

# FYS 3710

## *Laboratorieoppgave i Biofysikk*

ved bruk av

### **Elektron Spinn Resonans (ESR/EPR) spektroskopi**

*a) deteksjon av fri radikaler i bestrålt vann og tungtvann*

*b) dosebestemmelse av bestrålte nitroglyserintabletter (fra Kjellerulykken 1982)*



Fysisk institutt, Universitetet i Oslo  
Høstsemesteret 2011

## Laboratorieoppgave i ESR-spektroskopi

Denne laboratorieoppgaven i FYS 3710 skal i sin helhet utføres ved Biofysikkgruppens ESR-laboratorium, V 319/V321 i 3. etg. i Kjemibyggets vestfløy.

### Oppgaven har følgende hovedformål:

- å lære om grunnleggende prinsipper ved magnetisk resonans spektroskopi med særlig vekt på ESR (elektron spinn resonans) spektroskopi,
- å introdusere til begreper som radioaktivitet og ioniserende stråling,
- å bli kjent med måleenhetene becquerel (Bq), gray (Gy) og sievert (Sv),
- å se radioaktivitet og stråling i en strålebiologisk og strålehygienisk sammenheng,
- å bestemme dosen gitt til et alanin-dosimeter på et annet tidspunkt,
- å foreta en kvantitativ dosebestemmelse av nitroglyserintabletter bestrålt under strålingsulykken på Kjeller i 1982.

### Dette introduksjonsheftet består av tre deler:

- Generell innledning om radioaktivitet og stråling.
- Grunnleggende teori for magnetisk resonans spektroskopi.
- En orientering og veiledning om laboratorieoppgaven.

**Det vil bli gitt veiledning på labben angående bruk av utstyr. Dette heftet bør være gjennomlest før du møter på labben. Legg spesielt vekt på oppgaveteksten.**

Vi henviser til biofysikkgruppens hjemmeside for ytterligere informasjon om virksomheten i gruppen og mulige hovedoppgaver, <http://www.fys.uio.no/biofysikk/>.

## HJERTELOG VELKOMMEN !

# RADIOAKTIVITET OG IONISERENDE STRÅLING

## INNLEDNING

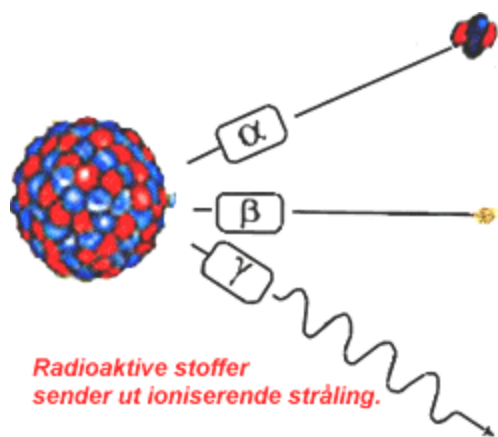
Til alle tider har planter, dyr og mennesker vært utsatt for stråling. Livet på jorden startet og utviklet seg i et langt mere intenst strålingsmiljø enn det vi opplever i dag. Det kommer stråling fra verdensrommet, fra alle de radioaktive stoffene som er (og alltid har vært) i alle levende organismer (inklusive mennesker!), i mat, fra drikkevann, fra bakken, fra bygningsmaterialer, og fra luft.

Foruten disse naturlige strålekildene finnes det strålekilder som røntgenapparater og kunstige radioaktive preparater. Disse brukes til en rekke nyttige formål innen medisin, forskning og industri. Wilhelm Conrad Røntgen oppdaget den stråling som bærer hans navn en novemberdag i 1895, og bare noen få måneder senere oppdaget Henri Becquerel naturlige radioaktivitet. I løpet av de vel 100 årene som er gått siden disse oppdagelsene er det samlet betydelige kunnskap om stråling, dens positive og negative biologiske virkninger, samt det enorme antall av anvendelseområder innen dagliglivet, industri, forskning, og ikke minst medisin.

**Ekspertise innen strålingsfysikk- og biofysikk synes å være mere nødvendig enn noensinne.**

## HVA ER STRÅLING ?

En radioaktiv kilde består av ustabile atomer. Når atomkjernen går over i en annen form eller tilstand kalles prosessen en *desintegrasjon*. Energidifferensen mellom de to tilstandene avgis i form av ulike typer stråling. Omkring århundreskiftet var det atskillig interesse for å finne ut hva slags stråling som ble sendt ut fra de ulike naturlige radioaktive kilder. En fant fort ut at det var 3 typer stråling, og fordi en ikke visste hva de besto av ble de kalt *alfa* ( $\alpha$ ), *beta* ( $\beta$ ) og *gamma* ( $\gamma$ )-stråling.



Både  $\alpha$  og  $\beta$ -stråling består av ladde partikler.  $\alpha$ -stråling er heliumkjerne og  $\beta$ -stråling er elektroner. Energien måles i enheten elektronvolt (eV) som er definert som den energi et elektron får når det akselererer gjennom et spenningsfall på 1 volt:

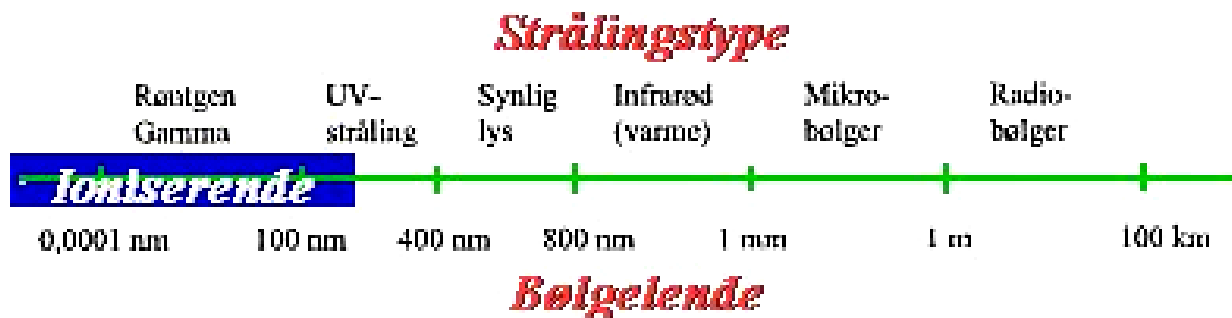
$$1 \text{ eV} = 1.6 \cdot 10^{-19} \text{ joule}$$

Energien til en  $\alpha$ -partikkel idet den sendes ut, kan gå opp i noen millioner eV (MeV). Når partiklene treffer et stoff vil avgitt energi pr. lengdeenhet være stor. Det betyr at rekkevidden er liten. Selv i luft er rekkevidden kun noen få cm når  $\alpha$ -partiklene kommer fra en radioaktiv kilde. For  $\beta$ -partikler er forholdene noe annerledes, spesielt er rekkevidden noe lenger siden partikkelens masse er betydelig mindre, ca 3 meter for et 1 MeV elektron i luft.

