

Základní principy a aplikace Elektronové Paramagnetické (Spinové) Rezonance; EPR (ESR)

Rozdíly a podobnosti s Nukleární Magnetickou Rezonancí (NMR)

Ján Tarábek

ÚSTAV ORGANICKÉ CHEMIE A BIOCHEMIE (ÚOCHB)
AV ČR v.v.i.



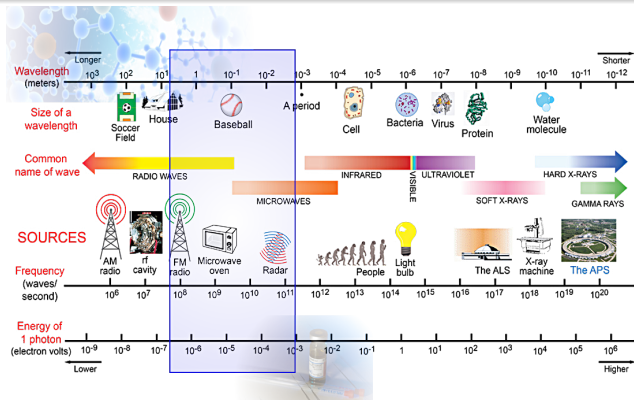
Skupina NMR a molekulové spektroskopie

- 1 Základní pojmy a principy, vznik EPR
 - Rezonance a magnetická rezonance
 - Koncepce spinu
 - Malá exkurze do historie EPR
- 2 Studované látky pomocí EPR (Aplikace)
- 3 Měření a vyhodnocování EPR spekter
 - Experimentální uspořádání
 - Parametry EPR spektra a jejich význam
 - Příklady komplexní analýzy EPR spekter
- 4 Závěr
- 5 Dodatky

Spektroskopie a elektromagnetické záření

Spektroskopie

Metoda studia látek pomocí elektromagnetického záření, kterým na látky působíme nebo ho látky sami vyzařují.



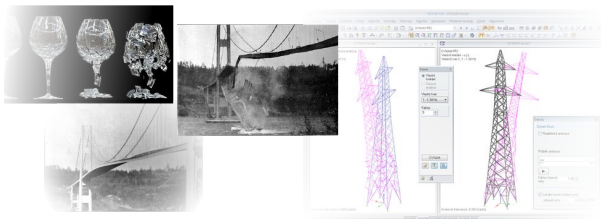
1

¹www.flickr.com/photos/advancedphotonsource/sets/72157631581049664

Rezonance ve fyzice

Rezonance

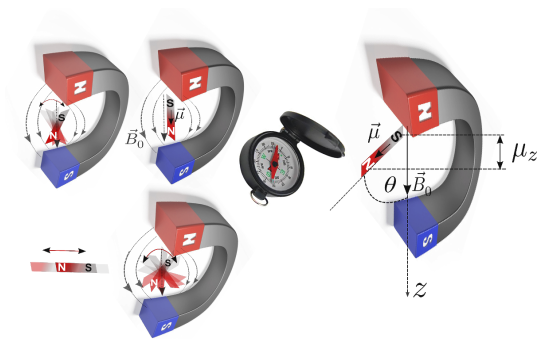
Jev, při kterém se vynucená frekvence (způsobená vnějším podnětem), vyrovná s vlastní frekvencí oscilátoru nebo kyvadla. Důsledkem je kmitání oscilátoru nebo kyvadla s mnohem větší amplitudou v porovnání s původními kmity.



2

²http://if.vsb.cz/frvs/bf/28.html#aplikace_2

Rezonance magnetky v magnetickém poli



Energie ($\varepsilon(\theta)$) magnetky ($\vec{\mu}$) v magnetickém poli (\vec{B}_0):

$$\varepsilon(\theta) = -\vec{\mu}\vec{B}_0 = -\mu B_0 \cos(\theta) = -\mu_z B_0$$

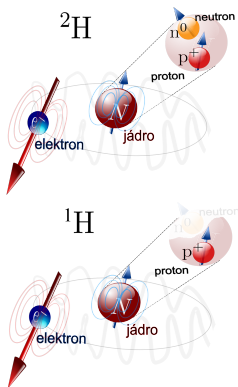
(I)

$$\varepsilon(0^\circ) = -\mu B_0 \quad \varepsilon(180^\circ) = \mu B_0$$

$$\Delta\varepsilon = \varepsilon(180^\circ) - \varepsilon(0^\circ) = 2\mu B_0 = 2\mu_z B_0$$

Elektrony a jádra jako magnetky?

