,9$ beträgt. Wegen der quadratischen Abhängigkeit der Leistung vom Kopplungskoeffizienten, läßt sich aus einer Resonanzkurve alleine grundsätzlich nicht zwischen unterkritischem ($\beta < 1$) oder überkritischem ($\beta > 1$) Zustand schließen. Daß es sich um überkritische Kopplung handelt, ist aus der Tatsache zu schließen, daß die Halbwertsbreite der grünen Kurve im Vergleich zur blauen deutlich erhöht wurde, was einer Reduktion der Güte gleichkommt.

Die rote Kurve zeigt den Resonatordip nach Einführung eines 4mm-EPR-Röhrchens, welches mit Toluol gefüllt ist. Trotz unveränderter Ankopplungseinstellung findet durch dielektrische Verluste im Lösungsmittel eine stärkere Reflektion statt, wodurch die Güte weiter herabgesetzt wird. In der folgenden Tabelle 2.1 werden die Werte für die Resonanzfrequenz, die Halbwertsbreite und die daraus folgende Güte für die drei gezeigten Zustände gegenüber gestellt.

	Frequenz ν_0 [MHz]	Halbwertsbreite $\Delta\nu$ [MHz]	Güte
Kritisch, leer	3594	3,9	920
Überkritisch, leer	3598	15,5	230
Überkritisch, mit Probe	3584	17,5	205

Tab. 2.1: Güten des Resonators Ag_BLGR_4 ermittelt aus Graphen der Abb. 2.4.

2.5.2.3 Zeitkonstante

Für gepulste Experimente bei den für dieses Instrument gewählten niedrigen Betriebsfrequenzen wird das Zusammenspiel von Totzeit und Empfindlichkeit besonders bedeutungsvoll.

Die Zeitkonstante τ für das Ausklingen des Resonators ist gegeben durch den Kehrwert der Halbwertsbreite $\Delta\omega$:

$$\frac{P(t)}{P_{\max}} = e^{-\Delta\omega t} = e^{-t/\tau}$$

Dabei ist $P(t)$ die Leistungsabgabe des Resonators zur Zeit t und $P_{\max}$ die Maximalleistung. Da bei konstanter Güte Q die Halbwertsbreite $\Delta\omega$ mit der Frequenz ω_0 linear abnimmt, verlängert sich die Zeitkonstante τ ebenso linear. Die Totzeit eines Pulsspektrometers kann als Zeit definiert werden, die vergeht, bis die Leistung des angeregten Resonators bis auf Rauschniveau ausgeklungen ist.

Je nach Spektrometer beträgt der Leistungsabstand zwischen Anregungspuls und Rauschen ca. 140 dB [Gor88, Mim72a]. Als Beispiel sei hier ein Vergleich zweier Resonatoren R_s und R_x mit identischer Güte von $Q = 100$ gegeben, deren Resonanzfrequenzen bei $\omega_s = 2\pi \cdot 3 \text{ GHz}$ bzw. bei $\omega_x = 2\pi \cdot 9 \text{ GHz}$ liegen. Die für das Ausklingen bis auf -140 dB benötigte Zeit t_d kann über

$$\frac{P(t)}{P_{\max}} = -140 \text{ dB} = 10^{-14} = \exp\left(\frac{-\omega t_d}{Q}\right) \quad \Rightarrow \quad t_d = -\ln(10^{-14}) \frac{Q}{\omega}$$

berechnet werden und beträgt für

$$\begin{array}{ll} \omega_s = 2\pi \cdot 3 \text{ GHz}: & \underline{t_{dS} = 171 \text{ ns}} \\ \omega_x = 2\pi \cdot 9 \text{ GHz}: & \underline{t_{dX} = 57 \text{ ns}} \end{array}$$

Für die angenommene Reduktion der Frequenz um einen Faktor drei ergibt sich also entweder eine um diesen Faktor längere Totzeit bei gleicher Güte oder bei konstant gehaltener Totzeit durch weitere Reduktion der Güte auf ein Drittel (ohne Berücksichtigung der technischen Schwierigkeiten) ein entsprechender Verlust an Empfindlichkeit.

Im Gegenzug dazu sind bei höheren Frequenzen (Ku-Band und darüber hinaus) die Probleme der Totzeit weit weniger relevant, da die auftretenden Zeitkonstanten der Resonatoren auch mit deutlich höheren Güten noch unterhalb der durch andere mw-Komponenten, wie z.B. PIN-Schalter oder TWT-Verstärker, verursachten Totzeit liegen [Bor97]. Daher ist in niedrigen Frequenzbändern (S-Band und darunter) häufig die Zeitkonstante ein limitierender Faktor.

Durch die Beobachtung der Reflektion von mw-Pulsen am Resonator mit Hilfe des Receiver-Monitors (siehe 2.1.4.2) können sowohl diese Zeitkonstante τ und darüber die Güte Q als auch der Kopplungszustand β ermittelt werden. In Abb. 2.5 a) ist das Reflektionssignal des Receiver-Monitor-Mischers von einem Puls, der 400 ns lang und in Resonanz zum kritisch gekoppelten Resonator Ag_BLGR_4 ist, dargestellt.

Die Einschalt- und die Ausschaltflanke besitzen unterschiedliche Polaritäten, d.h. die Phase dreht sich um 180° . Durch die phasenempfindliche Detektion ist es möglich, zwischen mw zu unterscheiden, die den Resonator passiert hat und dann emittiert wird (positive Polarität), und solcher, die schon vor „Eintritt“ in den Resonator reflektiert wird (negative Polarität). In diesem Bild stellt sich die Reflektion eines idealen, nicht resonanten Pulses als Rechteck mit negativer Polarität dar, dessen Amplitude die Amplitude der eintreffenden mw repräsentiert. (Die kleinen Störungen kurz vor dem Ausschalten sind nicht dem Resonator zuzuschreiben, sondern werden vom Pulsschalter verursacht.)

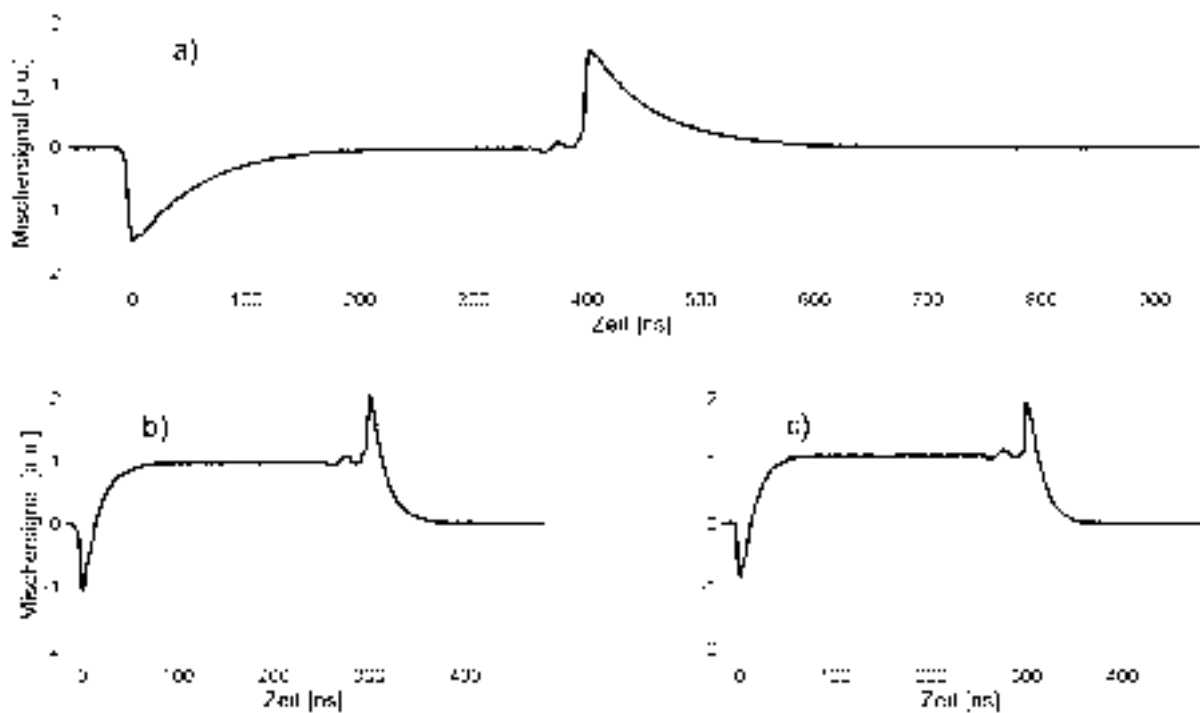


Abb. 2.5: Reflektionen von resonanten Pulsen am Resonator Ag_BLGR_4 bei $T = 10$ K. a): kritisch gekoppelter, leerer Resonator bei einer Pulslänge $t_p = 400$ ns, b): überkritisch gekoppelter, leerer Resonator bei $t_p = 300$ ns und c): überkritisch gekoppelter Resonator mit Probe bei $t_p = 300$ ns.

Die Halbwertsbreite $\Delta\omega$ des Resonators bestimmt im Falle von Resonanz die Zeitkonstante τ für das Aufbauen von elektromagnetischer Energie im Resonator. Mit der gleichen Zeitkonstante baut sich folglich auch die Emission auf, die der eintreffenden mw entgegen gerichtet ist. Auf diese Weise wird einem Gleichgewicht zugestrebt, dessen Lage vom Kopplungszustand β abhängt. Bei idealer Impedanzanpassung ($\beta = 1$) kompensieren sich die ein- und die auslaufende Welle, so daß kein Signal zurück zum Zirkulator und damit in die Detektion läuft. Bei überkritischer Kopplung ($\beta > 1$), wenn also die einlaufende Welle eine Impedanz

$$\frac{R}{N^2} = \frac{Z_0}{\beta} < Z_0$$

sieht, erreicht den Detektor ein Emissionssignal (> 0) mit der Phase entgegen derjenigen der nichtresonanten Reflektion. In Abb. 2.5 b) ist daher der Einschaltvorgang von einer Phasenumkehr begleitet und der „steady state“ wird bei einem positiven Signal erreicht. Durch den erhöhten Kopplungskoeffizienten sieht der Resonator die größere Last

$$N^2 Z_0 = \beta R > R.$$

Dadurch erhöht sich die Bandbreite $\Delta\nu$ und die Zeitkonstante τ nimmt ab:

$$\tau = \frac{Q_l}{\omega_0} = \frac{L}{(1 + \beta)R}$$

Bei unterkritischer Kopplung ($\beta < 1$), sieht die einlaufende Welle die Impedanz

$$\frac{R}{N^2} = \frac{Z_0}{\beta} > Z_0$$

In diesem Fall hat das Reflektionssignal (< 0) die Phase der mw-Quelle; es findet also (wie bei kritischer Kopplung) keine Phasenumkehr während des Pulses statt, sondern erst nach Abschalten der mw, wenn die im Resonator gespeicherte Energie emittiert wird. Abb. 2.5 c) zeigt durch den zusätzlichen Verlust in der eingeführten Probe eine noch stärkere Reflektion und eine noch etwas schnellere Zeitkonstante τ . Die Zeitkonstanten τ_{Ein} und τ_{Aus} für den Einschwing- bzw. den Ausschwingvorgang und die daraus folgenden Güten für die drei beschriebenen Zustände sind in Tab. 2.2 zusammengestellt. Diese Zeitkonstanten sind allerdings nicht mit der oben beschriebenen Zeitkonstante τ für die Dissipation von Leistung zu identifizieren, da sie von Signalen eines spannungsdetektierenden Mischers stammen. Wegen der Proportionalität der Leistung P mit dem Quadrat der Spannung U gilt:

$$\frac{P(t)}{P_{\max}} = e^{-t/\tau} = \left(\frac{U(t)}{U_{\max}} \right)^2 = e^{-2t/\tau_M} \Rightarrow \tau = \frac{\tau_M}{2} \Rightarrow Q = \pi \nu_0 \tau_M$$

Hierbei ist τ_M die Zeitkonstante des Einschwing- bzw. Ausschwingvorgangs für Detektoren, deren Ausgang proportional zur Eingangsspannung ist. Hierfür werden die Werte von τ_{Ein} und τ_{Aus} eingesetzt.

	Frequenz ν_0 [MHz]	Zeitkonstanten $\tau_{\text{aus}} / \tau_{\text{ein}}$ [ns]	Güte
Kritisch, leer	3594,10	56 / 57	630 / 645
Überkritisch, leer	3597,05	16,0 / 16,5	181 / 186
Überkritisch, mit Probe	3577,43	13,5 / 14,0	152 / 157

Tab. 2.2: Güten des Resonators Ag_BLGR_4, ermittelt aus den Graphen der Abb. 2.5.

Der Vergleich mit den Güten aus 2.5.2.2 zeigt, daß diese im Fall der kritischen Kopplung etwa 50% und in den Fällen überkritischer Kopplung etwa 25% höher sind als die aus den Zeitkonstanten ermittelten Werte. Da die Kennlinie der Detektordiode im Bereich kleiner Leistungen eine andere Charakteristik als bei großer Leistung besitzt, können (speziell bei kritischer Kopplung) die Resonatordips nicht auf diese Weise zur präzisen Ermittlung der Güte herangezogen werden. Die üblicherweise auftretenden Totzeiten t_d von 200 - 220 ns bestätigen die aus den Zeitkonstanten ermittelten Güten:

$$t_d = -\ln(-140\text{dB}) \frac{Q}{\omega} = -\ln(10^{-14}) \frac{Q}{\omega} = 215\text{ns}$$

Hierbei ist $Q = 150$ und $\omega = 2\pi \cdot 3,577 \text{ GHz}$ entsprechend der Werte aus Tab. 2.1 für den überkritisch gekoppelten Fall mit Probe.

2.5.2.4 Konversionsfaktor

Ein weiteres, für Pulsexperimente besonders wichtiges Maß eines Resonators ist der Konversionsfaktor κ , der bei gegebener Güte Q das Verhältnis von B_1 -Feldstärke zu Pulsleistung angibt [Pri97]:

$$\kappa = \frac{B_1}{\sqrt{PQ}}$$

Die B_1 -Feldstärke läßt sich am einfachsten dadurch bestimmen, daß man die Amplitude eines Echos, das durch eine 2-Puls-Sequenz erzeugt wird, über die Pulslängen t_{p1} bzw. t_{p2} und die mw-Leistung P optimiert. Es handelt sich dann beispielsweise um Pulse mit den Flipwinkeln $\pi/2$ und π . Ist der Flipwinkel ϑ bekannt, kann die B_1 -Feldstärke wie folgt bestimmt werden [Sch91):

$$\vartheta = \gamma_e B_1 t_p$$

Dabei ist $\gamma_e = 1,76 \cdot 10^7$ rad/Gs das gyromagnetische Verhältnis des freien Elektrons. Für den Resonator „Original“ beträgt bei einer Leistung von $P = 10$ W die π -Pulslänge $t_\pi = 20$ ns, was einer B_1 -Feldstärke von 8,9 G entspricht. Daraus folgt bei einer Güte von $Q = 200$ für den Konversionsfaktor:

$$\text{"Original"} \rightarrow \kappa = 20 \frac{\mu T}{\sqrt{W}}$$

Mit dem auf eine Güte von $Q = 150$ überkoppelten Resonator Ag_BLGR_4 wird eine optimale Echoamplitude für eine π -Pulslänge von $t_\pi = 30$ ns bei einer Leistung von $P = 11$ W erreicht. Die B_1 -Feldstärke beträgt dabei 6 G, was den folgenden Konversionsfaktor liefert:

$$\text{Ag_BLGR_4} \rightarrow \kappa = 15 \frac{\mu T}{\sqrt{W}}$$

Der Resonator Cu_LGR_2 besitzt in überkoppeltem Zustand eine Güte von $Q = 80$. Die größte Echoamplitude wird bei einer π -Pulslänge von $t_\pi = 55$ ns ($B_1 = 3,2$ G) und einer Leistung von $P = 3,7$ W erreicht, so daß der Konversionsfaktor

$$\text{Cu_LGR_2} \rightarrow \kappa = 18 \frac{\mu T}{\sqrt{W}}$$

beträgt.

2.5.3 Zusammenfassung

In Tab. 2.3 sind alle im S-Band zur Verfügung stehenden Resonatoren mit ihren Resonanzfrequenzen und Güten für kritisch bzw. überkritisch gekoppelte Zustände aufgelistet. Die angeführten Eigenschaften hängen lediglich im Fall des Resonators „Original“ wegen seiner Symmetrie nicht von der Einbaulage ab. Alle anderen Resonatoren, die, wenn auch nur leichte, Asymmetrien aufweisen, zeigen zum Teil große Variationen in Bezug auf die zugänglichen Kopplungszustände. Z.B. kann der Resonator Cu_LGR_1 nur in bestimmter Einbaulage kritisch gekoppelt werden. Die Resonanzfrequenzen zeigen dagegen bei beiden Resonatortypen in diesem Bezug nur sehr geringe oder keine Abhängigkeit. Bei den Tests der LGR, die sehr kleine Zeitkonstanten von ca. 6 ns aufweisen, hat sich gezeigt, daß die Totzeit dann nicht mehr durch das Resonatorklingeln bestimmt ist, sondern von der Zeit, die das TWT-Gitter zum Abschalten benötigt. Nach kleinen Justierungen an den Steuerspannungen der TWT konnte diese Zeit auf ca. 160 ns reduziert werden.

Resonator	Res.-Frequenz [GHz]	Güte, kritisch	Güte, überkritisch
Original	2,97 – 2,99	500 – 600	150 – 200
Al_BLGR	3,65 – 3,67	~ 150	-
Ag_BLGR_1	3,11 – 3,12	~ 200	-
Ag_BLGR_2	3,44 – 3,49	~ 300	~ 400
Ag_BLGR_3 (nicht gebrannt)	~ 3,45	-	-
Ag_BLGR_4	3,58 – 3,61	~ 250	150 – 200
Cu_LGR_1	3,33 – 3,36	100 – 150	-
Cu_LGR_2	3,04 – 3,08	100 – 150	~ 80
Cu_LGR_3	2,73 – 2,74	100 – 150	~ 100

Tab. 2.3: Übersicht Resonatoren: Frequenzen und Güten für kritische bzw. überkritische Kopplung bei RT.

Die Werte der Tab. 2.3 gelten für Raumtemperatur. Durch Abkühlen auf Heliumtemperaturen steigen die Güten im kritisch gekoppelten Fall deutlich an. Zum Beispiel besitzt der Resonator Ag_BLGR_4 bei einer Temperatur von $T = 10$ K eine Güte von etwa $Q = 650$, also etwa einen Faktor drei größer als bei RT. Bei stark überkritischer Kopplung für Pulsexperimente ändert sich die Güte dagegen nur unwesentlich mit der Temperatur.

Um die wesentlichen resonatorbedingten Unterschiede zwischen S- (durchgezogene Linie) und X-Band (gestrichelte Linie) darzustellen, sind in der folgenden Abb. 2.6 in doppelt-logarithmischem Maßstab verschiedene meßtechnische Größen gegen die (als im Bereich von 10 bis 1000 frei wählbar angenommene) Resonatorgüte aufgetragen. In dem oberen Teilbild in blau sind die Resonatorbandbreiten $\Delta\nu$ gezeigt, die sich direkt aus den jeweiligen Resonanzfrequenzen $\nu = \omega/2\pi$ (S-Band: 3,0 GHz und X-Band: 9,7 GHz) ergeben und umgekehrt proportional zur Güte sinken. Allein durch die größere Resonanzfrequenz ist die Bandbreite im X-Band bei gegebener Güte um mehr als einen Faktor drei größer.

Die im mittleren Teilbild in rot gezeichneten Graphen für die Totzeit t_d ergeben sich aus der in 2.5.2.3 verwendeten Formel $t_d = -\ln(140\text{dB}) Q/\omega$. Im selben Teilbild in schwarz sind die minimal sinnvollen π -Pulslängen eingezeichnet, deren Anregungsbandbreite der Resonatorbandbreite aus dem oberen Teilbild entspricht. Hierbei wurde die in 2.5.2.4 eingeführte Beziehung $\vartheta = \gamma_e B_1 t_p$ verwendet, wobei für B_1 Werte entsprechend der Bandbreite ($\Delta\nu \times 2,803 \text{ MHz/G}$) eingesetzt wurden, da eine Anwendung von Pulsen mit größerer spektraler Breite als es der Resonator vermöge seiner Bandbreite zuläßt, kaum sinnvoll ist. In diesem Teilbild wird deutlich, daß man im S-Band sehr stark auf niedrige Resonatorgüten angewiesen ist, da sonst die Totzeit zu groß wird. Andererseits läßt im X-Band eine niedrige Güte von $Q \sim 100$ schon π -Pulslängen von $t_p = 5 \text{ ns}$ (entsprechen einer Anregungsbandbreite von ca. 100 MHz) bei vorhandener Leistung zu.

Das untere Teilbild zeigt die Leistung P , die notwendig ist, um bei gegebener Güte die im mittleren Teilbild dargestellten π -Pulslängen zu erreichen. Es wurde für den S-Band-Resonator hierbei ein Konversionsfaktor von $\kappa_S = 20 \text{ } \mu\text{T}/\sqrt{\text{W}}$ (entsprechend „Original“) eingesetzt. Für den X-Band-Resonator wurde ein Konversionsfaktor von $\kappa_X = 6 \text{ } \mu\text{T}/\sqrt{\text{W}}$ angenommen (aus einer Abschätzung von Parametern für ein Hahn-Echo mit $t_p = 32/32 \text{ ns}$ bei einer Leistung von ca. 32 W). Da in die hierbei verwendete Formel $P = (B_1 / \kappa)^2 / Q$ die Bandbreite (über B_1) quadratisch eingeht, liegen hier die Kurven von S- und X-Band besonders weit auseinander. Während im S-Band bei einer Güte von $Q_S = 70$ sinnvolle π -Pulslängen von $t_p = 10 \text{ ns}$ mit einer Leistung von

etwa $P_S = 100 \text{ W}$ erreichbar sind, benötigt man dagegen im X-Band bei einer Güte von $Q_X = 200$ eine Leistung von $P_X = 1 \text{ kW}$, was der derzeitigen Ausstattung beider Spektrometer entspricht. Im Falle des S-Bandes wäre zur Ausnutzung der vorhandenen mw-Leistung von 1 kW eine Güte von etwa 30 vonnöten.

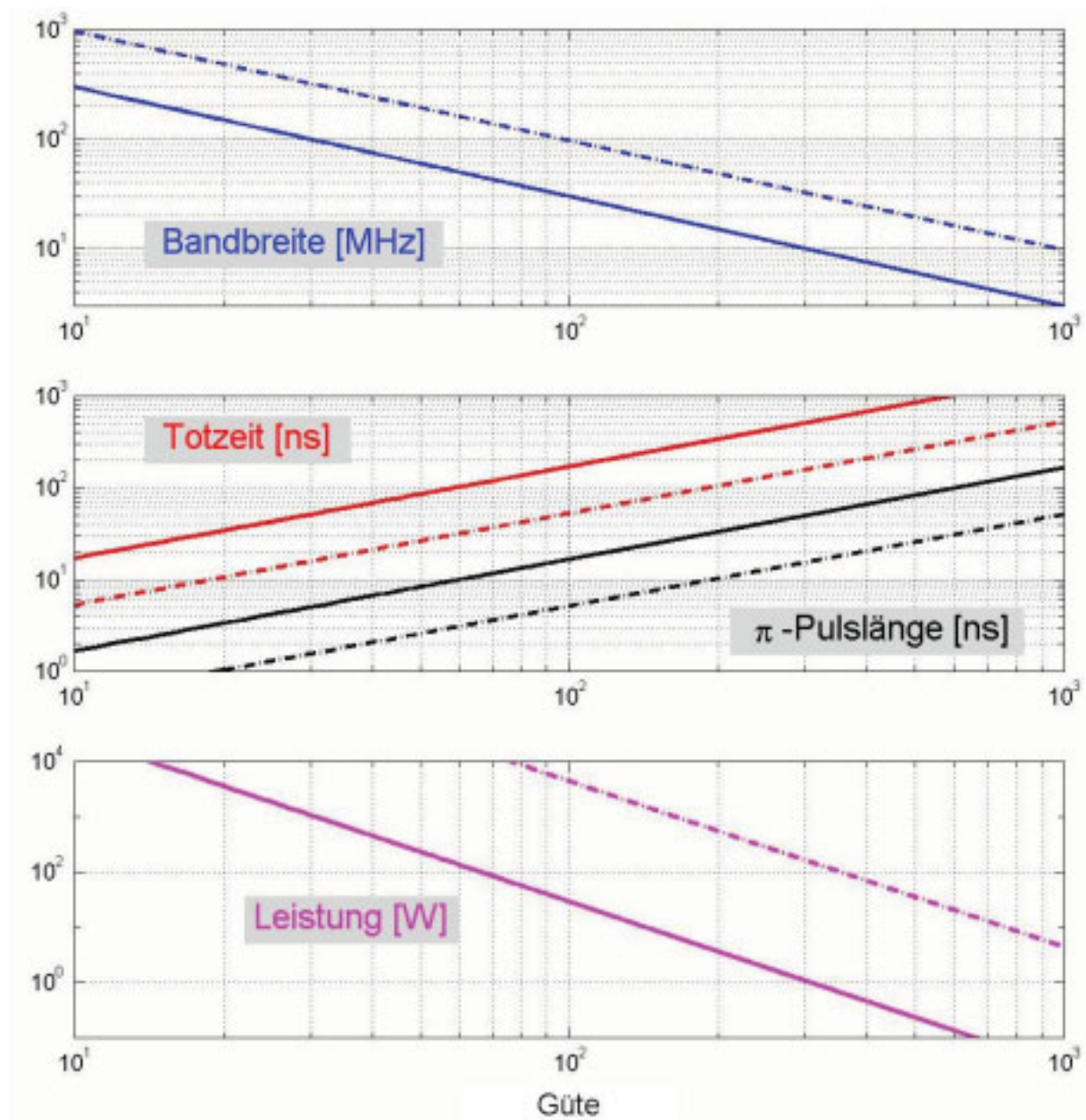


Abb. 2.6: Resonatorbandbreite (blau), Totzeit (rot), minimal sinnvolle π -Pulslänge (schwarz) und benötigte Leistung (pink) im Vergleich von S- (durchgezogene Linie) zu X-Band (gestrichelte Linie) in Abhängigkeit der Resonatorgüte

2.6 Empfindlichkeit

2.6.1 Theorie

In diesem Abschnitt soll die Empfindlichkeit des Spektrometers im Pulsbetrieb zuerst theoretisch im Vergleich zu einem X-Band-Spektrometer ermittelt werden, um dann die Ergebnisse der in 2.6.2 beschriebenen Testmessungen daran beurteilen zu können. Als Maß für die Empfindlichkeit wird wie sehr häufig in der Spektroskopie das Signal-zu-Rausch-Verhältnis (S/N) benutzt, wobei die Signalintensität von der Netto-Absorption elektromagnetischer Strahlung durch die Probe abhängt. Die Netto-Absorption, also der Überschuss von Absorption zu induzierter Emission, ist proportional zur Besetzungszahldifferenz der beteiligten Energieniveaus [Hak98]. Für ein 2-Niveau-System im thermischen Gleichgewicht beträgt die Polarisierung $\Delta n / \Sigma n$ entsprechend der Boltzmann-Verteilung¹⁰:

$$\frac{\Delta n}{\Sigma n} = \frac{e^{-h\nu/kT} - 1}{e^{-h\nu/kT} + 1}$$

Dabei ist $\Delta n = n_\alpha - n_\beta$ die Besetzungszahldifferenz, $\Sigma n = n_\alpha + n_\beta$ die Gesamtzahl der Spinzustände α und β , h das Plancksche Wirkungsquantum¹¹ und ν die Übergangsfrequenz bei gegebenem Magnetfeld B_0 zwischen den beiden Zuständen und k die Boltzmann-Konstante. Die Abhängigkeit der Polarisierung P von der Temperatur T ist in der folgenden Abb. 2.7 für drei verschiedene Frequenzen dargestellt. Die Entwicklung dieser Exponentialfunktion an der Nullstelle (für den Fall, daß die Energieaufspaltung wesentlich kleiner als die thermische Energie ist) führt zur sogenannten Hochtemperaturnäherung, die, wie in der Abb. 2.7 ersichtlich, für niedrige Frequenzen und hohe Temperaturen gültig ist:

$$\frac{\Delta n}{\Sigma n} = -\frac{h\nu}{2kT}$$

¹⁰ nach Ludwig Boltzmann, *1844, †1906

¹¹ nach Max Karl Ernst Ludwig Planck, *1858, †1947

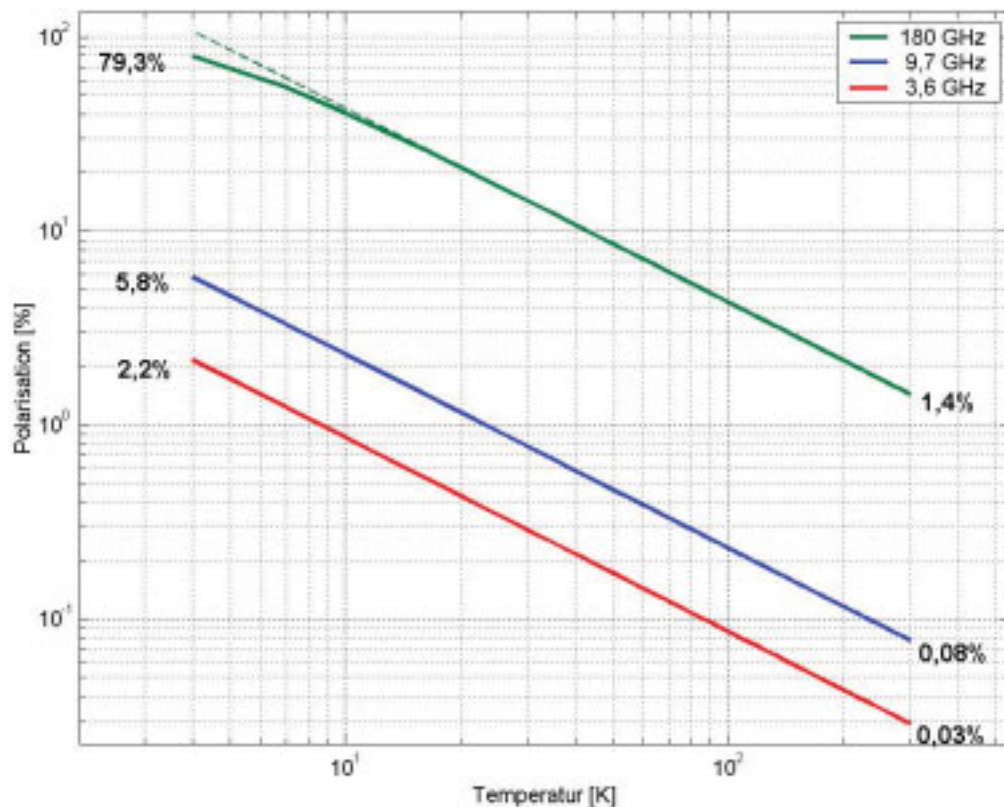


Abb. 2.7: Temperaturabhängigkeit der Polarisation für das S- (3,6 GHz), X- (9,7 GHz) und G-Band (180 GHz) mit den Werten für $\Delta n/\Sigma n$ bei 4 K und 300 K

Für die Abbildung sind die drei Frequenzen gewählt worden, die entsprechend der im Arbeitskreis zur Verfügung stehenden Spektrometer zugänglich sind. Es sind dies neben dem hier besprochenen S-Band-Spektrometer ein kommerzielles X-Band-Spektrometer Eleksys e580 von Bruker, das bei 9,7 GHz arbeitet (siehe 2.7.2) und ein weiterer Eigenbau, ein gepulstes Hochfeld-Spektrometer mit 180 GHz Betriebsfrequenz [Roh01]. Erst bei der zuletzt genannten Frequenz und tiefen Temperaturen ist in der doppelt logarithmischen Darstellung eine drastische Abweichung von der Hochtemperaturnäherung (gestrichelte Linie) zu erkennen. In der Abbildung sind die jeweiligen Polarisationen für die erreichbaren Extremwerte der Temperatur von 4 bzw. 300 K angegeben. Man sieht, daß im Gültigkeitsbereich der Hochtemperaturnäherung die Polarisation linear mit der Frequenz steigt, so daß im Vergleich zu den weitverbreiteten Pulsspektrometern im X-Band, das S-Band-Spektrometer etwa einen Faktor drei verliert.

Die magnetische Polarisation $\Delta n/\Sigma n$ ist der Magnetisierung M_0 der paramagnetischen Probe proportional [Sha76]:

$$\frac{\Delta n}{\Sigma n} \propto M_0 \propto \frac{\Sigma n S(S+1)}{kT} B_0$$

Hierbei ist Σn die Anzahl der paramagnetischen Zentren mit dem Spin S . Außer diesem Beitrag, der vom Spinsystem herrührt, tragen zur Signalintensität auch die Eigenschaften des Detektionszweiges bei. Dessen Verstärkungsfaktor wirkt jedoch auf die Signale und das Nyquist-Rauschen¹², das am Eingang des Detektionszweiges, der sich auf einer Temperatur $T_{\text{Detektion}}$ befindet und eine Bandbreite $\Delta\nu$ besitzt, anliegt. Da jedoch der Detektionskanal selbst eine Quelle von Rauschen darstellt, ist seine Rauschzahl F zu berücksichtigen. Bei einer Probe mit kleiner und feldunabhängiger Linienbreite steigt die Signalintensität linear mit der Güte Q . Da aber auch das Rauschen mit der Güte wächst, jedoch nicht linear, sondern $\propto \sqrt{Q}$, gilt für die Empfindlichkeit nach [Sha76] folgendes:

$$S/N \propto \frac{\sqrt{Q\nu^3}}{\sqrt{F \Delta\nu (kT)^3}}$$

Unberücksichtigt bleibt hierbei die Frequenzabhängigkeit der Relaxationszeiten, die jedoch gleichzeitig auch probenabhängig ist, so daß sich keine sinnvolle, allgemeingültige Frequenzabhängigkeit formulieren läßt. Da das S-Band-Spektrometer dazu konzipiert wurde, dieselben Proben zu untersuchen, die auch in dem X-Band-Spektrometer gemessen werden, wurde die Resonatorgeometrie im S-Band ähnlich der im X-Band gewählt, weshalb Unterschiede des Volumens und des Füllfaktors des Resonators und der Anzahl der Spins unberücksichtigt bleiben können. Da sich auch die Architektur der Detektionszweige nur geringfügig unterscheidet (im wesentlichen durch einen zusätzlichen Limiter im S-Band, siehe 2.1.4.1), kann auch der Einfluß der Rauschzahl vernachlässigt werden. Wenn man als typische Werte für das S-Band $\nu_S = 3,0$ GHz bei einer Güte von $Q_S = 150$ und für das X-Band $\nu_X = 9,7$ GHz bei einer Güte von $Q_X = 200$ einsetzt, so beträgt die relative Empfindlichkeit von X- zu S-Band:

Theorie : $\frac{X}{S} = 4,3$

¹² nach Harry Nyquist, *1889, †1976

2.6.2 Testmessungen

Zur Ermittlung der Empfindlichkeit wurden mit diversen Testproben Puls-Messungen sowohl an diesem Spektrometer als auch an einem kommerziellen gepulsten X-Band-Spektrometer Elexsys e580 von Bruker durchgeführt. Im Falle der langsam relaxierenden Testproben (Perylenkationenradikal-Salz, [Dob87] und γ -bestrahltes Quarzglas, [Eat93]) wurde der freie Induktionszerfall (FID, [Hah50a]) und bei allen anderen Proben, deren FID wegen zu schneller Relaxation unbeobachtbar ist, ein Hahn-Echo [Hah50b] registriert und dessen Amplitude durch die Rauschamplitude geteilt. Hierbei gilt als Rauschamplitude die Standardabweichung der Detektorausgangsspannung in einem signalfreien Zeitbereich [Sha76]. Die auf diese Weise erhaltenen S/N, die für das S-Band und das X-Band unter möglichst identischen Bedingungen gewonnen wurden, geben ein Maß für die relative Empfindlichkeit dieses Eigenbau-Spektrometers im Vergleich zu einem gebräuchlichen Puls-X-Band-Spektrometer.

Die im Rahmen dieser Testmessungen verwendeten Proben waren neben den oben genannten Proben BDPA ((α,γ)-Bisdiphenylen- β -phenylallyl), Tempo (2,2,6,6-Tetramethyl-piperidin-1-oxyl) und Galvinoxyl in verschiedenen Konzentrationen von ca. 0,1mM bis 5 mM, sowie γ -bestrahltes Calciumformat. Repräsentativ für viele vergleichende Messungen sollen hier nur die Ergebnisse von zwei Proben dargestellt werden:

- FIDs vom o.g. Perylenkationenradikal-Salz und
- Hahn-Echos von einer Probe aus Holzkohle.