*Gamma-stråling* er det vi kaller elektromagnetisk stråling på linje med radiobølger, synlig lys og ultra-violett stråling. Gamma-strålingen kommer i følge med enten en  $\alpha$ -partikkel eller en  $\beta$ -partikkel. Energien er gitt ved:

$$E = h\nu = hc/\lambda$$

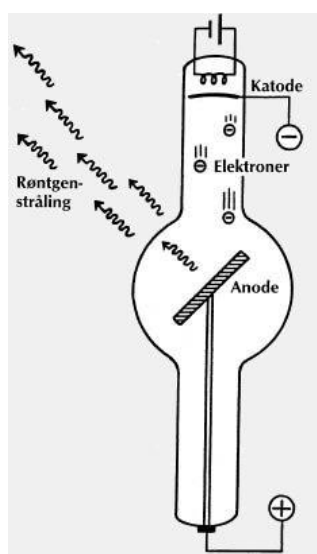
der  $h$  er Plancks konstant,  $c$  er lyshastigheten,  $\lambda$  er bølgelengden og  $\nu$  er frekvensen. Figur 1 viser det elektromagnetiske spektret hvor forskjellige typer stråling er angitt innenfor bestemte bølgelengdeintervaller.



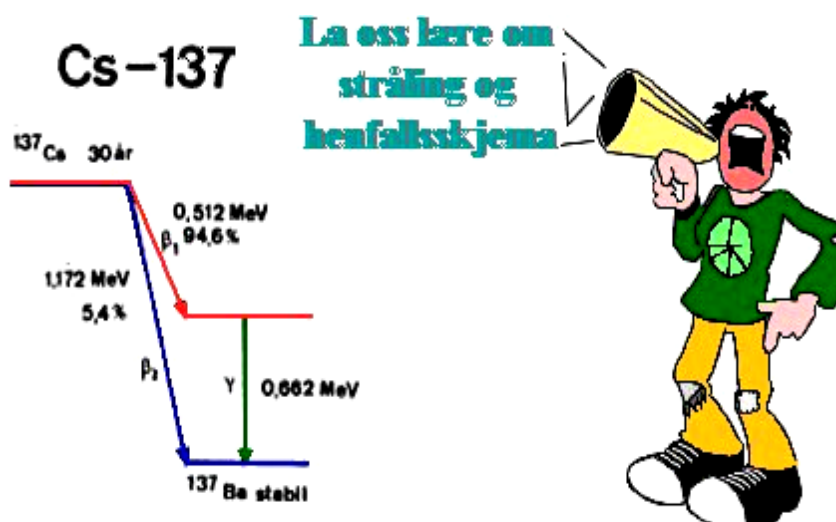
**Figur 1:** Det elektromagnetiske spektrum. Strålingen karakteriseres her ved bølglengden.

Røntgenstråling har samme karakter som  $\gamma$ -stråling, men produseres kunstig og har oftest lavere energi. Figur 2 viser en illustrasjon av hvordan røntgen- og gammastråling vanligvis produseres.

a)



b)



**Figur 2:** a) viser hvordan røntgenstråling vanligvis produseres ved at elektroner, akselerert i et høyspenningsfelt under vakuum, kolliderer med en metallplate. Energien blir avgitt dels som varme og dels som fotoner. Fotonenergien er oppad bestemt av høyspenningen over røntgenrøret.

b) viser hvordan gammastråling produseres ved at en atomkjerne deeksiteres og sender ut et foton evt. sammen med andre strålingspartikler.

## AKTIVITET OG MÅLEENHETER

Styrken (intensiteten, *aktiviteteten*) av en radioaktiv kilde angis som antall atomer som desintegrerer pr. tidsenhet. Enheten som brukes er becquerel (forkortet Bq):

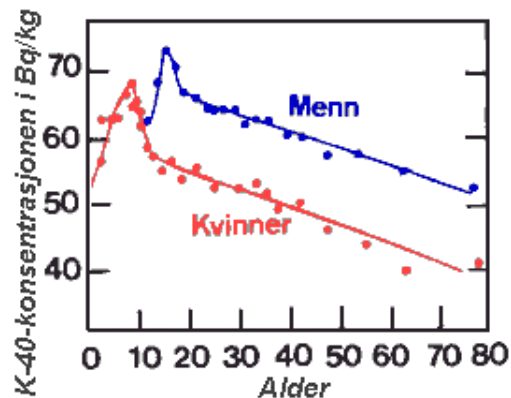
$$1 \text{ Bq} = 1 \text{ desintegrasjon pr. sekund}$$

*Spesifikk aktivitet* er antall Bq pr. kg. Dette er en måleenhet som har fått betydelig oppmerksomhet etter reaktorulykken i Tsjernobyl. Tabell 1 viser den spesifikke aktiviteten for endel radioaktive isotoper i forskjellige kjente stoffer.

Becquerel er en liten måleenhet. På sykehus brukes ofte kilder med mange millioner becquerel for en undersøkelse. Radioaktive kilder på 10 til 100 Bq er ørsmå, men med det utstyr en har i dag er det mulig å måle slike små kilder.

**Tabell 1:** Spesifikk aktivitet for K-40, C-14, Cs-137 og Cs-134 i mennesker, reinsdyr og kalilut.

STOFF	ISOTOP	Bq / kg
KOH (kalilut)	K-40	21.800
Menneske	K-40	62
Menneske	C-14	30
Reinsdyr	K-40	62
Reinsdyr i 1985	Cs-137	ca 400
Reinsdyr i 1986	Cs-137 & Cs-134	400-30000



Se hvordan konsentrasjonen av K-40 varierer med alder og kjønn !

## FYSISK HALVERINGSTID

Strålingen fra en radioaktiv kilde vil gradvis avta. Dette er helt forskjellig fra røntgenstråling som forsvinner momentant i det øyeblikk røntgenapparatet slås av. En viktig størrelse som forteller hvordan den radioaktive strålingen avtar er *halveringstiden*,  $T_{1/2}$ . Den angir tiden det tar før aktiviteten fra et gitt antall atomer er halvert. Halveringstiden er spesifikk for en gitt isotop og kan variere mellom  $10^{-10}$  sek og  $10^{10}$  år. Styrken av en radioaktiv kilde avtar eksponentielt. Starter vi med  $N_0$  atomer, vil antall atomer ( $N$ ) ved tiden  $t$  være:

$$N = N_0 e^{-\lambda t}$$

der  $\lambda$  er en karakteristisk konstant, *desintegrasjonskonstanten*. Av denne formelen finner en at halveringstiden er gitt som

$$T_{1/2} = \ln 2 / \lambda$$



## DOSEBEGREPET

**Absorbert dose:** Dosebegrepet står helt sentralt når det snakkes om den biologiske effekten av ioniserende stråling. *Absorbert dose* er definert som den midlere energimengden absorbert i et bestrålt organ. Enheten som brukes i dag er joule pr. kg og kalles gray (Gy). Navnet har den fått etter en av strålebiologiens store pionerer, engelskmannen L.H. Gray.