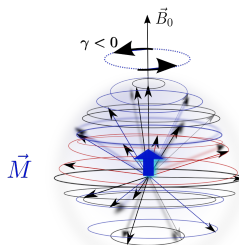
Zjednodušené schéma atomu deuteria a protia



Precese protonů (p) a elektronů (e) v magnetickém poli \vec{B}_0

$$\nu_p = -\frac{1}{2\pi} \gamma_p^* B_0(p) \quad (\text{II})$$

$$\nu_e = -\frac{1}{2\pi} \gamma_e^* B_0(e) \quad (\text{III})$$



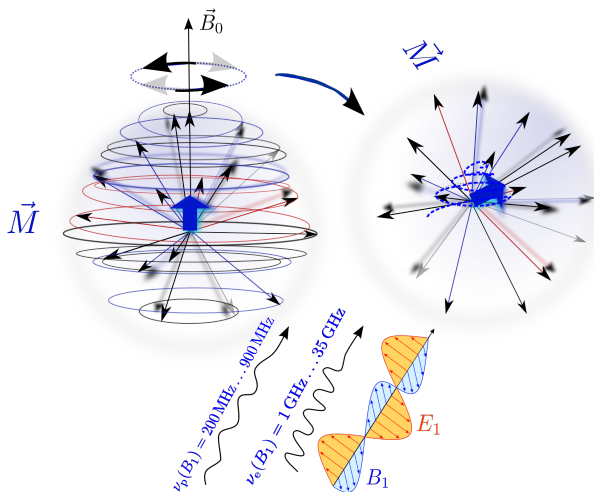
* $\gamma \equiv$ magnetogyrický poměr

$$\vec{M} = (1/V) \sum \vec{\mu} \equiv \text{magnetizace}$$

Magnetická rezonance protonů a elektronů

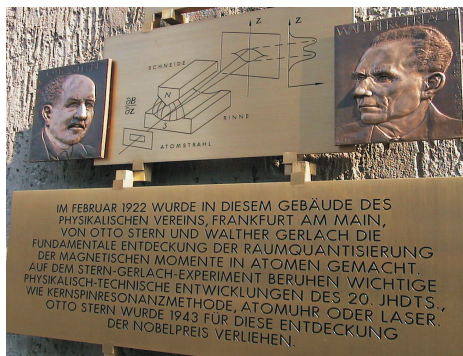
Působení elektromagnetického záření (B_1 , E_1)

Běžně používané frekvence proměnlivého magnetického pole (B_1) pro protony ($\nu_p(B_1)$) a elektrony ($\nu_e(B_1)$):



Sternův-Gerlachův experiment

- **1922** Svazek paprsků stříbrných atomů, $[\text{Kr}] 4d^{10} 5s^1$, je po průchodu magnetickým polem štěpen na dvě linie (**Otto Stern & Walther Gerlach**)



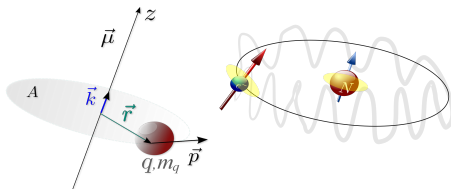
3

- **1924-1925** vysvětlení „S-G“ experimentu pomocí vnitřního momentu elektronu, spinu (**Wolfgang Pauli & George Uhlenbeck & Samuel Goudsmit**)

³Budova centra pro experimentální fyziku/Univerzita ve Frankfurtu nad Mohanem

Orbitální a vnitřní moment hybnosti (spin)

Definice magnetického momentu ($\vec{\mu}$)



$$\text{Orbitální: } \vec{\mu}_l = I\vec{A} = \frac{q}{2m_q}\vec{l} = \gamma_q\vec{l} \quad (\text{IV})$$

$$\text{Spinový: } \vec{\mu}_j = g_{e(N)}\frac{q}{2m_q}\vec{j} = \gamma_j\vec{j} = g_{e(N)}\gamma_q\vec{j} \quad (\text{V})$$

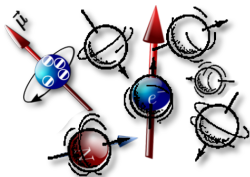
γ_q magnetogyrický poměr

γ_j spinový magnetogyrický poměr

$j \equiv S$ nebo I spin elektronu nebo jádra

Orbitální a vnitřní moment hybnosti (spin)

Rotují elektrony a jádra kolem své vlastní osy?