Perylen-FIDs:

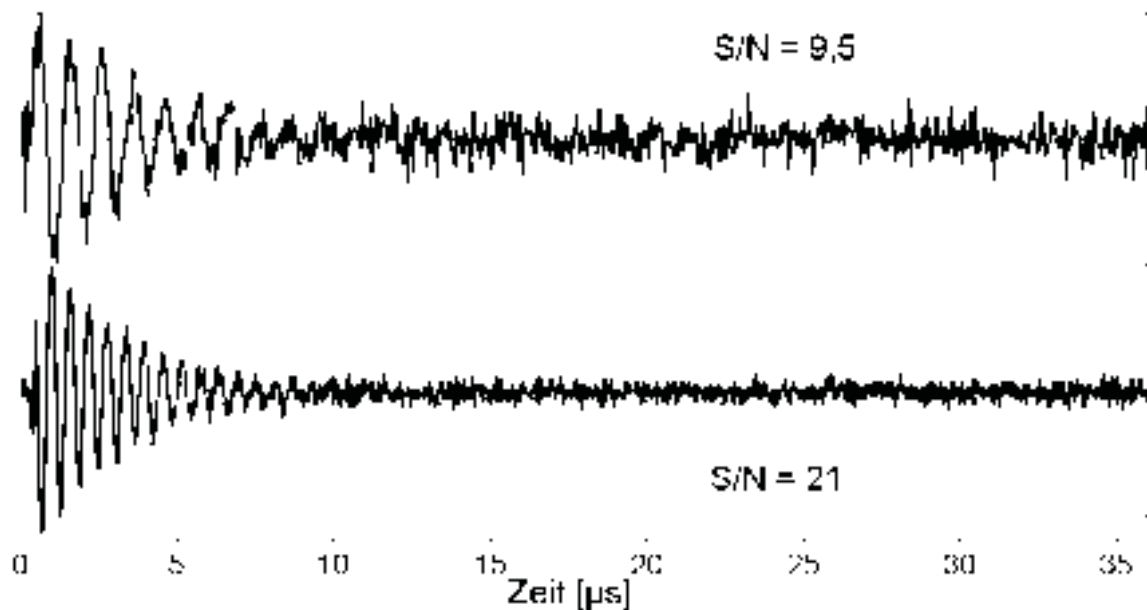


Abb: 2.8: Perylen-FIDs im S-Band bei 3,0 GHz (oben) und im X-Band bei 9,6 GHz (unten)

Die Experimente wurden bei Raumtemperatur durchgeführt. Die Pulslängen betrugen 30 ns (im S-Band) bzw. 32 ns (im X-Band). Die Bandbreiten für die Videosignale waren auf ähnliche Werte gesetzt: 250 MHz im S-Band und 200 MHz im X-Band. Die dargestellten Signale sind „Einzelschüsse“, d.h. es wurde keine Mittelung durchgeführt. Um bei der Messung der Signalamplitude störende Einflüsse, wie Magnetfeldinstabilitäten oder nicht optimale mw-Phase, zu minimieren, wurde das Magnetfeld um einige 100 mG außer Resonanz gefahren, was zu den in den Spektren sichtbaren Oszillationen von 1 - 2 MHz führt. Die normierten Anfangssignale der FIDs ergeben im Verhältnis zu den zwischen 20 und 36 µs ermittelten Standardabweichungen der Rauschsignale im S-Band ein S/N von 9,5 und im X-Band ein S/N von 21. Für diesen Fall beträgt also die relative Empfindlichkeit X/S von X- zu S-Band-Spektrometer:

$$\text{Perylen – FIDs : } \frac{X}{S} = 2,2$$

Kohle-Echos:

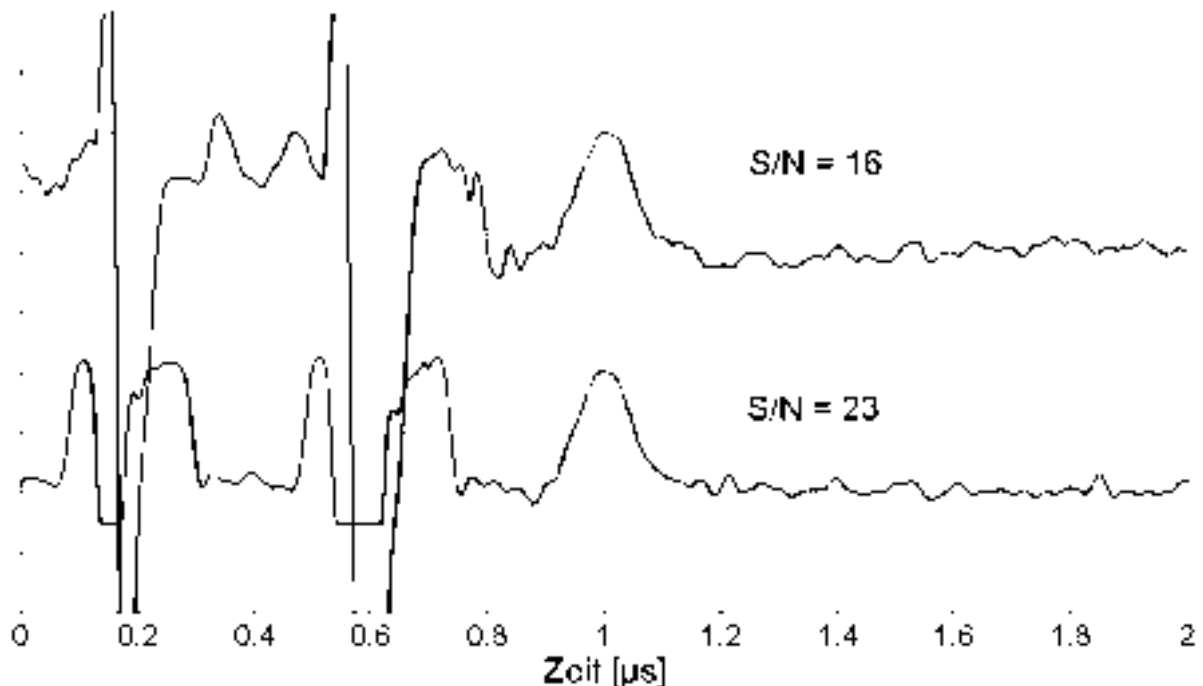


Abb. 2.9: Echos einer Kohleprobe im S-Band bei 3,0 GHz (oben, 100 Mittelungen) und im X-Band bei 9,6 GHz (unten, 10 Mittelungen)

Die Abb. 2.9 zeigt die Hahn-Echos im S-Band (oben) und im X-Band (unten) bei Raumtemperatur. Diese Signale wurden mit Tiefpaßfiltern von 20 MHz im S-Band und 25 MHz im X-Band gefiltert. Der Pulsabstand betrug im S-Band 440 ns und im X-Band 400 ns, wobei die großen Signale jeweils bei etwa 200 bzw. 600 ns von den Pulsen herrühren, deren Längen im S-Band 30/45 ns und im X-Band 40/80 ns betrugen. Die normierten Amplituden der Echos (bei 1 μ s) ergeben im Verhältnis zu den zwischen 1,2 und 2 μ s ermittelten Standardabweichungen der Rauschsignale im S-Band bei 100 Mittelungen ein S/N von 16 und im X-Band bei 10 Mittelungen ein S/N von 23. Unter Berücksichtigung der unterschiedlichen Anzahl an Mittelungen, die linear in die Signalamplitude, aber wegen der statistischen Natur des Rauschens nur mit der Quadratwurzel in dessen Amplitude eingeht, beträgt die relative Empfindlichkeit X/S:

$$\text{Kohle - Echos : } \frac{X}{S} = \frac{23 \sqrt{100}}{16 \sqrt{10}} = 4,5$$

Wegen des frequenzabhängigen Kernmodulationseffektes, der bei dieser Probe durch schwache Hyperfeinkopplungen zu Protonen verursacht wird, wurden die Pulsabstände τ im S-Band- und X-Band-Experiment nicht gleich groß gewählt, sondern, um diesen optimal zu unterdrücken, bei Pulsabständen mit $\tau = n / \nu_P$, wobei ν_P die Larmorfrequenz¹³ freier Protonen im jeweiligen äußeren Magnetfeld und n eine kleine ganze, positive Zahl ist (in diesem Fall $n_S = 2$ und $n_X = 6$). Der etwas kleinere Pulsabstand und damit die weniger fortgeschrittene Relaxation bei der X-Band-Messung haben zur Folge, daß das S/N im X-Band begünstigt wird. Dagegen konnten dort wegen mangelnder mw-Leistung die Pulslängen nicht ebenso kurz wie im S-Band gewählt werden, so daß die o.g. Begünstigung aufgrund eines spektralen Gewinns im S-Band wahrscheinlich leicht überkompensiert wird.

Alle weiteren Messungen von FIDs und Hahn-Echos an den eingangs erwähnten Proben ergaben inklusive der beiden oben gezeigten Beispiele im Mittel ein Verhältnis der Empfindlichkeiten von:

$$\text{Alle Messungen : } \left\langle \frac{X}{S} \right\rangle = 5 \pm 2$$

¹³ nach Sir Joseph Larmor, *1857, †1942. Klassisch: Die Frequenz der Präzession eines kräftefreien Kreisels mit einem magnetischen Moment in einem homogenen Magnetfeld. Quantenmechanisch: Die Frequenz, die dem Abstand zweier Niveaus beim Zeeman-Effekt entspricht.

2.7 Zusammenfassung und Ausblick

Im Rahmen der experimentell erzielbaren Genauigkeit in der Bestimmung der relativen Empfindlichkeit, die von vielen Faktoren wie Relaxation und Kernmodulation abhängen und einen direkten Vergleich unter identischen Bedingungen unmöglich machen, sind die experimentellen Befunde in befriedigender Übereinstimmung mit der Theorie. Die gefundenen Werte zeigen deutlich, daß dieses gepulste S-Band-Spektrometer auch empfindlich genug ist, weniger stark konzentrierte Proben erfolgreich spektroskopieren zu können. Der Empfindlichkeitsverlust wird in vielen Fällen von der drastisch gesteigerten Modulationstiefe im ESEEM-Experiment ausgeglichen bzw. übertroffen, so daß ein Netto-Gewinn an Empfindlichkeit resultiert. Ein zusätzlicher Gewinn entsteht bei Proben, deren Spektren wegen großer g -Anisotropie bei kleinen Frequenzen bzw. Feldern deutlich schmaler und daher die spektrale Dichte größer werden. Dennoch darf nicht vergessen werden, daß eben dieses Motiv für den Bau dieses Spektrometers, die drastisch erhöhte Modulationstiefe, im Extremfall sogar zu einem Empfindlichkeitsnachteil gereicht. Bei schwach gekoppelten Kernen mit großem magnetischen Moment und geringem Abstand kann der Kernmodulationseffekt zu einer sehr starken Dämpfung der Echoamplitude nach kurzer Zeit (evtl. innerhalb der Totzeit) führen, so daß der eigentliche Gewinn zunichte gemacht wird [Rom94]. Ebenso kann die vergleichsweise längere Totzeit, insbesondere in Verbindung mit den kleineren Modulationsfrequenzen, zu der nachteiligen Situation führen, daß nur wenige Perioden der Modulation sichtbar sind.

Daher ist mittelfristig die Weiterentwicklung des Probenkopfes mit dem Ziel, die Totzeit zu reduzieren, eines der vordringlichsten Projekte. Die Herstellung der in 2.5 beschriebenen Resonatoren hat (jedenfalls für die BLGR) gezeigt, daß bei Verwendung des vorhandenen Probenkopfes dem weiteren Herabsetzen der Güte Grenzen gesetzt sind. Um dies dennoch zu realisieren, kann einerseits eine Variation im Durchmesser der Ankoppelschleife für den Einsatz anderer Resonatoren hergestellt werden, oder eine Ankoppelschleife, die statt zu einem Kreisbogen von 90° zu einem solchen von 180° oder 360° geformt ist, was voraussichtlich einen

größeren Kopplungskoeffizienten und somit eine niedrigere Güte erlaubt. Dafür bedarf es jedoch einer gepulsten TWT, deren Gate schnell genug herunterschaltet.

Da diese Maßnahmen zu einem weiteren Empfindlichkeitsverlust führen, sollte langfristig an die Entwicklung eines neuen Probenkopfes zur Aufnahme eines Bimodalresonators gedacht werden. Dadurch kann die Totzeit massiv reduziert werden, wobei gleichzeitig bei optimal angepaßter Güte ein Maximum an Empfindlichkeit erreicht wird.

In Verbindung mit dem Bimodalresonator könnten noch weitere Verbesserungen der Rauschzahl des Detektionskanals realisiert werden. Die Gesamttauschzahl F_{Gesamt} eines Empfängers, der aus n hintereinander geschalteten Komponenten besteht, ist gegeben durch [Poo67]:

$$F_{\text{Gesamt}} = F_1 + \frac{F_2 - 1}{G_1} + \frac{F_3 - 1}{G_1 G_2} + \dots + \frac{F_n - 1}{G_1 G_2 \dots G_{n-1}}$$

Hierbei ist F_i die Rauschzahl und G_i der Verstärkungsfaktor jeder einzelnen Komponente i . Hieraus ist zu erkennen, daß die Rauschzahlen derjenigen Komponenten, die sich hinter dem ersten Bauteil mit einem großen Verstärkungsfaktor befinden, nur noch unwesentlich zur Gesamttauschzahl beitragen. Aus diesem Grund werden EPR-Spektrometer grundsätzlich mit einem Vorverstärker im Eingang des Detektionszweiges ausgerüstet [Hoe78]. Um bei gepulsten Messungen diesen Verstärker vor den Reflektionen der Hochleistungspulse bzw. dem Resonatorklingeln zu schützen, werden üblicherweise Limiter und/oder schnelle PIN-Schalter vorgeschaltet, wodurch die Gesamttauschzahl beträchtlich steigt. Wie in [Rin99a] vorgeschlagen, könnte man unter Verwendung eines auf GaAs basierenden Limiters, dessen Rauschmaß von 1,3 dB bei RT auf 0,02 dB bei 4 K sinkt, diesen und einen für tiefe Temperaturen geeigneten Vorverstärker zusammen mit dem Resonator abkühlen und auf diese Weise niedrigste Rauschzahlen erreichen. Weiterhin kann man wie bei dem in 1.3 erwähnten S-Band-Spektrometer der Gruppe von S. und G. Eaton einen Bimodalresonator auch für cw-Messungen an langsam relaxierenden Proben mittels Heterodyntechnik nutzbar machen.

Die Rauscheigenschaften des Anregungskanal sind zwar weit weniger kritisch als die der Detektion, dennoch wäre es vorteilhaft, den TWT-Verstärker jederzeit optimal ausgesteuert zu betreiben. Dazu sollte der in 2.1.3.3 erwähnte 10dB-Festabschwächer am Ausgang des TWT-Verstärkers durch einen variablen Rotary-Vane-Abschwächer ersetzt werden.

Der letzte zu diskutierende und zuweilen auffälligste Nachteil dieses Spektrometers gegenüber dem kommerziellen Puls-X-Band-Spektrometer e580 von Bruker ist die große Dauer für das Aktualisieren des Pulsmusters während der Messung, welches ca. 1 s dauert im Vergleich zu ca. 1 ms für das X-Band-Spektrometer. Bei X-Band-Messungen ist es in Bezug auf die Meßdauer gleichgültig, ob man das S/N dadurch verbessert, daß man jeden einzelnen Datenpunkt mehrfach mißt (engl. averaging) oder den gesamten Datenzug mehrfach aufnimmt (engl. scanning). Dagegen stellt ein mehrfaches Scannen im S-Band sehr häufig eine nicht akzeptable zeitliche Verzögerung dar, weshalb statt dessen mit entsprechend größerer Anzahl an Mittelungen gearbeitet werden muß. Dies hat jedoch zur Folge, daß sich Schwankungen bzw. Instabilitäten (z.B. Änderungen der Umweltbedingungen) auf langer Zeitskala von Minuten bis Stunden nicht herausmitteln, sondern sich als beträchtliche Störungen in den Spektren niederschlagen können. Daher sollte ein Pulsgenerator zum Einsatz kommen, der ein mit der Repetitionsrate des Experimentes vergleichbar schnelles Aktualisieren des Pulsmusters bewerkstelligt.

3 Abstandsbestimmung mittels PELDOR

3.1 Einleitung

Abstandsbestimmungen spielen in vielen Forschungsbereichen, wie z.B. Materialwissenschaften, Chemie und Biochemie, eine wesentliche Rolle bei der Strukturaufklärung. Als sehr leistungsfähige Methode der Kristallstrukturanalyse hat sich die auf den Laueschen¹⁴ Versuch von 1912 zurückgehende Röntgenstrukturanalyse¹⁵ erwiesen. In der Biochemie dient diese Methode zur lokalen und globalen Strukturaufklärung mit atomarer Auflösung für eine Vielzahl von Makromolekülen wie Proteine (z.B. im photosynthetischen Reaktionszentrum eines Bakteriums, [Dei85]) oder Ribosomen (z.B. die große Untereinheit eines bakteriellen Ribosoms mit einem Molekulargewicht von 2,6 MDa, [Ban00]). Bei vielen Untersuchungsobjekten bereitet allerdings die Kristallisation große Schwierigkeiten oder die Proben liegen naturgemäß als amorpher Festkörper vor, so daß aufgrund des Fehlens von periodischen Strukturen eine alternative Methode benötigt wird. Nicht selten besteht auch bei Röntgenstrukturen von Proteinen ausreichender Auflösung ein Zweifel, ob die gefundene Struktur mit derjenigen unter physiologischen Bedingungen identisch ist, insbesondere, falls die katalytische Aktivität des Proteins im Kristall nicht mehr gegeben ist.

Alternative Methoden zur Strukturbestimmung in Lösung sind die NMR-Spektroskopie [Ric00], die ebenfalls präzise lokale und globale Strukturinformationen liefert, sowie Fluoreszenz-Energie-Transfer-Messungen [Wal98] und die EPR, die jedoch aufgrund ihrer Beschränkung auf Fluorophore bzw. paramagnetische Zentren nur lokale Strukturen aufzuklären vermögen. Allerdings ist die Reichweite der meßbaren Wechselwirkungen der EPR im Vergleich zur NMR wegen des deutlich stärkeren magnetischen Momentes des Elektrons gegenüber dem des Protons wesentlich größer.

¹⁴ nach Max von Laue, *1879, †1960, Nobelpreis 1914

¹⁵ nach Wilhelm Conrad Röntgen, *1845, †1923, erster Physik-Nobelpreis 1901

Hierbei vermag zwar die cw-EPR nur relativ starke Kopplungen aufzulösen, die mindestens von der Größenordnung der inhomogenen Linienbreite sind. Das können starke Kopplungen zu benachbarten Kernen sein (Hyperfeinwechselwirkung) oder zu anderen paramagnetischen Zentren über dipolare oder Austauschwechselwirkung. Mit gepulsten Methoden wie ESEEM oder Doppelresonanzmethoden wie ENDOR sind Hyperfeinwechselwirkungen zu weiter entfernten Kernen mit Abständen von bis zu 0,8 nm und Kernquadrupol-Kopplungen, die meistens sehr schwach sind, meßbar. Dieser Bereich wird noch einmal auf ca. 6 nm [Mil98] für dipolare Elektron-Elektron-Wechselwirkungen mittels PELDOR¹⁶ (Pulsed ELEktron DOuble Resonance) erweitert. Biologisch relevante Anwendungen dieser Methode wurden vorwiegend am Photosystem II durchgeführt. In [Kur00] wurde die Position des Cytochroms b_{559}^+ relativ zum primären Akzeptor Q_A^- bestimmt und in [Ast98] die Orientierung der Tyrosine Y_D und Y_Z und des Mn-Komplexes im OEC (oxygen-evolving centre) relativ zur Ebene der Thylakoid-Membran. Weiterhin wurde PELDOR zur Untersuchung der Sekundärstruktur von doppelt spingelabelten Peptiden [Mil99, Mil01] benutzt.

Das PELDOR-Experiment besteht darin, daß auf einer Frequenz ω_A ein Hahn-Echo mit großem festen Pulsabstand τ erzeugt wird, zu dem Spins eines Ensembles A beitragen. Zu einem variablen Zeitpunkt T nach dem ersten Puls wird ein π -Puls einer zweiten Frequenz ω_B eingestrahlt, der die Magnetisierung eines von A verschiedenen Spinensembles B um 180° dreht. Der Effekt dieser Änderung auf das Ensemble A wird über die Echoamplitude in Abhängigkeit der Position T des ω_B -Pulses ausgelesen.

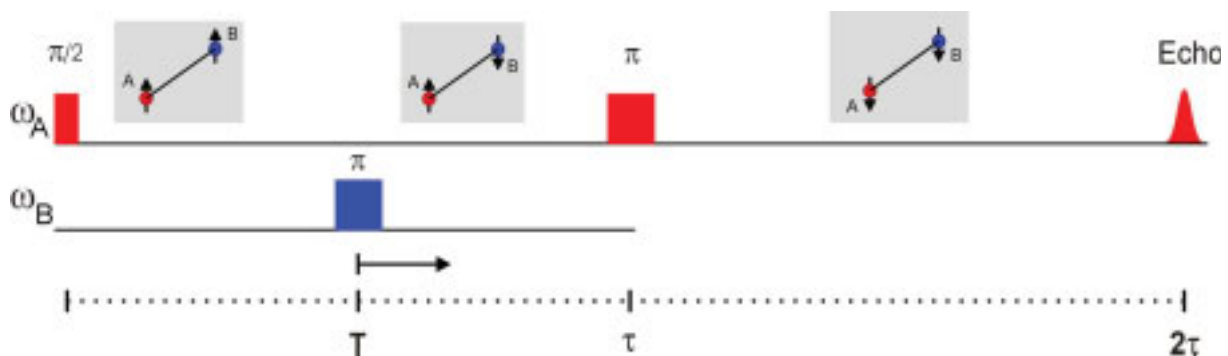


Abb.:3.1 PELDOR-Sequenz

¹⁶ In der Literatur auch DEER (Double Electron Electron Resonance, [Lar93]) genannt.

Dieser Effekt äußert sich in Form einer Oszillation der Echoamplitude, verursacht durch dipolare Wechselwirkungen von Spinpaaren mit einem festen Abstand. Um die dipolare Kopplung eines Spinpaares zur Abstandsbestimmung genau messen zu können, muß die Echomodulation über einen möglichst großen Bereich von T registriert werden. Da die Konzentration der zu untersuchenden Proben für ausreichende Signalintensität üblicherweise im Bereich von 0,1 - 1 mM gewählt wird, liegen auch intermolekulare Wechselwirkungen mit einer zufälligen Abstandsverteilung im Empfindlichkeitsbereich des Experimentes vor. Diese äußern sich in Form einer Dämpfung der Echoamplitude bei wachsendem T durch instantane Diffusion [Kla62]. Obwohl diese Dämpfung für die Abstandsbestimmung nachteilig ist, können doch Aussagen über die Konzentration getroffen oder festgestellt werden, ob sich Aggregate von mehreren Molekülen bilden [Mil00]. Die Dämpfung läßt sich auf Kosten der Echoamplitude durch Verdünnung der Probe reduzieren. Die Echoamplitude sinkt aber nicht nur wegen der Dämpfung durch intermolekulare Wechselwirkungen, sondern zusätzlich gemäß der Phasengedächtniszeit T_M mit dem Abstand τ zwischen den beiden ω_A -Pulsen, der für eine gute spektrale Auflösung möglichst groß gewählt wird. Deshalb werden die Experimente vorzugsweise bei niedrigen Temperaturen (5 - 20 K) durchgeführt.

Für jedes zu untersuchende System bedarf es eines Kompromisses zwischen der gewünschten Orientierungsselektion, also der Wahl der Frequenzen ω_A und ω_B , die von der Gestalt des Spektrums (bzw. der Spektren, falls A und B unterschiedliche Spezies sind oder unterschiedliche Umgebungen besitzen) abhängen, und den entsprechenden Pulslängen t_{PA} und t_{PB} , die die Anregungsbandbreite der Pulse bestimmen. Diese sollten für ein ideales PELDOR-Experiment keinerlei Überlapp besitzen, um Beiträge von Hyperfeinwechselwirkungen zu unterdrücken. In realen Experimenten sind solche Beiträge selten gänzlich auszuschließen.

Der Extremfall, bei dem die Frequenzen identisch gewählt werden (unter Verwendung einer einzelnen mw-Quelle) wird „2+1“-Sequenz genannt [Kur89] und kann in Form von „2+1“-SECSY (Spin-Echo Correlated Spectroscopy) zusätzlich zur Ermittlung von dipolaren Kopplungen auch gezielt zur Untersuchung von Hyperfeinwechselwirkungen benutzt werden [Rai95, Bor95]. Bei dieser „pulse

adjustable“-Methode werden durch Variation der Pulsparameter die verschiedenen Wechselwirkungsbeiträge separiert. Für Fälle, bei denen es möglich ist, das gesamte Spektrum anzuregen, können mit der „2+1“-Sequenz Beiträge von Hyperfein-WW weitgehend unterdrückt werden [Rai95, Bor00]. Für die Spektrenbreite der häufig untersuchten Nitroxid-Spinlabel von etwa 200 MHz (bei Frequenzen unterhalb des W-Bandes) wird es jedoch bei Frequenzen unterhalb des X-Bandes zunehmend schwieriger, eine solche Anregungsbandbreite zu erreichen, welche gleichzeitig eine zusätzliche Erniedrigung der Empfindlichkeit bedeutet, da sie mit einer Reduktion der Güte verbunden ist. Bei höheren Frequenzen wird eine solche Anregungsbandbreite bei noch relativ hohen Güten erreicht, wobei gleichzeitig der Kernmodulationseffekt abnimmt (2D-ELDOR bei 17 GHz, [Bor97]).

Alternative Methoden zur Untersuchung von Elektron-Elektron-Wechselwirkungen sind das „Out-of-Phase“-ESEEM (OOP-ESEEM, [Sal92]), das „Relaxation-Induced Dipolar Modulation Enhancement“-Experiment (RIDME, [Kul01]), die „Single-Frequency TEchniques for Refocusing dipolar couplings“ (SIFTER, [Jes00]) und die „Double-Quantum EPR“ (DQE, [Bor99]). Allen Methoden gemeinsam ist, daß der Kernmodulationseffekt zwar durch Ausnutzung von „blind spots“ [Mim72b, Mer79] unterdrückt oder durch Verwendung hoher Betriebsfrequenz reduziert, aber nie vollständig ausgeschaltet werden kann. Besonders bei Proben, deren Hyperfeinkopplung noch nicht vollständig bestimmt wurde, kann dies zu Fehlinterpretationen führen.

Zur zweifelsfreien Bestimmung einer dipolaren Elektron-Elektron-Wechselwirkung ist es daher sinnvoll und unter Umständen notwendig, Messungen in zwei verschiedenen Frequenzbändern durchzuführen, um diese Wechselwirkung von Hyperfeinbeiträgen zu separieren, die der Kern-Larmorfrequenz aufgeprägt sind. Des weiteren findet bei sonst identischen Meßparametern über die frequenzabhängigen (g-Tensor) und frequenzunabhängigen (Hyperfeinwechselwirkung) Beiträge zum Spektrum eine unterschiedliche Orientierungsselektion statt, die je nach Probe zu einer Präferenz für höhere oder niedrigere Frequenzen führt. So kann durch die Wahl einer niedrigen Frequenz der PELDOR-Effekt vergrößert werden, falls eine der untersuchten Spezies eine große g-Anisotropie (z.B. Mo(V) in [Ast99]) aufweist.

Um diese Multifrequenz-PELDOR-Methode zu einem leistungsfähigen Werkzeug für die Aufklärung der Struktur und Dynamik von RNA-Liganden-Komplexen zu machen, wurden anfangs zwei gut charakterisierte Modellsysteme untersucht (Nitroxid-Biradikale **1** und **2**, Struktur siehe 3.3). Hierbei sollten nicht nur die früheren Ergebnisse, die im X-Band erzielt wurden, zur Kontrolle reproduziert, sondern besonders die speziellen Eigenschaften dieser Methode im S-Band herausgearbeitet werden. Diese Messungen sind in den Abschnitten 3.5.1 bis 3.5.3 dargestellt.

Darauf folgen Abschnitte mit Messungen an Proben, die unter Verwendung der Nitroxid-Spinlabel **TPC** und **TPA** (Strukturen siehe 3.3) synthetisiert wurden. Mit diesen Proben sollte erstens die untere Grenze der Empfindlichkeit der Methode und zweitens der Einfluß der Austauschwechselwirkung, die bei kleiner werdenden Spin-Spin-Abständen an Bedeutung gewinnt, aber bisher nicht mit dieser Methode untersucht worden ist, ermittelt werden. Es handelt sich hierbei um zwei Proben, in denen die Nitroxid-Spinlabel über Acetylengruppen verbrückt sind, so daß mittels des auf diese Weise hergestellten konjugierten π -Systems die Vermittlung der Austauschwechselwirkung begünstigt wird. Die Messungen zu diesen Verbindungen (**BITPAP** und **BITPAB**) werden in 3.5.4 gezeigt.

Es folgen in Abschnitt 3.5.5 Messungen an zwei weiteren Verbindungen (**BIESTERPHY** und **BIESTERBI**), die annähernd dieselben Spin-Spin-Abstände aufweisen, deren Nitroxide jedoch nicht über Acetylen- sondern über Estergruppen verbrückt sind. Da auf diese Weise die Konjugation unterbrochen ist, kann man einen starken Unterdrückungseffekt auf die Austauschwechselwirkung erwarten.

In Abschnitt 3.5.6 werden die ersten erfolgreichen PELDOR-Messungen an doppelt gelabelter RNA vorgestellt.

Vor der Präsentation der o.g. Messungen (3.5) wird im Abschnitt 3.2 in die theoretischen Grundlagen zum Verständnis des PELDOR-Experimentes eingeführt, in 3.3 die Strukturen der untersuchten Proben dargestellt und in 3.4 auf technische Besonderheiten zur PELDOR-Spektroskopie aufmerksam gemacht. Im Anschluß an die Messungen werden diese in 3.6 zusammengefaßt und diskutiert.

3.2 Theoretische Betrachtungen

In diesem Abschnitt soll als Modellsystem ein Molekül betrachtet werden, welches zwei identische Nitroxidspinlabel A und B trägt, die einen festen Abstand und eine feste Orientierung zueinander haben. Weiterhin soll die Hochfeldnäherung gelten, d.h. die Wechselwirkung der beiden Spins untereinander soll sehr viel kleiner sein, als der Elektron-Zeeman-Term, so daß man als Quantisierungsachse die Richtung des äußeren Magnetfeldes annehmen kann, die als z-Komponente gewählt wird. Für die Spins S gilt $S^A = S^B = \frac{1}{2}$. Die Resonanzfrequenzen der beiden Spins ohne gegenseitige Wechselwirkung seien ω_A bzw. ω_B und die Wechselwirkung ω_{AB} . Das System kann dann in der Hochfeldnäherung über folgenden Hamiltonoperator¹⁷ beschrieben werden:

$$\frac{\mathbf{H}}{\hbar} = \omega_A \mathbf{S}_Z^A + \omega_B \mathbf{S}_Z^B + \omega_{AB} \mathbf{S}_Z^A \mathbf{S}_Z^B$$

Die Wechselwirkung zwischen den beiden Spins hat im allgemeinen zwei Beiträge. Die Dipol-Dipol-Wechselwirkung ω_{AB} ist anisotrop und wird durch die dipolare Kopplungskonstante ω_{Dip} und den Winkel Θ_{rz} zwischen der Richtung des äußeren Magnetfeldes z und dem Dipol-Verbindungsvektor r charakterisiert. Der zweite Beitrag [Mil99, Mil98], die Austauschwechselwirkung J , die bei endlicher Aufenthaltswahrscheinlichkeit beider Elektronen im selben Orbital (*through space*), oder wegen eines zwischen den Spinzentren befindlichen, durch Elektronendelokalisierung oder Spinpolarisation vermittelnden Orbitalsystems (*through bond*) auftritt, ist isotrop. Wenn man für den Beitrag der Austauschwechselwirkung $\mathbf{H}_{Austausch}$ zum Gesamt-Hamiltonoperator

$$\mathbf{H}_{Austausch} = J \mathbf{S}_Z^A \mathbf{S}_Z^B$$

schreibt [Ben90, Hus00], dann besitzt ein antiferromagnetisch gekoppeltes System, dessen Triplettzustand energetisch höher liegt als der Singulett-Grundzustand, einen Wert von $J > 0$. Im umgekehrten Fall, also bei ferromagnetischer Kopplung mit Triplett-Grundzustand, ist $J < 0$.

¹⁷ nach Sir William Rowan Hamilton, *1805, †1865

Die auf diese Weise definierte Austauschwechselwirkung J trägt (im Gegensatz zu der nach $\mathbf{H} = -J \mathbf{S}^A \mathbf{S}^B$ definierten, [Kah93]) additiv zur dipolaren Kopplung bei:

$$\omega_{AB} = \omega_{Dip}(3 \cos^2 \Theta_{rz} - 1) + J$$

Die Austauschwechselwirkung J nimmt sehr viel schneller mit dem Abstand ab als die dipolare Wechselwirkung und kann daher für hinreichend große Abstände vernachlässigt werden. Die dipolare Kopplungskonstante ω_{Dip} beinhaltet neben den Naturkonstanten μ_{Bohr} (Bohrsches Magneton), μ_0 (magnetische Feldkonstante) und h (Plancksches Wirkungsquantum) die g -Faktoren der beteiligten Elektronen g_A und g_B und deren Abstand r_{AB} .

$$\omega_{Dip} = \frac{\mu_{Bohr}^2 \mu_0 g_A g_B}{2h} \frac{1}{r_{AB}^3}$$

Die Modulation der Echoamplitude, die in der PELDOR-Spektroskopie auftritt, kann auf einfache Weise anhand der Präzession der Magnetisierungen im rotierenden Koordinatensystem veranschaulicht werden.

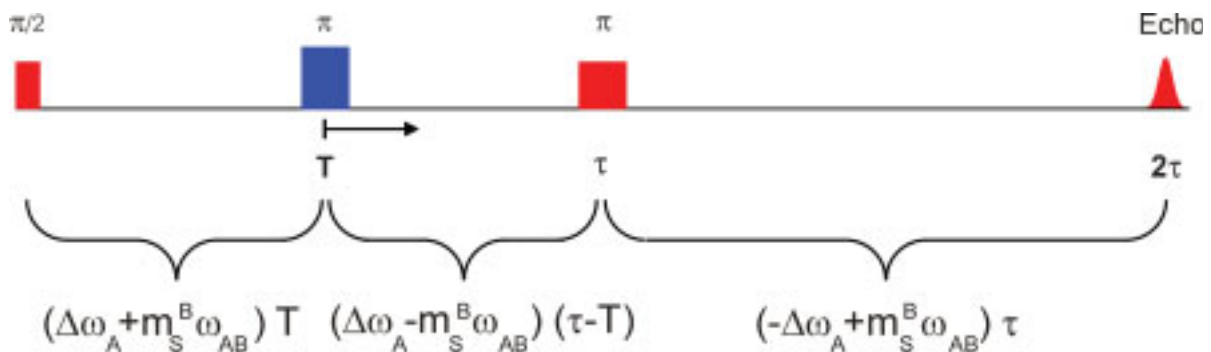


Abb. 3.2: PELDOR-Sequenz

Im folgenden sollen nur Spins des Ensembles A, die zum detektierten Signal beitragen (rot), im mit der Frequenz ω_A rotierenden Koordinatensystem betrachtet werden. Durch den ersten Puls mit der Frequenz ω_A werden diese Spins in die Transversalebene gedreht, worauf sich deren Magnetisierung zusätzlich zu der Auffächerung durch Inhomogenitäten ($\Delta\omega_A$) auch unter dem Einfluß der zu untersuchenden dipolaren Kopplung, entsprechend des Zustandes der B-Spins $m_S^B = \pm 1/2$, entwickelt: $\Delta\omega_A + m_S^B \omega_{AB}$.

Zu einem variablen Zeitpunkt T wird ein Pumpimpuls der Frequenz ω_B eingestrahlt, der die Orientierung der Spins B (blau) und damit die indirekte Wirkung auf die Spins A invertiert: $\Delta\omega_A - m_S^B \omega_{AB}$. Der letzte Puls auf der Detektionsfrequenz ω_A invertiert alle vom Spin A abhängigen Terme: $-\Delta\omega_A + m_S^B \omega_{AB}$. Die insgesamt akkumulierte Phase zum Zeitpunkt des Echos $\phi(2\tau)$ in Abhängigkeit der Position T des Pumpimpulses beträgt:

$$\begin{aligned}\phi(2\tau) &= (\Delta\omega_A + m_S^B \omega_{AB})T + (\Delta\omega_A - m_S^B \omega_{AB})(\tau - T) + (-\Delta\omega_A + m_S^B \omega_{AB})(2\tau - \tau) = \\ &= 2m_S^B \omega_{AB} T = \pm \omega_{AB} T\end{aligned}$$

Diese Phase wird daher der Echoamplitude aufgeprägt: $I(T) = I_0 \cos(\omega_{AB} T)$. Hierbei sei I_0 die Echoamplitude im Falle fehlender Kopplung. Man erhält dann durch Fouriertransformation¹⁸ (FT) des Zeitspektrums direkt die Frequenz ω_{AB} . Da der B-Spin zwei Einstellungsmöglichkeiten m_S^B besitzt, tritt die Frequenz ω_{AB} mit beiden Vorzeichen auf, woraus eine Aufspaltung in ein Dublett erfolgt.

Für einen festen Abstand r_{AB} und eine Mittelung der Kopplung $\omega_{AB} = 2\pi \nu_{AB}$ über alle Orientierungen Θ_{rz} ergibt sich unter Vernachlässigung eines isotropen Anteils (Austauschwechselwirkung) ein Spektrum gemäß dem sog. Pake-Dublett ([Pak48], Abb. 3.3 a). Für eine orthogonale Ausrichtung des Verbindungsvektors r_{AB} zum externen Magnetfeld (z-Richtung), also $\Theta_{rz} = 90^\circ$, ist $\nu_{AB} = -\nu_{Dip}$. Daher befindet sich das Maximum des Spektrums entsprechend der größten spektralen Dichte bei der Frequenz ν_{Dip} . Die kleinste spektrale Dichte wird von Molekülen mit $\Theta_{rz} = 0^\circ$ erzeugt. Für diese Orientierungen erreicht ν_{AB} seinen Maximalwert von $2\nu_{Dip}$.