$$1 \text{ Gy} = 1 \text{ J/kg}$$

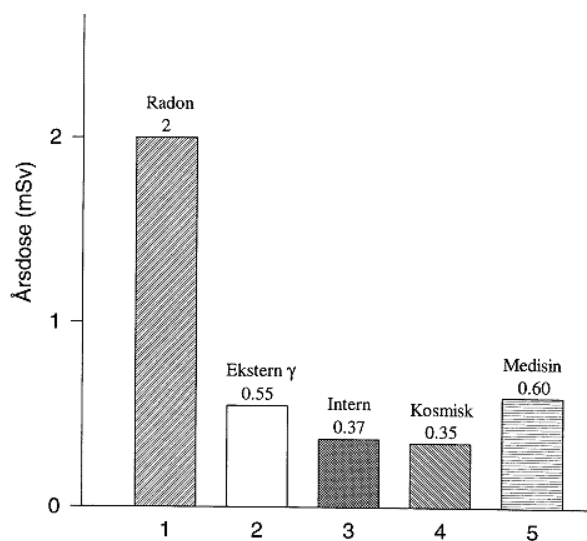
**Ekvivalent dose og Effektiv dose:** I strålevernssammenheng benyttes også to andre dosebegrep, *ekvivalent dose* ( $D_{\text{ekv}}$ ) og *effektiv dose* ( $D_{\text{eff}}$ ). Dette er administrative enheter konstruert for å gjøre de praktiske regningene i forbindelse med strålevern mest mulig enkle. De ulike stråletypene avsetter energien på forskjellig måte, og den biologiske effekten varierer med avsetningsmåten. Den biologiske virkningen er også avhengig av hvilket organ som bestråles. For på en lettvinnt måte kunne sammenlikne den biologisk strålevirkningen fra forskjellige stråletyper innføres dosebegrepet *ekvivalent dose*, hvor det korrigeres for stråletype. For å sammenlikne den totale biologisk effekten av bestråling til ulike organer innføres dosebegrepet *effektiv dose*, korigert for organtype. Begge dosebegrepene måles i enheten sievert (Sv).

$$1 \text{ Sv} = 1 \text{ J/kg.}$$

## STRÅLEDOSER FRA NATURLIG BAKGRUNNSSTRÅLING

Vi lever alle i et strålemiljø, og helt siden tidenes morgen har livet på jorda vært utsatt for kontinuerlig bestråling fra verdensrommet, fra radioaktive kilder i jord og berggrunn, samt fra naturlig forekommende radioaktive isotoper i enhver menneske- og dyrekropp. Den stråledosen som skyldes naturlig bakgrunnstråling er av størrelsesorden noen få millisievert (mSv) pr. år, men på grunn av geologiske forskjeller kan det være store geografiske variasjoner.

Som vist i tabell 2 varierer bakgrunnstrålingen i Norge mellom 1 og 250 mSv med en gjennomsnittsverdi på ca. 3.30 mSv. De største variasjonene skyldes ulike mengder av radon.



**Tabell 2: Strålenivået i Norge;** naturlig bakgrunnstråling, stråling som skyldes menneskelig aktivitet, samt ekstrabidraget som skyldes reaktorulykken i Tsjernobyl 1986 (midlet over 50 år). Den store variasjonen i naturlig bakgrunnstråling skyldes i hovedsak stor geografisk og geologisk variasjon i uran/radon forekomst.

Strålingskilde	Midlere effektiv dose	Variasjon
Naturlig bakgrunnstråling (eksterne, interne)	3.30 mSv/år	1.0 – 250 mSv/år
Menneskelig aktivitet (medisin, industri) Siste oppdaterte verdi (2004) er	1.1 mSv/år	
Total bakgrunnstråling	4.40 mSv/år	2.1 - 250 Sv/år
Tillegg fra Tsjernobyl (middel over 50 år)	0.04 mSv/år	0.0 - 2.0 mSv/år

## MENNESKELAGET STRÅLINGSMILJØ

På grunn av menneskelig aktivitet har vi fått et "kunstig" strålemiljø i tillegg til det naturlige. Dette skyldes i hovedsak stråling brukt i medisin, industri og forskning. All denne bruken av stråling fører til at vi får en ekstra liten dose som varierer fra individ til individ, hvorav det største bidraget kommer fra medisinsk bruk av stråling.

På grunn av uønsket spredning av radioaktivt materiale (bombeprøver, reaktoruhell, ymse utslipp) er det



kommet noe ekstra radioaktivitet inn i næringskjedene. Disse tilleggsdoser som det moderne samfunn har tilført menneskene er mindre enn den naturlige bakgrunnsstrålingen. Siden 1986 har vi fått et lite tillegg til bakgrunnsdosen som følge av reaktorulykken i Tsjernobyl. Som det kommer fram av tabell 2 representerer dette tillegget under 1% av den midlere naturlige strålingen.

Tilleggsdosene som skyldes menneskelig aktivitet (primært medisinsk bruk) er i dag av størrelsesorden 1 mSv pr. person pr. år, altså en del lavere enn dosene fra den naturlige bakgrunnstrålingen.

## DOSESTØRRELSER

De internasjonale strålevernsorganisasjonene betegner doser under 200 mGy (eller 200 mSv) for små doser, og doser over 2 Gy (eller 2 Sv) for store doser. Med meget små doser menes doser i samme størrelsesorden som den midlere årlige bakgrunnstrålingen, det vil si noen få mGy, eventuelt mSv. På sykehus brukes stråling for å behandle kreft. Omtrent halvparten av alle krefttilfeller blir strålebehandlet. Poenget er å drepe de syke cellene mens de friske skal overleve. Til dette brukes totale organdoser på 10-80 Gy, fordelt på flere porsjoner.

## STRÅLESKADER

Stråleskader som kan følge av ioniserende stråling deles gjerne opp i to kategorier, *akutte* og *sensskader*. Det kreves relativt høye stråledoser for at akutte skader skal inntreffe. Disse innebærer som regel celledød og organsvikt, og observeres relativt kort tid etter bestrålingen, dvs i størrelsesorden minutter til noen dager. Det er svært sjelden at folk utsettes for stråledoser av denne størrelsesorden. Sensskader kan induseres av langt lavere doser og kan dukke opp mange år etter at bestrålingen har funnet sted.