Vnitřní moment hybnosti (spin)⁴

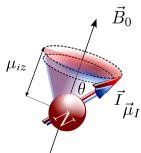
je kvantově-mechanická vlastnost elementárních částic , která nesouvisí s rotací částice kolem své vlastní osy , i když představa rotace může být nápomocná z didaktických důvodů.

- Neutrony nejsou nosiče náboje a přesto spin mají!
- Kdyby se částice točily kolem své vlastní osy \Rightarrow
 \Rightarrow rychlost rotace $\gg c!$
- Neznáme přesný tvar a tudíž ani rotační osy částic!

⁴<http://www.revisemri.com/questions/basicphysics/>

Energie magnetického spinového momentu při působení \vec{B}_0

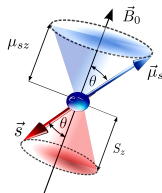
Proton



$$\varepsilon_{|\alpha\rangle}^p = -\frac{1}{2}g_p\mu_N B_0 \quad (\text{VI})$$

$$\varepsilon_{|\beta\rangle}^p = \frac{1}{2}g_p\mu_N B_0 \quad (\text{VII})$$

Elektron



$$\varepsilon_{|\alpha\rangle}^e = \frac{1}{2}g_e\mu_B B_0 \quad (\text{VIII})$$

$$\varepsilon_{|\beta\rangle}^e = -\frac{1}{2}g_e\mu_B B_0 \quad (\text{IX})$$

$$\mu_N = \frac{e\hbar}{2m_p} = 5.050\,783\,24(13) \cdot 10^{-27} \text{ J T}^{-1}$$

$$g_p = 5.585\,694\,713(46)$$

$$\mu_B = \frac{e\hbar}{2m_e} = 9.274\,009\,15(23) \cdot 10^{-24} \text{ J T}^{-1}$$

$$g_e = 2.002\,319\,304\,366\,2(15)$$

Energetické přechody v NMR a EPR

Podmínky měření spekter



Proton (NMR)

$$\Delta\varepsilon_p = h\nu_p$$

$$= \hbar g_p \gamma_p B_0(\text{NMR})$$

pro $\nu_p = 600 \text{ MHz}$

$$B_0(\text{NMR}) = 14.0919 \text{ T}$$

(X)

(XI)



Elektron (EPR)

$$\Delta\varepsilon_e = h\nu_e$$

$$= -\hbar g_e \gamma_e B_0(\text{EPR})$$

pro $\nu_e = 9.8 \text{ GHz}$

$$B_0(\text{EPR}) = 0.3497 \text{ T}$$

(XII)

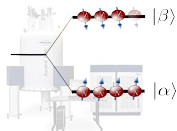
(XIII)

Energetické přechody v NMR a EPR

Populace spinů při $T = 298 \text{ K}$

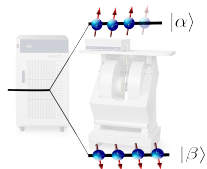
$$\frac{N_{vys.}}{N_{niz.}} = \exp\left(-\frac{\Delta\varepsilon}{k_B T}\right) \approx 1 - \frac{\Delta\varepsilon}{k_B T} \quad (\text{XIV})$$

Proton (NMR)



$$\frac{N_{|\beta\rangle}}{N_{|\alpha\rangle}} = 0.99990 \% \quad (\text{XV})$$

Elektron (EPR)



$$\frac{N_{|\alpha\rangle}}{N_{|\beta\rangle}} = 0.99842 \% \quad (\text{XVI})$$

Spektroskopie NMR a EPR

Nejčastější způsob dosažení rezonance

$$\text{frekvence} = \nu(B_0)$$



Proton (NMR)

$$\begin{aligned} \text{frekvence}(\nu_p) &\neq \text{konst} \\ B_0(\text{NMR}) &= \text{konst} \end{aligned}$$