¹⁸ nach Jean-Baptiste Joseph Baron de Fourier, *1768, †1830

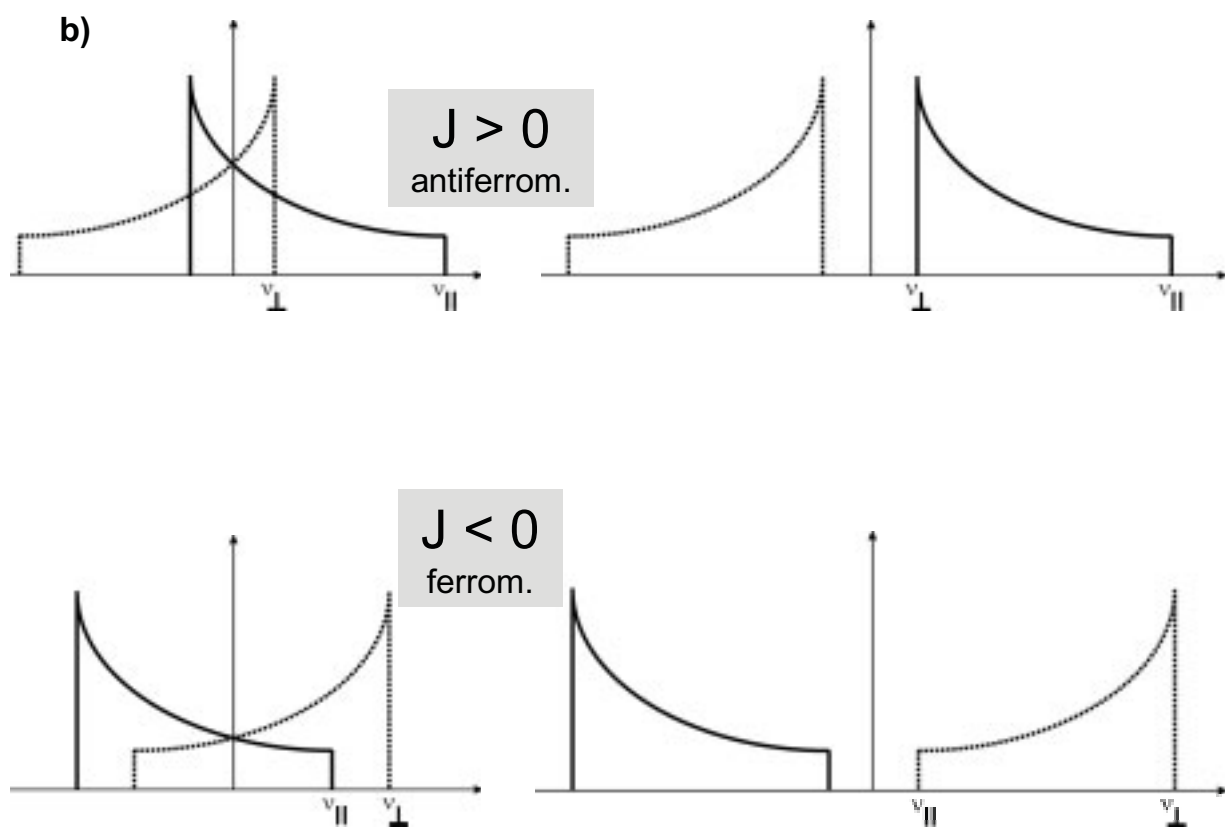
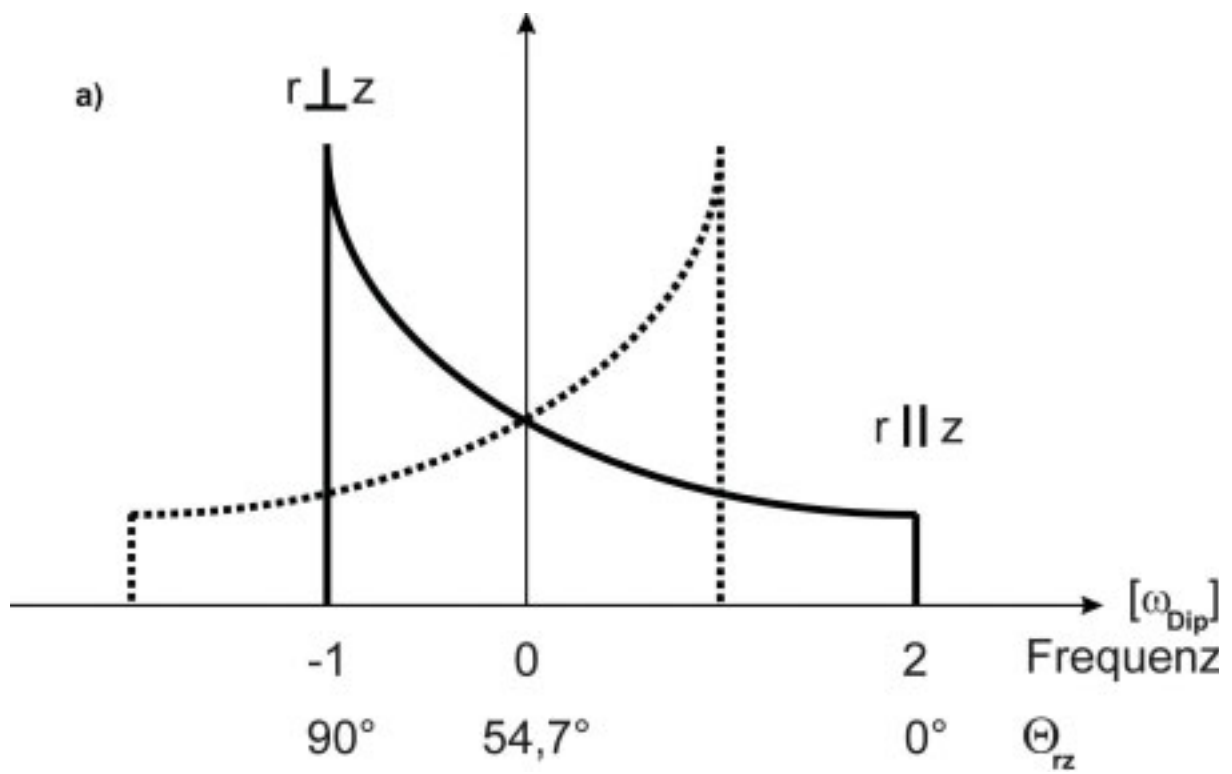


Abb. 3.3 a): Pake-Muster, b) Einfluß der Austauschwechselwirkung

Diese Komponenten des Pake-Dubletts werden im Falle des Auftretens einer Austauschwechselwirkung in verschiedene Richtungen um J verschoben (siehe Abb. 3.3 b). Aus den beiden Singularitäten $\nu_{\perp}$ bzw. $\nu_{\parallel}$ kann dann die dipolare Kopplungskonstante ν_{Dip} errechnet und der Betrag und das Vorzeichen der Austauschwechselwirkung J bestimmt werden. Aus

$$\nu_{\perp} = \left| -\nu_{\text{Dip}} + \frac{J}{2\pi} \right| \quad \text{und} \quad \nu_{\parallel} = \left| 2\nu_{\text{Dip}} + \frac{J}{2\pi} \right|$$

folgt für den Fall, daß die Komponenten des Pake-Dubletts überlappen, also bei der Frequenz $\nu = 0$ die spektrale Dichte nicht verschwindet (Abb. 3.3 b, links),

$$\nu_{\text{Dip}} = (\nu_{\perp} + \nu_{\parallel})/3 \quad \text{und} \quad \frac{J}{2\pi} = (-2\nu_{\perp} + \nu_{\parallel})/3$$

Wenn die Komponenten des Pake-Dubletts nicht überlappen, also bei der Frequenz $\nu = 0$ die spektrale Dichte verschwindet (Abb. 3.3 b, rechts), dann gilt:

$$\nu_{\text{Dip}} = |\nu_{\perp} - \nu_{\parallel}|/3 \quad \text{und} \quad \frac{J}{2\pi} = \frac{\nu_{\parallel} - \nu_{\perp}}{|\nu_{\parallel} - \nu_{\perp}|} (2\nu_{\perp} + \nu_{\parallel})/3$$

Das experimentelle Spektrum hat üblicherweise Abweichungen vom Pake-Muster, die von drei Ursachen herrühren. Jede spektrale Position ist entsprechend der Konformationsunterschiede und daraus folgenden Abstandsverteilung verbreitert, wodurch die scharfen Kanten verlorengehen. Da man in dem vorliegenden Fall nicht in der Lage ist, alle Orientierungen gleichmäßig anzuregen, wird das Spektrum von einer entsprechenden Wichtungsfunktion überlagert. Zudem ist die oben beschriebene PELDOR-Sequenz, die in dieser Arbeit ausschließlich angewendet wurde, im Gegensatz zu der in [Pan00] beschriebenen 4-Puls-Sequenz totzeitbehaftet. Wie für ESEEM gezeigt wurde [Ast87], können die breiten spektralen Komponenten des Spektrums wegen ihrer starken zeitlichen Dämpfung in der Totzeit der Messung verlorengehen, so daß nach der FT lediglich die Hauptwerte der Tensoren als Linien hervortreten.

Die Auswahl der Spinensembles A und B durch die Anregung bei den Frequenzen ν_A (blau) und ν_B (rot) ist in der folgenden Abb. 3.4 für zwei mögliche Anregungsprofile im S-Band dargestellt. Für die Elektron-Elektron-Wechselwirkung zwischen den Nitroxid-Spinlabeln kann in den meisten der hier untersuchten Fälle davon ausgegangen werden, daß diese klein ist im Vergleich zur inhomogenen Linienbreite, da die Proben in gefrorener Lösung (ungeordnetes Pulver) bei 5 - 20 K gemessen wurden. Daher entsprechen die EPR-Spektren jener Biradikale für nicht zu große Elektron-Elektron-Wechselwirkungen denen des reinen Spinlabels **TPA**. Zur Simulation der S-Band-Spektren in Abb. 3.4 a) und b) wurden für den schwach anisotropen g-Tensor und den quasi axialsymmetrischen Hyperfeintensor A folgende Werte verwendet:

$$g_{xx} = 2,0088; g_{yy} = 2,0070; g_{zz} = 2,0025;$$

$$A_{xx} = 2 \text{ G}, A_{yy} = 3 \text{ G}, A_{zz} = 33 \text{ G},$$

$$\text{Linienbreite } 7 \text{ G [Fri00]}$$

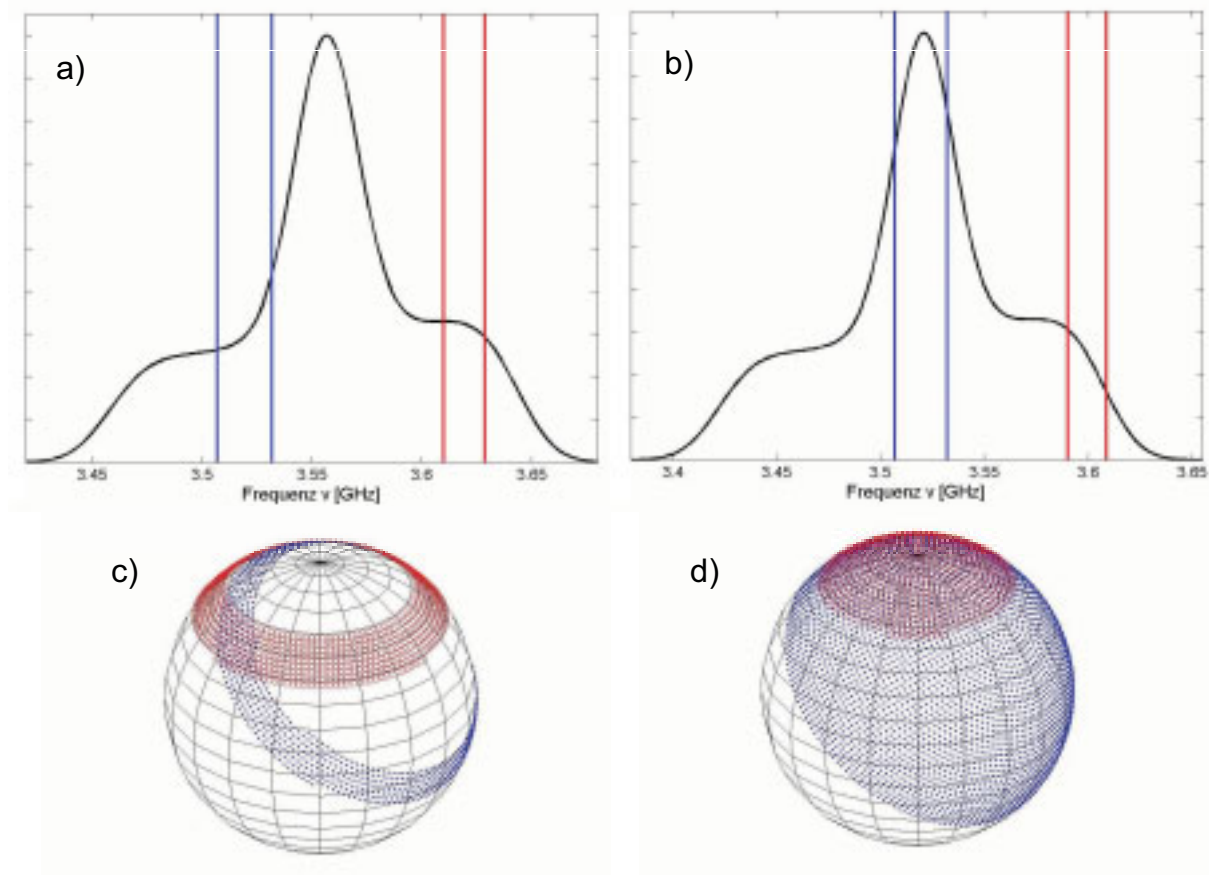


Abb. 3.4 Spektrale Anregung und Orientierungsselektion

Wegen der großen Hyperfeinkomponente von $A_{zz} = 33$ G, die senkrecht auf der Ebene des Nitroxid-5-Rings steht, wird über die spektrale Position der Anregung vorwiegend zwischen Elektronenspins mit Kernspin-Unterstufen $m_I = -1$ (linke Schulter, kleine Frequenzen), $m_I = 0$ (zentraler Bereich nahe $g = 2$) oder $m_I = +1$ (rechte Schulter, große Frequenzen) unterschieden.

In Abb. 3.4 a) ist die Situation dargestellt, in der mit einer Frequenz von 3,62 GHz, also vorwiegend im Bereich von $m_I = +1$ angeregt wird (in rot). Innerhalb dieser Kernspin-Mannigfaltigkeit wählt man auf diese Weise Orientierungen aus, die in der Abb. 3.4 c) in rot für eine Hemisphäre im magnetischen Hauptachsensystem des Nitroxids dargestellt sind. Über diese spektrale Position werden vorzugsweise solche Orientierungen erreicht, die weder in polare noch in äquatoriale Richtung zeigen. Mit einer Trägerfrequenz von 3,52 GHz (blau) wird in der Mannigfaltigkeit $m_I = -1$ ein ähnlicher Satz von Orientierungen ausgewählt. Wegen der größeren Nähe zu den Hauptwerten A_{xx} (parallel zur N-O-Bindung im Nitroxid) und A_{yy} (senkrecht zu A_{xx} und A_{zz}) bei 3,56 GHz befindet sich der entsprechende „Gürtel“ jedoch näher an der Äquatorialebene. Dieser Gürtel aus B-Spins ist in Abb. 3.4 c) entsprechend der Orientierung beider Spinlabel in einem Molekül gegen den Gürtel der A-Spins gekippt. Die sichtbaren und die (wegen der nicht dargestellten zweiten Hemisphären beider Ensembles) unsichtbaren überlappenden Bereiche symbolisieren den Anteil der Spins, die paarweise auf einem Molekül angeregt werden und somit zum PELDOR-Effekt beitragen können.

Im Vergleich zu der in Abb. 3.4 b) und d) gezeigten Situation besitzen diese Bereiche eine kleinere Fläche, was auf einen geringeren PELDOR-Effekt schließen läßt. Der signifikante Unterschied dieser Wahl der Anregungsfrequenzen besteht darin, daß zum einen der Kernspin-Unterstufen $m_I = 0$ (in blau) angeregt wird, bei dem man wegen der geringen g -Anisotropie schon mit weichen Pulsen, also geringer spektraler Anregungsbandbreite, alle Orientierungen erreicht. Somit ist die Anregung bei dieser Frequenz auch unselektiv in Bezug auf die Molekülorientierung. Deshalb wurde in allen PELDOR-Experimenten (3.5) diese Position für die Pumpimpulsfrequenz gewählt.

Die Auswahl der Molekülorientierungen wird dann erst durch die Wahl der zweiten Frequenz (in rot) eingeführt, wobei der Überlapp mit den durch die erste Frequenz präparierten Orientierungen vollständig ist (siehe Abb. 3.4 d). Die Anregung mit der zweiten Frequenz erfolgt in diesem Beispiel (mit einem Abstand von 80 MHz) bei Orientierungen um die Pole, d.h. bei solchen Spinlabeln, deren A_{ZZ} -Komponenten etwa entlang der Richtung des äußeren Magnetfeldes orientiert sind. Wenn man davon ausgeht, daß die A_{ZZ} -Komponente der Nitroxid-Spinlabel senkrecht zur Verbindungsachse r_{AB} steht, was vor allem für die acetylenverbrückten Verbindungen in guter Näherung zutreffen dürfte, werden auf diese Weise Molekülausrichtungen von $\Theta_{rz} \sim 90^\circ$ präferiert, was zu einem starken Peak bei $\nu_{\perp} = |J + \nu_{Dip}|$ führt. Für dieses Anregungsmuster und die Molekülgeometrie der acetylenverbrückten Biradikale ist nicht zu erwarten, daß Orientierungen $\Theta_{rz} \sim 0^\circ$ angeregt werden, was für die esterverbrückten Biradikale aufgrund der größeren Beweglichkeit nicht gelten muß.

Um das komplette Pake-Muster zu erhalten, muß man daher erstens auf jeder der beiden Frequenzen je einen Kernspin-Unterzustand vollständig anregen, um keine Molekülausrichtung zu unterdrücken, was dadurch erreicht werden kann, daß man die Detektionsfrequenz entsprechend des roten Gürtels aus Abb. 3.4 c) senkt und zusätzlich ausreichend harte Pulse verwendet. Zweitens muß man die Totzeit des Experimentes minimieren, um die breiten, in der Zeitdomäne stark gedämpften Frequenzverteilungen des dipolaren Tensors erfassen zu können.

Neben der technischen Schwierigkeit, die Anregungsbandbreite der Pulse entsprechend groß zu gestalten, führt ein damit verbundener Überlapp beider Frequenzen zu ungewünschten ESEEM-Artefakten. Daher wurden die PELDOR-Experimente mit Pulslängen durchgeführt, für die im Kompromiß mit der Empfindlichkeit ein Minimum an ESEEM-Artefakten zu erwarten war. Um dennoch die Orientungsselektion zu minimieren, wurden die meisten Proben mit zwei verschiedenen Frequenzabständen $\Delta\nu$ von 80 bzw. 40 MHz gemessen. Bei dem kleineren Frequenzabstand werden die Komponenten A_{XX} und A_{YY} in größerem Ausmaß angeregt, wodurch vermöge der Molekülgeometrie andere Orientierungen Θ_{rz} detektiert werden.

3.3 Untersuchte Proben

Zum Test der Methode wurden die ersten PELDOR-Messungen an Biradikalen mit bekannten Abständen durchgeführt. Die Verbindungen **1** mit einem Spin-Spin-Abstand von $r_{AB} = 20 \text{ \AA}$ und **2** mit $r_{AB} = 30 \text{ \AA}$ Abstand wurden freundlicherweise von Dr. G. Jeschke, MPI für Polymerforschung in Mainz, zur Verfügung gestellt. Beide Proben sind in verschiedenen Konzentrationen in h8- bzw. d8-Toluol gelöst. Die Verbindung **1** steht außerdem als Feststoff in Polystyrolmatrix zur Verfügung. Unter Verwendung des Nitroxid-Spinlabels **TPA** (2,2,5,5-Tetramethyl-3-pyrrolin-1-oxyl-3-acetylen), der in d8-Toluol gelöst auch als „Blindprobe“ für die PELDOR-Messungen der in d8-Toluol gelösten Biradikale benutzt wurde, sind die Biradikale **BITPAP** (1,4-Bis-(**TPA**)-phenyl) und **BITPAB** (4,4'-Bis-(**TPA**)-biphenyl) synthetisiert worden. Aus dem Spinlabel **TPC** (2,2,5,5-Tetramethyl-3-pyrrolin-1-oxyl-3-carboxylsäure) wurden die Biradikale **BIESTERPHY** (1,4-Bis-(**TPC**)-phen-1,4-diol-diester) und **BIESTERBI** (4,4'-Bis-(**TPC**)-biphenol-diester) erzeugt, die etwa dieselben Abstände zwischen den Nitroxiden aufweisen wie **BITPAP** bzw. **BITPAB**, die jedoch nicht deren konjugiertes π -System besitzen, welches mittels Acetylenbrücken entsteht. Somit waren für diese Proben ähnliche Werte für die dipolare Kopplungskonstante ν_{Dip} zu erwarten. Die Unterbrechung des konjugierten π -Systems durch die Estergruppen in **BIESTERPHY** und **BIESTERBI** sollte die Begünstigung der Austauschwechselwirkung unterbinden. Die Strukturen der Spinlabel und der Biradikale sind in Abb. 3.5 dargestellt. Zu den Biradikalen sind die Abstände zwischen den Nitroxidgruppen angegeben, die mittels molekularer Strukturmodellierung [Cam97] für gestreckte Konformationen ermittelt wurden. Von Prof. Dr. S. T. Sigurdsson erhielten wir zwei Proben doppelt spingelabelter, doppelsträngiger RNA. Hierbei ist der Nitroxid-Spinlabel **TEMPO** (2,2,6,6-Tetramethyl-piperidin-1-oxyl) über die Ribose an Uridin gebunden. Dieses Nukleotid ist in Abb. 3.5 mit **X** bezeichnet. Die Basensequenz der beiden o.g. Proben lautet:

			CAGAXCUGA	
RNA1	GCUGAXAUCAGC	RNA2	GGC	GCC
	CGACUAXAGUCG		CCG	CGG
			AGUCXAGAC	

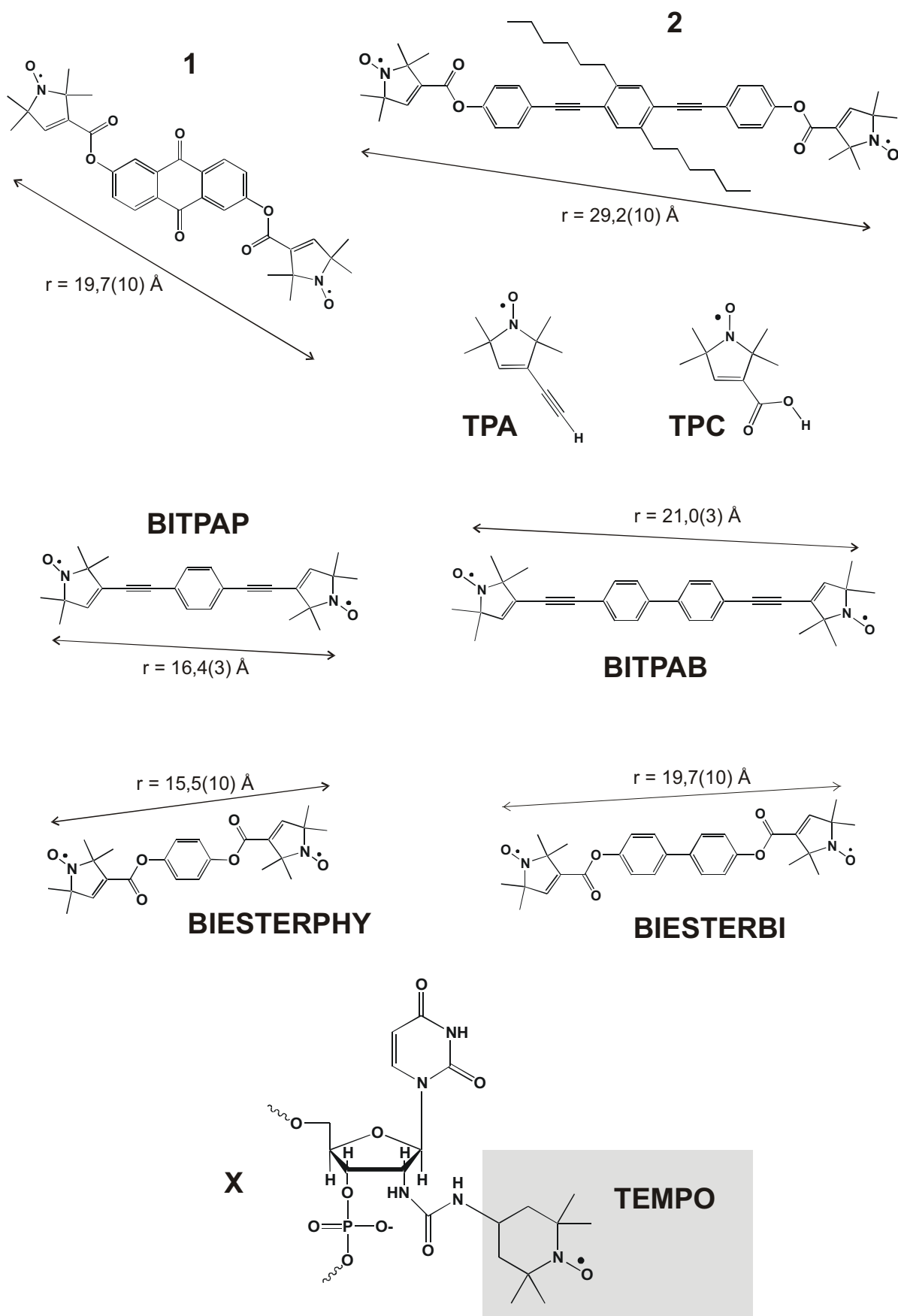


Abb. 3.5: Strukturen der untersuchten Verbindungen. Zu den Biradikalen sind die Abstände zwischen den Nitroxidgruppen angegeben, die mittels [Cam97] für gestreckte Konformationen ermittelt wurden.

3.4 Technische Aspekte

3.4.1 Rolle des S-Band-Resonators beim PELDOR-Experiment

Das EPR-Spektrum der hier untersuchten Nitroxide hat wegen seiner großen Stickstoff-Hyperfeinkopplungskomponente von $A_{zz} = 33 \text{ G}$ [Fri00] eine wesentlich größere spektrale Breite als mit den im S-Band-Spektrometer zur Verfügung stehenden Resonatoren erzeugt werden kann. Im Falle des X-Band-Spektrometers ist der Resonator durch besonders starkes Überkoppeln auf die notwendige Bandbreite einstellbar. Dieser Nachteil des S-Band-Spektrometers wird dadurch überwunden, daß mit Hilfe der vorhandenen Leistungsreserve die Pumpfrequenz quasi „neben“ dem Resonator, d. h. weit außerhalb der Halbwertsbreite eingestrahlt wird. Die bei einem großen Resonanzoffset verbliebene relative B_1 -Feldstärke kann man über die Analogie zu einem Reihenschwingkreis in guter Näherung abschätzen. Dessen dem B_1 -Profil eines Resonators proportionalen Stromresonanzkurve wird durch folgende Gleichung beschrieben [Ber99]:

$$I(\omega) \propto \frac{\omega}{\sqrt{(\omega^2 - \omega_0^2)^2 + \left(\frac{\omega_0}{Q} \omega\right)^2}}$$

Hierbei ist $I(\omega)$ der Strom durch den Schwingkreis in Abhängigkeit von der Kreisfrequenz ω . $\omega_0 = 2\pi \nu_0$ ist die Resonanzkreisfrequenz und Q die Güte des Schwingkreises. In Abb. 3.5 ist das nach diesem Modell zu erwartende B_1 -Profil für einen Resonator mit einer Resonanzfrequenz von $\nu_0 = 3,6 \text{ GHz}$ und einer Güte von $Q = 150$ entsprechend Ag_BLGR_4 in überkritisch gekoppeltem Zustand bei tiefer Temperatur dargestellt. Bei einem für viele PELDOR-Experimente verwendeten Resonanzoffset von $\nu_{\text{offres}} = \nu_0 + 80 \text{ MHz}$ verbleibt im Vergleich zu ν_0 bei konstanter mw-Leistung P eine relative B_1 -Feldstärke von 14.7%.

Daraus folgt, daß bei der Frequenz ν_{offres} und gleicher Pulslänge eine relative Steigerung der mw-Leistung P'/P von

$$\frac{P'}{P} = \left(\frac{B_{1\text{res}}}{B_{1\text{offres}}} \right)^2 = \left(\frac{1}{14,7\%} \right)^2 \cong 46 = 16,7 \text{ dB}$$

benötigt wird. Hierbei ist $B_{1\text{res}}/B_{1\text{offres}}$ die relative B_1 -Feldstärke für die Resonanzfrequenz ν_0 bzw. für 80 MHz Resonanzoffset. Für die üblicherweise benutzten Pulslängen t_p von ca. 40 ns sind diese Leistungsreserven wegen des großen Konversionsfaktors des BLGRs und der zur Verfügung stehenden kW-TWT vorhanden.

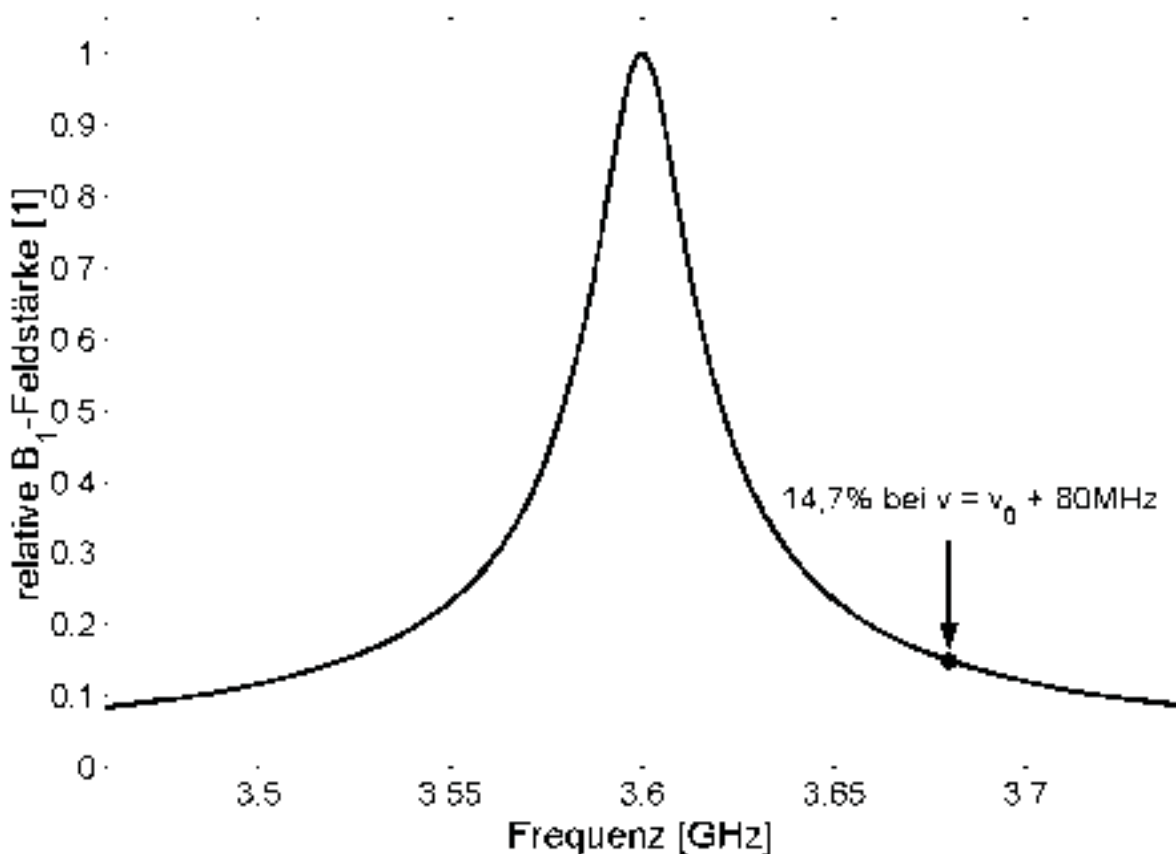


Abb. 3.6: Theoretische Stromresonanzkurve für einen Schwingkreis mit einer Resonanzfrequenz von $\nu_0 = 3,6$ GHz bei einer Güte von $Q = 150$

Dies wurde durch Echoexperimente an einer Kohleprobe überprüft. Hierbei wurden für verschiedene Frequenzoffsets bei gleicher Pulslänge und festem Pulsabstand die Leistungen für das Maximum der Echoamplitude ermittelt. Bei einem Offset von 80 MHz wurde das Maximum des Echos bei einer um 17 dB erhöhten Leistung gegenüber dem Resonanzfall gemessen, was sehr gut mit der theoretischen Abschätzung übereinstimmt und damit sowohl die Messung der Güte aus der Zeitkonstante reflektierter Pulse als auch die Gültigkeit der Reihenschwingkreis-analogie bestätigt.

Um einen möglichst präzisen Flipwinkel von 180° für den mw-Puls auf der Pumpfrequenz ν_B im PELDOR-Experiment zu gewährleisten, wurde, wenn die Signalintensität dafür ausreichend war, vor den PELDOR-Experimenten an den Biradikalen ein Hahn-Echo bei der Frequenz ν_B erzeugt und dabei die Mikrowellenleistung optimiert. Das echodetektierte EPR-Spektrum der Probe **1** in Polystyrol (Abb. 3.8 a) in Abschnitt 3.5.1 wurde unter diesen Bedingungen aufgenommen.

3.4.2 PELDOR-Erweiterung des X-Band-Spektrometers

Zur Durchführung der PELDOR-Messungen im X-Band wurde ein kommerzielles Spektrometer (Bruker Eleksys e580), welches mit zwei „Microwave Pulse Forming Units“ (MPFU) ausgestattet ist, umgebaut (siehe Abb. 3.7). Eine der MPFUs wurde zur Erzeugung der Pulse auf der Frequenz ν_B verwendet. Dazu wurde auf ihren Eingang die mw eines Synthesizers (HP 8672A) nach Verstärkung durch einen Verstärker (Miteq AMF-5B-080120-30-25P), um auf den erforderlichen Pegel von ca. +17 dBm zu gelangen, mittels eines zusätzlich eingebauten halbstarren Cu-Koaxialleiters übertragen. Am Ausgang des Verstärkers wurden 10 dB zur Leistungsmessung durch einen Spektrumanalysator (Tektronix 492) von einem Richtkoppler (Narda 3004-10) ausgekoppelt. Um die Leistung der Pulse von beiden Quellen kontrollieren zu können, mußte diese zusätzlich zu den im Spektrometer installierten Monitoren in Form von phasenempfindlichen Mischern, einer phasenunempfindlichen Detektion durch eine Diode (Midisco MDC 1118-S) über einen weiteren 10dB-Richtkoppler zugeführt werden. Ihr Signal wurde von einem Digital-Speicher-Oszilloskop (DSO, LeCroy 9350AM) dargestellt.

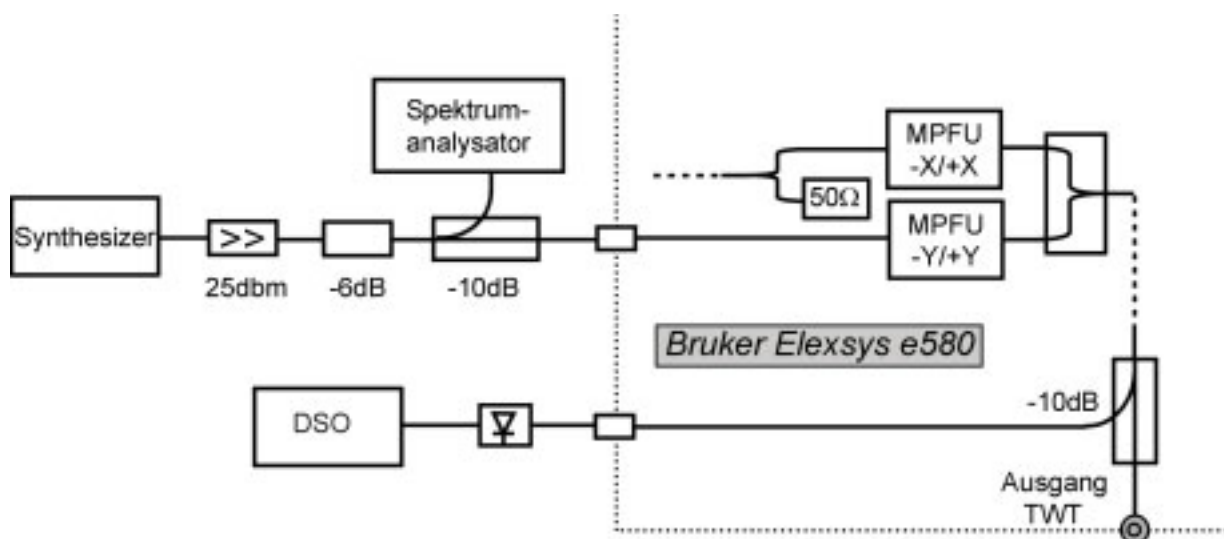


Abb. 3.7: PELDOR-Umbau eines kommerziellen Spektrometers Eleksys e580 von Bruker

3.5 Messungen

Für die Wahl des Pulsabstandes τ der ν_A -Pulse im PELDOR-Experiment sind einerseits die Relaxationszeiten der Proben in Abhängigkeit von der Temperatur maßgeblich, aber auch der im S-Band sehr starke Kernmodulationseffekt kann, wie im folgenden gezeigt wird, eine entscheidende Rolle spielen. Für beide Effekte sind nicht nur die Strukturen der untersuchten Moleküle allein verantwortlich, sondern wegen der weitreichenden Wechselwirkungen auch die Eigenschaften des Lösungsmittels bzw. der Matrixmoleküle. Aus diesem Grund wurde das Biradikal **1** nicht nur in Polystyrolmatrix, sondern auch in d8-Toluol gelöst, untersucht. Für die Messungen am Biradikal **2** und an **BITPAB** wurden Proben sowohl mit h8- als auch mit d8-Toluol als Lösungsmittel hergestellt. Für die anderen Biradikale **BITPAP**, **BIESTERPHY** und **BIESTERBI** wurde d8-Toluol als Lösungsmittel gewählt. Bis auf explizit erwähnte Ausnahmen wurden alle Puls-Messungen im X-Band bei einer Temperatur von 20 K und im S-Band bei 10 K durchgeführt.

3.5.1 Biradikal 1 in Polystyrol

Bei beiden Frequenzen wurde zuerst ein echodetektiertes EPR-Spektrum mit einer 2-Puls-Sequenz aufgenommen, um geeignete Positionen für die Frequenzen ν_A und ν_B auswählen zu können. Die Spektren zeigen die erwartete Form für reine, verdünnte Nitroxide in gefrorener Lösung, da die zusätzliche dipolare Wechselwirkung in den Radikalpaaren im Vergleich zur Linienbreite zu klein ist, um in den Spektren sichtbar hervorzutreten (siehe Abb. 3.8). Die experimentellen Parameter zu diesen Messungen sind in Tab. 3.1 zusammengefaßt. Die geringfügigen Unterschiede der Spektren aus S- und X-Band sind durch die leichte g-Anisotropie (siehe Abschnitt 3.2) verursacht, die im X-Band deutlich und im S-Band kaum sichtbar ist.