Det er ingen tvil om at store doser ioniserende stråling kan være meget skadelig. Betydningen av middels store doser og spesielt små doser er imidlertid langt fra klarlagt. Til tross for usikkerheter og ulike konklusjoner kan resultatene fra en lang rekke høy- og lavdoseundersøkelsene oppsummeres i fire punkter:

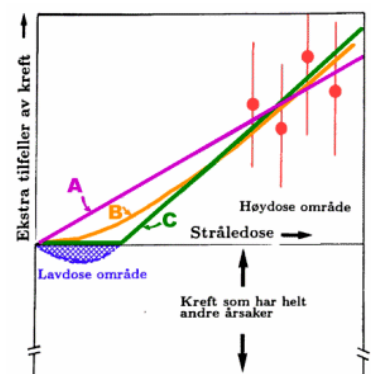
- Det observeres en signifikant økning i de fleste kreftformer ved doser over 1 Sv.
- Det observeres ingen signifikant økning av kreft ved doser under 200-500 mSv.
- For doser mindre enn 200 - 500 mSv er effekten av bestrålingen så liten at den ikke med sikkerhet kan observeres. Dette gjelder enten strålevirkningen er skadelig, om den er ufarlig, eller om den skulle ha en helsebringende (ofte kalt *hormetisk*) effekt.
- Det er ikke observert genetiske endringer hos mennesker som følge av ioniserende stråling - uansett doser (ikke engang blant etterkommerne til de som overlevde bombingene av Hiroshima og Nagasaki er det observert genetiske endringer på grunn av stråling).

## DOSE-RESPONSKURVER

Strålevirkningen er avhengig av dosen. Forholdet mellom dose og virkning kalles en **dose-responskurve**. Dose-responskurver illustrerer effekten av ioniserende stråling som funksjon av stråledose, og gis som oftest slik som i fig. 3, med økende negativ effekt langs y-aksen. En kan skille mellom tre hovedtyper av dose-responskurver:

A: *Ikke-terskel* - det antas at absolutt all stråling har en skadelig virkning. Stråleverns-myndighetene antar av praktiske grunner at all stråling er farlig.

B: *Terskel* - det antas at stråledoser under en gitt verdi ikke har noen effekt. Akutte stråleskader inntreffer kun etter relativt høye stråledoser, dvs at dose-responskurven for akutte stråleskader har en terskelverdi. Det er ukjent hvorvidt dose-respons kurven for sensskader har en terskelverdi.



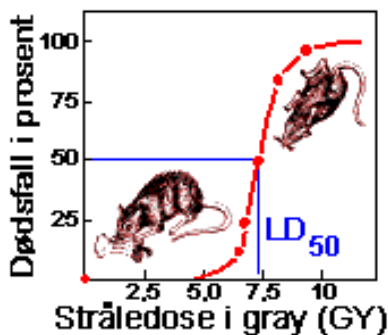
Figur 3: Dose-responskurver

C: *Hormesis* - det antas at små doser kan ha en form for positiv effekt. Det finnes en lang rekke observasjoner som antyder at lave doser ioniserende stråling kan ha en positiv helseeffekt. Det at et stoff er skadelig i store mengder, men positivt i små mengder kalles ofte for hormese. Kjente eksempler på hormetiske stoffer er vitaminer, en rekke sporstoffer og uv-stråler fra sollyset.

Formen på dose-responskurven for doser under ca 200 mSv er ikke klarlagt på grunn av begrensede, og ikke minst usikre, observasjoner for lavdoseområdet. Hvilke av de tre hovedformene i fig. 3 som gir det mest biologisk korrekte bilde av dose-responskurven i lav-doseområdet er derfor fortsatt ukjent.

## LETAL DOSE (LD<sub>50</sub>)

Et typisk eksempel på en dose-responskurve for akutt stråleskade er vist i fig. 4. Fem grupper med rotter ble bestrålt med store stråledoser og det ble registrert hvor mange som døde i hver gruppe i løpet av 30 dager. En ser at etter en dose på ca. 5 Sv vil alle rottene overleve, mens etter 10 Sv vil alle dø. Etter en dose på omlag 7.5 Sv vil 50% av alle rottene dø i løpet av 30 dager. Vi sier at 7.5 Sv er LD<sub>50</sub>-dosen for rotter (LD står for "letal dose", dødelig dose). LD<sub>50</sub>-dosen er estimert for en rekke dyreslag, og noen verdier er gitt i tabell 3.



**Figur 4:** Dose-effektcurve for bestrålte rotter. Dødeligheten er registrert som prosentvis døde rotter av en gruppe der alle er gitt samme stråledose. Død inntrådte senest 30 dager etter bestråling.

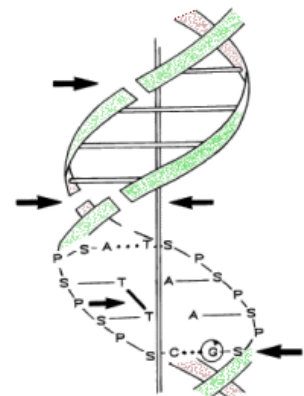
Dyreart	Gullfisk	Skilpadde	Hare	Frosk	Ape	Hund	Menneske
LD <sub>50</sub> (Sv)	23	15	8	7	6	3,5	3 - 5

**Tabell 3:** LD<sub>50</sub>-dosen for en rekke dyreslag. LD<sub>50</sub>-dosen er relatert til akutte stråleskader og er definert som den dosen hvor halvparten av den eksponerte gruppen vil dø i løpet av 30 døgn.

## PRIMÆRE STRÅLE-EFFEKTER

Utfra dagens kunnskap er skader i DNA en av hovedmekanismene bak strålingsindusert kreft. Argumentasjonen for en ikke-terskel dose-respons-modell benytter det faktum at en ionisasjon kan være tilstrekkelig til å initialisere en skade i DNA, og at det derfor alltid vil være en viss risiko forbundet med ioniserende stråling. Det er imidlertid svært viktig å være klar over at *initialisering av en DNA-skade er ikke er det samme som utvikling av kreft*. Utvikling av kreft er en multi-step prosess og det er en lang rekke fysiske, kjemiske, og biologiske prosesser som må finne sted for at den opprinnelige DNA skaden skal resultere i utvikling av kreft.

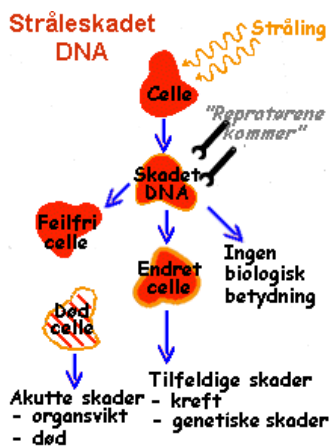
Årlig skjer det mer enn  $10^{12}$  ionisasjoner i DNA i hvert enkelt menneske som følge av den naturlige bakgrunnstrålingen. Strålingsindusert kreft kan ikke skilles fra kreft forårsaket av andre årsaker. Og det er derfor uvisst hvorvidt disse ionisasjonene i det hele tatt kan føre fram til kreftdannelse. Det er imidlertid med sikkerhet kan fastslå, ettersom vi i det hele tatt er i live, er at ytterst få av disse naturlig forekommende DNA





endringene fører til alvorlige biologiske skader. Kroppen må i løpet av millioner av år med kontinuerlig bakgrunnstråling ha lært seg til å hanskles med et lavt og varierende strålingsmiljø, og ha utviklet et uhyre effektivt reparasjonsapparat som på kort tid kan rette opp endringer som er dannet ved ionisasjon.