Elektron (EPR)

$$\begin{aligned} \text{frekvence}(\nu_e) &= \text{konst} \\ B_0(\text{EPR}) &\neq \text{konst}^{**} \end{aligned}$$

** CW \equiv angl. „continuous wave“

NMR a EPR historicky jako „sestry“

NMR



EPR



„Datum narození“: 1938-1946

1944-1946

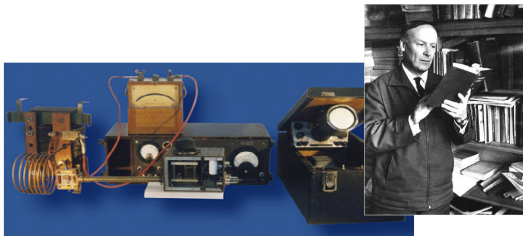
„Matka“: kvantová mechanika (+ radarová technika)

„Otcové“: Isidor Rabi, Edward Purcell, Henry Torrey, Robert Pound, Felix Bloch, William Hansen a Martin Packard

Jevgenij Zavojskij a Brebis Bleaney

Vznik EPR

- **1940-41** První pokusy: NMR tuhých látek \Rightarrow výsledky nebyly reprodukovatelné (**Jevgenij K. Zavojskij**)
- **1944** První EPR experimenty a spektra: $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O} \Rightarrow$ **Jevgenij K. Zavojskij**
- další rozvoj techniky: **Brebis Bleaney**

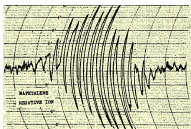


5

⁵<http://www.old.kpfu.ru/mlz>

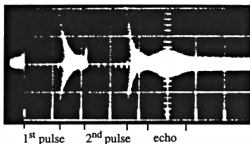
První hyperjemné štěpení EPR spekter a pulsní metody

- **1953** První hyperjemné štěpení EPR spekter organických radikálů: Wusterova modř, radikál aniont naftalenu (*Weissman, Townsend, Paul, Pake*)



6

- **1958** První pulsní EPR experiment (*Richard Blume*)



7

- **1987** První komerční FT EPR pulsní spektrometr (*Bruker*)

⁶J. Chem. Phys. 21, 1953, 2227-2228

⁷R. J. Blume; Phys. Rev. 1958, 109, 1867-1873

EPR Spektroskopie

Definice EPR⁸

Elektronová **P**aramagnetická **R**ezonance je spektroskopická metoda, která se zabývá mikrovlnnými přechody mezi energetickými stavy **nepárových elektronů** se spinem a s orbitálním momentem hybnosti.

Většina stabilních molekul má e^- se spávanými spiny \Rightarrow
 \Rightarrow EPR **nemá tak široké použití** jako NMR.

Co je úkolem EPR spektroskopie?

- Zjištění přítomnosti látek (center) s nepárovým e^-
- Určení struktury látek (center) s nepárovým e^-
- Zjištění množství (koncentrace) látek (center) s nepárovým e^-

⁸<http://goldbook.iupac.org/E02005.html>

Příklady paramagnetických látek s nepárovými elektrony

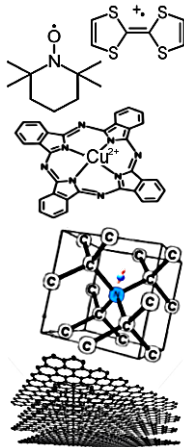
Paramagnetický kapalný O₂



Diamagnetický kapalný N₂



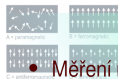
- **Radikály**—organické, anorganické, neutrální, kationty, anionty (např. HO[•], nitroxyl)
- **Látky s několika nepárovými elektrony** (např. O₂, bi(di)radikály)
- **Komplexy přechodných kovů** (např. Cu²⁺, Co²⁺, Mn²⁺, Fe³⁺)
- **Defekty v uspořádané struktuře tuhých látek** (např. v diamantech, sklu, polovodičích)
- **Vodivostní elektrony** (např. v grafitu)



Oblasti použití EPR

Chemie

- Redoxní procesy (elektrochemie)
- Kinetika radikálových reakcí (polymerizace)
- Biradikály a diradikály (triplety)
- Koordinační chemie
- Fotochemie
- Katalýza



Fyzika

- Měření magnetické susceptibilitivity
- Studium vodivostních elektronů
 - Ionty přechodných kovů
 - Defekty v krystalech