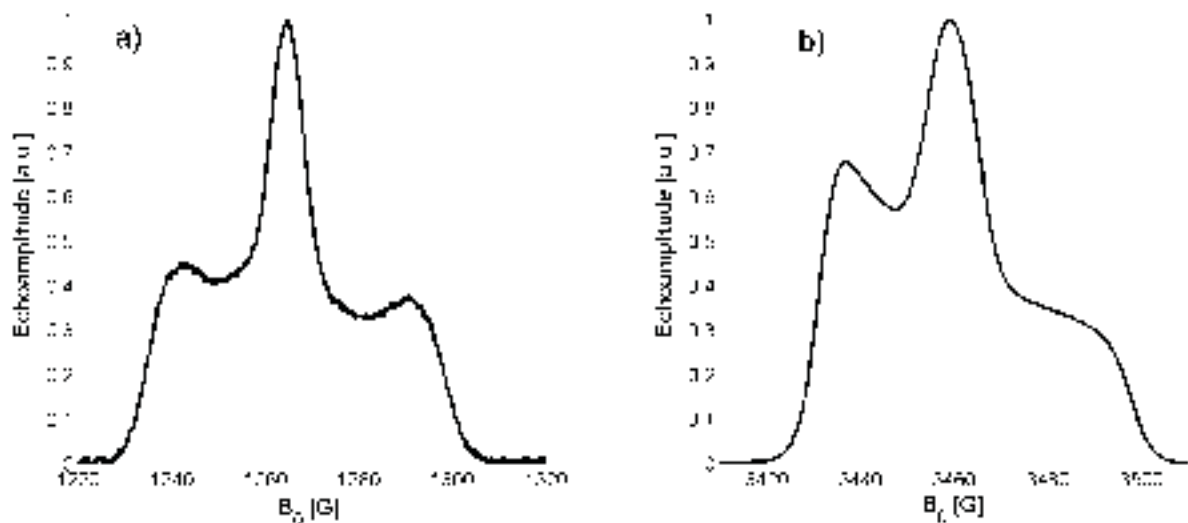


Abb. 3.8: Echodetektierte EPR-Spektren von **1** im S-Band (a) und im X-Band (b)

	S-Band	X-Band
Frequenz ν [GHz]	3,5501	9,7242
Pulslängen t_p [ns]	40/40	32/32
Pulsabstand τ [ns]	310	132
Repetitionsrate [Hz]	50	250
B_0 -Feld des Echomaximums [G]	1264,6	3459,0
Anzahl Scans/Mittelungen	1/50	10/5

Tab. 3.1: Meßparameter für echodetektierte EPR-Spektren von **1** bei tiefen Temperaturen

Im Gegensatz zur Messung im X-Band wurde das S-Band-Spektrum nicht bei der Resonanzfrequenz des Resonators, die $\nu_{\text{Res}} = 3,6101$ GHz betrug, aufgenommen, sondern, zur Vorbereitung auf das PELDOR-Experiment, bei der für den Pumpimpuls gewählten Frequenz $\nu = 3,5501$ GHz (in Abb. 3.8 a) dargestellt), also mit einem Frequenzabstand zu ν_{Res} von $\Delta\nu = 60$ MHz. Das deutlich schlechtere S/N-Verhältnis des S-Band-Spektrums resultiert daher nicht nur aus der etwas geringeren Empfindlichkeit des Spektrometers und des zeitbedingt deutlich länger gesetzten Pulsabstandes τ , sondern im wesentlichen aus einer drastischen Reduktion der „effektiven Güte“.

Das Zusammenspiel der beiden verwendeten Frequenzen mit dem Resonator und dem EPR-Spektrum des Nitroxids soll in der nächsten Abb. 3.9 für das S-Band illustriert werden.

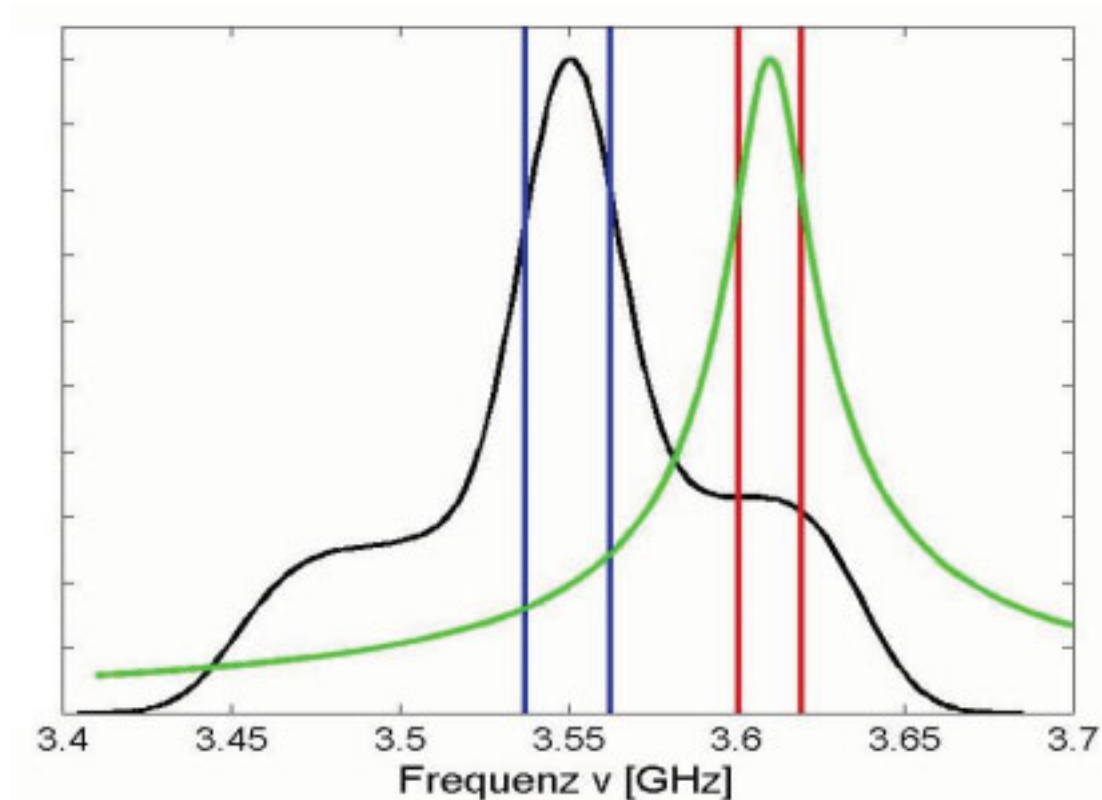


Abb. 3.9: Typisches Anregungsprofil im S-Band

Die schwarze Kurve zeigt eine Simulation des Nitroxid-Spektrums analog zu denen der Abb. 3.4 für das im Experiment verwendete Magnetfeld von $B = 1264,6$ G. Die grüne Kurve repräsentiert den Resonator mit einer Frequenz von $\nu_{\text{Res}} = 3,6101$ GHz und einer Güte von $Q = 150$ (aus 3.4 Abb. 3.6). Die blauen bzw. roten Schranken symbolisieren die Anregungsbandbreiten der Detektionsfrequenz ν_A bzw. Pumpfrequenz ν_B . Eine Abschätzung der B_1 -Feldstärken erfolgt über:

$$B_1 = \frac{\vartheta}{\gamma_e t_p}$$

Hierbei ist ϑ der Flipwinkel, den ein Puls der Stärke B_1 und Dauer t_p erzielt. Dabei ist $\gamma_e = 1,76 \cdot 10^7$ rad/Gs das gyromagnetische Verhältnis für das freie Elektron. Aus den eingestellten Pulslängen von $t_p = 40$ ns für alle drei Pulse ergeben sich für den Puls

der Pumpfrequenz ν_B ($\vartheta = \pi$) ein $B_{1B} \sim 4,5$ G und für die 2-Pulssequenz der Detektionsfrequenz ν_A (jeweils $\vartheta = 3\pi/4$) ein $B_{1A} \sim 3,3$ G. Die eingezeichneten Schranken liegen jeweils bei $\pm B_1$. Um die Feldstärke B_{1B} zu erreichen, ist, entsprechend der Abb. 3.9, eine um etwa einen Faktor 50 (siehe 3.4.1) größere mw-Leistung nötig, als für B_{1A} . Aus dem in 2.5.2.4 bestimmten Konversionsfaktor von $\kappa = 15 \mu\text{T}/\sqrt{\text{W}}$ folgt, daß für B_{1A} eine Leistung P von ≈ 3 W erforderlich ist, so daß für den Pumpuls der optimale Flipwinkel von π bei $P \approx 150$ W erreicht ist.

Da im X-Band die Differenz der Frequenzen ν_A und ν_B immer etwa der Halbwertsbreite $\Delta\nu$ des stark überkoppelten Resonators entsprach oder sogar darunter lag, war hier die Anpassung der Pulsleistungen dagegen weit weniger kritisch.

Für die Wahl des passenden Pulsabstandes τ zwischen dem ersten und dritten Puls des PELDOR-Experimentes wurden 2-Puls-Echozerfallsexperimente mit beiden Spektrometern durchgeführt (Abb. 3.10). Die X-Band-Messung wurde bei dem Feldwert für das Echomaximum, bei gleicher Temperatur, Pulslänge und Repetitionsrate wie im Fall der echodetektierten EPR-Spektren aufgenommen (vgl. Tab. 3.1). Die S-Band-Messung wurde im Gegensatz zum in Abb. 3.8 dargestellten echodetektierten EPR-Spektrum bei der Frequenz des Resonators ν_{Res} durchgeführt. Das Maximum des Spektrums lag daher bei entsprechend höherem Feldwert von $B_0 = 1282$ G.

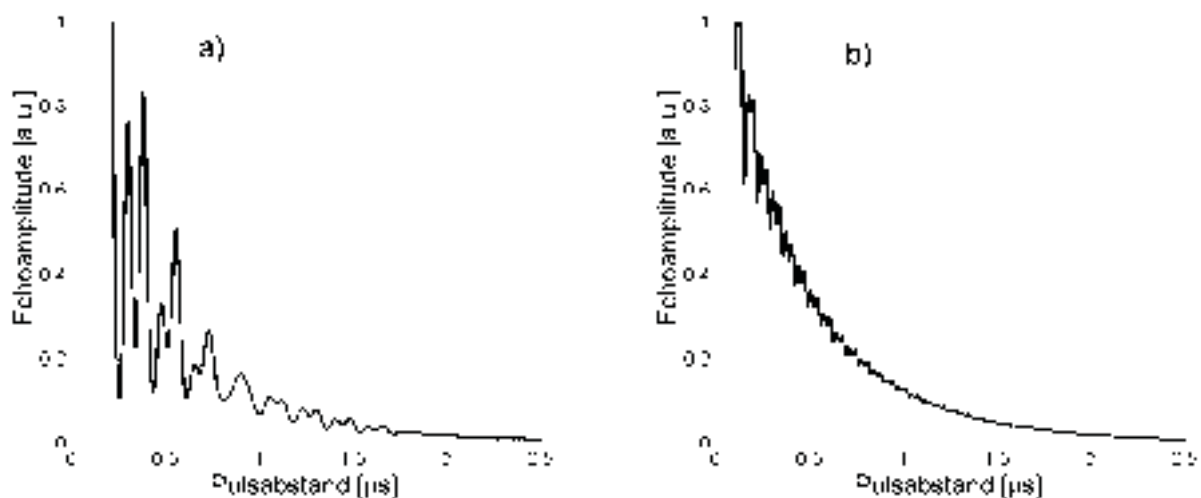


Abb. 3.10: 2-Puls-Echozerfall von **1** in Polystyrol im S-Band (a) und im X-Band (b)

	S-Band	X-Band
Feldposition B_0 [G]	1282	3459
Repetitionsrate [Hz]	80	250
Pulslänge t_p [ns]	45/45	32/32
Anfangswert Pulsabstand τ_0 [ns]	220	104
Inkrement Pulsabstand $d\tau$ [ns]	5	4
Anzahl Scans/Mittelungen	1/100	10/5

Tab. 3.2: Meßparameter für 2-Puls-Echozerfall

Die 2-Puls-Echozerfalls-Spektren zeigen in beiden Frequenzbändern starke Matrixprotonenmodulationen, wobei im S-Band (Abb. 3.10 a) eine Modulationstiefe von ca. 90% und im X-Band (Abb. 3.10 b) von ca. 40% erreicht wird. In diesem Fall ist der weit wichtigere Befund die Relaxationszeit von ca. 1 μ s. Daher wurde für das PELDOR-Experiment ein Pulsabstand von $\tau = 920$ ns im S-Band und wegen der höheren Empfindlichkeit im X-Band 1400 ns gewählt (siehe Tab. 3.3). Das Zeitfenster für die Bewegung des Pumpulses ist nicht nur durch den vorgewählten Pulsabstand τ der Detektionssequenz begrenzt, sondern wird durch die endlichen Schaltzeiten der PIN-Dioden, die zwischen den beiden Frequenzen hin- und herschalten, weiter reduziert. Aus technischen Gründen beträgt diese Totzeit (nicht zu verwechseln mit der durch Resonatorklingeln verursachten Spektrometertotzeit) im S-Band ca. 100 ns und im X-Band ca. 40 ns.

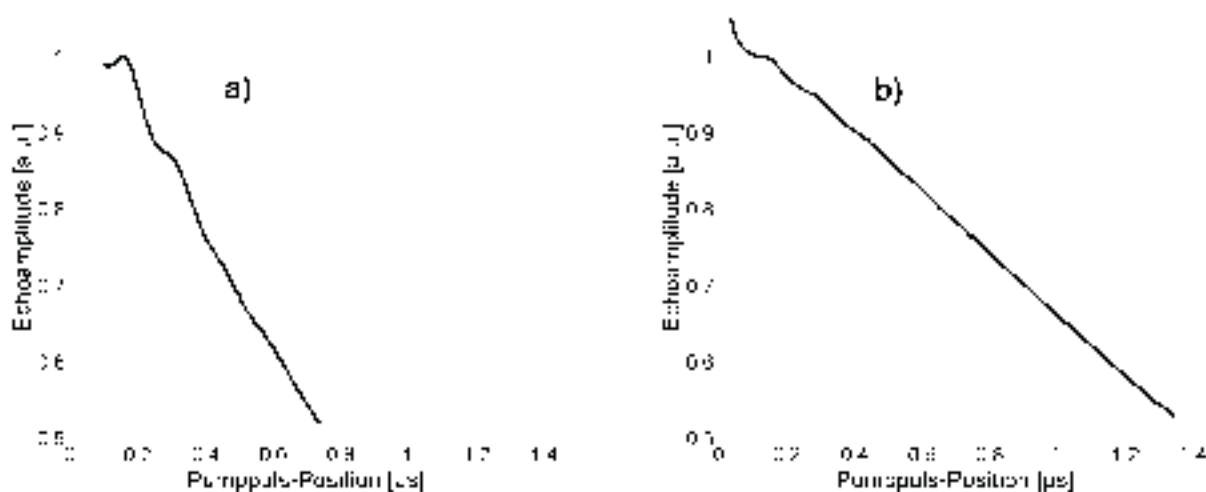


Abb. 3.11: PELDOR-Spektren von **1** in Polystyrol im S-Band (a) und im X-Band (b)

	S-Band	X-Band
Feldposition B_0 [G]	1263,3	3439,6
Repetitionsrate [Hz]	50	170
Pulslänge t_p [ns]	40/40/40	32/32/32
Pulsabstand τ [ns]	920	1400
Anzahl Scans/Mittelungen	10/100	100/10
Frequenzen $\nu_A / \nu_B / \Delta\nu$ [MHz]	3611 / 3541 / 70	9729,5 / 9669,5 / 60

Tab. 3.3: Meßparameter für PELDOR

Bei beiden Frequenzen ist für die Probe **1** in Polystyrol klar die erwartete PELDOR-Modulation zu erkennen (Abb. 3.11). Sie ist recht stark gedämpft und hat eine mäßige Amplitude, wobei diese im S-Band etwas stärker ist als im X-Band. Die Echointensität ist im S-Band nach etwa 0,8 μs und im X-Band nach etwa 1,4 μs auf 50% gesunken. Dieser Zerfall läßt sich nur schlecht exponentiell approximieren, so daß er in beiden Fällen mittels Hochpaßfilter¹⁹ (Grenzfrequenz 4 MHz) eliminiert wurde (siehe Abb. 3.12). Als Grund hierfür sind zum einen komplizierte Relaxationsmechanismen denkbar, zum anderen trägt über die Anregungsbandbreite eine Orientierungs- und damit auch Frequenzverteilung zum Signal bei.

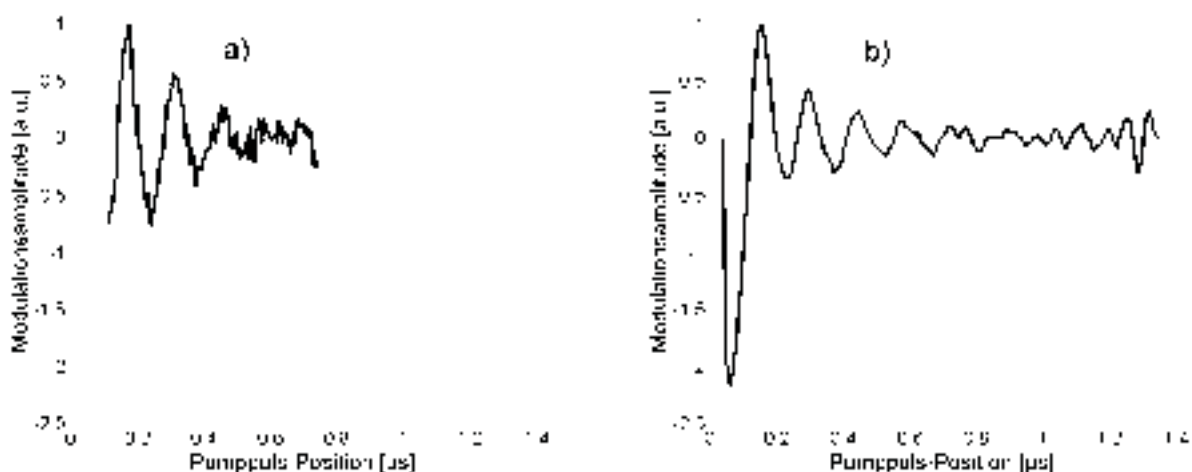


Abb. 3.12: Echomodulation nach Hochpaßfilterung der Spektren aus Abb. 3.11. a) S-Band, b) X-Band

¹⁹ Zur Hochpaßfilterung wurde in dieser Arbeit die Differenz aus Rohspektrum und dem zugehörigen Tiefpaß-gefilterten Spektrum gebildet. Als Tiefpaßfilter wurde ein Butterworth-Filter [Lin89] zweiter Ordnung verwendet. Die angegebene Grenzfrequenz trennt den Sperr- vom Durchlaßbereich.

Es sind zwei große Unterschiede erkennbar: Die stark gedämpfte Komponente, die im X-Band innerhalb der ersten 100 ns dominiert, ist wegen der größeren Totzeit im S-Band verdeckt. Des weiteren ist am Ende des X-Band-Spektrums deutlich eine zusätzliche Frequenz zu erkennen. Die Tatsache, daß diese Frequenz eine „negative“ Dämpfung hat und daher keiner Elektron-Elektron-Kopplung entstammen kann, legt die Vermutung nahe, daß es sich um ein ungewünschtes Signal handelt, welches durch Hyperfeinwechselwirkung verursacht ist. Diese Vermutung wird durch die Fouriertransformation bestätigt, die eine kleine, aber deutliche Linie bei der freien Protonenfrequenz von $\nu_H = 14,6$ MHz zeigt. In der nächsten Abb. 3.13 sind die Power-Fouriertransformationen der Zeitspektren aus Abb. 3.12 nach Hanning-Filter und „zero-filling“ [Ern87] dargestellt.

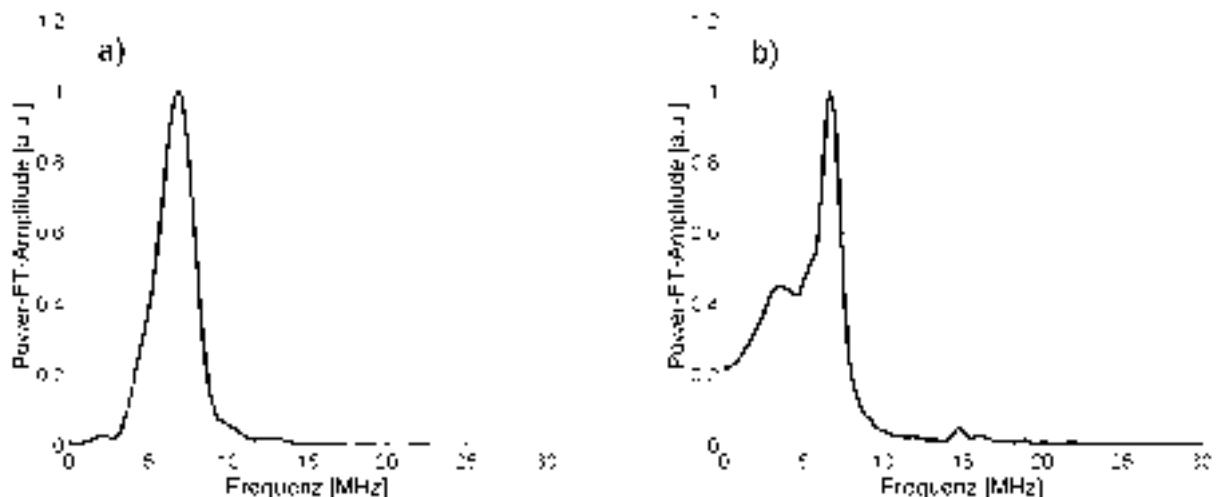


Abb. 3.13: Power-FT der Zeitspektren aus Abb. 3.12 nach Hanning-Filter und zero-filling für S- (a) und X-Band (b)

Die prominente Linie im S-Band liegt bei 6,8 MHz und im X-Band bei 6,7 MHz. Wegen der starken Dämpfung der Modulation in den Zeitspektren ergeben sich in der Power-FT Linienbreiten von etwa 2 MHz im S- (Abb. 3.13 a) und 1 MHz im X-Band (Abb. 3.13 b), woraus eine Unsicherheit von etwa 0,4 MHz bei der S-Band- und von etwa 0,2 MHz bei der X-Band-Messung folgt. Unter der Annahme einer vernachlässigbaren Austauschwechselwirkung J und einer größeren Präferenz für Orientierungen von $\Theta_{rz} \sim 90^\circ$ läßt sich der Abstand der Nitroxide aus dem S-Band-Spektrum zu $r_{AB} = 19,7(4)$ Å bzw. zu $r_{AB} = 19,8(2)$ Å aus dem X-Band-Spektrum bestimmen, was in sehr guter Übereinstimmung mit den Literaturwerten $19,73(14)$ Å aus [Lar93] und $19,4(5)$ Å aus [Pan00] ist.

3.5.2 Biradikal 1 in d8-Toluol

Für das in d8-Toluol gelöste Biradikal **1** wurden ebenfalls echodetektierte EPR- und 2-Puls-Echozerfalls-Spektren in beiden Frequenzbändern aufgenommen, um einerseits die optimalen Spektralpositionen bestimmen zu können und andererseits die Einflüsse der Lösungsmittel- bzw. der Matrixmoleküle festzustellen. In Abb. 3.14 sind die echodetektierten EPR-Spektren in S- und X-Band dargestellt. Die experimentellen Parameter zu diesen Messungen sind in Tab. 3.4 zusammengefaßt:

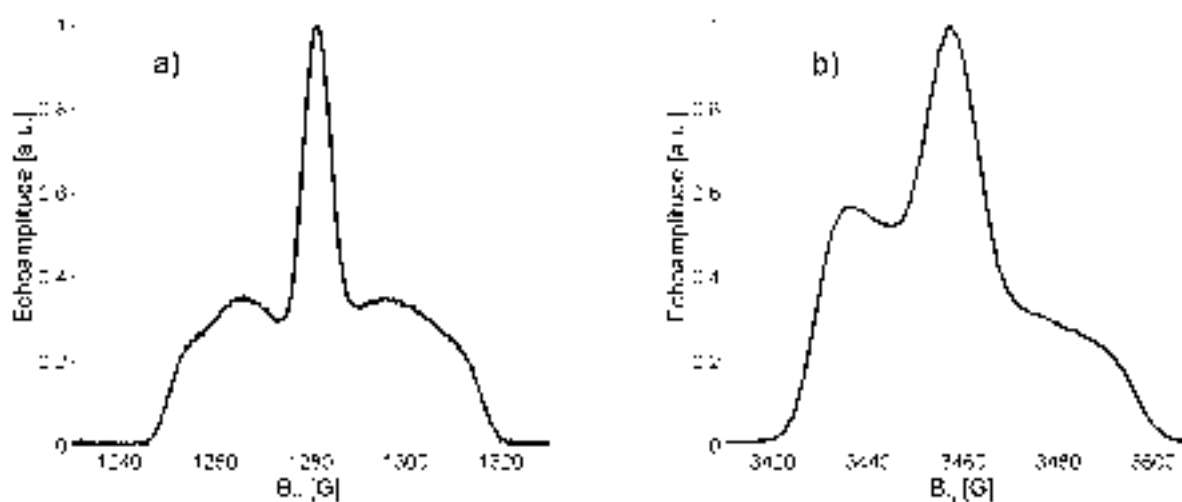


Abb. 3.14: Echodetektierte EPR-Spektren von **1** in d8-Toluol im S-Band (a) und im X-Band (b)

	S-Band	X-Band
Frequenz ν [GHz]	3,597	9,721
Pulslängen t_p [ns]	40/40	32/32
Pulsabstand τ [ns]	1000	380
Repetitionsrate [Hz]	50	50
Anzahl Scans/Mittelungen	1/200	1/5

Tab. 3.4: Meßparameter für echodetektierte EPR-Spektren von **1** in d8-Toluol bei tiefen Temperaturen

Beide Spektren zeigen eine sehr ähnliche Form wie die der Probe **1** in Polystyrol (3.5.1). Die leichten Unterschiede der S-Band-Spektren werden in 3.5.3 diskutiert.

Eine im Vergleich zur Probe **1** in Polystyrol deutlich andere Form haben deren 2-Puls-Echozerfalls-Spektren. Die schwachen Hyperfeinkopplungen zum Wasserstoff des nächsten Matrix- bzw. Lösungsmittelmoleküls prägen die ESEEM-Spektren dieser Nitroxid-Proben. Sie weisen daher eine außergewöhnlich tiefe Modulation von 0,83 MHz im S-Band (Abb. 3.15 a) und 2,3 MHz im X-Band (Abb. 3.15 b) auf, die durch Hyperfeinwechselwirkungen zum Deuterium des Lösungsmittels verursacht wird. Die Modulation, die im X-Band eine Tiefe von ca. 80% erreicht, sorgt im S-Band in wiederkehrenden Intervallen von ca. 1 μ s für ein vollständiges Verschwinden des Echos, so daß für die PELDOR-Messung nur drei enge Bereiche für die Wahl des Pulsabstandes τ zur Verfügung stehen. Im Gegensatz dazu unterliegt im X-Band wegen der geringeren Modulationstiefe und der kleineren Modulationsperiode die Wahl des Pulsabstandes für die PELDOR-Messung weit geringeren Einschränkungen. Die Relaxationszeiten sind zwar deutlich länger als für die Probe **1** in Polystyrolmatrix, ca. 2 μ s im S- und ca. 4 μ s im X-Band, doch ist die Relaxationszeit im S-Band trotz deutlich niedrigerer Temperatur etwa einen Faktor zwei kürzer als im X-Band. Wie von Romanelli et al. anhand von Simulationen für ESEEM von dicht benachbarten Kernen (Abstand zum paramagnetischen Zentrum $\leq 2,5$ Å) mit Kernspin $I = \frac{1}{2}$ gezeigt wurde, führen solche Kopplungen nicht nur zu besonders tiefer Modulation, sondern auch zu einer starken Dämpfung im Echozerfall. Dieser Effekt ist im S-Band noch weit größer [Rom94].

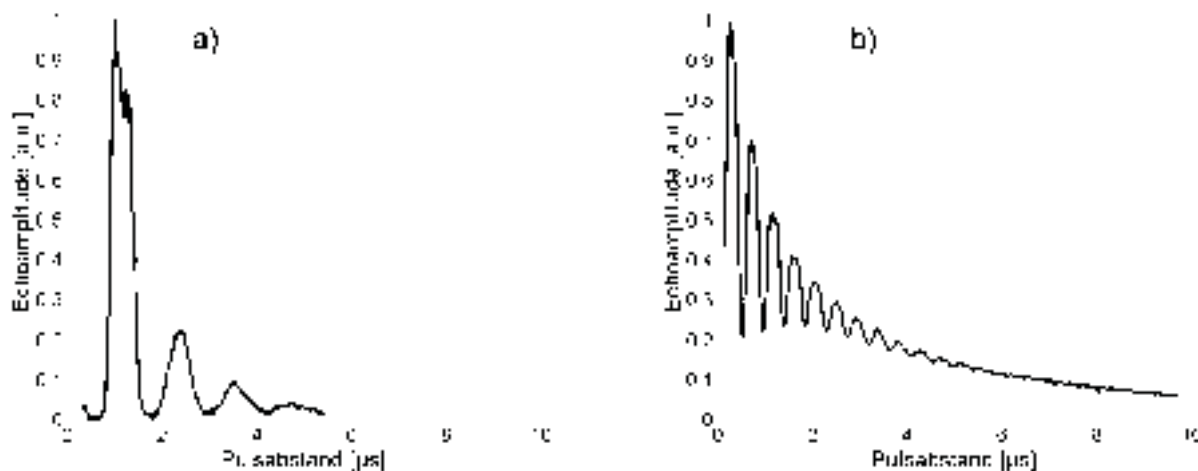


Abb. 3.15: 2-Puls-Echozerfall von **1** in d8-Toluol im S-Band (a) und im X-Band (b)

Die folgende Tab. 3.5 enthält die Meßparameter der in Abb. 3.15 gezeigten ESEEM-Spektren.

	S-Band	X-Band
Feldposition B_0 [G]	1281	3457
Repetitionsrate [Hz]	50	50
Pulslänge t_p [ns]	40/40	32/32
Anfangswert Pulsabstand τ_0 [ns]	350	284
Inkrement Pulsabstand $d\tau$ [ns]	10	24
Anzahl Scans/Mittelungen	1/200	1/5
Frequenz ν_0 [MHz]	3597	9721

Tab. 3.5: Meßparameter für die 2-Puls-Echozerfallsmessungen aus Abb. 3.15

Die Rohspektren der PELDOR-Messungen an **1** in d8-Toluol bei einem Frequenzabstand von $\Delta\nu = 80$ MHz (Abb. 3.16) zeigen bei beiden Frequenzen einen wesentlich geringeren Echozerfall als es für die Probe **1** in Polystyrolmatrix der Fall war. Gleichzeitig ist die Dämpfung der Modulation etwas geringer. Im Falle der S-Band-Messung ist die Modulation noch nicht auf Rauschniveau abgeklungen, weshalb eine Messung bei größerem τ -Wert zu einem Gewinn an spektraler Auflösung führen sollte. Deshalb wurde eine Messung mit dem nächstgrößeren sinnvollen Pulsabstand $\tau = 2440$ ns (siehe Abb. 3.15) durchgeführt. Wegen der um einen Faktor 5 kleineren Echoamplitude und des deutlich größeren Zeitfensters für den Pumpimpuls war auch nach erheblich längerer Meßzeit das Signal-zu-Rausch-Verhältnis immer noch weitaus schlechter als im folgenden Spektrum der Abb. 3.16. Die Einstellungen für die PELDOR-Messungen der in Abb. 3.16 dargestellten Spektren sind in Tab. 3.6 zusammengestellt.

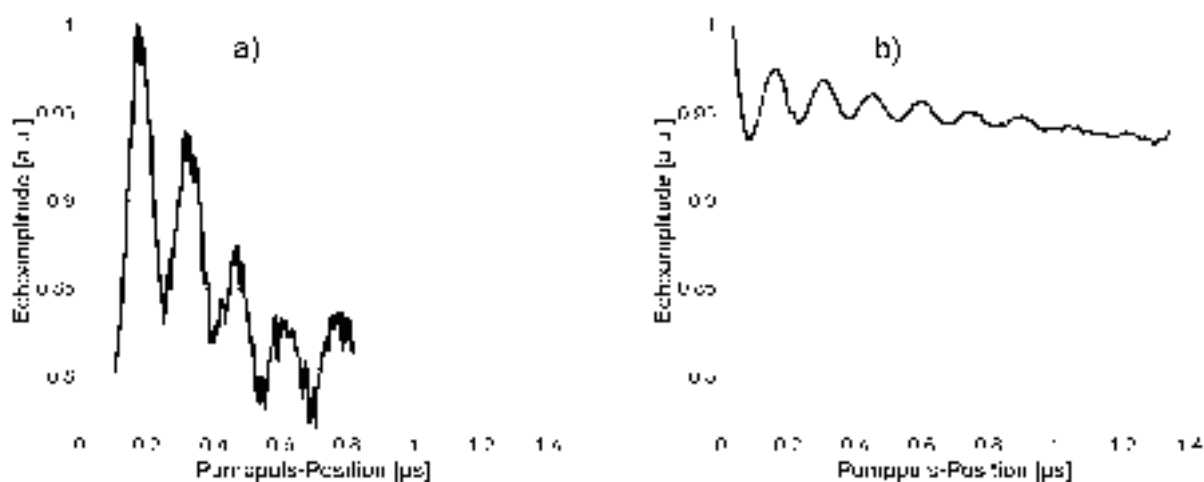


Abb. 3.16: PELDOR-Spektren von **1** in d8-Toluol mit $\Delta\nu = -80$ MHz im S-Band (a) und im X-Band (b)

	S-Band	X-Band
Feldposition B_0 [G]	1252,5	3426,4
Repetitionsrate [Hz]	50	150
Pulslänge t_P [ns]	40/40/40	32/32/32
Pulsabstand τ [ns]	1000	1400
Anzahl Scans/Mittelungen	78/100	100/5
Frequenzen $\nu_A / \nu_B / \Delta\nu$ [MHz]	3599,5 / 3519,5 / 80	9715 / 9635 / 80

Tab. 3.6: Meßparameter für die PELDOR-Spektren aus Abb. 3.16

Wie bei den vorigen Messungen an der Probe in Polystyrolmatrix wurde auch hier der Zerfall mittels Hochpaßfilter eliminiert (Grenzfrequenz im S-Band 3 MHz und im X-Band 4 MHz). Während das gefilterte X-Band-Spektrum ohne weitere Verarbeitung im Zeitbereich fouriertransformiert wurde, mußte beim S-Band-Spektrum ein Hanning-Filter und zero-filling [Ern87] angewendet werden, um im Frequenzbereich ungewünschte Seitenoszillationen zu minimieren.

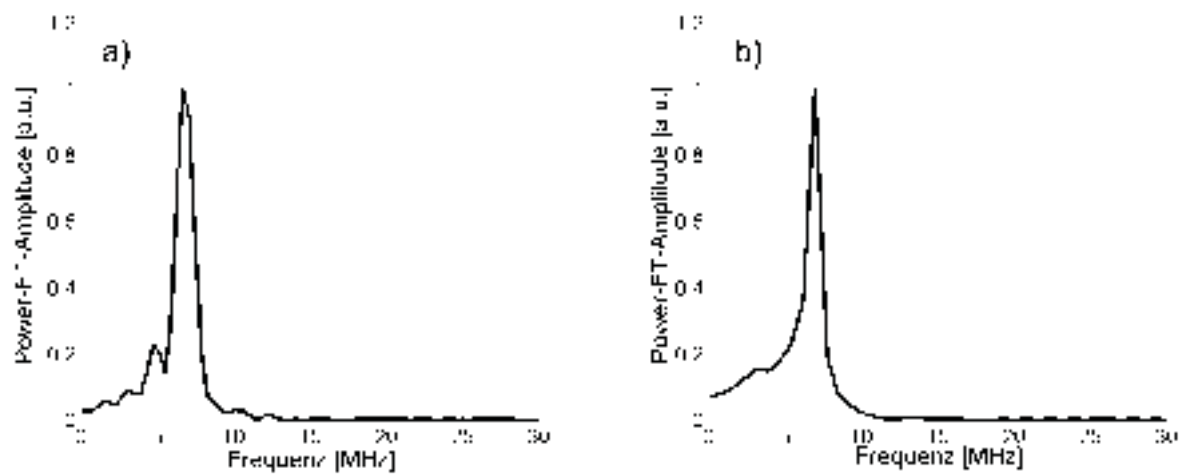


Abb. 3.17: Power-FT der Spektren aus Abb. 3.16 nach Hochpaßfilterung im S-Band (a) und im X-Band (b). Im Falle des S-Band-Spektrums (a) wurde zusätzlich ein Hanning-Filter und zero-filling angewendet.

Die Maxima dieser Spektren liegen im S-Band bei $\nu_{\text{Dip}} = 6,8(2)$ MHz, was einem Abstand von $r_{\text{AB}} = 19,7(2)$ Å entspricht, und im X-Band bei $\nu_{\text{Dip}} = 6,9(1)$ MHz, was einem Abstand von $r_{\text{AB}} = 19,6(1)$ Å entspricht. Diese Ergebnisse stehen in ebenso guter Übereinstimmung mit den Literaturwerten, wie diejenigen der vorigen Messungen an der Probe 1 in Polystyrol. Der unterschiedliche Einfluß der Lösungsmittelmoleküle, der neben der Konzentration die einzige Ursache für die unterschiedlichen Relaxationszeiten ist, hat keinen Einfluß auf die Detektion der Frequenz $\nu_{\perp}$ und damit auf die Bestimmung des Abstandes r_{AB} .

Da für den zuvor gewählten Frequenzabstand von $\Delta\nu = 80$ MHz nur eine Linie detektiert werden konnte, wurden die PELDOR-Messungen mit einem Frequenzabstand von $\Delta\nu = 40$ MHz wiederholt, wobei die Position der Pumpfrequenz an der Stelle der Kernspinniveaus $m_I = 0$ beibehalten wurde. In der folgenden Abb. 3.18 sind die Zeitspektren und in Tab. 3.7 die zugehörigen experimentellen Parameter gegeben. Im Vergleich zu den Messungen mit einem Frequenzabstand von $\Delta\nu = 80$ MHz sind im X-Band keine Unterschiede in Bezug auf Echodämpfung und Modulationstiefe zu erkennen. Lediglich im Anfang sind Unterschiede sichtbar, die auf eine zusätzliche Frequenz hinweisen. Im S-Band dagegen ist sowohl die Dämpfung als auch die Modulationstiefe geringer.