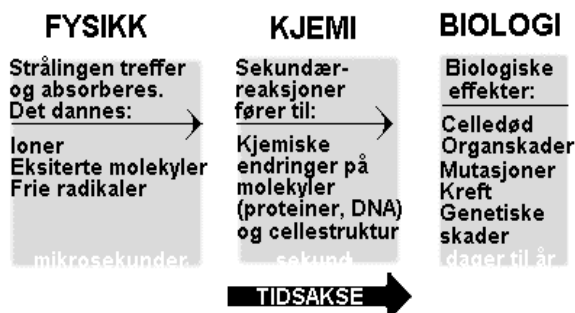
Men hva skjer egentlig når stråling "treffer" f.eks. organisk materiale som molekyler, celler, organismer? Jo, det finner sted en energiavsetning, en absorpsjon av strålingsenergi. Strålingsenergi avsettes imidlertid svært anderledes enn andre energiformer ettersom den strålingsenergien som skal til for å drepe et menneske på 70 kg, dersom strålingsenergien er jevnt fordelt over hele kroppen, er omlag 350 joule (en promille av energiinnholdet i en skive med brød!)



Når termisk varme tilføres et system (f.eks. is) vil alle molekylerne få litt energi hver slik at deres bevegelse øker (og isen smelter). Når derimot et system eksponeres for ioniserende stråling (partikkel-, røntgen- eller gammastråling) vil energiabsorpsjonen finne sted lokalisert til noen få atomer eller molekyler der partiklene/fotonene "treffer". For denne typen stråling, og også for høyfrekvent ultrafiolett stråling, har partiklene/fotonene en så høy energi at elektroner løsriveres fra de molekylerne som treffes, dvs molekylerne blir ionisert. Det elektronet som løsriveres kan ha meget stor bevegelsesenergi. Det farer avsted og vil gradvis avgi sin energi ved at det støter mot andre elektroner på sin vei. Støtene vil i sin tur lede til enten nye ionisasjoner, eller til eksitasjoner.

**Frie radikaler:** Atomer eller molekyler som er blitt ionisert/eksitert er svært ustabile. I løpet av brøkdelen av et sekund vil en serie prosesser ha funnet sted. Molekyler som på grunn av en ionisasjonsprosess enten mangler et elektron eller har et elektron for mye, kalles frie radikaler.

De sekundære prosessene består av reaksjoner mellom disse, eller reaksjoner mellom radikaler og deres omgivelser. De reaksjoner som skjer her danner utgangspunktet for den endelige skjebne til den bestrålte organismen. Det er av stor betydning å kjenne til hva som foregår på dette nivået, idet det her vil være mulig å modifisere det normale strålingsforløpet (beskyttelse, sensitisering). For å kunne studere så reaktive produkter som strålings-induserte radikaler må en bruke spektroskopiske teknikker med høy tidsoppløsning (puls radiolyse eller fotolyse) eller en må ty til knep for å stabilisere dem. Dette kan gjøres ved å senke temperaturen ("fryser dem fast") til  $-196^{\circ}\text{C}$  (flytende nitrogen) eller  $-269^{\circ}\text{C}$  (flytende helium). En kan også stabilisere en del av radikalene ved å fjerne vann fra prøven. Med en spesiell teknikk som kalles **elektron spinn resonans (ESR) spektroskopi**, er det mulig å studere radikalene og å følge deres reaksjoner. Kjeden av radikalreaksjoner ender opp med stabile kjemiske produkter som er forskjellige fra de en hadde i utgangspunktet. Disse inngår nå i en av organismens naturlige prosesser (metabolismen). Avhengig av de molekylære endringene og i hvilke av cellens komponenter endringene har funnet sted, vil en kunne få et spektrum av mulige biologiske virkninger.



**Mere detaljert informasjon om stråling og biologiske effekter** finnes i to skrifter utgitt av Fysisk institutt. Disse skriftene er i sin helhet lagt ut på internett, og finnes på linken <http://www.fys.uio.no/biofysikk/norsk/popular.htm> (hvor det også finnes en lang rekke andre informative artikler om ulike typer stråling og strålevirkning) Heftene kan også kjøpes ved henvendelse til Fysisk institutts ekspedisjonskontor, rom 144 i Fysikkbygget:

- T. Henriksen og medarbeidere: **Stråling og Helse**. Dette er en bok på ca 190 sider.
- E. Henriksen og T. Henriksen: **Radioaktivitet, røntgenstråling og helse**. Hefte (48 sider) utgitt i forbindelse med utstillingen "Vår Strålende Verden" på Teknisk Museum.

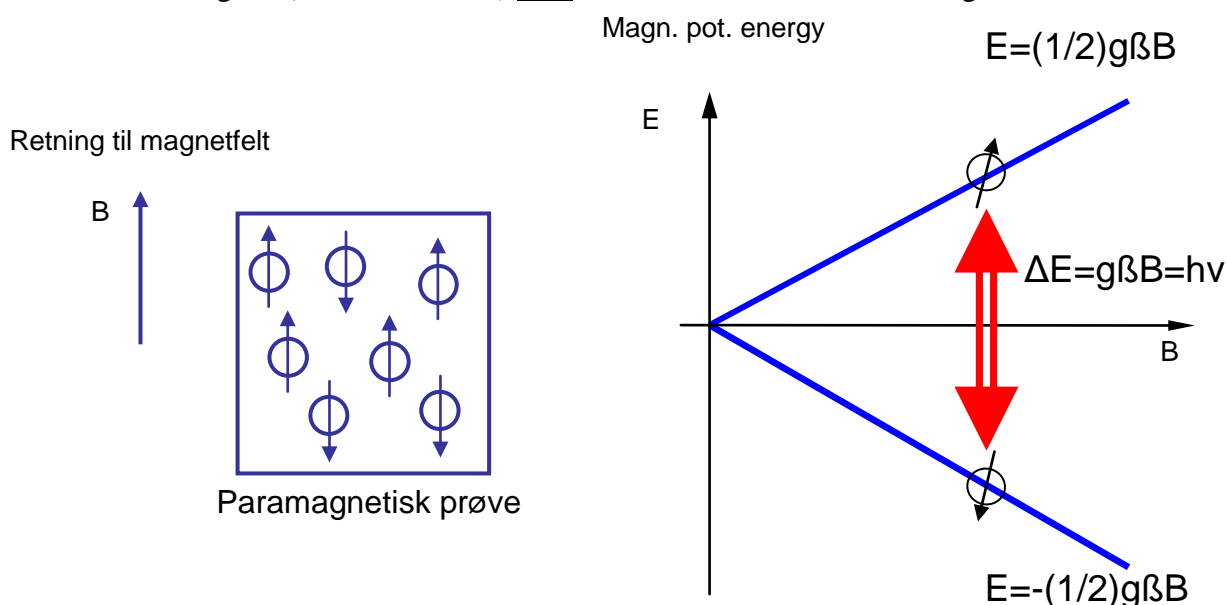
# ELEKTRON SPINN RESONANS SPEKTROSKOPI

## GRUNNLEGGENDE TEORI

Et elektron er en partikkel som bærer en viss ladning ( $q = -e$ ) og som har et egenspin  $\underline{S}$  (en kan tenke seg elektronet som en ladd kule som roterer om en akse). Gjennom disse fysiske egenskapene har elektronet et magnetisk moment  $\underline{\mu}$ :