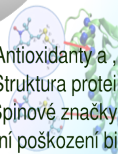
Elektronová paramagnetická rezonance



- Vlastnosti polymerů
- Trvanlivost potravin
- Degradace polymerů a barev
- Defekty v diamantech, polovodičích a sklu



- „Spin trapping“
- Antioxidanty a „požírači“ radikálů
- Struktura proteinů/metaloproteinů
- Spinové značky a spinové sondy
- Radiační poškození biologických vzorků



Průmysl a materiály

Biologie

CW EPR spektrometr

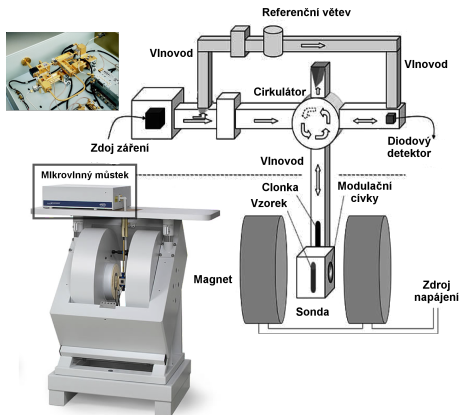
Celkový pohled



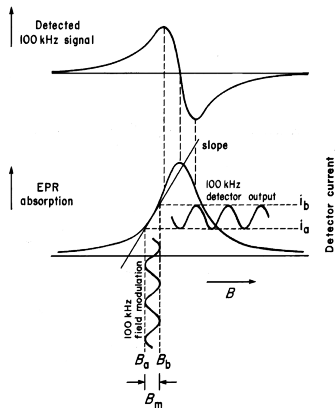
CW EPR spektrometr

Magnet a mikrovlnný můstek

Mikrovlnný můstek s magnetem



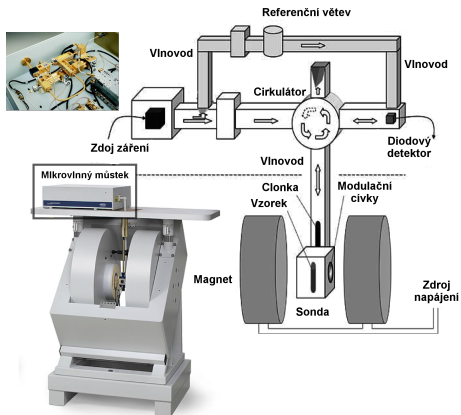
Vznik a tvar EPR signálu (spektra)



CW EPR spektrometr

Magnet, mikrovlnný můstek a sondy pro vzorky

Mikrovlnný můstek s magnetem



EPR sondy



Standardní



Vysoce citlivá



Pro kvantitativní analýzu



Pro průtoková měření reaktivních radikálů

Možnosti měření a charakterizace EPR spektra

Skupenství[#]:

kapalné + tuhé

Teplota[§]:

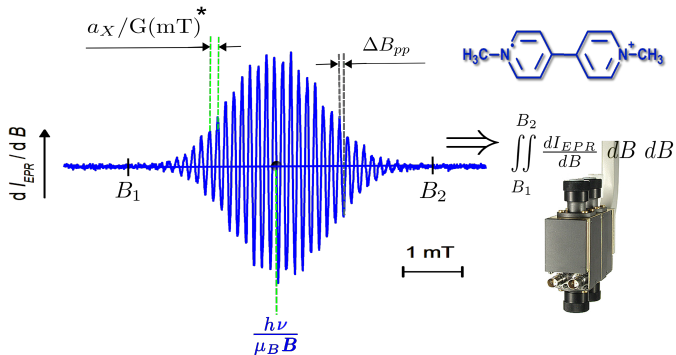
od ≈ 77 K (-196 °C)

do ≈ 500 K (227 °C)