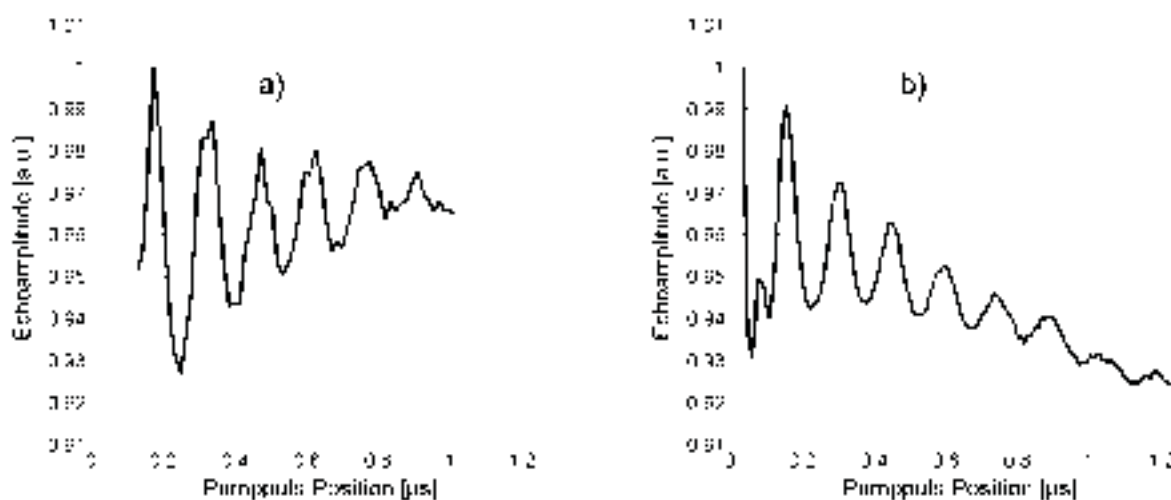


Abb. 3.18: PELDOR-Spektren von **1** in d8-Toluol im S-Band (a) und im X-Band (b) mit einem Frequenzabstand von $\Delta\nu = 40$ MHz

	S-Band	X-Band
Feldposition B_0 [G]	1262,2	3448,7
Repetitionsrate [Hz]	62,5	40
Pulslänge t_p [ns]	40/40/40	32/32/32
Pulsabstand τ [ns]	1320	1400
Anzahl Scans/Mittelungen	40/100	250/5
Frequenzen $\nu_A / \nu_B / \Delta\nu$ [MHz]	3580,2 / 3540,2 / 40	9738,1 / 9698,1 / 40

Tab. 3.7: Meßparameter für die PELDOR-Spektren aus Abb. 3.18

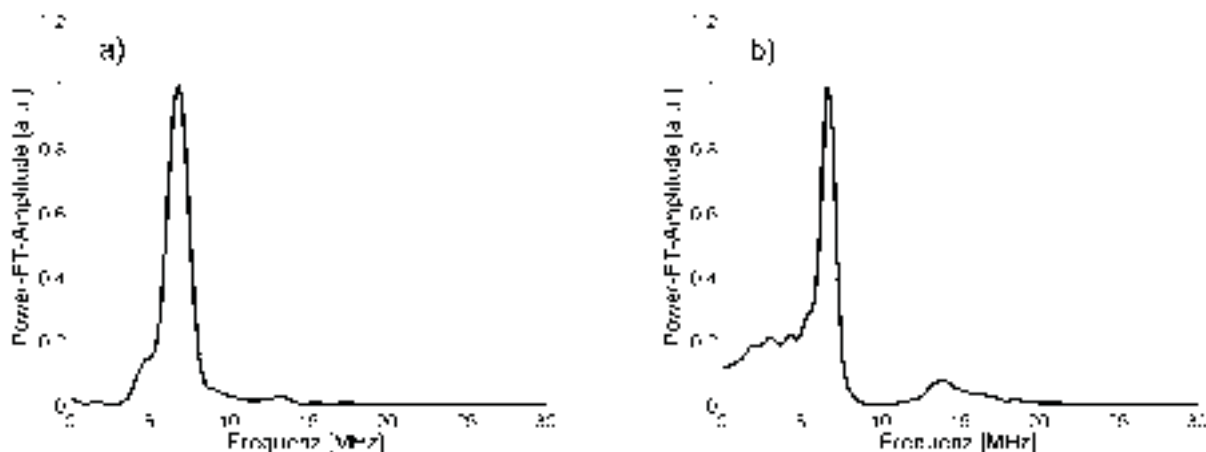


Abb. 3.19: Power-Fouriertransformation der Zeitspektren aus Abb. 3.18 nach Hochpaßfilterung und zero-filling für S-Band (a) und X-Band (b)

In der Power-Fouriertransformation (Abb. 3.19), die nach Hochpaßfilterung (Grenzfrequenz im S-Band 1 MHz und im X-Band 2 MHz) und zero-filling der Zeitspektren durchgeführt wurde, treten auch bei diesem Frequenzabstand als stärkste Linien jeweils die dipolare Kopplung mit $\nu_{\text{Dip}} = 6,8(3)$ MHz im S-Band (a) bzw. $6,7(2)$ MHz im X-Band (b) hervor. Im X-Band-Spektrum ist als zweitstärkste Linie bei $\nu_{\parallel} = 13,8(6)$ MHz die Frequenz $2\nu_{\text{Dip}}$ zu sehen, woraus folgt, daß die Austauschwechselwirkung J vernachlässigbar ist (siehe 3.2). Die zur Interpretation der Spektren bei $\Delta\nu = 80$ MHz gemachte Annahme wird hierdurch untermauert.

In diesem Fall ist es also gelungen, alle Orientierungen (wenn auch nicht gleichmäßig) anzuregen, so daß ein Pake-ähnliches Spektrum erzielt wurde. Auch das S-Band-Spektrum zeigt eine Linie bei 13,4 MHz, die jedoch deutlich schwächer ist, was einerseits an der deutlich größeren Totzeit und andererseits an der größeren Pulslänge und der damit verbundenen ausgeprägteren Selektivität liegt.

3.5.3 Biradikal 2 in d8-/h8-Toluol

Die echodetektierten EPR-Spektren des Biradikals **2** in d8-Toluol (Abb. 3.20) zeigen in S- und X-Band ebenfalls den typischen Charakter von Nitroxiden. Während die Spektren aller bisher diskutierten Nitroxid-Proben im X-Band keinerlei Unterschiede aufweisen, unterscheiden sich die Spektren des S-Bandes leicht. Dafür können zwei mögliche Ursachen angeführt werden. Zum einen kann aufgrund der vorhandenen Relaxationsanisotropie die unterschiedliche Wahl des Pulsabstandes τ zu den vorliegenden Abweichungen führen. Zweitens wurde im X-Band grundsätzlich das gesamte Echo integriert, während im S-Band verschieden breite Beobachtungsfenster gewählt wurden. Falls die Breite dieses Fensters nicht mindestens der inversen Auflösung entspricht, wird das Spektrum verzerrt [Sch91], was im Falle der S-Band-Spektren zu den Abweichungen vom erwarteten Spektrum führt.

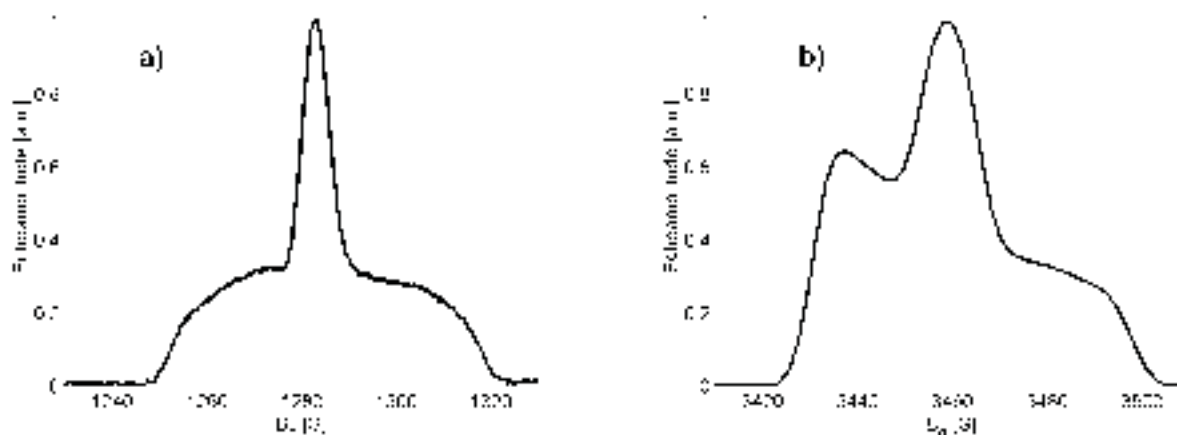


Abb.3.20: Echodetektierte EPR-Spektren von **2** in d8-Toluol im S-Band (a) und im X-Band (b)

	S-Band	X-Band
Frequenz ν [GHz]	3,60265	9,7243
Pulslängen t_p [ns]	40/40	32/32
Pulsabstand τ [ns]	980	380
Repetitionsrate [Hz]	50	20
Anzahl Scans/Mittelungen	1/50	1/5

Tab. 3.8: Meßparameter für echodetektierte EPR-Spektren von **2** bei tiefen Temperaturen.

Die Spektren des 2-Puls-Echozerfalls (siehe Abb. 3.21 bzw. Tab. 3.9) zeigen wie bei der Probe **1** in d8-Toluol identische ESEEM.

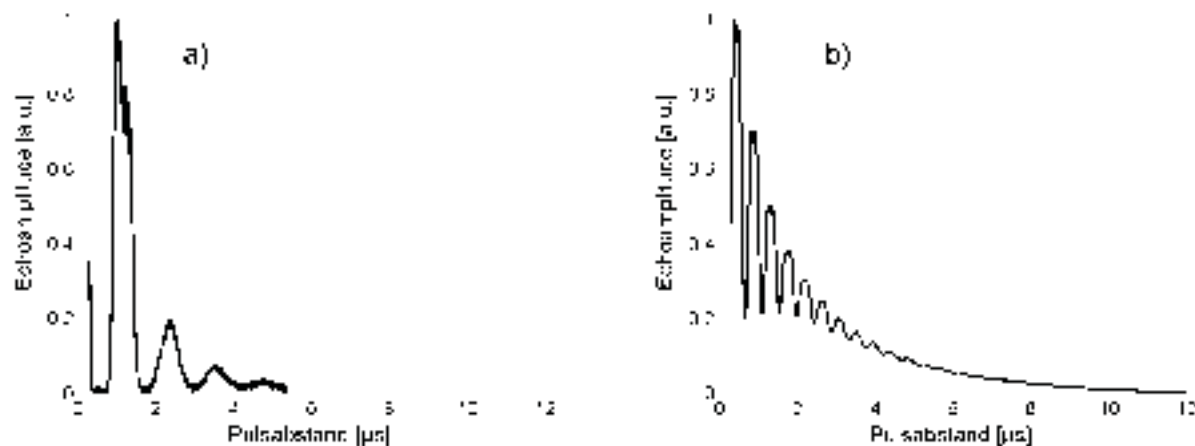


Abb. 3.21: 2-Puls-Echozerfall von **2** in d8-Toluol im S-Band (a) und im X-Band (b)

	S-Band	X-Band
Feldposition B_0 [G]	1281,85	3459
Temperatur [K]	6	20
Repetitionsrate [Hz]	50	20
Pulslänge t_P [ns]	40/40	32/32
Anfangswert Pulsabstand τ_0 [ns]	250	284
Inkrement Pulsabstand $d\tau$ [ns]	5	4
Anzahl Scans/Mittelungen	1/100	1/5
Frequenz ν_0 [MHz]	3599,6	9724,3

Tab. 3.9: Meßparameter für 2-Puls-Echozerfall aus Abb. 3.21

Sowohl das S- als auch das X-Band-Spektrum zeigen für diese Probe eine minimal größere Relaxationszeit auf als die Probe **1** in d8-Toluol. Da die Spektren bei identischen Temperaturen aufgenommen worden sind und die Konzentrationen ebenfalls gleich sind, kommt als Ursache lediglich die schwächere dipolare Kopplung in Betracht.

Die PELDOR-Messungen (Spektren siehe Abb. 3.22) wurden im S-Band bei einem τ -Wert von 1,36 μ s und im X-Band von 5 μ s durchgeführt (weitere Parameter siehe Tab. 3.10).

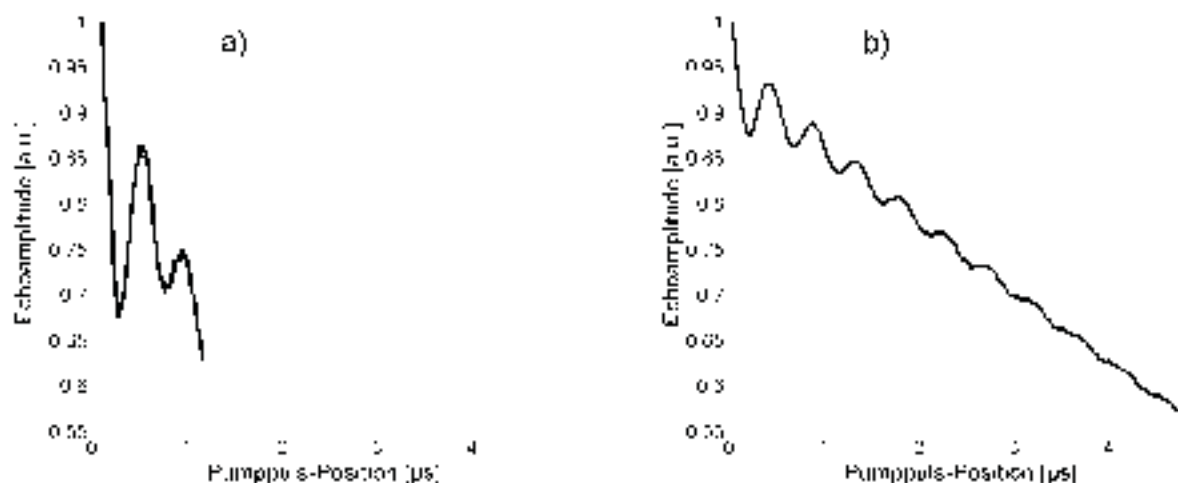


Abb. 3.22: PELDOR-Spektren von **2** in d8-Toluol mit $\Delta\nu = -80$ MHz im S-Band (a) und im X-Band (b)

	S-Band	X-Band
Feldposition B_0 [G]	1254,5	3430,5
Repetitionsrate [Hz]	50	20
Pulslänge t_P [ns]	40/40/40	32/32/32
Pulsabstand τ [ns]	1360	5000
Anzahl Scans/Mittelungen	20/100	80/5
Frequenzen $\nu_A / \nu_B / \Delta\nu$ [MHz]	3601,7 / 3521,7 / 80	9724 / 9644 / 80

Tab. 3.10: Meßparameter für die PELDOR-Spektren in Abb. 3.22

Wie zuvor wurde der Zerfall bei beiden Spektren mittels Hochpaßfilter (Grenzfrequenz im S-Band 1 MHz und im X-Band 0,8 MHz) abgezogen. Wiederum konnte das gefilterte X-Band-Spektrum ohne weitere Verarbeitung im Zeitbereich fouriertransformiert werden, wohingegen das S-Band-Spektrum nur etwa zwei Perioden einer tiefen Modulation aufweist, die wegen des relativ kurzen τ -Wertes abgeschnitten ist und somit ebenfalls mittels Hanning-Filter und zero-filling bearbeitet werden mußte, um im Frequenzbereich störende Seitenoszillationen zu minimieren. Dementsprechend ist die Linienbreite hier sehr viel größer als im X-Band, was nicht

durch die „natürliche“ Dämpfung der Modulation verursacht wird, die aus dem S-Band-Spektrum nur schwer zu beurteilen ist, sondern durch die sehr viel kürzere Phasengedächtniszeit T_M , weshalb der τ -Wert im S-Band sehr viel kürzer gewählt werden mußte, als im X-Band. Die Frequenzen der Maxima aus beiden Spektren betragen für das S-Band $\nu_{\text{Dip}} = 1,9(3)$ MHz, woraus ein Abstand von $r_{AB} = 30,2(15)$ Å folgt, und für das X-Band $\nu_{\text{Dip}} = 2,14(9)$ MHz, was einem Abstand von $r_{AB} = 29,0(4)$ Å entspricht.

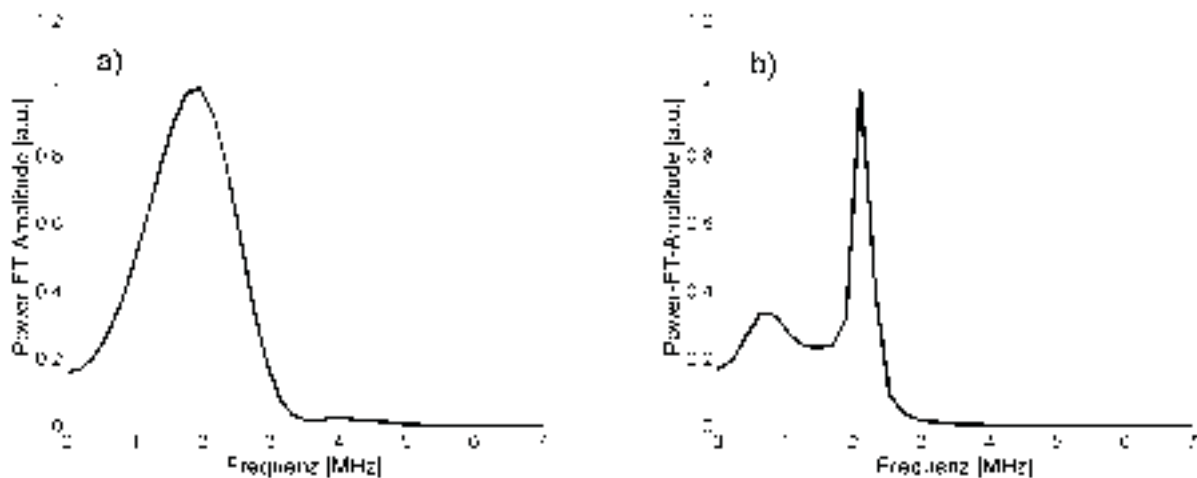


Abb. 3.23: Power-Fouriertransformation der Spektren aus Abb. 3.22 nach Hochpaßfilterung und zero-filling für S-Band (a) und X-Band (b)

Im X-Band wurde zusätzlich die Abhängigkeit der PELDOR-Modulation vom Abstand der beiden Frequenzen untersucht, um die sich daraus ergebenden unterschiedlichen Orientierungsselektionen zu beobachten. Hierbei wurde die Frequenz des Pumpimpulses konstant auf dem zentralen Übergang der Kernspinn-Mannigfaltigkeit $m_I = 0$ gehalten. In Bezug auf diese Frequenz wurden für die Detektionsfrequenzen +80, -80, -60 und -40 MHz gewählt. Diese Messungen wurden mit einer Repetitionsrate von 20 Hz, einem Detektions-Pulsabstand von $\tau = 5$ μ s und Pulslängen von $t_P = 32/32/32$ ns durchgeführt. Die Anzahl der Scans betrug jeweils 5 und die der Mittelungen 80. Als Detektionsfrequenz wurde die Resonatorfrequenz von $\nu_0 = 9,7243$ GHz gewählt. In Tab. 3.11 sind die weiteren Meßparameter dieser in Abb. 3.24 dargestellten Messungen aufgeführt.

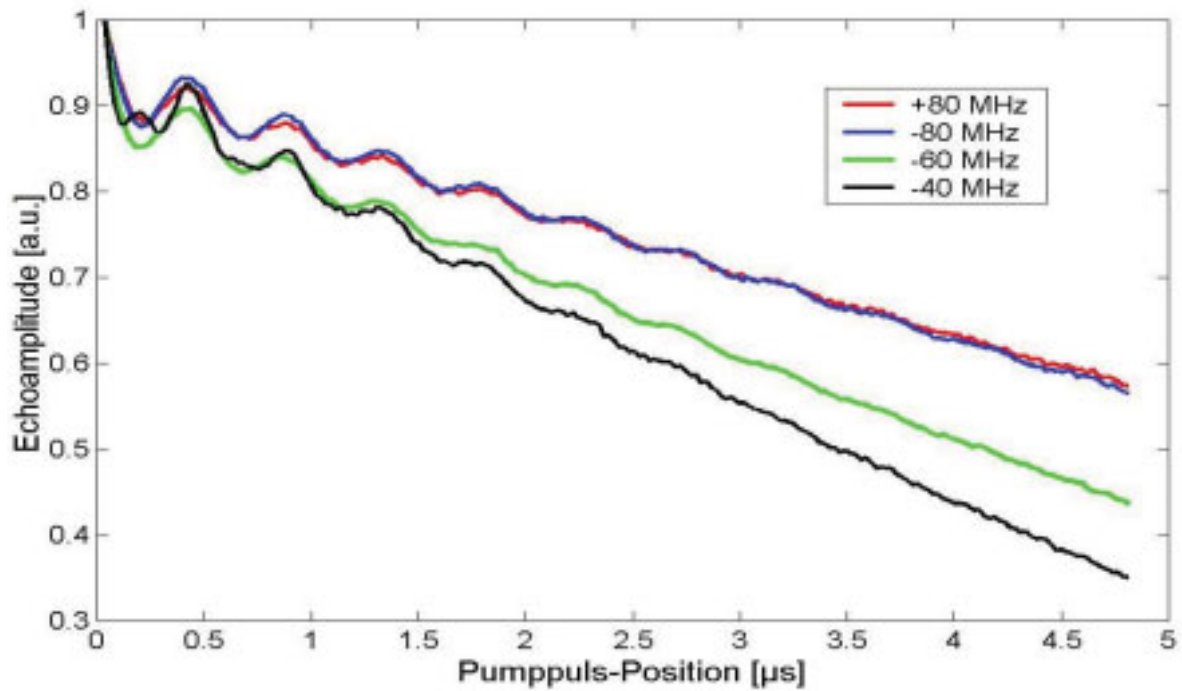


Abb. 3.24: PELDOR-Spektren von **2** in d8-Toluol bei verschiedenen Frequenzabständen $\Delta\nu$ im X-Band

Es sind zwei signifikante Unterschiede zu beobachten. Der Echozerfall nimmt mit zunehmendem Frequenzabstand deutlich ab. Die Modulation bleibt in Periode und Amplitude bei allen vier Spektren nahezu identisch, wobei das Spektrum mit dem kleinsten Abstand von -40 MHz (schwarz) innerhalb der ersten beiden Perioden eine zusätzliche Oszillation mit größerer Frequenz zeigt, die eine kleinere Anfangsamplitude besitzt und zusätzlich stärker gedämpft ist.

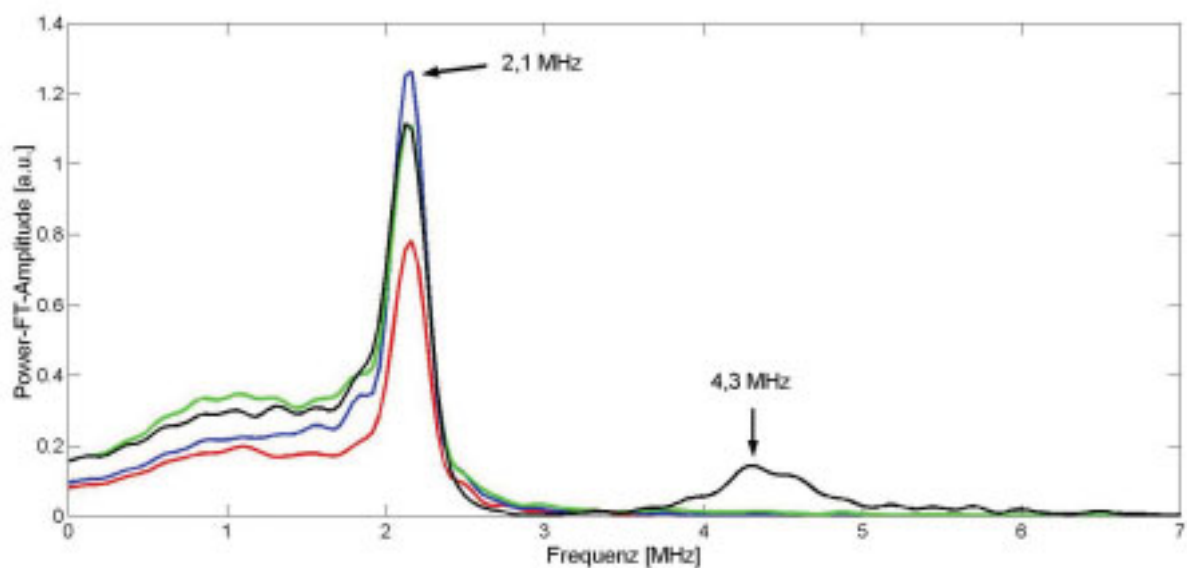


Abb. 3.25: Fouriertransformation der PELDOR-Spektren aus Abb. 3.24

Alle Zeitspektren aus Abb. 3.24 wurden nach Hochpaßfilterung (mit einer Grenzfrequenz von 1,5 MHz), Hanning-Filter und zero-filling fouriertransformiert. Die Fouriertransformation in Abb. 3.25 zeigt diese Schwingung bei einer Frequenz von $\nu_{\parallel} = 4,3(3)$ MHz, die etwa dem Doppelten der dipolaren Kopplung ν_{Dip} entspricht, woraus folgt, daß auch für diese Probe die Austauschwechselwirkung J vernachlässigbar ist. Da diese Probe aber in d8-Toluol gelöst ist, bleibt eine Unsicherheit bezüglich der Herkunft dieser beiden Frequenzen, da die freie Deuteriumfrequenz $\nu_{\text{D}} = 2,25$ MHz und damit $2\nu_{\text{D}} = 4,5$ MHz beträgt (bei $B_0 = 3444,7$ G).

Frequenzabstand $\Delta\nu$ [MHz]	+80	-80	-60	-40
Detektionsfrequenz ν [GHz]	9,8037	9,644	9,6637	9,6837
Feldposition B_0 [G]	3487,5	3430,5	3437,6	3444,7

Tab. 3.11: Meßparameter für PELDOR bei unterschiedlichen Frequenzabständen $\Delta\nu$ im X-Band

Aus diesem Grund wurde die Messung mit einem Frequenzabstand $\Delta\nu$ von -40 MHz mit der selben Probe auch im S-Band durchgeführt. Die Pulslängen betragen $t_p = 40/40/40$ ns, die Repetitionsrate 50 Hz und der Pulsabstand war $\tau = 2,3$ μ s. Die Resonator- und Detektionsfrequenz war $\nu_0 = 3,60265$ GHz, die Pumpfrequenz $\nu_2 = 3,56265$ GHz und das Magnetfeld $B_0 = 1268,5$ G. Es wurden bei 100 Mittelungen 50 Scans akkumuliert.

Die Abb. 3.26 zeigt in a) das Zeitspektrum und in b) die Fouriertransformation nach Eliminierung des Zerfalls mittels Hochpaßfilter (Grenzfrequenz 1 MHz) und anschließender Anwendung eines Hanning-Filters und zero-filling.

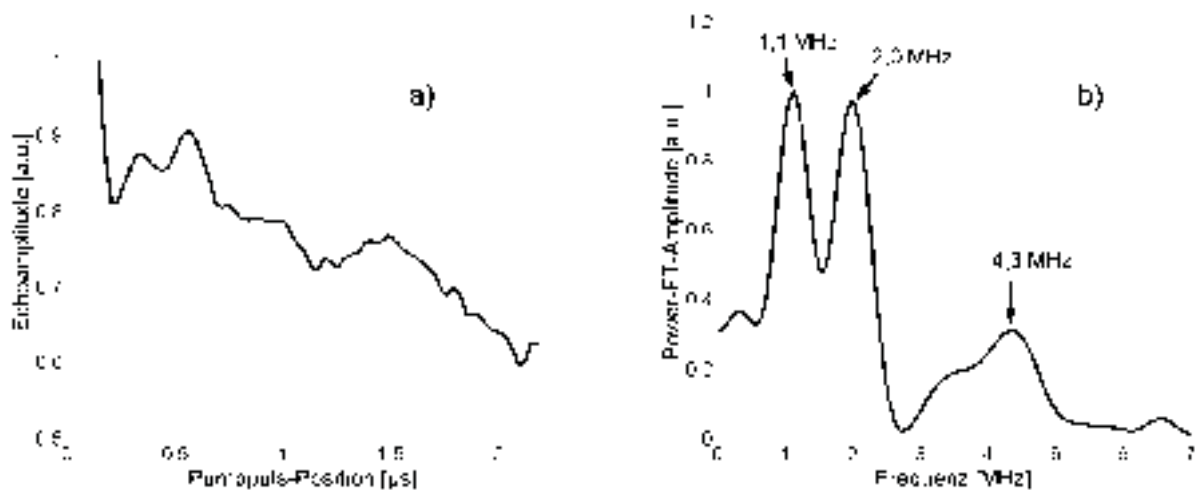


Abb. 3.26: PELDOR-Spektrum mit $\Delta\nu = -40$ MHz im S-Band bei 10 K (a) und FT nach Filterung und zero-filling (b)

Auch hier tritt die dipolare Kopplung $\nu_{\text{Dip}} = 2,0(2)$ MHz und die Harmonische $2\nu_{\text{Dip}}$ bei $4,3(3)$ MHz auf. Daraus folgt ein Abstand r_{AB} von $29,6(9)$ Å und ein $J \sim 0$. Der ebenfalls sehr große Peak bei 1,1 MHz stammt sehr wahrscheinlich von schwach gekoppelten Deuteriumkernen, deren Larmorfrequenz bei 1268,5 G 0,83 MHz beträgt. Da im S-Band der Kernmodulationseffekt deutlich stärker ist als im X-Band, ist auch das PELDOR-Experiment bei kleinen Frequenzabständen „anfälliger“ für Hyperfeinwechselwirkungen.

Als weitere Bestätigung, daß es sich bei den Linien bei 4,4 MHz um die Frequenz $2\nu_{\text{Dip}}$ handelt, wurde die Probe **2** in h8-Toluol gelöst. Nach der Aufnahme echo-detektierter EPR- und 2-Puls-ESEEM-Spektren wurden die PELDOR-Experimente mit fast identischen Parametern wie im Fall der in d8-Toluol gelösten Probe wiederholt. Auf die Darstellung echodetektierter Spektren sei hier verzichtet, da sich diese nicht erkennbar von denen der in d8-Toluol gelösten Probe unterscheiden. Allerdings ist bei identischen Temperaturen eine deutlich schnellere Relaxation (um mehr als einen Faktor 2) zu verzeichnen (vgl. Abb. 3.27 mit Abb. 3.21). Aus diesem Grund war für die PELDOR-Messung ein kürzerer τ -Wert nötig, um bei ähnlicher Meßzeit noch ein vernünftiges S/N zu erzielen. Alle weiteren Parameter zu diesen 2-Puls-Echozerfallsexperimenten sind in Tab. 3.12 zusammengefaßt.

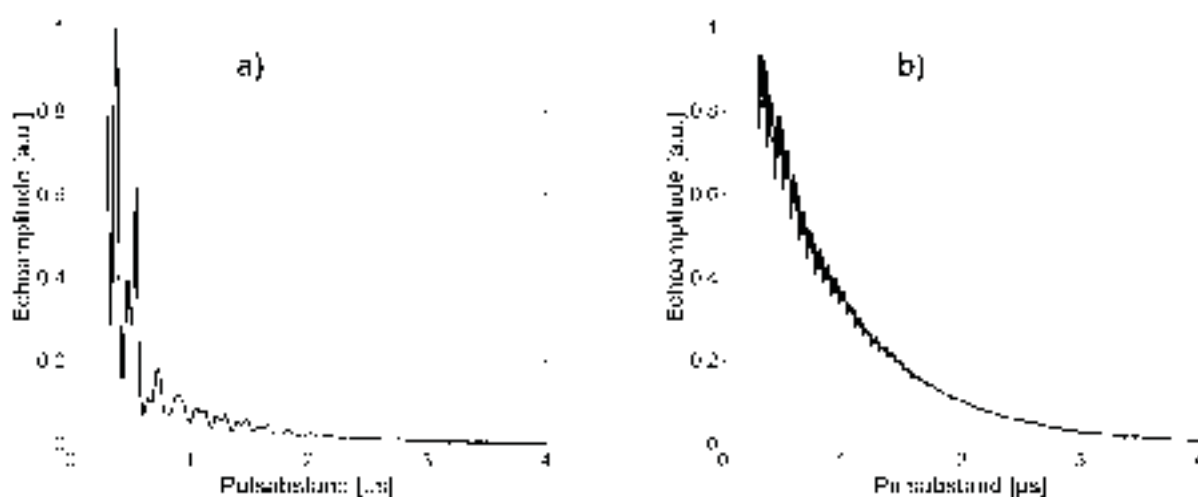


Abb. 3.27: 2-Puls-Echozerfall von **2** in h8-Toluol im S-Band (a) und im X-Band (b)

	S-Band	X-Band
Feldposition B_0 [G]	1283	3462
Repetitionsrate [Hz]	100	40
Pulslänge t_P [ns]	40/40	32/32
Anfangswert Pulsabstand τ_0 [ns]	295	284
Inkrement Pulsabstand $d\tau$ [ns]	10	8
Anzahl Scans/Mittelungen	1/100	1/5
Frequenz ν_0 [MHz]	3602,9	9735,2

Tab. 3.12: Meßparameter für 2-Puls-Echozerfall aus Abb. 3.27

Die PELDOR-Messungen wurden mit Pulsabständen von $\tau = 2,5 \mu\text{s}$ (im S-Band) bzw. $\tau = 3 \mu\text{s}$ (im X-Band) durchgeführt. Die Zeitspektren in Abb. 3.28 zeigen ebenfalls die erwartete Modulation, die jedoch in beiden Fällen eine etwas geringere Tiefe aufweist als bei der Probe **2** in d8-Toluol (vgl. Abb. 3.22). Bei dieser Messung kann im S-Band wieder eine größere Modulationstiefe als im X-Band konstatiert werden. Da in beiden Fällen jeweils dieselbe Probe verwendet wurde, kommt als mögliche Ursache nur die unterschiedliche Orientierungsselektion in Frage, die einerseits durch die weicheren Pulse und andererseits durch die geringere Auswirkung der schwachen g-Anisotropie im S-Band zustande kommt.

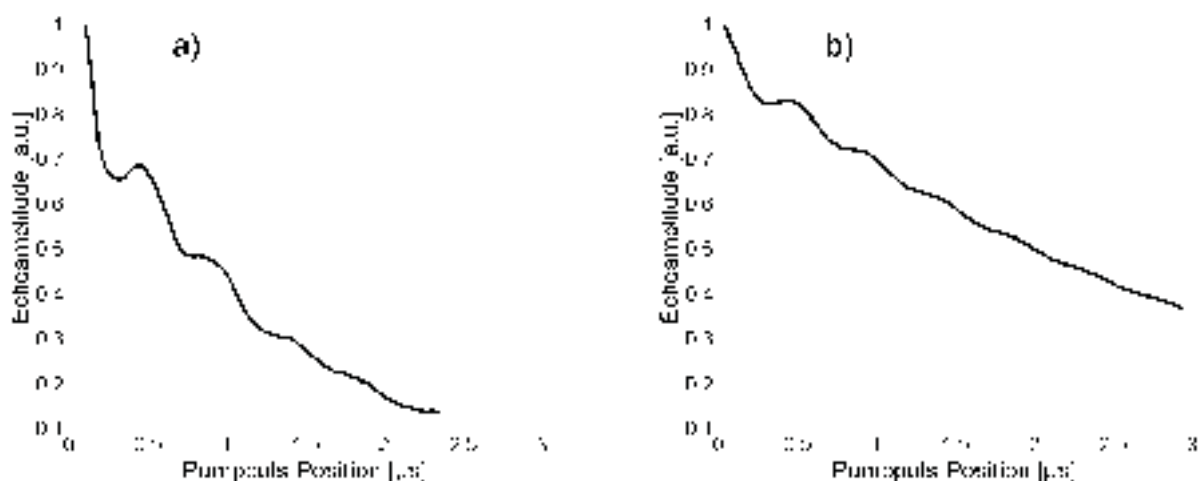


Abb. 3.28: PELDOR-Spektren von **2** in h8-Toluol mit $\Delta\nu = -80 \text{ MHz}$ im S-Band (a) und im X-Band (b)

	S-Band	X-Band
Feldposition B_0 [G]	1254,5	3433,5
Repetitionsrate [Hz]	100	40
Pulslänge t_p [ns]	40/40/40	32/32/32
Pulsabstand τ [ns]	2500	3000
Anzahl Scans/Mittelungen	76/100	100/5
Frequenzen $\nu_A / \nu_B / \Delta\nu$ [MHz]	3602,9 / 3522,9 / 80	9734,7 / 9654,7 / 80

Tab. 3.13: Meßparameter für die PELDOR-Spektren in Abb. 3.28

Der Zerfall der Echoamplitude wurde mittels Hochpaßfilter (Grenzfrequenz 1,5 MHz) entfernt. Da in beiden Fällen die Modulation noch nicht vollständig auf Rauschniveau abgeklungen war, mußte vor der FT (Abb. 3.29) ein Hanning-Filter und zero-filling angewendet werden. Die Fouriertransformationen zeigen jeweils eine starke Linie, die sich im S-Band bei $\nu_{\perp} = 2,06(18)$ MHz entsprechend einem Abstand von $r_{AB} = 29,3(8)$ Å und im X-Band bei $\nu_{\perp} = 2,12(9)$ MHz entsprechend $r_{AB} = 29,1(4)$ Å befindet.

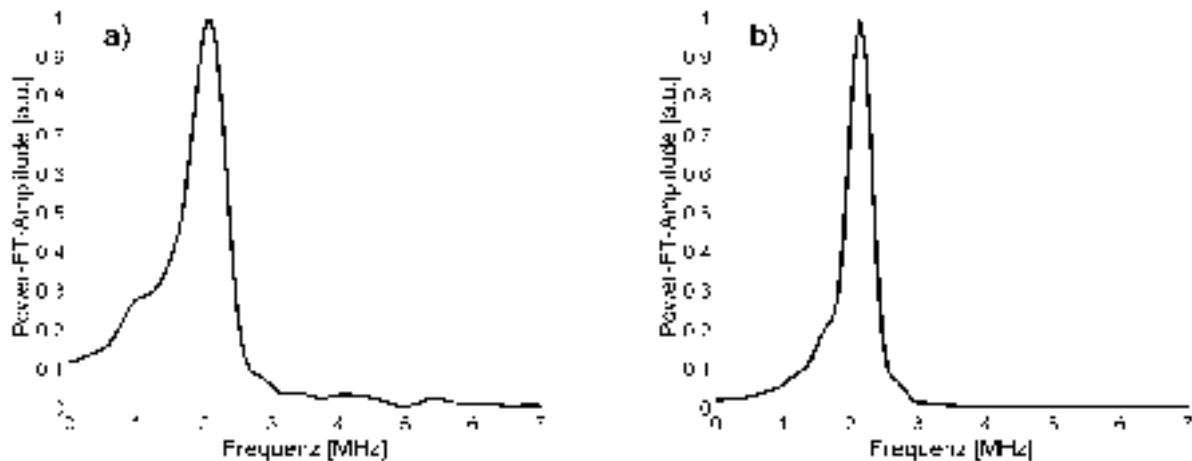


Abb. 3.29: FT der Spektren aus Abb. 3.28 nach Hochpaßfilterung und zero-filling in S-Band (a) und X-Band (b)

Um die Zuverlässigkeit der Methode zu testen, wurde auch mit dieser Probe eine Messung mit einem Frequenzabstand von $\Delta\nu = 40$ MHz im X-Band durchgeführt. Die Abb. 3.30 a) zeigt das Zeitspektrum und Abb. 3.30 b) die Power-FT nach Abzug des exponentiell gefitteten Zerfalls, Hanning-Filter und zero-filling. Bei dieser Messung waren bis auf die Frequenz $\nu_B = 9694,7$ MHz und die Feldposition $B_0 = 3447,7$ G alle Einstellungen mit denen in Tab. 3.13 (rechte Spalte) aufgeführten identisch.