$$\underline{\mu} = -g\beta\underline{S}$$

der  $g$  er en karakteristisk konstant og  $\beta$  er Bohrmagnetonet  $e\hbar/2m_e$  (her er  $\hbar$  en enhet som er trukket over fra spinn-operatoren). Som andre magnetiske materialer vil elektronet påvirkes av et magnetfelt, og det magnetiske momentet vil "rette" seg inn i det ytre feltet, enten med spinnen "parallellt" eller med spinnen "antiparallellt" med magnetfeltet. Dette er illustrert i figuren nedenfor. Figuren viser også at disse to orienteringene (eller tilstandene) ikke er forbundet med samme energi.

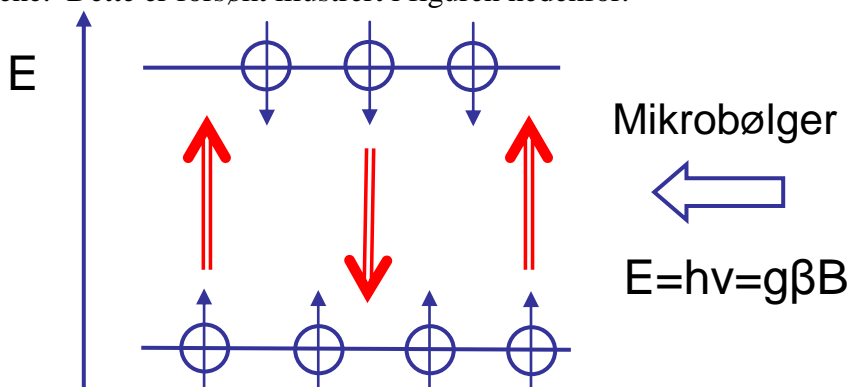


Energidifferansen mellom de to tilstandene er gitt ved:

$$\Delta E = g\beta B$$

der  $B$  er den magnetisk flukstettheten (eller styrken av magnetfeltet).

Har en et stort antall elektroner i magnetfeltet vil noen av momentene være rettet parallellt, og andre antiparallellt, med feltet. Det vil imidlertid alltid være noen flere elektroner i den tilstanden som er forbundet med lavest energi. Under bestemte betingelser er det mulig å indusere overganger mellom disse to tilstandene. Dette er forsøkt illustrert i figuren nedenfor.



Her framgår det at en kan indusere overganger mellom de to energitilstandene dersom en utsetter spinnsystemet for elektromagnetisk stråling med en energi ( $h\nu$ ) som nøyaktig tilsvarer energidifferansen  $\Delta E$  mellom tilstandene:

$$h\nu = \Delta E = g\beta B$$

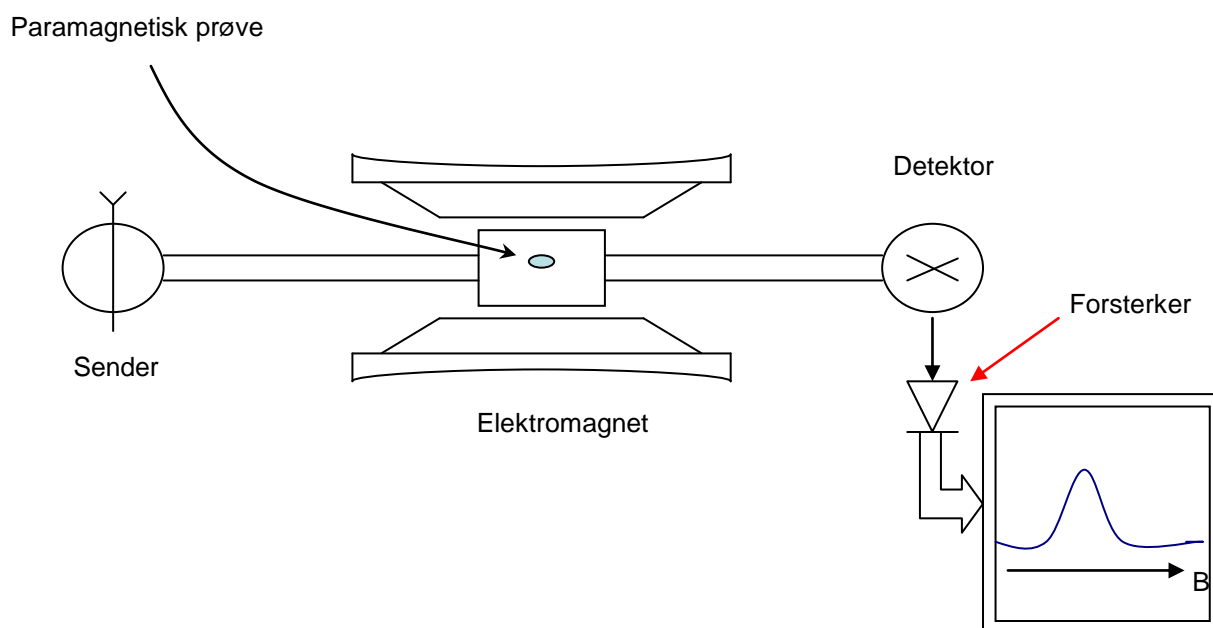
$\nu$  er frekvensen til det elektromagnetiske strålingsfeltet. Fenomenet kalles *resonans*, og ligningen ovenfor kalles følgelig *resonansbetingelsen*.

Som nevnt vil det alltid være flere elektroner i den energetisk laveste tilstanden enn i den andre. Sannsynligheten for stimulerte overganger er den samme uansett hvilken vei overgangen skjer, og det vil følgelig gå flere elektroner fra den laveste tilstanden til den høyeste. Det vil altså finne sted en netto energiabsorpsjon i prøven fra strålingsfeltet. Det er denne energiabsorpsjonen som utgjør et ESR-signal.