Koncentrace:

od $\approx 1 \cdot 10^{-9}$ mol dm $^{-3}$

do ≈ 0.1 mol dm $^{-3}$

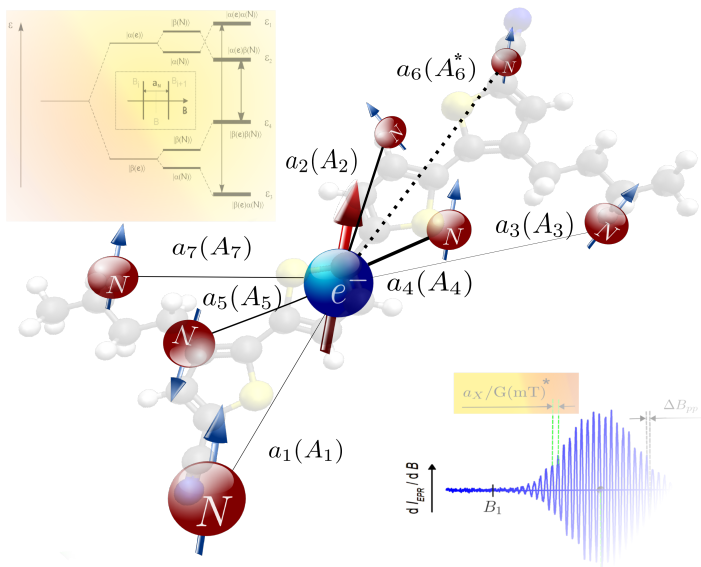


[#] i plynné

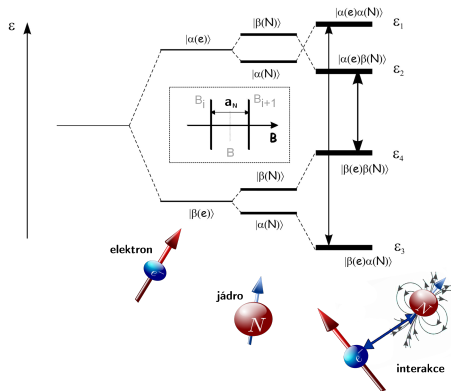
[§] rozšíření z 3.8 K na 1273 K

* 1 G(Gauss) = 0.1 mT

Význam tvaru (štěpení) EPR spektra



Hyperjemné štěpení/interakce s jádrem $I = 1/2$



$$\begin{aligned} \varepsilon_i - \varepsilon_{i+2} &= g\mu_B B + \frac{1}{\hbar^2} A_N S_z I_z(N) \\ \varepsilon_1 - \varepsilon_3 &= g\mu_B B + \frac{1}{2} A_N \\ \varepsilon_2 - \varepsilon_4 &= g\mu_B B - \frac{1}{2} A_N \end{aligned} \quad (\text{XVII})$$

$$\begin{aligned} B_{i+1} &= B + \frac{1}{2} a_N \\ B_i &= B - \frac{1}{2} a_N \end{aligned}$$

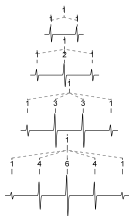
$$g\mu_B (B_{i+1} - B_i) = g\mu_B a_N^* \text{ (štěpná konst)} = A_N^{**} \text{ (interakční konst)} \quad (\text{XVIII})$$

*G(mT) **MHz(cm⁻¹)

Hyperjemné štěpení od N jader (multiplicita a intenzita)

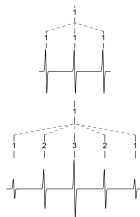
$$I_N = \frac{1}{2}$$

$N = 0:$						
1:						
2:						
3:						
4:						



$$I_N = 1$$

$N = 0:$					
1:					
2:					
3:					
4:					



počet linií (N_L) = $2NI_N + 1$; pro k -skupin: $N_L = \prod_{i=1}^k (2N_i I_{Ni} + 1)$

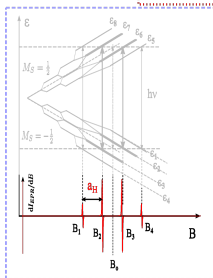
(XIX)

Hyperjemné štěpení (EPR/NMR)

Tři ekvivalentní jádra s $I = 1/2$ ($\cdot\text{CH}_3$ / $-\text{CH}_3$)