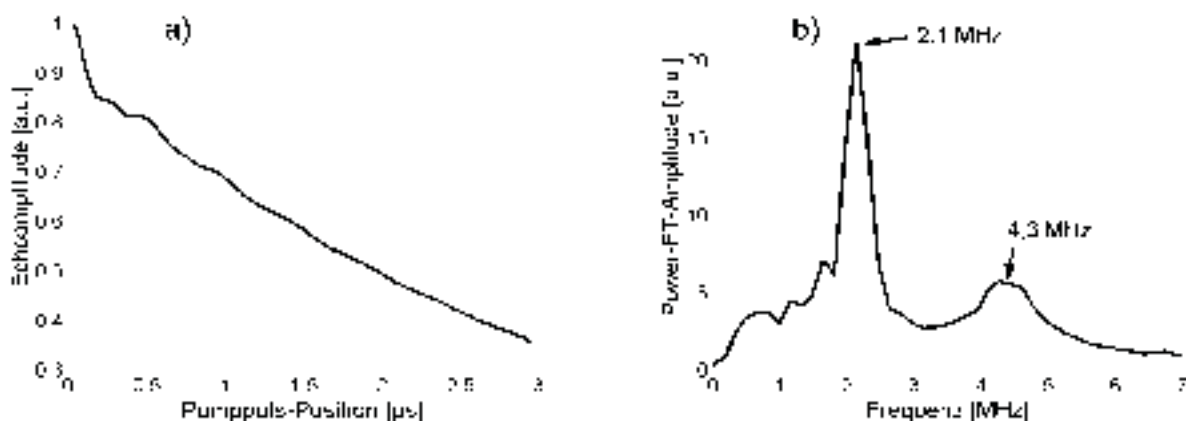


Abb. 3.30: PELDOR-Spektrum mit $\Delta\nu = -40$ MHz im X-Band bei 20 K (a) und FT nach Filterung und zero-filling (b)

Die Leistungsfähigkeit dieser Methode wurde mit der in 3.1 beschriebenen „2+1“-Sequenz verglichen. Hierbei wurde zwar der Frequenzabstand auf $\Delta\nu = 0$ MHz reduziert, jedoch für den Pumpimpuls die zweite Quelle verwendet, um eine Phasenbeziehung zwischen Detektion und Pumpen auszuschließen. Es wurden alle sonstigen Parameter entsprechend derjenigen der zuletzt beschriebenen PELDOR-Messungen belassen. Dieses Experiment wurde einmal mit der gleichen Pulslänge wie oben von $t_p = 32$ ns und einmal mit $t_p = 12$ ns und entsprechend gesteigerter mw-Leistung durchgeführt.

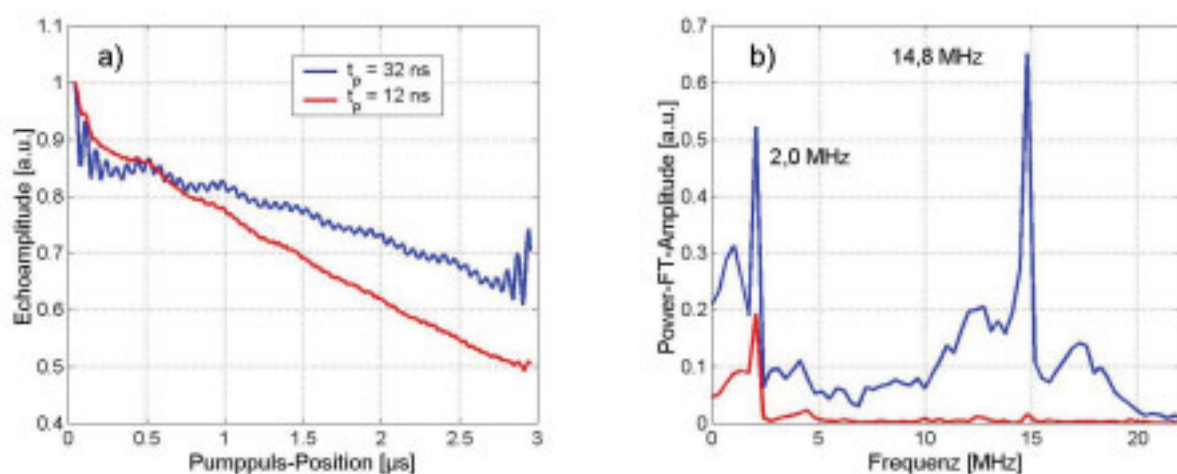


Abb. 3.31: „2+1“ im X-Band bei 20 K mit weichen (blau) und harten (rot) Pulsen. Zeitspektren a) und FT b)

In dem blauen Spektrum der Abb. 3.31 a), welches mit weichen Pulsen erzielt wurde ($t_p = 32$ ns $\rightarrow B_1 \sim 5$ G), tritt deutlich die Hyperfeinwechselwirkung der Matrixprotonen hervor, die bei dem eingestellten Feldwert von $B_0 = 3462$ G eine Frequenz von $\nu_H = 14,7$ MHz besitzen. In Abb. 3.31 b), die die Fouriertransformationen der Spektren aus Abb. 3.31 a) darstellt, ist nur wenig schwächer ein Peak bei der Frequenz der dipolaren Kopplung mit $\nu_{Dip} = 2,0$ MHz zu sehen. Das rote Spektrum der Abb. 3.31 a), das mit harten Pulsen ($t_p = 12$ ns $\rightarrow B_1 \sim 15$ G) erzielt wurde, weist einen deutlich stärkeren Zerfall auf, aber weitaus weniger Modulation. Die Protonenlinie schrumpft hier auf Rauschniveau, wodurch die um ca. 60% reduzierte Linie der dipolaren Kopplung zum prominenten Übergang wird (Abb. 3.31 b).

Diese Messungen zeigen, daß es zwar ebenso mit der „2+1“-Sequenz möglich ist, die Spin-Spin-Kopplung zu messen, jedoch birgt diese Methode zwei wesentliche Nachteile:

Der erste Nachteil ist, daß bei einer Meßzeit, die mit der entsprechenden PELDOR-Messung (Abb. 3.30) vergleichbar ist, zwar die Komponente $\nu_{\perp} = 2,0$ MHz klar zu identifizieren ist, aber nicht $\nu_{\parallel}$. Daher ist aus dieser Messung keine Aussage über einen etwaigen Beitrag einer Austauschwechselwirkung möglich und auch die Identifizierung der prominenten Linie als dipolare Kopplungskonstante kann nicht bewiesen werden, sondern beruht lediglich auf einer Plausibilitätsbegründung. Dieser Nachteil könnte möglicherweise durch Verwendung noch kürzerer Pulse im Falle ausreichender mw-Leistung kompensiert werden, falls es dadurch ermöglicht wird, das gesamte Spektrum gleichmäßig anzuregen [Rai00]. Dies ist jedoch für Nitroxide in S- und X-Band nicht möglich. Da die Verwendung von härteren Pulsen die Dämpfung verstärkt (siehe Abb. 3.31) wirkt sich dieses Vorgehen nachteilig auf die Linienbreite und damit auf die Genauigkeit der Abstandsmessung aus.

Zur Untersuchung von organischen Radikalen, die deutlich schmalere EPR-Spektren aufweisen, kann die „2+1“-Methode daher dennoch konkurrieren. So wurde mit dieser Methode die relative Position des Tyrosin D zum Chinon A im Photosystem II bestimmt [Yos99].

Der zweite Nachteil besteht in der generellen Schwierigkeit, Beiträge von Hyperfeinwechselwirkung vollständig zu unterdrücken, was für PELDOR wenigstens bei großen Frequenzabständen gegeben ist.

Somit haben die in der Literatur bekannten Modellsysteme **1** und **2** in S- und X-Band übereinstimmende Ergebnisse geliefert, wodurch die Leistungsfähigkeit beider Spektrometer belegt wurde. Hierbei wurde über die Bestätigung der dipolaren Kopplung in beiden Systemen hinaus auch der Nachweis einer vernachlässigbaren Austauschwechselwirkung J , durch die Messung der Komponente $\nu_{\parallel}$ erbracht.

3.5.4 BITPAB und BITPAP in d8- /h8-Toluol

Die Proben **BITPAB** und **BITPAP** wurden synthetisiert, um einerseits die untere Grenze der Empfindlichkeit der PELDOR-Methode zu ermitteln, und andererseits, um den Einfluß der Austauschwechselwirkung, welche mit dieser Methode noch nicht untersucht wurde, zu charakterisieren. Die Struktur dieser Biradikale und der Abstand beider Nitroxidgruppen lassen darauf schließen, daß es hier zu einem nennenswerten Beitrag dieser Wechselwirkung kommen kann. Da sie eine isotrope Größe ist, wurden für diese beiden Proben neben den Messungen in gefrorener Lösung auch cw-EPR-Messungen bei Raumtemperatur durchgeführt. Da sich in flüssiger Lösung die anisotropen Anteile der Spin-Spin-Wechselwirkung, die dipolare Kopplung, ausmittelt, kann auf diese Weise die Austauschwechselwirkung J separiert werden. Die cw-EPR-Spektren beider Proben in d8-Toluol, von **BITPAB** in 3.32 a) und von **BITPAP** in 3.32 b) dargestellt, wurden mit einem X-Band-Spektrometer Bruker esp300e aufgenommen.

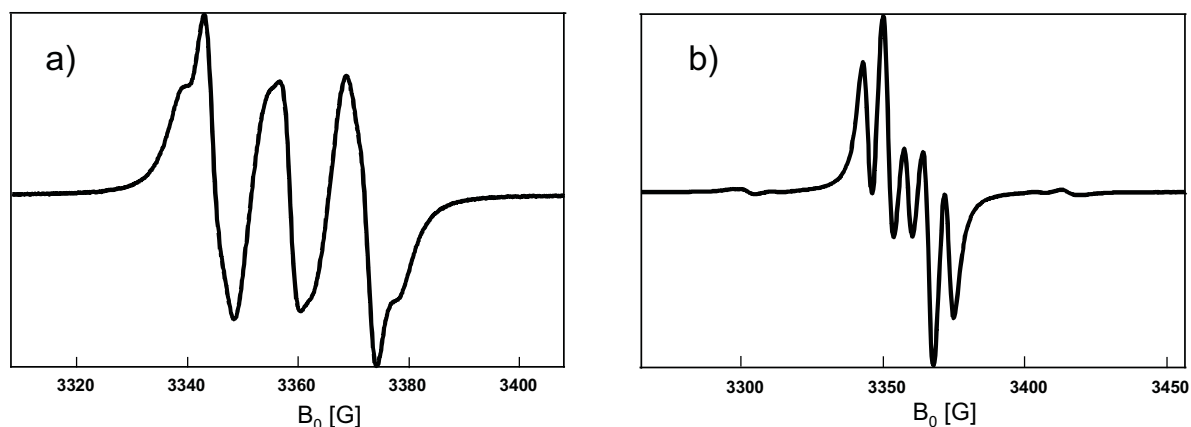


Abb. 3.32: cw-EPR-Spektrum von **BITPAB** (a) und **BITPAP** (b) im X-Band bei Raumtemperatur. mw-Frequenz: 9,4337 GHz (a) bzw. 9,4332 GHz (b), Modulationsamplitude: 0,1 G (a) bzw. 2 G, mw-Leistung: 1 mW (a) bzw. 0,8 mW (b)

Das Spektrum von **BITPAB** (Abb. 3.32 a) zeigt eine kleine zusätzliche Aufspaltung des 3-Linien-Spektrums gegenüber dem eines Nitroxid-Monoradikals. Durch Simulation dieses Spektrums mittels Xemr [Elo00] konnte der Betrag der Austauschwechselwirkung zu $|J|/2\pi = 12(3)$ MHz ermittelt werden. Da dies noch in der Größenordnung der dipolaren Kopplung liegt, ist zu erwarten, daß sie mit der PELDOR-Methode zu registrieren ist.

Dagegen läßt die vergleichsweise starke Austauschwechselwirkung in **BITPAP**, deren Betrag durch Simulation des Spektrums in Abb. 3.32 b) zu $|J|/2\pi = 73(3)$ MHz bestimmt wurde, dies aufgrund zu geringer Anregungsbandbreite der verwendeten Pulse nicht erwarten.

Für die Probe **BITPAP** ist in Abb 3.33 ein echodetektiertes (a) und ein 2-Puls-Echozerfallsspektrum (b) aus dem S-Band gezeigt. Es konnten weder im S- noch im X-Band PELDOR-Oszillationen registriert werden, was der großen Austauschwechselwirkung zugeschrieben werden kann. Die Kopplung der Spins ist hier schon so stark, daß es nicht mehr möglich ist ihre Zustände separat zu beeinflussen.

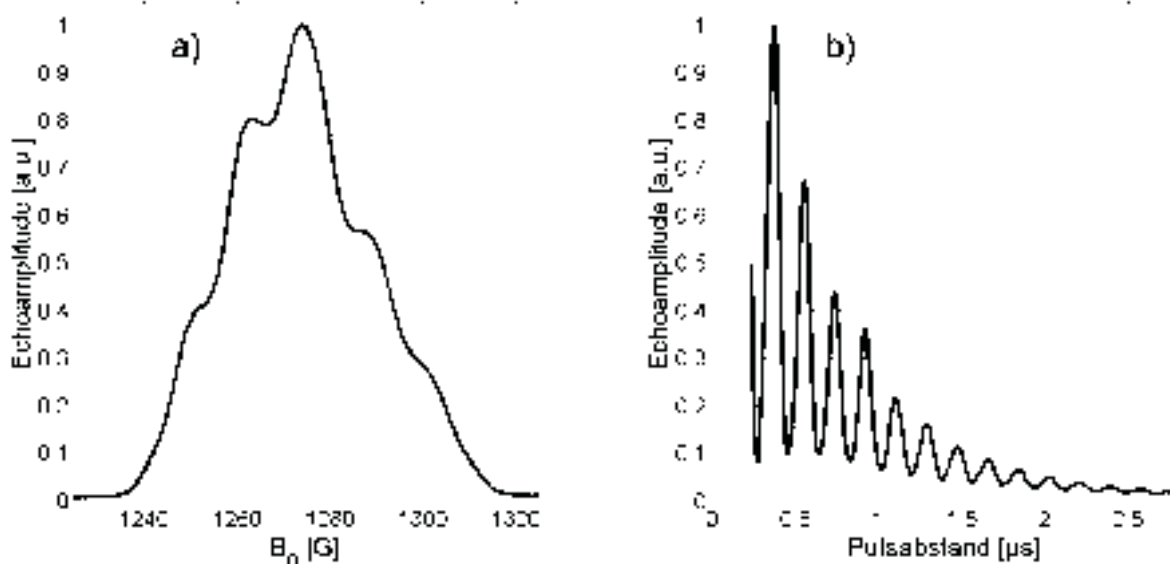


Abb. 3.33: **BITPAP** in d8-Toluol im S-Band: a) Echodetektiertes EPR-Spektrum mit einem Pulsabstand von $\tau = 365$ ns, b) 2-Puls-Echozerfallsspektren bei $B_0 = 1274$ G.

Bevor auf die PELDOR-Messungen zur Untersuchung der Spin-Spin-Wechselwirkung eingegangen wird, soll anhand der Probe **BITPAB** in h8-Toluol die für Nitroxide typische Relaxationsanisotropie [Mil84b] im X-Band demonstriert werden. Abb. 3.34 zeigt in a) echodetektierte EPR-Spektren bei drei verschiedenen Pulsabständen τ von 148, 1200 bzw. 2200 ns. Die eingezeichneten farbigen Pfeile weisen auf die Feldpositionen, für die in b) 2-Puls-Echozerfallsspektren in halb-logarithmischem Maßstab dargestellt sind.

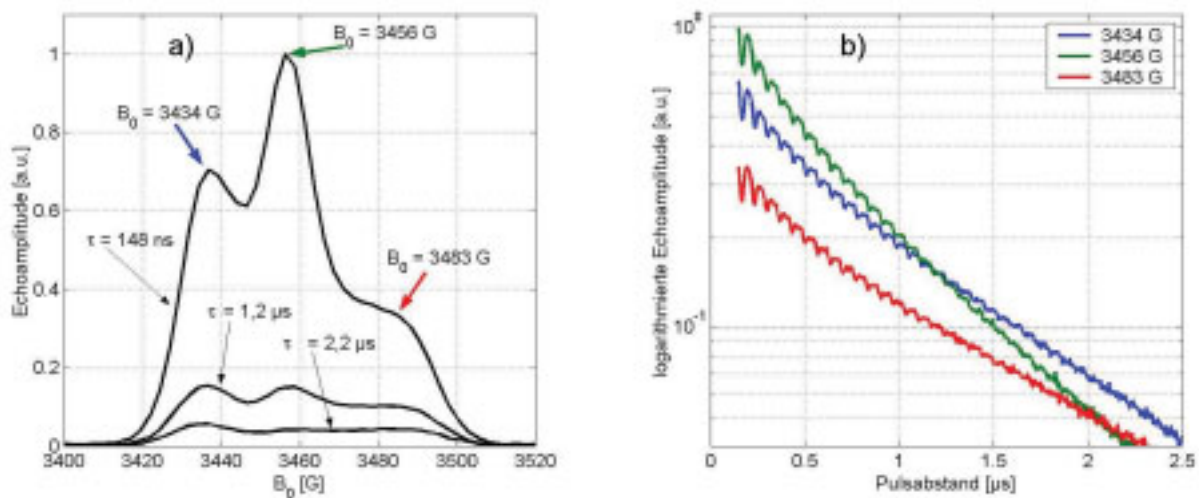


Abb. 3.34: Relaxationsanisotropie der Nitroxide am Beispiel **BITPAB** in h8-Toluol im X-Band bei 20 K: a) Echodetektierte EPR-Spektren mit einem Pulsabstand von $\tau = 148$ ns (obere Kurve), $\tau = 1,2$ μ s (mittlere Kurve) bzw. $\tau = 2,2$ μ s (untere Kurve). b) 2-Puls-Echozerfallsspektren bei drei verschiedenen Feldwerten B.

Die Abb. 3.34 b) zeigt, daß die zentrale Komponente bei $g = 2$ (grün, $m_l = 0$) die schnellste Relaxation aufweist. Bei kleinem Pulsabstand stellt diese Komponente das Maximum des Spektrums dar, bei $\tau \sim 1,2$ μ s sinkt sie unter die rechte Schulter (blau, $m_l = +1$), um ab $\tau \sim 2,1$ μ s unter die linke Schulter (rot, $m_l = -1$) zu sinken und damit zur kleinsten Komponente zu werden. Diese Relaxationsanisotropie kann für die Wahl der Pump- bzw. Detektionsfrequenz in Abhängigkeit des maximal erreichbaren Pulsabstandes τ in PELDOR-Experimenten entscheidend sein. Hier ist die in den bisher dargestellten Experimenten getroffene Wahl (vgl. Abb. 3.9) der Detektion auf der langsamer relaxierenden Schulter bei niedrigem Feld (bzw. hoher Frequenz) sinnvoll. Würde diese Schulter dagegen deutlich schneller relaxieren, als die zentrale Komponente, ließe sich bei umgekehrter Wahl evtl. ein größerer τ -Wert realisieren.

Die in Abb. 3.34 a) und b) gezeigten Spektren wurden bei einer Frequenz von $\nu_0 = 9,7208$ GHz, mit Pulslängen von 32 ns und einer Repetitionsrate von 100 Hz aufgenommen. Es wurden jeweils 1 Scan mit 5 Mittelungen durchgeführt. Die echodetektierten EPR-Spektren in der Abb. 3.34 a) wurden mit Pulsabständen von $\tau = 148$ ns (oben) bzw. 1,2 μ s (mitte) und 2,2 μ s (unten) durchgeführt. Die 2-Puls-Echozerfallsspektren (Abb. 3.34 b) wurden mit einem Pulsabstand von $\tau = 148$ ns begonnen und mit einem Inkrement von 4 ns gefahren. Die Feldwerte waren 3434 G (blau), 3456 G (grün) und 3483 G (rot).

Zum Vergleich sind in Abb. 3.35 a) ein echodetektiertes EPR-Spektrum und in b) ein 2-Puls-Echozerfallsspektrum aus dem S-Band dargestellt. Diese wurden bei einer Frequenz von $\nu_0 = 3,586$ GHz, mit Pulslängen von 40 ns und einer Repetitionsrate von 50 Hz aufgenommen. Es wurden jeweils 1 Scan mit 10 Mittelungen durchgeführt. Das echodetektierte EPR-Spektrum (Abb. 3.35 a) wurde mit einem Pulsabstand von $\tau = 220$ ns durchgeführt. Das 2-Puls-Echozerfallsspektrum (Abb. 3.35 b) wurde mit einem Pulsabstand von $\tau = 220$ ns begonnen und mit einem Inkrement von 10 ns bei einem Feldwert von $B_0 = 1277$ G gefahren.

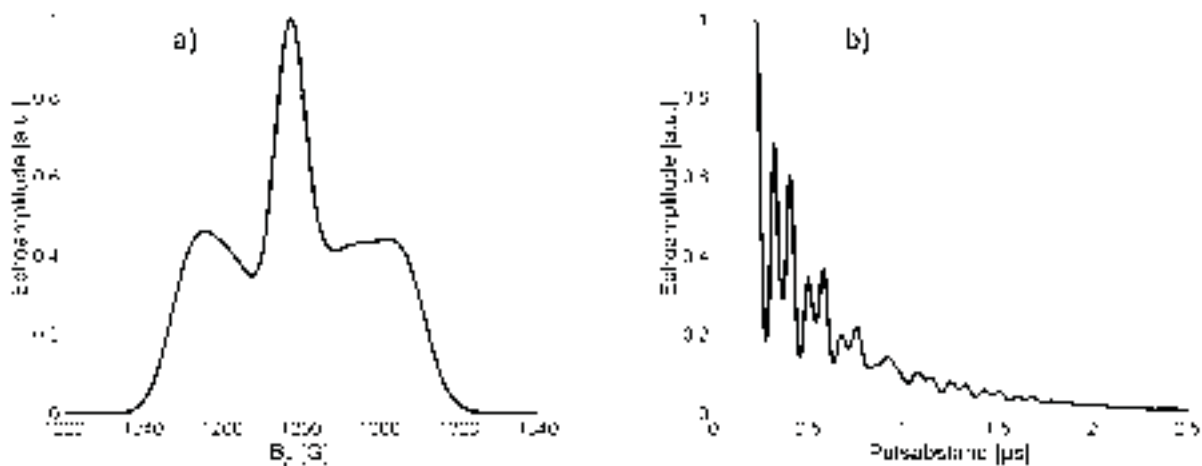


Abb. 3.35: **BITPAB** in h8-Toluol im S-Band bei 10 K: a) Echodetektiertes EPR-Spektrum mit einem Pulsabstand von $\tau = 220$ ns. b) 2-Puls-Echozerfallsspektren bei $B_0 = 1277$ G.

In der folgenden Abb. 3.36 sind die PELDOR-Spektren für **BITPAB** im X-Band bei einem Frequenzabstand von $\Delta\nu = 80$ MHz einer in d8-Toluol gelösten Probe (a) bzw. bei einem Frequenzabstand von $\Delta\nu = 40$ MHz einer in h8-Toluol gelösten Probe gezeigt.

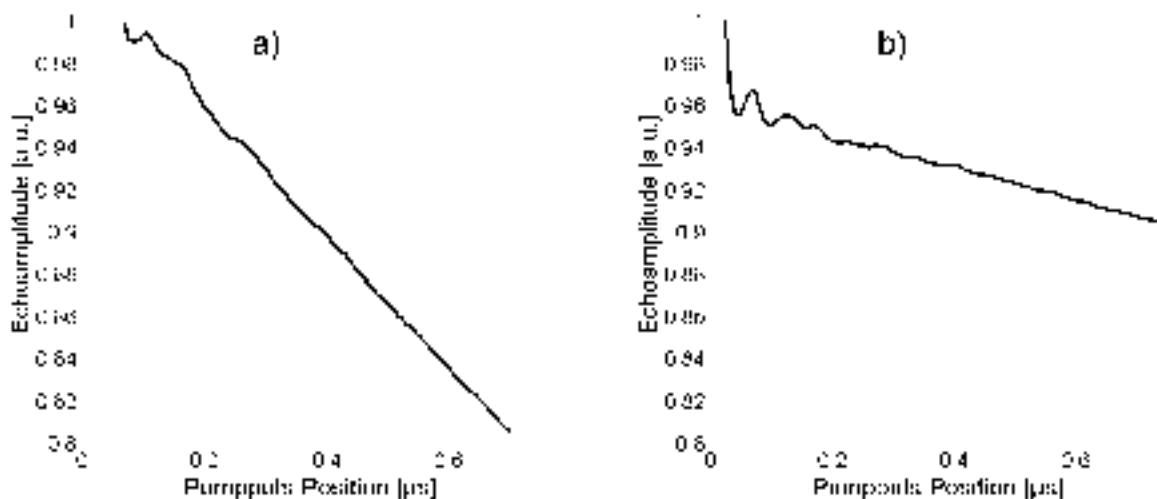


Abb. 3.36: PELDOR im X-Band an **BITPAB** in d8-Toluol mit $\Delta\nu = 80$ MHz a) und in h8-Toluol mit $\Delta\nu = 40$ MHz b)

Die Meßparameter dieser Messungen sind der Tab. 3.14 zusammengestellt.

	$\Delta\nu = 80$ MHz	$\Delta\nu = 40$ MHz
Feldposition B_0 [G]	3433,5	3444,0
Repetitionsrate [Hz]	100	100
Pulslänge t_P [ns]	32/32/32	20/20/20
Pulsabstand τ [ns]	984	1836
Anzahl Scans/Mittelungen	140/10	2400/10
Frequenzen ν_A / ν_B [MHz]	9734,8 / 9654,8	9726,7 / 9686,7

Tab. 3.14: Meßparameter für die PELDOR-Spektren in Abb. 3.36

Die Zerfälle in diesen Zeitspektren sind durch Hochpaßfilterung mit einer Grenzfrequenz von 3 MHz (a) bzw. mittels biexponentiellem Fit (b) eliminiert. Nach Anwendung von Hanning-Filtern und zero-filling wurden Power-Fouriertransformationen durchgeführt (Abb. 3.37).

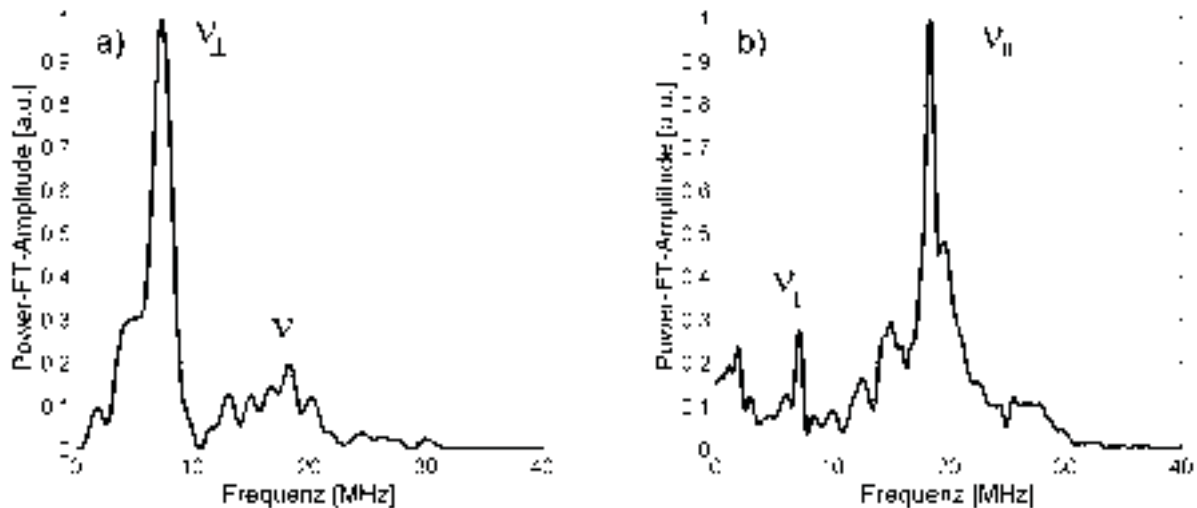


Abb. 3.37: Power-Fouriertransformationen der Zeitspektren aus Abb. 3.36

Die stärkste Linie in Abb. 3.37 a) liegt bei 7,4 MHz und ist mit $v_{\perp}$ bezeichnet, die stärkste Linie in b) liegt bei 18,3 MHz und ist mit $v_{\parallel}$ bezeichnet. Da die zweitgrößte Linie in a) mit einer Frequenz von $v_{\parallel} = 18,3$ MHz exakt der Frequenz der prominenten Linie in b) entspricht und umgekehrt die zweitgrößte Linie in b) mit einer Frequenz von $v_{\perp} = 7,2$ MHz der Frequenz der prominenten Linie in a) sehr nahe kommt, können diese beiden Frequenzen als Singularitäten des dipolaren Tensors identifiziert werden. Da es mit einem Frequenzabstand von $\Delta\nu = 80$ MHz für die bisher untersuchten Biradikale nicht möglich war, die Komponente $v_{\parallel}$ anzuregen (siehe 3.2), also solche Moleküle mit einer Ausrichtung $\Theta_{rz} = 0^{\circ}$, wird die starke Linie in a) der Komponente $v_{\perp}$ zugeordnet und die starke Linien in b) der Komponente $v_{\parallel}$.

Aus diesen Werten und der eindeutigen Zuordnung kann nun mit Hilfe von

$$\nu_{\text{Dip}} = \left| \nu_{\perp} + \nu_{\parallel} \right| / 3$$

$$J/2\pi = \left(2\nu_{\perp} + \nu_{\parallel} \right) / 3$$

sowohl die dipolare Kopplungskonstante zu $\nu_{\text{Dip}} = 3,7(2)$ MHz ermittelt werden, als auch Betrag und Vorzeichen der Austauschwechselwirkung zu $J/2\pi = +11(3)$ MHz. Somit liegt für dieses Biradikal eine antiferromagnetische Kopplung vor, was für para-substituiertes Benzol auch erwartet wird [Kah93]. Aus der dipolaren Kopplungskonstante ν_{Dip} folgt ein Abstand der beiden Nitroxid-Spinlabel von $r_{\text{AB}} = 24,0(3)$ Å, was etwas größer ist, als der erwartete Wert von $21(1)$ Å (vgl. Abb. 3.5).

Aufgrund der geringeren Empfindlichkeit des S-Band-Spektrometers gegenüber dem X-Band-Spektrometer und der geringen Modulationstiefe bei dieser Probe konnten keine S-Band-PELDOR-Spektren mit ausreichendem Signal-zu-Rausch-Verhältnis erzielt werden.

3.5.5 BIESTERPHY und BIESTERBI in d8-Toluol

Die echodetektierten EPR-Spektren dieser beiden Proben zeigten das typische 3-Linien-Muster wie jene der Proben **1**, **2** oder **TPA**. Bei den 2-Puls-ESEEM-Spektren konnten ebenfalls identische Modulationen und sehr ähnliches Relaxationsverhalten festgestellt werden. Auf eine Darstellung dieser Spektren wird daher verzichtet.

Die folgende Abb. 3.38 zeigt die PELDOR-Spektren der Probe **BIESTERPHY** für das S-Band (a) bei einem Frequenzabstand von $\Delta\nu = 80$ MHz und für das X-Band (b) bei $\Delta\nu = 80$ MHz in blau und bei $\Delta\nu = 40$ MHz in rot. Die X-Band-Spektren weisen bei beiden Frequenzabständen eine sehr kleine, nahezu identische Modulation mit einer Tiefe von etwa 2% auf. Die Dämpfung ist für den kleineren Frequenzabstand größer, was auch schon bei der systematischen Untersuchung der Probe **2** (siehe Abb. 3.24) beobachtet wurde. Das im S-Band bei einer Temperatur von 5 K erzielte Spektrum zeigt bei etwa gleich langer Meßdauer ein deutlich schlechteres S/N, kann aber nach der Fouriertransformation die Modulation des X-Band-Spektrums eindeutig bestätigen (Abb. 3.39).

Die Meßparameter sind in der folgenden Tab. 3.15 zusammengestellt.

	S-Band ($\Delta\nu = 80$ MHz)	X-Band ($\Delta\nu = 80$ MHz)	X-Band ($\Delta\nu = 40$ MHz)
Feldposition B_0 [G]	1248,5	3434,5	3448,7
Repetitionsrate [Hz]	10	33	33
Temperatur [K]	5	20	20
Pulslänge t_P [ns]	40/40/40	32/32/32	32/32/32
Pulsabstand τ [ns]	1050	1772	1772
Anzahl Scans/Mittelungen	28/100	230/5	210/5
Frequenzen ν_A [MHz]	3584,2	9733,0	9732,9
Frequenzen ν_B [MHz]	3504,2	9652,7	9692,9

Tab. 3.15: Meßparameter für die PELDOR-Spektren in Abb. 3.38

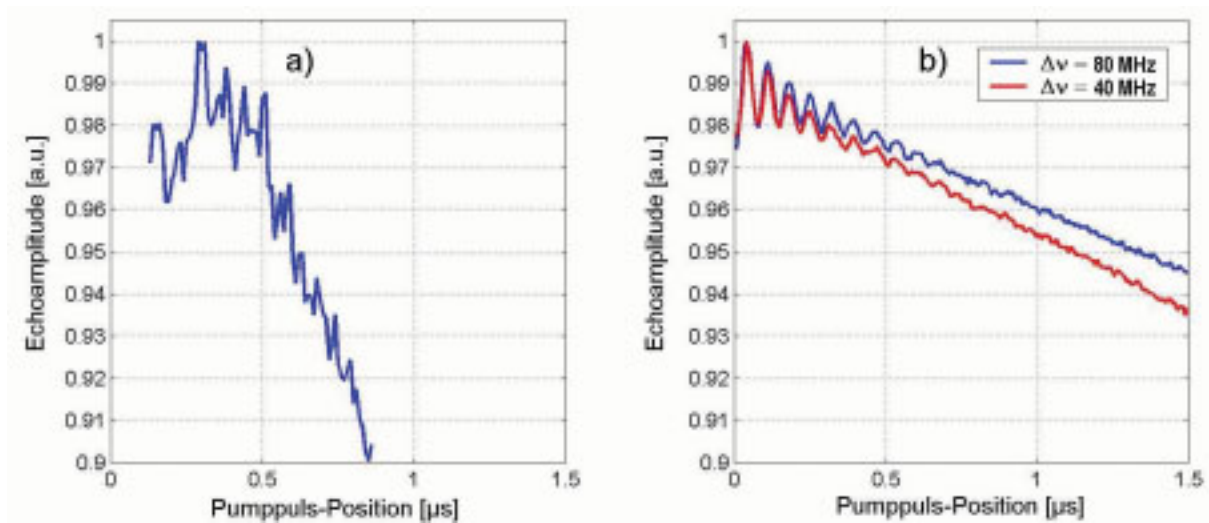


Abb. 3.38: PELDOR-Zeitspektren an **BIESTERPHY** in d8-Toluol im S-Band: a) und im X-Band b). Die blauen Spektren wurden mit einem Frequenzabstand von $\Delta\nu = 80$ MHz und das rote Spektrum in b) mit $\Delta\nu = 40$ MHz aufgenommen.

Der Untergrund des S-Band-Zeitspektrums wurde mittels Hochpaßfilter (Grenzfrequenz 2 MHz) eliminiert. Die Zerfälle der X-Band-Spektren wurden mit einem Polynom zweiten Grades angefitet. Die daraus resultierenden Spektren wurden nach Hanning-Filter und zero-filling fouriertransformiert.

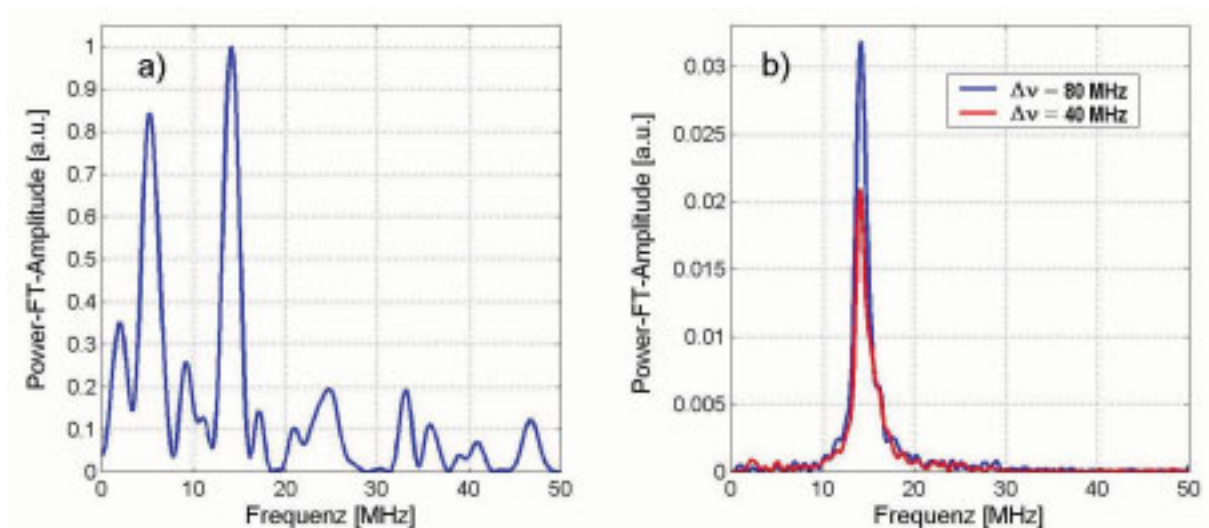


Abb. 3.39: Fouriertransformationen der Zeitspektren aus Abb. 3.38 nach Hochpaßfilter im S-Band (a) bzw. Polynom-Fit im X-Band (b) und darauf Anwendung von Hanning-Filter und zero-filling

In Abb. 3.39 sind die Power-Fouriertransformationen der PELDOR-Messungen aus Abb. 3.38 dargestellt. Im Falle der X-Band-Spektren in b) ist sowohl für $\Delta\nu = 80$ MHz (blau) als auch für $\Delta\nu = 40$ MHz (rot) jeweils nur eine Linie sichtbar. Diese liegt in beiden Fällen bei 14,2(7) MHz. Daß auch bei dem kleineren Frequenzabstand von $\Delta\nu = 40$ MHz keine zweite Linie nachgewiesen werden konnte, liegt einerseits in einer unzureichenden Anregungsbandbreite der verwendeten Pulse und andererseits an der sehr großen Dämpfung des Zeitsignals, so daß ein beträchtlicher Teil der Intensität dieser Linie in der Totzeit verloren geht.

Ordnet man die sichtbare Linie der Singularität $\nu_{\perp}$ zu, wie im Falle aller zuvor beschriebenen PELDOR-Messungen aufgrund der gegebenen Orientierungsselektion bei $\Delta\nu = 80$ MHz, so folgt daraus unter der Annahme einer vernachlässigbaren Austauschwechselwirkung eine dipolare Kopplungskonstante von $\nu_{\text{Dip}} = 14,2(7)$ MHz, woraus ein Abstand von $r_{\text{AB}} = 15,4(3)$ Å resultiert.