Intensiteten av energiabsorpsjonen (dvs. arealet under absorpsjonskurven) er proporsjonalt med antallet uparede elektroner i den prøven som studeres og følgelig kan en (ved sammenlikning med kjent referanse) kunne måle dette antallet, dvs utføre kvantitative undersøkelser på prøver med uparede elektroner. Arealet kan ofte være proporsjonalt med absorpsjonskurvens amplitude, slik at det under slike forhold rekkes å måle absorpsjonskurvens amplituder i stedet for å integrere spektret for å finne arealet.

En ESR absorpsjon er i tillegg avhengig av de nære omgivelser til elektronene. Dersom det finnes kjerner med kjernespin  $I$  vil disse kjernenes magnetiske momenter og elektronets magnetiske moment kunne vekselvirke med hverandre. Slike vekselvirkninger fører til at den enkle energiabsorpsjonslinjen en får ved resonans fra elektronet alene blir splittet opp på en måte som er karakteristisk for hvilke kjerner en har vekselvirkninger med, antallet av slike kjerner, samt styrken av koplingen til de forskjellige kjernene.

## INSTRUMENTERING



I prinsippet kan en tenke seg et ESR instrument oppbygd på følgende måte:

Her er prøven som inneholder uparede elektroner plassert i polgapet til en magnet, og en sender for elektromagnetiske bølger (f.eks. en radio- eller radar-sender) sender el.magn. bølger inn på prøven. En

detektor (f.eks. en halvlederdiode) måler strømmen representativ for hvor mye el.magn.bølger som passerer gjennom prøven. Dersom frekvensen holdes fast, vil en ved å variere den magnetiske flukstettheten  $B$  fra lav verdi til en høy verdi passere gjennom resonansbetingelsen ett eller annet sted. På dette punktet (ved denne kombinasjonen av  $B$ -felt og frekvens) vil energi absorberes i prøven, og strømmen fra detektoren vil følgelig avta. Absorpsjonskurven er således egentlig et *strøm - magnetisk flukstetthets diagram*, men diagrammet er direkte proporsjonalt med *energiabsorpsjonen - magnetisk flukstetthets diagrammet*. Konvensjonelt benyttes i dag en type deteksjon som kalles fase-sensitiv deteksjon. Uten å komme inn på detaljene ved denne teknikken skal det bemerkes at en da får et signal som er proporsjonalt med den første-deriverte av absorpsjonskurven.

Et moderne ESR-spektrometer er oppbygd ganske annerledes enn det som er vist i skissen ovenfor, men det grunnleggende prinsippet er det samme.

## INNLEDNING TIL OPPGAVE A)

### Deteksjon av fri radikaler i bestrålt løsning av svovelsyre, vann og tungtvann

Hensikten med denne oppgaven er å illustrere noe av teorien bak elektron spinn resonans metoden. Dette vil bli gjort ved å studere spektrene fra bestrålt svovelsyre løst i en blanding av tungtvann ( $D_2O$ ) og normalt vann ( $H_2O$ ).

Når en løsning av svovelsyre, vann ( $H_2O$ ) og tungtvann ( $D_2O$ ) bestråles vil det blant annet dannes hydrogenatomer og deuteriumatomer. Disse har begge atomnummer 1 og har derfor kun ett elektron. De er følgelig å betrakte som fri radikaler, og betegnes som  $H\bullet$  og  $D\bullet$ . Fri radikaler er som oftest svært kortlivede og må stabiliseres for å kunne observeres med ESR spektroskopi. I dette tilfellet er strålingsproduktene stabilisert ("frosset fast") ved å fryse løsningen ned til 77 K ( $-196\text{ }^\circ\text{C}$ ) under og etter bestråling.

### UTFØRELSE AV OPPGAVEN

Svovelsyre fra en blanding av tungtvann og normalt vann dryppes med en dråpeteller ned i et bad med flytende nitrogen ( $T=77\text{ K}$ ). Iskulene som dannes bestråles med røntgenstråling (60 kV / 40 mA) i ca. 10 minutter og ESR spektrene tas deretter opp ved 77 K. **Iskulene må hele tiden holdes nedkjølt i flytende  $N_2$  !** Det vil bli gitt hjelp til tillaging av disse prøvene på labben.

FØR du møter på labben bør oppgave 1) og 2) nedenfor være utført

- 1: De uparede elektronenes magnetiske moment vil kunne vekselvirke både med et ytre felt (*elektron Zeemanvekselvirkning*) og med kjernens magnetiske moment (*kontakt - vekselvirkning*). Tegn opp energidiagram som viser de tillatte ESR overgangene - samt antall linjer i ESR spektret - for:
  - Hydrogenatomet
  - Deuteriumatomet
- 2: Beregn det *teoretiske* forholdet  $a_H/a_D$ , mellom hyperfinsplittingene til vann og tungtvann. (Merk at  $|\psi(0)|^2$ , sannsynlighetsamplituden til elektronets bølgefunksjon på kjernens plass, er den samme for H-atomet og D-atomet)

- 3: Ta opp det 1. deriverte ESR-spektret av den frosne  $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{D}_2\text{SO}_4$  løsningen. Lagre spektret på disk med filnavnet *3710\_x\_1*, der *x* er deres gruppenummer. Følg muntlig veiledning for å printe ut kopier av spekteret.
- 4: Merk av følgende parametre på spektret:
- hyperfinsplittingene for H-atomet og D-atomet
  - $g_e$ -verdiene for H-atomet og D-atomet
- 5: Mål hyperfinsplittingene  $a_H$  og  $a_D$ . Sammenlikn det *eksperimentelle*  $a_H/a_D$  forholdet med det *teoretiske*  $a_H/a_D$  forholdet.
- 6: Finn  $g_e$ -verdiene for
- hydrogenatomet
  - deuteriumatomet
- Hvorfor er ikke disse  $g_e$ -verdiene like store?
- 8: Bestem  $|\psi(0)|^2$ , sannsynlighetsamplituden for elektronets bølgefunksjon på kjernens plass, for både hydrogen atomet  $\text{H}^\bullet$  og deuteriumatomet  $\text{D}^\bullet$
- ut fra de *observerte* hyperfinsplittingene
  - *teoretisk* (husk: 10 gauss = 1 mT)

#### Nyttige relasjoner:

For H- og D-atomenes 1s-orbital er elektronets bølgefunksjon gitt ved:

$$\psi(r) = \frac{1}{\sqrt{\pi a_0^3}} \exp(-r/a_0)$$

der  $r$  er avstanden fra kjernen og  $a_0$  er Bohrradien.