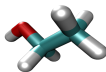
EPR

$\cdot\text{CH}_3$

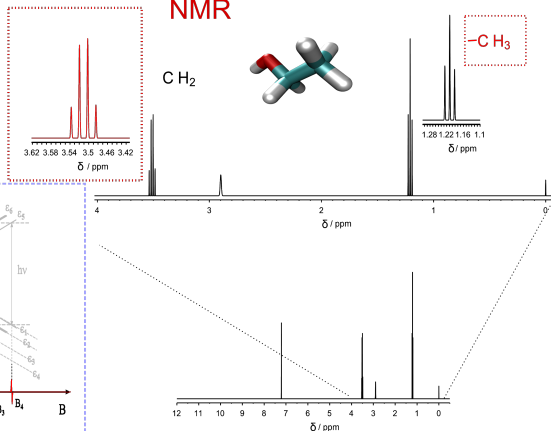


NMR

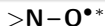
C H_2



$-\text{C H}_3$

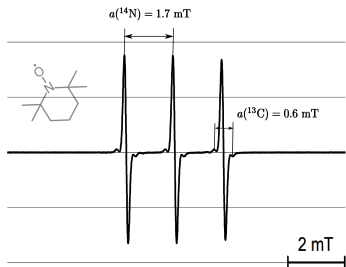


Efekt izotopů v EPR spektroskopii („satelity“ ve spektru)



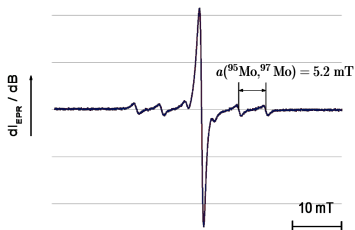
výskyt (^{14}N) = 99.60 %

výskyt (^{13}C) = 1.07 %



výskyt (^{95}Mo) = 15.92 %

výskyt (^{97}Mo) = 9.95 %



* 2,2,6,6-tetramethyl-1-piperidinoxyl (TEMPO)

Běžně studovaná jádra v EPR spektroskopii

	I	g_N	výskyt / %
^1H	1/2	5.58569468	99.9885 *
^2H	1	0.857438228	0.0115
^{33}S	3/2	0.429214	0.75
^{13}C	1/2	1.404824	1.07
^{14}N	1	0.40376100	99.636 *
^{15}N	1/2	-0.56637768	0.364
^{17}O	5/2	-0.757516	0.038
^{19}F	1/2	5.253736	100

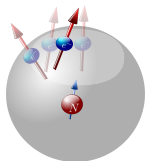
	I	g_N	výskyt / %
^{35}Cl	3/2	0.5479162	75.76
^{37}Cl	3/2	0.4560824	24.24
^{53}Cr	3/2	-0.31636	9.501
^{55}Mn	5/2	1.38748716	100
^{57}Fe	1/2	0.18124600	2.119
^{59}Co	7/2	1.322	100
^{63}Cu	3/2	1.484897	69.15
^{65}Cu	3/2	1.5877	30.85

* Řešení EPR spekter–cvičení (viz Dodatky)

Význam konstanty hyperjemného štěpení/interakce (a/A)

Fermiho kontaktní (FC)[#] + dipolární interakce^{**} a spinová hustota

s – orbital



Spinová hustota / \AA^{-3} :

$$\rho_S^{\alpha-\beta}(0) = \rho^{|\alpha\rangle, \uparrow}(0) - \rho^{|\beta\rangle, \downarrow}(0)$$

$$\rho^{|\alpha\rangle, \uparrow} = N_{|\alpha\rangle} / V$$

$$\rho^{|\beta\rangle, \downarrow} = N_{|\beta\rangle} / V$$

(XX)

$$A_{\text{iso}}(a_{\text{iso}}) \propto \rho_S^{\alpha-\beta}(0) \quad (\text{XXI})$$

Obecně (i pro tuhé látky):

$$\varepsilon_{\text{total}} = \varepsilon_{\text{iso}}^{\text{FC}} + \varepsilon_{\text{dipol}}$$

$$\mathbf{A}_{\text{total}} = \mathbf{A}_{\text{iso}} \mathbf{1} + \mathbf{T}^{**}$$

Spinová populace (integrovaná $\rho_S(0)$):

$$\rho_X^{\Psi}(\text{pop}) = \rho_X^{\Psi|\alpha\rangle} - \rho_X^{\Psi|\beta\rangle}$$

$X \equiv$ jádro

$\Psi \equiv$ orbital

(XXII)

[#]Fermi, E., *Z. Phys.* **1930**, 60, 320-333 $\varepsilon_{\text{iso}}^{\text{FC}} = -(2/3)\mu_o\vec{\mu}_S\vec{\mu}_I|\Psi(0)|^2 = (1/\hbar^2)A_{\text{iso}}S_zI_z$