Dieser Wert wird durch die Messung im S-Band bestätigt. Aufgrund der geringen Modulationsamplitude von nur ca. 2% im X-Band und der geringeren Empfindlichkeit der S-Band-Messung ist diese zwar stärker rauschbehaftet, jedoch tritt als stärkste Linie annähernd dieselbe Frequenz von 14,1(10) MHz hervor. Daher kann diese Frequenz ebenfalls als dipolare Kopplungskonstante identifiziert werden, so daß diese Messung einen Abstand von $r_{\text{AB}} = 15,5(4)$ Å liefert. Beide Ergebnisse stehen in sehr guter Übereinstimmung mit dem theoretischen Wert von $r_{\text{AB}} = 15,5(10)$ Å (vgl. Abb. 3.5).

Die Abb. 3.40 zeigt die PELDOR-Spektren der Probe **BIESTERBI** in d8-Toluol für das S-Band (a) bei einem Frequenzabstand von $\Delta\nu = 80$ MHz und für das X-Band (b) bei $\Delta\nu = 80$ MHz in blau bzw. bei $\Delta\nu = 40$ MHz in rot. Zum Vergleich der Modulationsamplituden wurden alle Spektren auf das Maximum bei der Pumpimpuls-Position von etwa 145 ns normiert. In der Tab. 3.16 befinden sich alle relevanten Parameter.

	S-Band ($\Delta\nu = 80$ MHz)	X-Band ($\Delta\nu = 80$ MHz)	X-Band ($\Delta\nu = 40$ MHz)
Feldposition B_0 [G]	1247,4	3434,9	3449
Repetitionsrate [Hz]	150	50	50
Pulslänge t_P [ns]	40/40/40	32/32/32	32/32/32
Pulsabstand τ [ns]	1315	3000	3000
Anzahl Scans/Mittelungen	10/100	10/10	100/10
Frequenzen ν_A [MHz]	3582	9735,2	9735,2
Frequenzen ν_B [MHz]	3502	9655,2	9695,2

Tab. 3.16: Meßparameter für die PELDOR-Spektren in Abb. 3.40

Im Gegensatz zu den bislang gezeigten PELDOR-Experimenten wurden diese X-Band-Messungen (in Abb. 3.40 b) totzeitfrei durchgeführt, d.h. daß der Pumpimpuls zeitgleich mit der Detektionssequenz startet. Im Falle idealer Pulse sollte es auf diese Weise möglich sein, auch die breiten Komponenten des dipolaren Tensors zu registrieren. Da die Pulsschalter jedoch außer endlicher Schaltzeiten auch endliche Schalttiefen besitzen, mußte zuvor mit dem Transmitter-Monitor überprüft werden, ob die Pulse „sauber“ aussahen, was für das X-Band-Spektrometer der Fall war, wegen unzureichender Schalttiefe für das S-Band-Spektrometer jedoch nicht. Die Sachdienlichkeit dieser Methode muß zusätzlich anhand des Ergebnisses beurteilt werden. Für alle Zeitspektren aus Abb. 3.40 wurde zur Eliminierung des Untergrundes ein Polynom zweiten Grades angefitet und nach Anwendung eines Hanning-Filters und zero-filling eine Power-Fouriertransformation durchgeführt.

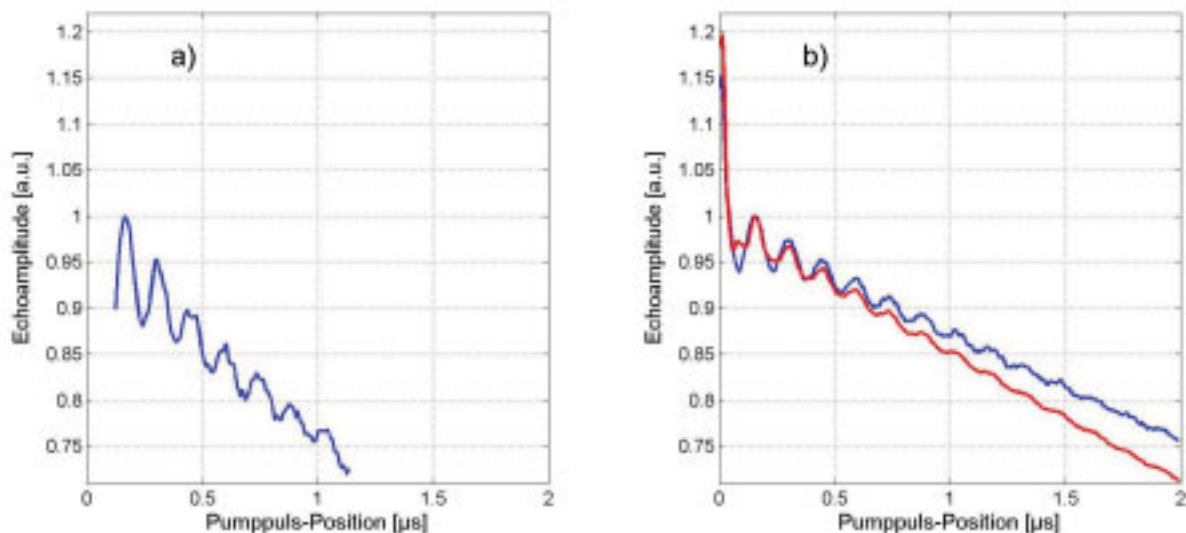


Abb. 3.40: PELDOR-Zeitspektren von **BIESTERBI** in d8-Toluol im S-Band a) und im X-Band b) bei einem Frequenzabstand von $\Delta\nu = 80$ MHz in blau und mit $\Delta\nu = 40$ MHz in rot.

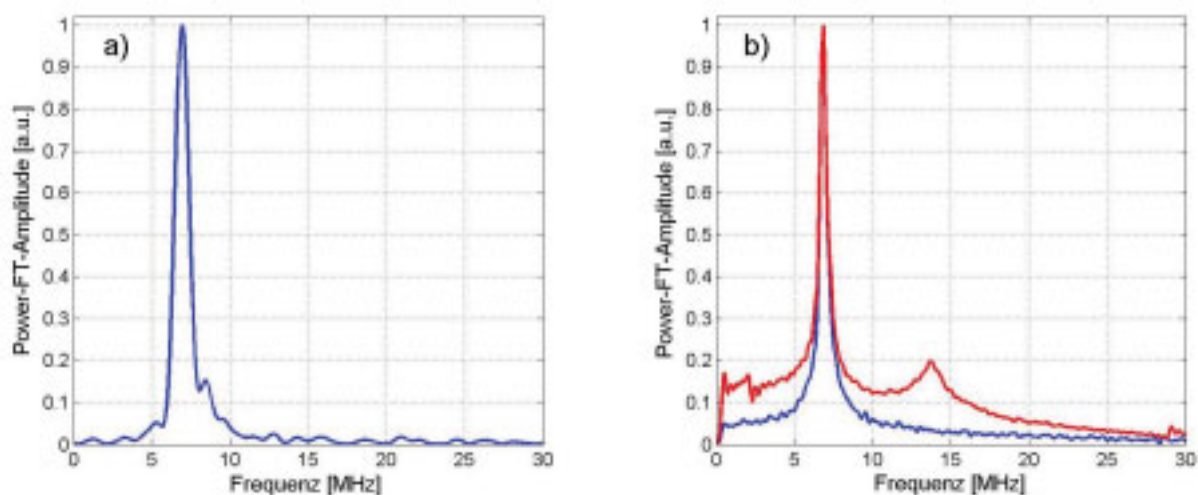


Abb. 3.41: FT der Spektren aus Abb. 3.40 nach Hochpaßfilter, Hanning-Filter und zero-filling im S-Band (a) und im X-Band (b)

Das X-Band-Spektrum in Abb. 3.41 b) in blau, welches bei einem Frequenzabstand von $\Delta\nu = 80$ MHz aufgenommen wurde, ist nur eine Linie bei 6,9(2) MHz zu sehen. In dem Spektrum für $\Delta\nu = 40$ MHz in rot befindet sich diese Linie ebenfalls und zusätzlich eine bei 13,7(4) MHz mit ca. 1/5 der Intensität. Da diese Frequenz mit großer Genauigkeit dem Doppelten der starken Linie entspricht, kann man beide Linien eindeutig den Komponenten $\nu_{\perp}$ und $\nu_{\parallel}$ des dipolaren Tensors zuordnen und auf eine vernachlässigbare Austauschwechselwirkung schließen.

Das S-Band-Spektrum zeigt ebenfalls die Komponente $\nu_{\perp}$, die sich hier mit etwas größerer Unsicherheit bei exakt derselben Frequenz von 6,9(4) MHz befindet. Eine Messung bei $\Delta\nu = 40$ MHz zeigte auch eine Linie bei dieser Frequenz, aber nicht die Komponente $\nu_{\parallel}$. Da bei totzeitfreier Messung im X-Band die Amplitude von $\nu_{\parallel}$ nur ca. 1/5 derjenigen von $\nu_{\perp}$ betrug, ist bei den S-Band-Messungen mit einer Totzeit von ca. 120 ns diese breite und daher in der Zeitdomäne stark gedämpfte Komponente nicht nachweisbar.

Die Ergebnisse aller S- und X-Band-PELDOR-Messungen zusammenfassend ergibt sich für dieses Molekül eine dipolare Kopplungskonstante von $\nu_{\text{Dip}} = 6,9(3)$ MHz und daraus ein Spin-Spin-Abstand von $r_{\text{AB}} = 19,6(3)$ Å mit $J \sim 0$. Auch dieser Abstand stimmt sehr gut mit dem theoretisch erwarteten Wert von 19,7(10) Å (vgl. Abb. 3.5) überein.

Nachdem mit den bisher besprochenen Modellsystemen die Methode im S- und im X-Band getestet wurde, ist es nun möglich Strukturinformationen von unbekannten Systemen zu gewinnen. Im nächsten Abschnitt folgen erste Ergebnisse von PELDOR-Messungen an doppelt gelabelter RNA.

3.5.6 RNA

Um die Eigenschaften und Funktionen biologischer Makromoleküle zu verstehen, ist die Kenntnis der Primärstruktur alleine nicht ausreichend. Daher ist die Aufklärung der Sekundär- und Tertiärstruktur von Proteinen oder Nukleinsäuren unter physiologischen Bedingungen von großem Interesse. Während für Proteine und DNA häufig Sekundär- und Tertiärstrukturmotive aus der Sequenz abgeleitet werden können, ist dies für RNA selten möglich. Im Rahmen des SFBs 579 „RNA-Liganden-Wechselwirkungen“ (siehe 1.4) soll neben der Aufklärung der Struktur und Dynamik kleiner RNA-Fragmente z.B. die Rolle des Effektors Mn^{2+} in Ribozymen, das wegen seines Paramagnetismus für EPR-Methoden direkt zugänglich ist, aufgeklärt werden. Die ersten PELDOR-Messungen an doppelt gelabelten RNA-Fragmenten, die uns von Prof. Dr. S. T. Sigurdsson zur Verfügung gestellt wurden, sind zuerst im X-Band durchgeführt worden. Die hierbei erzielten Ergebnisse sollen nach technischen Verbesserungen im S-Band mit Proben höherer Konzentration verifiziert werden. Da diese Proben nicht dieselben Spinlabel tragen, wie sie zur Synthese der oben beschriebenen Biradikale verwendet wurden, und als Lösungsmittel statt Toluol Wasser dient, sind sowohl deren EPR- als auch deren ESEEM-Spektren von denen der Modellsysteme verschieden.

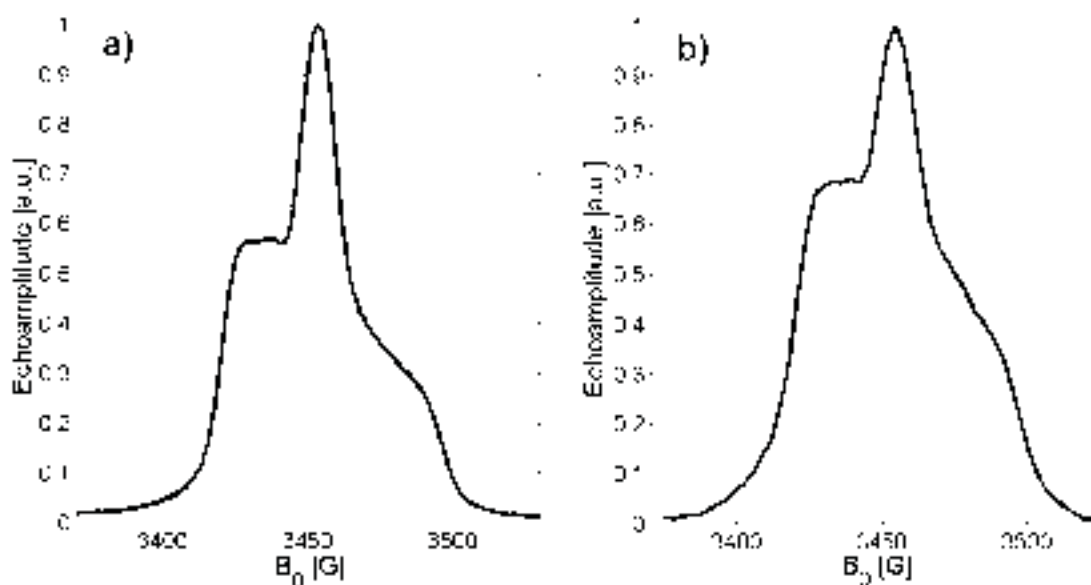


Abb. 3.42: Echodetektierete EPR-Spektren der Proben **RNA1** (a) und **RNA2** (b)

Die Abb. 3.42 zeigt die echodetektierten EPR-Spektren der beiden Proben **RNA1** und **RNA2** (Sequenz siehe 3.3) bei einem Pulsabstand von $\tau = 148$ ns. Die Pulslängen betrugen je 32 ns. Die Frequenz lag bei 9,71 GHz und die Repetitionsrate war 250 Hz (a) bzw. 200 Hz (b). Auch für den hier vorliegenden Spinlabel **TEMPO** sind die EPR-Spektren von einer großen Hyperfeinkopplungskomponente A_{ZZ} geprägt, so daß sich ein sehr ähnliches 3-Linien-Spektrum wie für **TPA** ergibt. Die 2-Puls-Echozerfallsexperimente an diesen Proben ergaben folgende ESEEM-Spektren (Abb. 3.43):

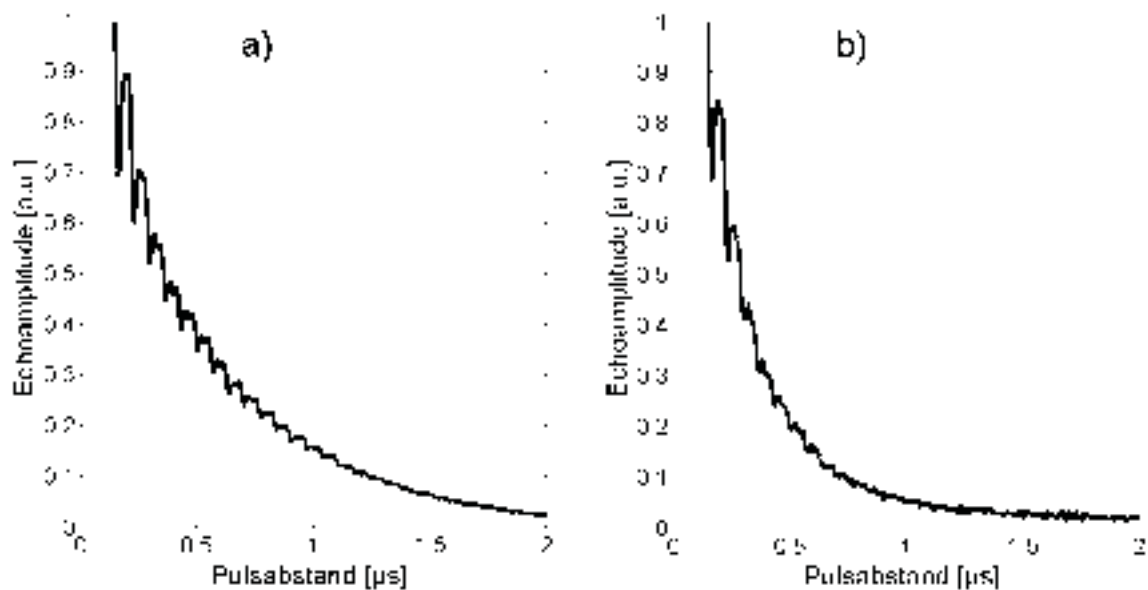


Abb. 3.43: ESEEM-Spektren der Proben **RNA1** (a) und **RNA2** (b)

	RNA1	RNA2
Feldposition B_0 [G]	3454	3455
Pulslänge t_p [ns]	32/32	32/32
Anfangswert Pulsabstand τ_0 [ns]	148	148
Inkrement Pulsabstand $d\tau$ [ns]	4	4
Frequenz ν_0 [MHz]	9712,9	9709,5

Tab. 3.17: Meßparameter für 2-Puls-Echozerfall aus Abb. 3.43

Die Modulation des Echozerfalls stimmt in beiden Spektren überein und zeigt lediglich die Frequenz von Matrixprotonen und die zugehörige Harmonische. Die Relaxationszeiten jedoch unterscheiden sich fast um einen Faktor zwei: für Probe **RNA1** (a) beträgt sie ca. 400 ns und für die Probe **RNA2** (b) nur ca. 240 ns.

An der Probe **RNA1** wurden bei einer Temperatur von 10 K PELDOR-Messungen mit einem Pulsabstand von $\tau = 1,1$ bzw. $1,7 \mu\text{s}$ durchgeführt. Der Frequenzabstand betrug in beiden Fällen $\Delta\nu = 80 \text{ MHz}$, wobei für die Detektionsfrequenz ν_2 die Resonatorfrequenz ν_0 aus Tab. 3.17 gewählt wurde. Die Spektren dieser Messung sind in Abb. 3.44 für den kleinen Pulsabstand in blau und für den großen Pulsabstand in rot dargestellt. a) zeigt jeweils das Zeitspektrum vor und b) nach Abzug des Zerfalls, der mittels Polynom zweiten Grades angefitet wurde. In c) befinden sich die Power-Fouriertransformationen nach Anwendung von Hanning-Filtern und zero-filling. Die Parameter dieser Messungen sind mit denjenigen für Probe **RNA2** am Ende dieses Abschnitts 3.5.6 in Tab. 3.18 zusammengestellt

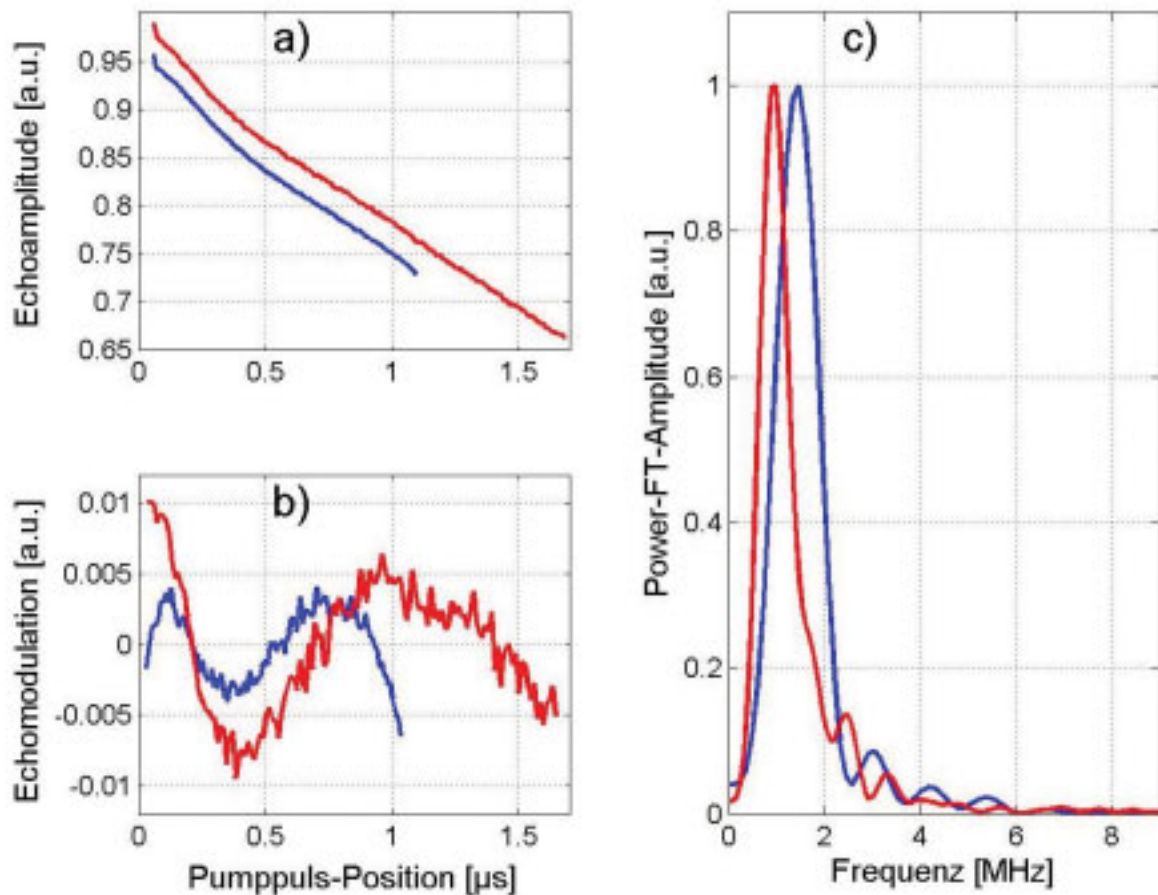


Abb. 3.44: PELDOR-Spektren der Probe **RNA1** für $\tau = 1,1 \mu\text{s}$ (blau) und $\tau = 1,7 \mu\text{s}$ (rot). Echozerfall vor (a) und nach Abzug des Zerfalls (b) und Power-FT nach Hanning-Filter und zero-filling (c).

Die PELDOR-Spektren zeigen eine geringe, aber nach Abzug des Zerfalls deutliche Modulation. Nach der Fouriertransformation erkennt man für die Messung mit dem

kleinen Pulsabstand eine Linie bei 1,7(4) MHz. Die Messung mit dem großen Pulsabstand zeigt eine Linie bei 1,2(4) MHz. Der schnelle Echozerfall, die geringe Tiefe und die starke Dämpfung der Modulation lassen darauf schließen, daß die Spinlabel in einer gewissen Abstandsverteilung vorliegen. Wegen der Ähnlichkeit der **TEMPO**-Spinlabel in den hier untersuchten RNA-Proben mit den **TPA**-Spinlabel in den zuvor untersuchten Biradikalen kann man bei gleichem Anregungsmuster von einer äquivalenten spektralen Selektion in Bezug auf die Nitroxide ausgehen. Die PELDOR-Messungen an allen Biradikalen zeigten bei einem Frequenzabstand von $\Delta\nu = 80$ MHz immer die Komponente mit der größten spektralen Dichte in Bezug auf den dipolaren Tensor, $\nu_{\perp}$, als prominente Linie. Sogar der erwartete und beobachtete Unterschied in der Orientierungsselektion bei dem kleineren Frequenzabstand von $\Delta\nu = 40$ MHz trat, außer für die Probe **BITPAB**, bei der eine beträchtliche Austauschwechselwirkung festgestellt wurde, was für die RNA-Proben nicht zu erwarten ist, nicht in Form einer Unterdrückung der Komponente $\nu_{\perp}$ auf, sondern als zusätzliches Auftreten der Komponente $\nu_{\parallel}$. Daraus kann geschlossen werden, daß die beobachteten Linien der Singularität $\nu_{\perp}$ zugeordnet werden können, woraus ein mittlerer Abstand der beiden Spinlabel von $r_{AB} = 33(2)$ Å folgt. Dieser stimmt sehr gut mit dem Wert von 32 Å überein, der mittels molekularer Strukturmodellierung unter Verwendung der Kristallstruktur einer äquivalenten RNA [Bis98] ermittelt wurde.

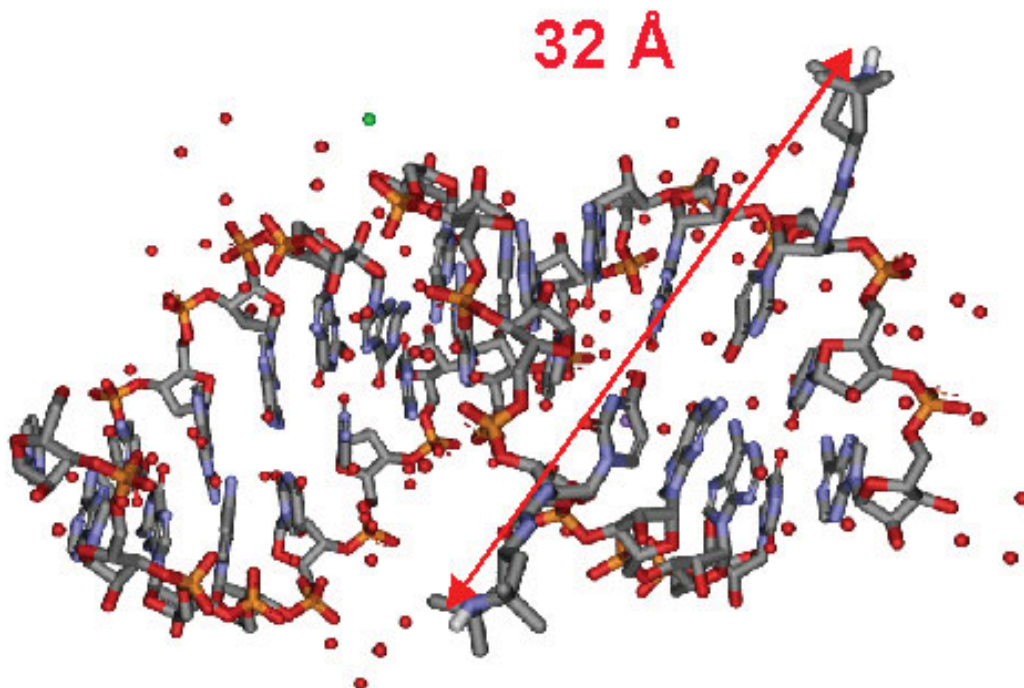


Abb. 3.45: Kristallstruktur einer Duplex-RNA, um zwei Spinlabel **TEMPO** erweitert.

Die Probe **RNA2** zeigt zusätzlich zu dem wesentlich schnelleren 2-Puls-Echozerfall (Abb. 3.43) auch in der PELDOR-Messung (Abb. 3.46 a) einen deutlich schnelleren Zerfall als die Probe **RNA1**. Auch nach Abzug des Zerfalls durch Anfitten eines Polynoms zweiten Grades ist keine Modulation zu erkennen (Abb. 3.46 b). Da die Molekülkonzentration beider Proben mit ca. 0,3 mM (entsprechend einer Spinkonzentration von ca. 0,6 mM) zu gering ist, um mittels intermolekularer Wechselwirkung bei homogener Verteilung der Moleküle diesen Zerfall zu verursachen, kann die Schlußfolgerung gezogen werden, daß eine noch größere Verteilung der intramolekularen Abstände vorliegt als im Falle der Probe **RNA1**. Die Überlagerung vieler verschiedener Frequenzen entsprechend der individuellen Abstände führt hier zu dem beobachteten starken Echozerfall und der Abwesenheit einer Modulation.

Die Basensequenz der Probe **RNA1** ist selbstkomplementär, so daß der Duplex an der Stelle der gelabelten Base wenig flexibel ist. Aufgrund der Basensequenz von **RNA2** tritt im Bereich der Spinlabel eine Schleife („loop“) auf, die dem Molekül eine wesentlich größere Flexibilität erlaubt, was zu einer großen Abstandsverteilung der Spinlabel führt.

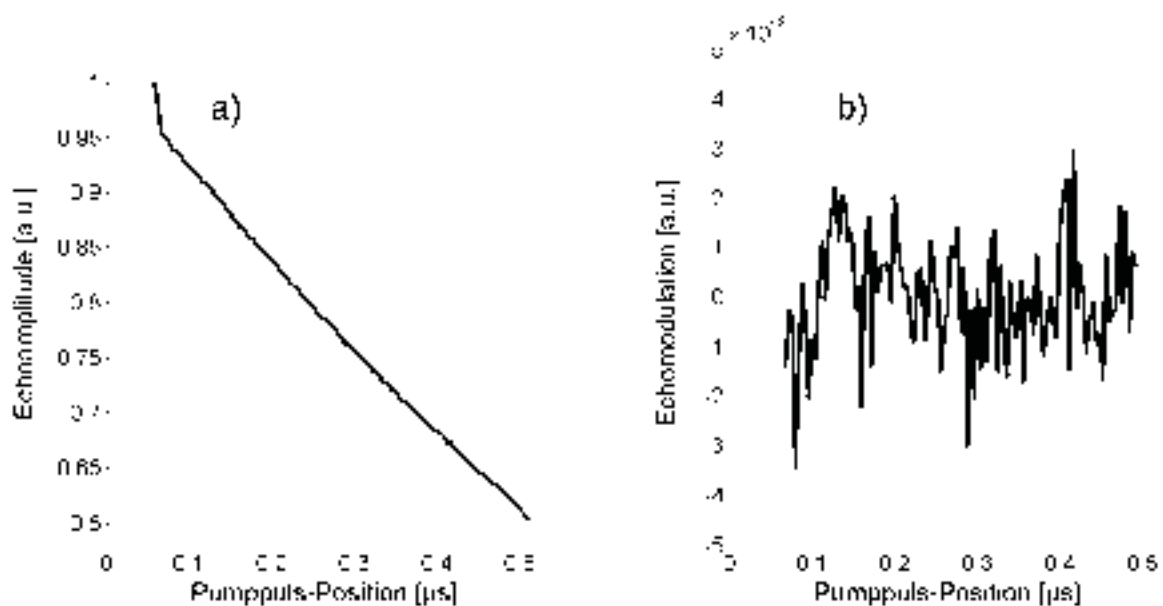


Abb. 3.46: PELDOR-Spektrum der Probe **RNA2**, Echoamplitude vor (a) und nach Abzug des Zerfalls (b)

Die Parameter der PELDOR-Messungen an den Proben **RNA1** und **RNA2** sind in der folgenden Tab. 3.18 zusammengefaßt. Der Frequenzabstand betrug in allen Fällen $\Delta\nu = 80$ MHz.

	RNA1		RNA2
Feldposition B_0 [G]	3426,5	3426,5	3426,5
Pulslänge t_p [ns]	32/32/32	32/32/32	32/32/32
Repetitionsrate [Hz]	50	50	200
Temperatur [K]	10	10	20
Pulsabstand τ [ns]	1100	1700	520
Anzahl Scans/Mittelungen	2800/100	3300/10	500/10

Tab. 3.18: Meßparameter für die PELDOR-Spektren in Abb. 3.44 (**RNA1**) und 3.46 (**RNA2**)

3.6 Diskussion

In der folgenden Tab. 3.19 sind die Ergebnisse aller Abstandsmessungen im Vergleich mit Werten aus molekularer Strukturmodellierung („Theorie“, siehe auch Abb. 3.5) bzw. mit Literaturwerten dargestellt. Die Abstände für die Modellsysteme **1** und **2** konnten nicht nur im X-Band, sondern auch im S-Band in sehr guter Übereinstimmung mit den Literaturwerten bestimmt werden. Dadurch wurde die Zuverlässigkeit beider Aufbauten gezeigt. Zusätzlich konnten für diese Systeme durch Variation der spektralen Anregung Pake-ähnliche Spektren erzielt werden, so daß eine Bestimmung beider Singularitäten des dipolaren Tensors ermöglicht wurde. Hieraus konnte die Annahme einer vernachlässigbaren Austauschwechselwirkung experimentell belegt werden.

Die geringe g-Anisotropie der Nitroxid-Spinlabel läßt bei äquivalenten Anregungspositionen in S- und X-Band eine ähnliche Orientierungsselektion erwarten, was durch das Auftreten derselben Frequenzen in den PELDOR-Spektren bestätigt wird. Die PELDOR-Spektren zeigen für S- und X-Band Abweichungen in der Modulationstiefe von einigen %. Die meist etwas größere Modulationstiefe im S-Band (z.B. für **BIESTERBI** Abb. 3.40) wird möglicherweise durch die für alle PELDOR-Experimente verwendeten weicheren und dadurch selektiveren Pulse verursacht. Die gegenseitige Orientierung der Nitroxidgruppen innerhalb der Biradikale beeinflußt die Wahrscheinlichkeit, mit der der Pumpimpuls die Partner der detektierten A-Spins invertiert. Da diese im Allgemeinen nicht bekannt ist, sind Simulationen notwendig, um Vorhersagen über die Modulationstiefe treffen zu können.

Das Auftreten einer Austauschwechselwirkung in der Größenordnung der dipolaren Kopplung erschwert die Abstandsbestimmung, wie man an dem Vergleich der neu synthetisierten Biradikale **BITPAB** und **BIESTERBI** sehen kann. Obwohl die Abstände in diesen beiden Systemen sehr ähnlich sind, waren bei äquivalenten experimentellen Bedingungen die Amplituden der Modulation für das System mit nennenswerter Austauschwechselwirkung kleiner und die Dämpfung sehr viel

stärker. Außerdem war die Übereinstimmung des gemessenen Abstandes für **BITPAB** nicht ebenso gut wie für alle anderen Biradikale.

Daß eine genaue Abstandsbestimmung auch bei noch kürzeren Molekülen möglich ist, haben die Messungen an **BIESTERPHY** gezeigt. Solange die Austauschwechselwirkung im Vergleich zur dipolaren Kopplung klein ist, ist es also mit dieser Methode möglich, einen Abstandsbereich abzutasten, der unmittelbar an den mit cw-Methoden zugänglichen anschließt.

Neben dem unteren Ende für den Empfindlichkeitsbereich von PELDOR, für welches mit 15,5 Å in **BIESTERPHY** noch kein endgültiges Limit erreicht sein muß, ist auch der maximal meßbare Abstand von großem Interesse. Die Begrenzung in dieser Richtung ist in erster Linie durch Relaxationszeiten gegeben, die die maximale Größe des Zeitfensters τ bestimmen. Da die durch Elektron-Elektron-Kopplung verursachte Relaxation bei ausreichend großer Verdünnung der Probe (intermolekulare Wechselwirkungen) und großer intramolekularer Abstände irrelevant ist, tragen die nächsten Kerne des Lösungsmittels den Hauptanteil der Relaxation. Im Vergleich der Messungen an den in Toluol gelösten Proben zeigte sich, daß das große magnetische Moment der Protonen in h8-Toluol im Gegensatz zu dem des Deuteriums in d8-Toluol zu einer starken Beschleunigung der Relaxation geführt hat. Die PELDOR-Messung der Probe **2** in d8-Toluol konnte bei einem Pulsabstand von $\tau = 5 \mu\text{s}$ durchgeführt werden, wodurch sehr große Abstände meßbar sind. Wenn als obere Grenze die Beobachtung mindestens einer Periode angenommen wird, kann man bei $\tau = 5 \mu\text{s}$ entsprechend 200 kHz einen Abstand von 65 Å messen. Die Messung an derselben Probe in h8-Toluol konnte dagegen nur noch mit einem Pulsabstand von $\tau = 3 \mu\text{s}$ erfolgen. Wenn statt Toluol als Lösungsmittel Wasser (Pufferlösung) verwendet wird, wie es im Falle von RNA-Proben nötig ist, um dieselben Konformationen vorliegen zu haben, wie sie unter physiologischen Bedingungen herrschen, schrumpft das Zeitfenster auch bei sehr tiefen Temperaturen stark. So konnten die PELDOR-Messungen an der Probe **RNA1** mit maximal $\tau = 1,7 \mu\text{s}$ erfolgen, was einem oberen Limit von ca. 45 Å entspricht. Durch Verwendung von schwerem Wasser zur Herstellung der Pufferlösung könnte dieser Bereich erweitert werden.

Obwohl der Abstand in der Probe **RNA1** etwa dem der Probe **2** (siehe Abschnitt 3.5.3) entspricht, ist neben der lösungsmittelbedingt kürzeren Phasengedächtniszeit eine deutlich geringere Modulationstiefe zu beobachten. Da die Unterschiede in den EPR-Spektren (vgl. Abb. 3.20 und Abb. 3.42) minimal sind, kann bei äquivalentem Anregungsmuster (d.h. Wahl beider Frequenzen und des Magnetfeldes) von einer ähnlichen Orientierungsselektion ausgegangen werden. Somit kann für die geringe Modulationstiefe eine breitere Abstandsverteilung der Spinlabel in der RNA verantwortlich gemacht werden. Je breiter diese Verteilung ist, desto schwächer ist die Tiefe und desto stärker die Dämpfung der Echomodulation. Gleichzeitig ist im PELDOR-Experiment an der Probe **RNA2** (Abb. 3.46) ein deutlich stärkerer Echozerfall zu verzeichnen, was zum einen der etwas höheren Temperatur zuzuschreiben ist (siehe Tab. 3.18), jedoch auch von einer größeren Abstandsverteilung herrühren könnte.

Die Flexibilität der zu untersuchenden Moleküle stellt daher eine zusätzliche Einschränkung des Empfindlichkeitsbereichs in zweierlei Hinsicht dar. Der verstärkte Echozerfall schränkt nicht nur die Empfindlichkeit durch geringere Modulationsamplitude und die Präzision der Abstandsbestimmung durch starke Dämpfung im PELDOR-Experiment ein, sondern reduziert zusätzlich das Zeitfenster τ durch seinen Beitrag zur transversalen Relaxationszeit (vgl. Abb. 3.43 a) und b).

Zu der Flexibilität der RNA selbst kommt bei dem hier verwendeten Spinlabel die Flexibilität seiner Verbrückung und die Ribose der RNA über vier Einfachbindungen. Im Gegensatz dazu läßt die von Strube et al. [Str01] entwickelte Methode des Labelings von DNA oder RNA mit dem starren Spinlabel **TPA** eine Reduktion der Flexibilität und damit eine Erweiterung des Empfindlichkeitsbereichs von PELDOR an Oligonukleotiden erwarten.

Jedoch sind prinzipiell die Informationen über die Abstandsverteilung in der Dämpfung der Echomodulation und -amplitude enthalten. Simulationen in der Zeitdomäne können hierbei helfen, aus der Summe aller Relaxationsmechanismen die gesuchten Beiträge der Elektron-Elektron-Kopplung zu separieren, um daraus auf die vorliegende Abstandsverteilung zu schließen. Im Falle einer schwachen Modulation können Simulationen helfen, niederfrequente Anteile der Kopplung von der Echodämpfung zu trennen.

Der Vorteil, PELDOR-Messungen in zwei verschiedenen Frequenzbändern durchzuführen, zeigt sich in dem Auftreten von ESEEM-Artefakten in den PELDOR-Spektren. Diese waren sowohl im S-Band, als auch im X-Band sichtbar. Obwohl es sich hierbei in der Regel um die leicht zu identifizierende freie Larmorfrequenz der Matrixkerne (H oder D) handelt, kann in Fällen, bei denen die dipolare Kopplung eine ähnliche Frequenz liefert, die Messung des Abstandes erschwert werden. Da die Kern-Larmorfrequenz vom Magnetfeld abhängt, die dipolare Kopplung jedoch nicht, wird dieses Problem mit einer Messung bei einem zweiten Magnetfeld behoben.