Den isotrope koplingskonstanten kan uttrykkes som:

$$a = (2\mu_0/3) g_N \beta_N |\psi(0)|^2$$

der  $[a]=\text{T}$ ,  $[|\psi(0)|^2]=\text{m}^{-3}$ , og  $[\beta_N]=\text{J/T}$  og  $\mu_0$  er tomromspermeabiliteten

partikkel	kjernespin	relativ naturlig forekomst (%)	spektroskopisk splittingsfaktor $g_N$
Hydrogen-atom $^1_1\text{H}$	$\frac{1}{2}$	99.985	5.585
Deuterium-atom $^2_1\text{H}$	1	0.015	0.857

## INNLEDNING TIL OPPGAVE B)

### Kvantitativ dosebestemmelse ved hjelp av ESR-dosimetri

Dosimetri er viktig i alle sammenhenger der en benytter stråling, og det er utviklet mange ulike dosimetrimetoder for kontroll og overvåkning av strålingsapparat og anvendelser. En av de vanligste typer dosimetri hvor ESR-spektroskopi benyttes kalles ESR/alanin-dosimetri. Her er det mengden av strålingsinduserte radikaler i aminosyren alanin som bestemmes spektroskopisk, og gjennom kalibreringsdiagrammer basert på alaninprøver gitt kjente doser kan ukjente doser bestemmes. Dette er en framgangsmåte helt analog med den som skal benyttes i denne laboratorieoppgaven. Fordelen ved å benytte alanin er at radikalene som dannes ved bestråling er usedvanlig stabile over lang tid (>år), utbyttet er stort – hvilket betyr at strålefølsomheten er stor – og radikalkonsentrasjonene synes ikke å være særlig avhengig av temperatur, luftfuktighet, lyspåvirkning osv. ESR spektroskopi er en ikke-destruktiv avlesningsmetode, og det betyr at dosimetrene kan lagres sammen med f.eks. pasientjournaler, kan bestråles på ny (noe som gir additive bidrag til radikalmengden) og den akkumulerte stråledose kan således derfor alltid kunne sjekkes. Metoden er utviklet over de siste 10 årene, og har også gitt anledning til å kunne utføre dosimetri i eksperimentelle sammenhenger der annen type dosimetri ikke har vært gjennomførbart.

I denne oppgaven er det ikke alanin som er dosimeter materialet, men nitroglyserintabletter (vanlig medisin for hjertekrampe; *angina pectoris*)

Den 2. september 1982 gikk en av de ansatte (J.L.) ved gammabestrålingsanlegget ved Institutt for energiteknikk (IFE) på Kjeller inn i bestrålingsrommet med  $^{60}\text{Co}$ -kilden i uskjermet posisjon. Han fikk en betydelig stråledose som umiddelbart ga sykdomssymptomer som kvalme og oppkast (“strålesyke”). Mannen døde 13 dager seinere. Av ulike årsaker var det vanskelig å estimere stråledosen som mannen hadde fått. De første anslag strakk seg fra “over 0,05 Gy” til 1-2 Gy. Senere målinger på kromosomendringer antydte over 10 Gy, hvilket var i bedre samsvar med umiddelbare sykdomssymptomer og en tidlig død.

For å kunne bestemme strålingsdoser etter at bestrålingen har funnet sted må en benytte seg av det faktum at stråling induserer forandringer i de stoffene som eksponeres. Noen av disse forandringene er meget ustabile, mens andre er av mer varig karakter. I tørre stoffer er det vist at enkelte fri radikaler kan være stabile i årevis. Dette gjelder bl.a. i forholdsvis rene hydrokarboner som f.eks. ulike typer sukkerarter. Som nevnt ovenfor er ESR-spektroskopi svært godt egnet for å studere konsentrasjon og natur av fri radikaler.

Ved uhellet på Kjeller hadde J.L., som var tidligere hjertepasient, en eske med nitroglyserintabletter i lommen. Disse tablettene består i stor utstrekning (>95%) av sukkerforbindelser. Tablettene ble bestrålt sammen med mannen. Senere undersøkelser ved ESR laboratoriet ved Fysisk institutt viste at de strålingsinduserte ESR signalene fra disse tablettene ga nok informasjon til å bestemme dosen som J.L. hadde fått i bukselommehøyde. Dette var første gang (internasjonalt) at ESR dosimetri ble benyttet for dosebestemmelser i forbindelse med strålingsulykker.

I forbindelse med dosimetri knyttet til ulike typer ikke-planlagte hendelser, såkalt retrospektiv dosimetri eller katastrofedosimetri, er man ofte henvist til å benytte ulike stoffer man finner på ulykkes-stedet for å bestemme stråledoser. I forbindelse med Kjellerulykken i 1982 var det hjertetablettene til J.L. som ble funnet mest hensiktsmessige å bruke. Det ble også forsøkt med andre ting, som skjorteknapper og negler. I andre sammenhenger har en funnet at tenner representerer et meget godt materiale for slik retrospektiv dosimetri Etter Tsjernobylulykken i 1986 har en foretatt doserekonstruksjoner ved hjelp av ESR-dosimetri på både tenner og husholdnings-sukker. Og doserekonstruksjoner lenge etter Hiroshima og Nagasaki bombene er bl.a. utført på tenner bestrålt da bombene falt i 1945.



## UTFØRELSE AV OPPGAVEN

### Kvantitativ dosebestemmelse av bestrålte nitroglyserintabletter

I denne oppgaven skal det måles på nitroglyserintabletter av samme type som de J.L. bar på seg under uhellet på Kjeller, samt på en av tablettene han faktisk bar på seg. Målet er å bestemme hvilken dose J.L. ble utsatt for i bukselommehøyde ved hjelp av ESR spektroskopi.

I oppgaven skal det benyttes referanse-tabletter som under kontrollerte betingelser ble gitt kjente doser i gamma-anlegget på Kjeller like etter ulykken. 3 prøver måles, og et kalibreringsdiagram skal settes opp. Dette diagrammet gir sammenheng mellom den gitte dosen og arealet under ESR-absorpsjonskurven. Deretter skal en av de tablettene som J.L. bar på seg måles. Ved å sammenlikne resultatet fra denne målingen med kalibreringsdiagrammet skal dosen til denne tablettene bestemmes.

*Detaljert instruksjon i forbindelse med instrumentparametre og dataopptak gis på labben.*

- 1:** Ta opp ESR-spektrene fra:
  - 3 rør med pulver av bestrålte tabletter fra IFE
  - 1 rør med pulver av en av J.L.'s tabletterAdder 4 spektre for hver prøve, og husk å lagre spektrene til disk. Bruk filnavnet `3710_x_y`, der y angir et tall fra 2 til 5, ett for hvert spektrum ovenfor.
- 2:** Mål intensiteten i form av "peak-to-peak" verdier for toppene.
- 3:** Lag et kalibreringsdiagram utfra de 3 prøvene med kjente doser. Peak-to-peak verdiene plottes som funksjon av dose (angitt på målerøret) Instruksjon i bruk av plotteprogram på datamaskiner gis på labben..
- 4:** Benytt kalibreringskurven til å bestemme dosen som J.L. mottok i bukselommehøyde.
- 5:** Hvordan vurderer du J.L.'s sjanser til å overleve ved optimal medisinsk behandling, dersom han fikk dosen funnet under pkt 4 til hele kroppen?