Probe	$\Delta\nu$	S-Band					X-Band					r_{AB} Literatur & Theorie [Cam97]
		$V_{\perp}$	$V_{\parallel}$	V_{Dip}	r_{AB}	J	$V_{\perp}$	$V_{\parallel}$	V_{Dip}	r_{AB}	J	
1 Polystyrol 1 d8-Toluol	80	6,8(4)	-	6,8(4)	19,7(4)	-	6,7(2)	-	6,7(2)	19,8(2)	-	19,73(14) [Lar93]
	80	6,8(2)	-	6,8(2)	19,7(2)	-	6,9(1)	-	6,9(1)	19,6(1)	-	19,4(5) [Pan00]
	40	6,8(3)	13,4	6,8(3)	19,7(3)	0	6,7(2)	13,8(6)	6,7(2)	19,8(2)	0	19,7(10) (Theorie)
2 d8-Toluol 2 h8-Toluol	80	1,9(3)	-	1,9(3)	30(2)	-	2,14(9)	-	2,14(9)	29,0(4)	-	28,3(5) [Pan00]
	40	2,0(2)	4,3(3)	2,0(2)	29,6(9)	0	2,1(2)	4,3(3)	2,1(2)	29,2(9)	0	29,2(10) (Theorie)
	80	2,1(2)	-	2,1(2)	29,3(8)	-	2,1(1)	-	2,1(1)	29,1(4)	-	
	40	-	-	-	-	-	2,1(2)	4,3(3)	2,1(2)	29,2(9)	0	
BITPAB d8-Toluol BITPAB h8-Toluol	40	-	-	-	-	-	18,3(2)	7,2(2)	3,7(1)	24,1(3)	10,8(4)	21,0(3) (Theorie)
	80	-	-	-	-	-	18,3(4)	7,4(4)	3,6(2)	24,4(5)	11,1(7) cw:12(3)	
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	cw:73(3)	16,4(3) (Theorie)
BIESTERBI d8-Toluol	80	6,9(4)	-	-	-	-	6,9(2)	-	6,9(2)	19,7(3)	-	19,7(10) (Theorie)
	40	6,9(4)	-	-	-	-	6,9(2)	13,7(4)	6,9(2)	19,7(3)	0	
BIESTERPHY d8-Toluol	80	14,1(10)	-	14,1(10)	15,5(4)	-	14,2(7)	-	14,2(7)	15,4(3)	-	15,5(10) (Theorie)
	80	-	-	-	-	-	1,5(4)	-	1,5(4)	33(2)	-	32 (Theorie)

Tab. 3.19: Übersicht Abstandsmessungen (alle Angaben in [MHz], außer Abstände r_{AB} in [Å])

4 Zusammenfassung

Das Leistungspotential moderner Puls-EPR-Methoden zur Untersuchung biologischer und biologisch relevanter Proben kann enorm erweitert werden, wenn diese in verschiedenen Frequenzbändern angewendet werden, um für komplexe Systeme die verschiedenen spektralen Beiträge zu separieren und eindeutig zu bestimmen. Zu diesem Zweck wurde das in der vorliegenden Arbeit vorgestellte gepulste S-Band-Spektrometer konstruiert. Für dieses Spektrometer und ein kommerzielles Puls-X-Band-Spektrometer wurden PELDOR-Einheiten entwickelt, um Abstandsmessungen im Nanometerbereich durchzuführen.

Die Zuverlässigkeit dieser erstmals im S-Band angewendeten Methode konnte anhand von Messungen an zwei in der Literatur bekannten Biradikalen mit Abständen von 20 bzw. 30 Å gezeigt werden. Es wurden darüber hinaus vier weitere Biradikale synthetisiert, deren Abstände von 15 - 24 Å mit PELDOR gemessen wurden. Messungen an einem Biradikal mit einem Abstand von ca. 15 Å, welches keinen nennenswerten Beitrag einer Austauschwechselwirkung aufweist, zeigten, daß der Abstand noch sehr genau bestimmt werden konnte. Ein weiteres Biradikal mit etwa demselben Abstand zeigte aufgrund seines konjugierten π -Systems eine Austauschwechselwirkung, die zu groß ist, um mittels PELDOR einen Abstand bestimmen zu können. Für ein Biradikal mit einem Abstand von ca. 20 Å, welches ebenfalls über ein konjugiertes π -System verfügt, konnten sowohl der Abstand als auch die Austauschwechselwirkung zu +11 MHz bestimmt werden. Da mit dieser Methode nicht nur der Betrag, sondern auch das Vorzeichen ermittelt wird, konnte die für dieses Molekül erwartete antiferromagnetische Kopplung bestätigt werden. Der hierbei gemessene Abstand stimmt jedoch nicht mehr ebenso gut mit den theoretischen Werten überein, wie im Falle aller anderen Biradikale. Es zeigte sich daher, daß die untere Grenze der Empfindlichkeit dieser Methode durch die Austauschwechselwirkung bestimmt wird.

Nachdem anhand von Modellsystemen die Methode in S- und X-Band für Nitroxide getestet wurde, konnten erste Messungen zur Strukturaufklärung an unbekannten Systemen erfolgen. Diese PELDOR-Messungen wurden an zwei Proben doppelt gelabelter RNA in Pufferlösung durchgeführt. Im Fall eines starren Duplexes konnte der Spin-Spin-Abstand zu 33 Å bestimmt werden. Im zweiten Fall konnte aufgrund der starken Dämpfung der Echoamplitude auf eine große Flexibilität der RNA geschlossen werden. Diese Flexibilität kommt dadurch zustande, daß im Bereich der Spinlabel keine komplementäre Basenpaarung vorliegt.

In einem zukünftigen Schritt könnten Messungen an der **RNA2** nach Zugabe des viralen Aktivatorproteins Tat (trans-activating transduction) Aufschluß über eine mögliche Bindung und damit einhergehende Strukturänderung dieser RNA geben, die in der Sequenz ihrer Einzelstränge der TAR (trans-activation responsive element) aus der Messenger-RNA von HIV (human immunodeficiency virus) entsprechen.

5 Anhang

5.A Schaltzeichen

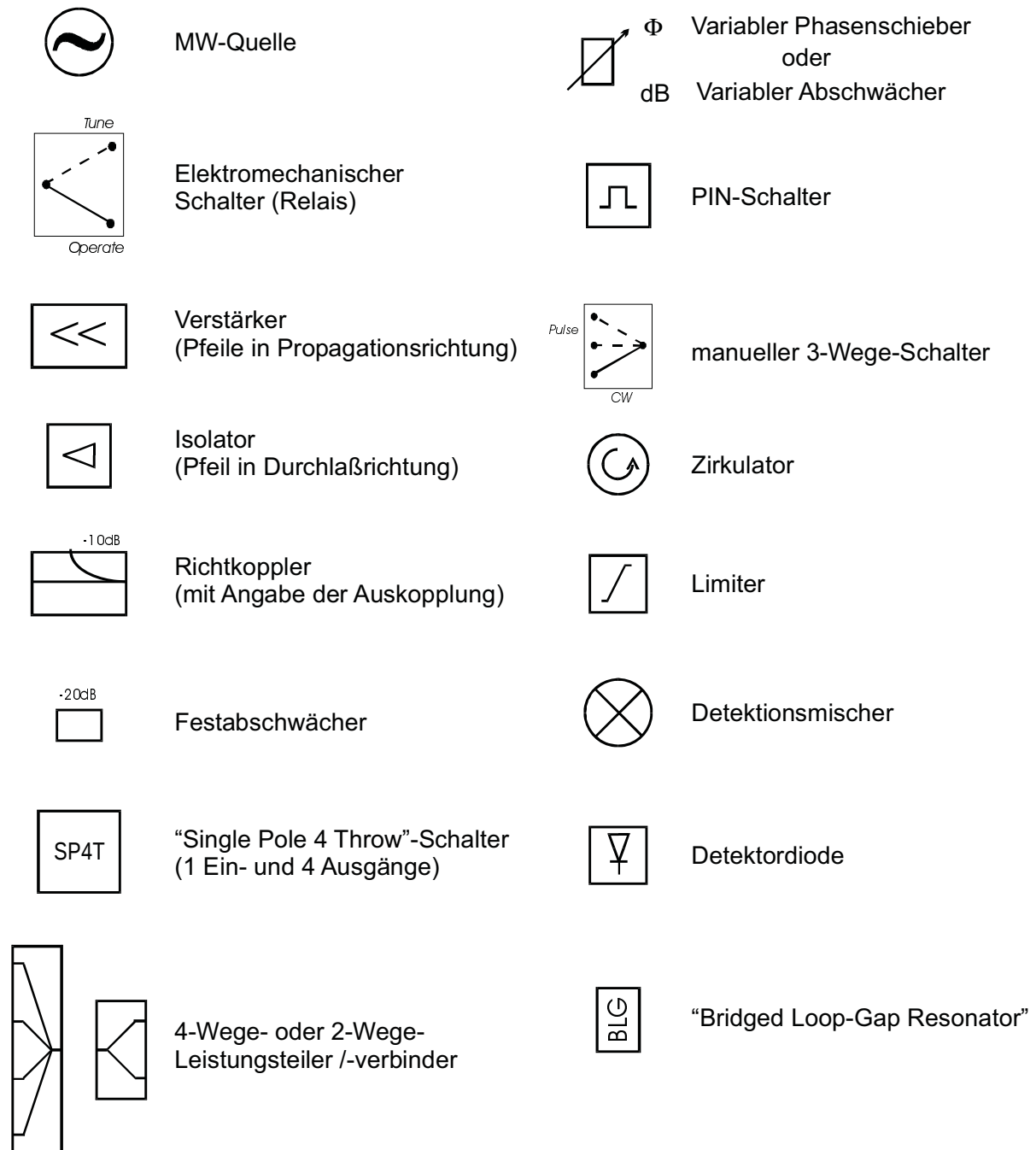


Abb. 5.1: Symbole der verwendeten mw-Komponenten

5.B Etymologie

Zur Herkunft der Wörter „Magnetismus“ und „Paramagnetismus“ aus dem *Lehrbuch der Physik* von Prof. Dr. P. Meutzner aus dem Jahre 1894 [Meu94]:

„Bereits im Altertume kannte man das Vermögen gewisser Eisenerze – nach dem damaligen Hauptfundorte¹ *M a g n e t e* genannt – eiserne Gegenstände an sich zu ziehen und festzuhalten. Die dieser Anziehung zu Grunde liegende, geheimnisvolle Ursache nennt man *M a g n e t i s m u s*. Durch Bestreichen mit einem (n a t ü r l i c h e n) *Magnete* ist man imstande, jene Eigenschaft auf gehärteten Stahl, dem man je nach den Zwecken, die man verfolgt, die Gestalt von cylindrischen oder prismatischen Stäben, von Nadeln d. i. langgestreckten Rhomben oder von Hufeisen d. h. **U**-förmigen Streifen zu geben pflegt, d a u e r n d zu übertragen: *k ü n s t l i c h e M a g n e t e*.

Zuvörderst läßt sich mittels eines festen Hufeisen-Magnetes und eines leicht beweglichen Eisenstäbchens (bzw. umgekehrt) die *G e g e n s e i t i g k e i t* der Anziehung zwischen Magnet und Eisen darthun, eine Wirkung, die auch dann noch hervortritt, wenn man ein Stück Papier, Pappe, Holz, Glas, Messing u. a. dazwischen schiebt, so lange nur das Eisen im *m a g n e t i s c h e n F e l d e* sich befindet.

Abgesehen von eisenhaltigen Stoffen erweisen sich die dem Eisen nahestehenden Metalle Nickel und Kobalt leicht als magnetisch. Daß aber *a l l e* Körper magnetischen Einflüssen unterliegen, zeigte zuerst Faraday 1846 bei Anwendung sehr intensiver magnetischer Kräfte; er wurde so zur Unterscheidung *p a r a m a g n e t i s c h e r* und *d i a m a g n e t i s c h e r* Substanzen geführt. Während sich Stäbchen der ersteren in die (längs² der) Verbindungslinie der Endflächen eines Hufeisenmagnetes einstellen, nehmen Stäbchen diamagnetischer Stoffe zu jener Verbindungslinie eine rechtwinklige Lage an....

¹ *Magnesia*, Stadt Kleinasiens. ² *pará!*“

5.C mw-Bänder

Die in dieser Arbeit verwendeten Bezeichnungen für mw-Bänder entsprechen der Empfehlung des *Institute of Electrical and Electronics Engineers* (IEEE). Die folgende Tabelle 5.1 ist auszugsweise aus [Lia90] entnommen:

Bezeichnung	Frequenzbereich [GHz]
L-Band	1 – 2
S-Band	2 – 4
C-Band	4 – 8
X-Band	8 – 12
Ku-Band	12 – 18

Tab. 5.1: mw-Bänder nach IEEE

Weitere in diesem Standard nicht vorhandene Bezeichnungen (Q- und W-Band) entstammen einer alten Richtlinie des *United States Department of Defense*, die ebenfalls auszugsweise aus [Lia90] in 5.2 tabelliert ist:

Bezeichnung	Frequenzbereich [GHz]
L-Band	0,39 – 1,55
S-Band	1,55 – 3,9
C-Band	3,9 – 6,2
X-Band	6,2 – 10,9
K-Band	10,9 – 36
Q-Band	36 – 46
V-Band	46 – 56
W-Band	56 – 100

Tab. 5.2: mw-Bänder nach dem *United States Department of Defense*

5.D Literatur

- [Ald79] D. W. Alderman und D. M. Grant, J. Magn. Reson. 36 (1979) 447
- [Ast87] A. V. Astashkin, S. A. Dikanov und Yu. D. Tsvetkov,
Chem. Phys. Lett. 136 (1987) 204
- [Ast98] A. V. Astashkin, H. Hara und A. Kawamori,
J. Chem. Phys. 108 (1998) 3805
- [Ast99] A. V. Astashkin, J. H. Enemark, V. V. Kozlyuk, J. McMaster und
A. M. Raitsimring, *Pulsed Electron-Electron Double Resonance of
Paramagnetic Centers With Large G-Value Separation*, in
Abstracts of 41st Rocky Mountain Conference on Analytical Chemistry,
Denver (1999) 69
- [Ast00] A. V. Astashkin, M. L. Mader, A. Pacheco, J. H. Enemark und
A. M. Raitsimring, J. Am. Chem. Soc. 122 (2000) 5294
- [Ast01] A. V. Astashkin und A. M. Raitsimring, J. Magn. Reson. 148 (2001) 379
- [Ban00] N. Ban, P. Nissen, J. Hansen, P. B. Moore und T. A. Steitz,
Science 289 (2000) 905
- [Bar84] W. Barendswaard, J. A. J. M. Disselhorst und J. Schmidt,
J. Magn. Reson. 58 (1984) 477
- [Ben90] A. Bencini und D. Gatteschi, *Electron Paramagnetic Resonance of
Exchange Coupled Systems*, Springer Verlag, Berlin (1990)
- [Ber99] W. Raith, *Lehrbuch der Experimentalphysik, Bd.2,
Elektromagnetismus*, 8. Aufl., de Gruyter (1999)
- [BIB] Bibel, 1. Buch Samuel, Kapitel 28
- [Bis98] R. Biswas, S. N. Mitra, M. Sundaralingam,
Acta Crystallogr. D, 54 (1998) 570,
NDB Atlas, Eintrag ARF0108
- [Bie82] R. Biehl und D. Schmalbein, United States Patent 4,312,204 (1982)
- [Blo46] F. Bloch, W. W. Hansen und M. Packard, Phys. Rev. 69 (1946) 127 und
F. Bloch, Phys. Rev. 70 (1946) 460
- [Blu58] R. J. Blume, Phys. Rev. 109 (1958) 1867

- [Bor95] P. P. Borbat und A. M. Raitsimring, J. Magn. Reson. A 114 (1995) 216
- [Bor97] P. P. Borbat, R. H. Crepeau und J. H. Freed,
J. Magn. Reson. 127 (1997) 155
- [Bor99] P. P. Borbat und J. H. Freed, Chem. Phys. Lett. 313 (1999) 154
- [Bor00] P. P. Borbat und J. H. Freed, *Biological Magnetic Resonance*, Vol. 19,
Hg. L. J. Berliner, S. S. Eaton und G. R. Eaton,
Kluwer, New York (2000), S. 383 ff
- [Bra80] V. B. Braginskii, Kh. S. Bagdasarov, V. I. Panov
und A. V. Timashev, Sov. Tech. Phys. Lett. 6 (1981) 4
- [BRO] Brockhaus Enzyklopädie, Mannheim, 19. Aufl. (1986-1994)
- [Bud89] D. E. Budil, K. A. Earle, B. Lynch und J. Freed,
Advanced EPR Application in Biology and Biochemistry,
Hg. A. J. Hoff, Elsevier, Amsterdam (1989), S. 307 ff
- [Bug62] A. A. Bugai, Fiz. Tverd. Tela 4 (1962) 3027
- [Büh89] C. Bühlmann, A. Schweiger und R. R. Ernst,
Chem. Phys. Lett. 154 (1989) 285
- [Bur91] O. Burghaus, *Hochfeld EPR und ENDOR bei 3 mm Wellenlänge*,
Dissertation, Berlin (1991)
- [Cam97] CS Chem 3D Pro, CambridgeSoft Corporation, Cambridge (1997)
- [Cla89] R. B. Clarkson, M. D. Timken, D. R. Brown, H. C. Crookham
und R. L. Belford, Chem. Phys. Lett. 163 (1989) 277
- [Cla92] R. B. Clarkson, D. R. Brown, J. B. Cornelius, H. C. Crookham,
W.-J. Shi und R. L. Belford, Pure & Appl. Chem. 64 (1992) 893
- [Cod02] R. Codd, A. V. Astashkin, A. Pacheco, A. M. Raitsimring und
J. H. Enemark, J. Biol. Inorg. Chem. 7 (2002) 338
- [Dav74] E. R. Davies, Phys. Lett. A 47 (1974) 1
- [Dav78] J. L. Davis und W. B. Mims, Rev. Sci. Instrum. 49 (1978) 1095
- [Deh90] H.-G. Dehmelt, Am. J. Phys. 58 (1990) 17
- [Dei85] J. Deisenhofer, O. Epp, K. Miki, R. Huber und H. Michel,
Nature 318 (1985) 618
- [Dob87] O. Dobbert, T. Prisner, K. P. Dinse, D. Schweitzer und H. J. Keller,
Solid State Commun. 61 (1987) 499

- [Dyc87] R. S. Dyck, P. B. Schwinberg und H. G. Dehmelt,
Phys. Rev. Lett. 59 (1987) 26
- [Dyk86] R. W. Dykstra und G. D. Markham, J. Magn. Reson. 69 (1986) 350
- [Eat83] S. S. Eaton, K. M. More, B. M. Savant und G. R. Eaton,
J. Am. Chem. Soc. 105 (1983) 6560
- [Eat93] S. S. Eaton und G. R. Eaton, J. Magn. Reson. A 102 (1993) 354
- [Elo00] J. Eloranta, Xemr 0.7, <ftp://epr.chem.jyu.fi/pub/xemr/> (2000)
- [Ems60] M. Emswiller, E. L. Hahn und D. Kaplan, Phys. Rev. 118 (1960) 414
- [Eng50] T. S. England und E. E. Schneider, Nature 166 (1950) 437
- [Ern87] R. R. Ernst, G. Bodenhausen und A. Wokaun, *Principles of Nuclear Magnetic Resonance in One and Two Dimensions*,
Oxford University Press, (1987) Kapitel 4
- [Feh57] G. Feher, Bell Syst. Tech. J. 36 (1957) 449
- [Fla88] H. L. Flanagan, G. J. Gerfen und D. J. Singel,
J. Chem. Phys. 88 (1988) 20
- [Fri00] J. Fritscher, *EPR-spektroskopische und quantentheoretische Untersuchungen an Nitroxid-Spinlabeln*, Diplomarbeit, Frankfurt (2000)
- [Fro79] W. Froncisz, C. P. Scholes, J. S. Hyde, Y.-H. Wie, T. E. King,
R. W. Shaw und H. Beinert, J. Biol. Chem. 254 (1979) 7482
- [Fro82] W. Froncisz und J. S. Hyde, J. Magn. Reson. 47 (1982) 515
- [Fro86] W. Froncisz, T. Oles und J. S. Hyde, Rev. Sci. Instrum. 57 (1986) 1095
- [Gor88] J. Gorcester und J. H. Freed, J. Chem. Phys. 88 (1988) 4678
- [Hah50a] E. L. Hahn, Phys. Rev. 77 (1950) 297
- [Hah50b] E. Hahn, Phys. Rev. 80 (1950) 580
- [Hak98] H. Haken und H. C. Wolf, *Molekülphysik und Quantenchemie*,
Springer, 3. Aufl. (1998)
- [Han93] J. H. Hankiewicz, C. Stenland und L. Kevan,
Rev. Sci. Instrum. 64 (1993) 2850
- [Hem00] T. Hemenover, <http://ds9enc.www2.50megs.com/bajormsc.hmt> (2000)
- [Höf86] P. Höfer, A. Grupp, H. Nebenführ und M. Mehring,
Chem. Phys. Lett. 132 (1986) 279
- [Hor83] J. P. Hornak und J. H. Freed, Chem. Phys. Lett. 101 (1983) 115

- [Hus00] E. J. Hustedt und A. H. Beth, *Biological Magnetic Resonance*, Vol. 19, Hg. L. J. Berliner, S. S. Eaton und G. R. Eaton, Kluwer, New York (2000), S. 155 ff
- [Hyd68] J. S. Hyde, J. C. W. Chien und J. H. Freed, J. Chem. Phys. 48 (1968) 4211
- [Iva95] V. I. Ivannikov, Yu. D. Chernousov und I. V. Shebolaev, Zh. Tekh. Fiz. 65 (1994) 194
- [Jaw97] M. Jaworski, A. Sienkiewicz und C. P. Scholes, J. Magn. Reson. 124 (1997) 87
- [Jes00] G. Jeschke, M. Pannier, A. Godt und H. W. Spiess, Chem. Phys. Lett. 331 (2000) 243
- [Kah93] O. Kahn, *Molecular Magnetism*, VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim (1993)
- [Kä91] G. Käß und P. Pauli, *Mikrowellentechnik*, Franzis-Handbuch, München (1991)
- [Kei89] C. P. Keijzers, E. J. Reijerse und J. Schmidt, *Pulsed EPR: A new field of applications*, Amsterdam (1989)
- [Kla62] J. R. Klauder und P. W. Anderson, Phys. Rev. 125 (1962) 912
- [Kop97] A. V. Koptioug, E. J. Reijerse und A. K. Klaassen J. Magn. Reson. 125 (1997) 369
- [Kop98] A. V. Koptioug, E. J. Reijerse, P. J. M. van Kann und A. A. K. Klaassen, *Magnetic Resonance and Related Phenomena, Proceedings of the Joint 29th AMPERE 13th ISMAR*, Ed. D. Ziessow, Berlin (1998), Vol II, S. 1142 f
- [Kul01] L. V. Kulik, S. A. Dzuba, I. A. Grigoryev und Yu. D. Tsvetkov, Chem. Phys. Lett. 343 (2001) 315
- [Kur89] V. V. Kurshev, A. M. Raitsimring und Yu. D. Tsvetkov, J. Magn. Reson. 181 (1989) 441
- [Kur95] V. V. Kurshev, L. Kevan, P. Basu und J. H. Enemark, J. Phys. Chem. 99 (1995) 11288
- [Kur00] S. Kuroiwa, M. Tonaka, A. Kawamori und K. Akabori, Biochim. Biophys. Acta 1460 (2000) 330
- [Lar93] R. G. Larsen und D. J. Singel, J. Chem. Phys. 98 (1993) 5134

- [Lau73] P. C. Lauterbur, *Nature* 242 (1973) 190
- [Lia90] S. Y. Liao, *Microwave Devices & Circuits*, Prentice-Hall, 3rd ed. (1990)
- [Lin85] C. P. Lin, M. K. Bowman und J. R. Norris;
J. Magn. Reson. 65 (1985) 369
- [Lin89] H. Lindner, H. Brauer, C. Lehmann, *Taschenbuch der Elektrotechnik und Elektronik*, Verlag Harri Deutsch, Thun und Frankfurt (1989)
- [Luc01] Lucasfilm Ltd., <http://www.starwars.com/databank/location/endor/eu.html>
(2001)
- [Mad00] M. L. Mader, M. D. Carducci und J. H. Enemark,
Inorg. Chem. 39 (2000) 525
- [Mai80] C. Mailer, H. Thomann, B. H. Robinson und L. R. Dalton,
Rev. Sci. Instrum. 51 (1980) 1714
- [Mar92] G. G. Maresch, M. Weber, A. A. Dubinskii und H. W. Spiess,
Chem. Phys. Lett. 193 (1992) 134
- [Meh80] M. Mehring und F. Freysoldt, J. Phys. E 13 (1980) 896
- [Mer79] R. P. J. Merks und R. de Beer, J. Phys. Chem. 83 (1979) 3319
- [Meu94] P. Meutzner, *Lehrbuch der Physik*, Leipzig (1894)
- [Mil84a] A. D. Milov, A. B. Ponomarev und Yu. D. Tsvetkov,
Chem. Phys. Lett. 110 (1984) 67
- [Mil84b] G. L. Millhauser, J. H. Freed, J. Chem. Phys. 81 (1984) 37
- [Mil98] A. D. Milov, A. G. Maryasov und Yu. D. Tsvetkov,
Appl. Magn. Reson. 15 (1998) 107
- [Mil99] A. D. Milov, A. G. Maryasov, Yu. D. Tsvetkov und J. Raap,
Chem. Phys. Lett. 303 (1999) 135
- [Mil00] A. D. Milov, Yu. D. Tsvetkov, F. Formaggio, M. Crisma, C. Toniolo
und J. Raap, J. Am. Chem. Soc. 112 (2000) 3843
- [Mil01] A. D. Milov, Yu. D. Tsvetkov, F. Formaggio, M. Crisma, C. Toniolo
und J. Raap, J. Am. Chem. Soc. 123 (2001) 3784
- [Mim61] W. B. Mims, K. Nassau und J. D. McGee, Phys. Rev. 123 (1961) 2059
- [Mim65] W. B. Mims, Proc. R. Soc. A 283 (1965) 452
- [Mim72a] W. B. Mims, *Electron Paramagnetic Resonance*,
Plenum Press, New York (1972)

- [Mim72b] W. B. Mims, Phys. Rev. B6 (1972) 3543
- [Mim74] W. B. Mims, Rev. Sci. Instrum. 45 (1974) 1583
- [Mol99] H. P. Moll, C. Kutter, J. van Tol, H. Zuckerman und P. Wyder,
J. Magn. Reson. 137 (1999) 46
- [Mom83] F. Momo, A. Sotgiu und R. Zonta, J. Phys. E 16 (1983) 43
- [Pak48] G. E. Pake, J. Chem. Phys. 16 (1948) 327
- [Pan00] M. Pannier, S. Veit, A. Godt, G. Jeschke und H. W. Spiess,
J. Magn. Reson. 142 (2000) 331
- [Pet01] S. Petryakov, M. Chzhan, A. Samouilov, G. He, P. Kuppusamy und
J. L. Zweier, J. Magn. Reson. 151 (2001) 124
- [Pfe88] S. Pfenninger, J. Forrer und A. Schweiger,
Rev. Sci. Instrum. 59 (1988) 752
- [Pia96] W. Piasecki, W. Froncisz und J. S. Hyde,
Rev. Sci. Instrum. 67 (1996) 1896
- [Poo67] C. P. Poole, *Electron Spin Resonance*, Wiley (1967)
- [Pri92] T. F. Prisner, S. Un und R. G. Griffin,
Isr. J. Chem. 32 (1992) 357
- [Pri97] T. F. Prisner,
Advances in Magnetic and Optical Resonance 20 (1997) 245
- [Qui96] R. W. Quine, G. A. Rinard, B. T. Ghim, S. S. Eaton
und G. R. Eaton, Rev. Sci. Instrum. 67 (1995) 2514
- [Rai95] A. Raitsimring, R. H. Crepeau und J. H. Freed,
J. Chem. Phys. 102 (1995) 8746
- [Rai00] A. Raitsimring, *Biological Magnetic Resonance*, Vol. 19,
Hg. L. J. Berliner, S. S. Eaton und G. R. Eaton,
Kluwer, New York (2000), S. 461 ff
- [Red84] T. W. Redpath und R. D. Selbie, Phys. Med. Biol. 29 (1984) 739
- [Ram85] N. F. Ramsey, Bull. Magn. Reson. 7 (1985) 94
- [Ric00] C. Richter, B. Reif, C. Griesinger und H. Schwalbe,
J. Am. Chem. Soc. 122 (2000) 12728
- [Rin94] G. A. Rinard, R. W. Quine S. S. Eaton, G. R. Eaton
und W. Froncisz, J. Magn. Reson. A 108 (1994) 71

- [Rin96] G. A. Rinard, R. W. Quine, B. T. Ghim, S. S. Eaton und G. R. Eaton, J. Magn. Reson. A122 (1996) 50
- [Rin99a] G. A. Rinard, R. W. Quine und G. R. Eaton, J. Magn. Reson. 136 (1999) 207
- [Rin99b] G. A. Rinard, R. W. Quine, R. Song, G. R. Eaton und S. S. Eaton, J. Magn. Reson. 140 (1999) 69
- [Rin99c] G. A. Rinard, R. W. Quine, J. R. Harbridge, R. Song, G. R. Eaton und S. S. Eaton, J. Magn. Reson. 140 (1999) 218
- [Rin00] G. A. Rinard, R. W. Quine und G. R. Eaton, J. Magn. Reson. 144 (2000) 85
- [Roh01] M. Rohrer, O. Brüggmann, B. Kinzer und T. Prisner, Appl. Magn. Reson. 21 (2001) 257
- [Rom92a] M. Romanelli und L. Kevan, Appl. Magn. Reson. 3 (1992) 1079
- [Rom92b] M. Romanelli und L. Kevan, Appl. Magn. Reson. 3 (1992) 1099
- [Rom92c] M. Romanelli und L. Kevan, Appl. Magn. Reson. 3 (1992) 1121
- [Rom94] M. Romanelli, V. Kurshev und L. Kevan, Appl. Magn. Reson. 7 (1994) 427
- [Row65] L. G. Rowan, E. L. Hahn und W. B. Mims, Phys. Rev. A 137 (1965) 61
- [Sal92] K. M. Salikhov, Yu. E. Kandrashkin und A. K. Salikhov, Appl. Magn. Reson. 3 (1992) 199
- [Sat97] T. Sato, K. Oikawa, H. Oyha-Nishiguchi und H. Kamada, Rev. Sci. Instrum. 68 (1997) 2076
- [Sch91] A. Schweiger, Angew. Chem. 103 (1991) 223
- [Sha76] D. Shaw, *Fourier Transform NMR Spectroscopy*, Elsevier, Amsterdam (1976)
- [Sha93] J. J. Shane, *Electron Spin Echo Envelope Modulation Spectroscopy of Disordered Solids*, Dissertation, Nijmegen (1993)
- [Sie91] G. A. Sierra, A. Schweiger und R. R. Ernst, Chem. Phys. Lett. 184 (1991) 363
- [Sot86] A. Sotgiu und J. Hyde, Magn. Reson. Med. 3 (1986) 55
- [Str01] T. Strube, O. Schiemann, F. MacMillan, T. F. Prisner, J. W. Engels, Nucleosides & Nucleotides 20 (2001) 1271

- [Tsa92] A. I. Tsapin, J. S. Hyde und W. Froncisz,
J. Magn. Reson. 100 (1992) 484
- [Vie71] H. M. Vieht, H. Brunner und K. H. Hausser,
Z. Naturforsch. 26 a (1971) 167
- [Vol68] F. Volino, F. Csakvary und P. Servoz-Gavin,
Rev. Sci. Instrum. 39 (1968) 1660
- [Wal89] W. Walcher, *Praktikum der Physik*, Teubner, Stuttgart (1989)
- [Wal98] N. G. Walter, K. J. Hampel und J. M. Burke, EMBO 17 (1998) 2378
- [Wil97] M. Willer, *Low-Frequency Pulse Electron Spin Resonance Spectroscopy*, Dissertation, Zürich (1997)
- [Wil98] M. Willer, J. Granwehr, J. Forrer und A. Schweiger,
J. Magn. Reson. 133 (1998) 46
- [Wil00] M. Willer, J. Forrer, J. Keller, S. Van Doorslaer
und A. Schweiger, Rev. Sci. Instrum. 71 (2000) 2807
- [Yok96] H. Yokoyama, T. Ogata, N. Tsuchihashi, M. Hiramatsu und N. Mori,
Magn. Reson. Imaging 14 (1996) 559
- [Yos99] T. Yoshii, A. Kawamori, M. Tonaka und K. Akabori
Biochim. Biophys. Acta 1413 (1999) 43
- [Zav45] E. K. Zavoisky, J. Phys. USSR 9 (1945) 211 und 245

5.E Danksagung

Diesen letzten Abschnitt möchte ich all denen widmen, die zum Zustandekommen dieser Arbeit beigetragen haben. Mein größter Dank gilt hierbei denjenigen Menschen, die direkt daran beteiligt waren, daß dem S-Band-Spektrometer Leben eingehaucht wurde. Dazu zählen die folgenden Personen: Prof. Dr. Thomas F. Prisner, der mich nicht nur in seinen Arbeitskreis aufgenommen und mir diese interessante und vielseitige Aufgabe gestellt hat, sondern besonders in den Anfängen auch viele praktische Lehrstunde in Hochfrequenztechnik und über die Tücken des Spektrometerbaus gab. Dr. Martin Rohrer war bei Fragen der Konzeption des Spektrometers und bei Problemen ebenfalls ein wertvoller Gesprächspartner. Die meisten konstruktiven Beiträge wie Power-Supplies, D/A-Wandler, Modulationsverstärker uvm. wurden von Herrn Dipl. Ing. Bernhard Kinzer gebaut. Zu seinen Leistungen zählen außerdem noch ungezählte Reparaturen der z.T. recht betagten Elektronik ohne die sicher nicht ein einziges Spektrum entstanden wäre. Neben vielen kleineren Beiträgen zu diesem Spektrometer hat Dr. Jens T. Törring das Steuerprogramm geschrieben und ständig weiterentwickelt. Ich danke auch Guido Wagner und Quoc Cuong Ton für ein sehr angenehmes und produktives Arbeitskreispraktikum, aus dem einige sehr gute S-Band-Resonatoren hervorgingen.

Mein besonderer Dank gilt Dr. Olav Schiemann. Mit ihm kam das Interesse an Abstandsmessungen mittels PELDOR. Außerdem danke ich allen „Proben-Lieferanten“: Die ersten Tests der Aufbauten wurden mit Proben durchgeführt, die wir von Dr. Gunnar Jeschke zur Verfügung gestellt bekamen. Die Synthesen aller weiteren Biradikale wurden von Dr. Olav Schiemann und Bela Bode durchgeführt und die RNA-Proben stammen von Prof. Dr. Snorri T. Sigurdsson.

Neben den bereits oben erwähnten Mitgliedern der Arbeitsgruppe möchte ich für das tolle Klima danken: Dr. Fraser MacMillan, Dipl. Phys. Oliver Brüggmann, Dipl. Phys. Stéphane Grimaldi, Dipl. Chem. Thorsten Maly, Dipl. Chem. Jörg Fritscher, Dipl. Chem. Sevdalina Lyubenova, Dipl. Chem. Emiliano Feresin, Dipl. Chem. Susanna Frtus, Dipl. Chem. Mario Beyer, Hildegard Mathis, Sigrid Kämmerer, Astrid Noll, Dr. Marina Bennati, Dipl. Chem. Natalie Kisseleva und Dipl. Phys. Melanie Hertel.

Prof. Dr. Erich-Walter Grabner danke ich für die hervorragende Idee bei dem „Neuen“ in der PC mal reinzuschauen, der EPR macht!

Meiner Frau Claudia danke ich für ihre Geduld und bei meinen Kindern Selina und Daniel entschuldige ich mich für manche Launen und den Mangel an Zeit.

Dank gilt auch meiner Volleyballmannschaft, die mir nicht nur einen zuweilen dringend nötigen körperlichen Ausgleich ermöglichte, sondern auch meine unregelmäßige Teilnahme am Training tolerierte.

Für manche kleine oder große Hilfe am Rande, aber auch für moralische Unterstützung danke ich herzlich Dr. Karsten Schmidt, Dipl. Ing. Norbert Stöcken und meinen Eltern und Schwiegereltern. Dr. Hans Martin danke ich für die Leihgabe seines Rechners, auf dem der größte Teil dieser Arbeit entstanden ist.

Der DFG sei für die Finanzierung im Rahmen des SFB 472 „Molekulare Bioenergetik“ gedankt.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Axel Weber
Anschrift: Textorstr. 90
60596 Frankfurt/Main
Geburtsdatum/-ort: 11. Oktober 1968 in Bad Homburg v.d.Höhe
Familienstand: verheiratet seit April 1998 mit Claudia Weber, geb. Rode,
2 Kinder: Daniel John, geb. 5. Februar 1999
Selina Marie, geb. 7. August 2001

Schul Ausbildung

1975 - 1979 Grundschule Nord - Oberursel
1979 - 1981 Förderstufe der Gesamtschule Oberursel
1981 - 1985 Gymnasialzweig der Gesamtschule Oberursel
1985 - 1988 gymnasiale Oberstufe der Gesamtschule Oberursel
1988 - 1989 Gymnasium Oberursel, Abitur

Wehrdienst

1989 - 1990 Sportschule der Bundeswehr, Warendorf

Universitätsausbildung

ab Oktober 1990	Physikstudium an der Johann Wolfgang Goethe-Universität in Frankfurt/Main
April 1994	Vordiplom
1995 - 1996	externe Diplomarbeit mit dem Titel: <i>Suche nach Protonenradioaktivität von ^{105}Sb und β-verzögerte Protonenemission leichter Silber- und Cadmiumisotope</i> an der Gesellschaft für Schwerionenforschung (GSI), Darmstadt
Juli 1997	Diplom
seit September 1997	Promotionsstudium am Institut für Physikalische und Theoretische Chemie der Johann Wolfgang Goethe-Universität in Frankfurt/Main mit dem Titel: <i>Entwicklung gepulster Elektronendoppelresonanz-Verfahren zur Abstandsmessung im Nanometerbereich</i>

Meine akademischen Lehrer waren

N. Adasch, R. Becker, H. D. Brauer, G. Bruhl, H.-U. Chun, F. Constantinescu,
R. Dreizler, T. Elze, U. Gerhardt, W. Greiner, K. Hensen, H. Klein, B. Lüthi,
W. Martienssen, E. Mohler, T. F. Prisner, E. Roeckl und A. Schaarschmidt.