^{**} Matice konstanty hyperjemné interakce (\mathbf{T} je orientační matice e & N interakce)

Význam konstanty hyperjemného štěpení/interakce (a/A)

Polarizace a Hyperkonjugace: Interakce nepárového e^- a ^1H

Spinová polarizace:

$$A_{N,\text{iso}}(a_{N,\text{iso}}) < 0$$

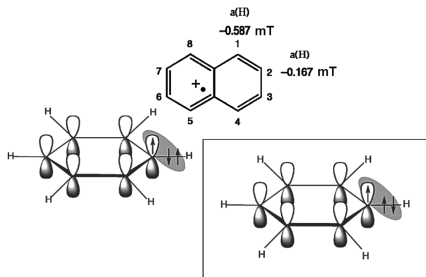
(XXIII)

Hyperkonjugace:

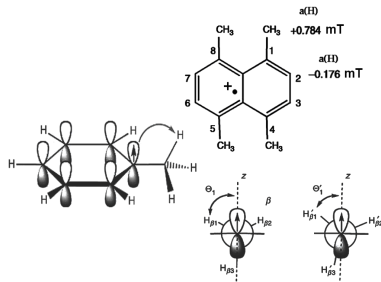
$$A_{N,\text{iso}}(a_{N,\text{iso}}) > 0$$

(XXIV)

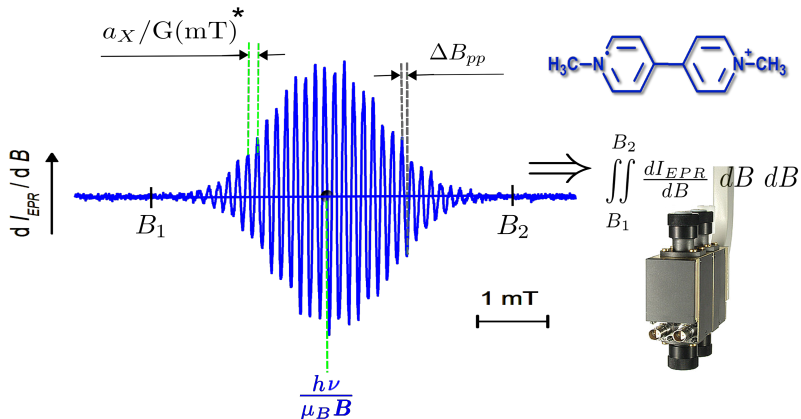
$$A_{H,\text{iso}}(\alpha \text{ pos.}) = Q_{\text{H}}^{\text{C-H}} \rho_{\text{C}}^{2p_z}(\text{pop})$$



$$A_{H,\text{iso}}(\beta \text{ pos.}) = (K_1 + K_2 \cos^2(\theta_1)) \rho_{\text{C}}^{2p_z}(\text{pop})$$



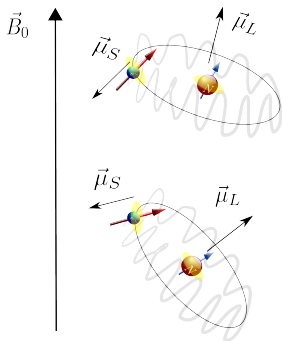
EPR spektrum (význam polohy spektra)



* $1 \text{ G(Gauss)} = 0.1 \text{ mT}$

EPR spektrum (význam polohy spektra)

g -faktor a spin-orbitální interakce



$$\varepsilon = (\vec{\mu}_L + \vec{\mu}_S) \vec{B}_0 + \lambda \vec{L} \vec{S}$$

$$\varepsilon = -\frac{1}{\hbar} \mu_B \vec{B}_0 (\vec{L} + g_e \vec{S}) + \lambda \vec{L} \vec{S}$$

↓ kvantová mechanika:

$$\varepsilon = \frac{1}{\hbar} \mu_B \sum_{i,j} B_{0i} g_{ij} S_j$$

$$i, j = x, y, z$$

$$\Delta \varepsilon = g_{\text{eff}} \mu_B B_0$$

(XXV)

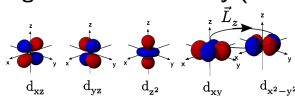
$\lambda \Rightarrow$ spin-orbitální konstanta

$$g_{\text{eff}} \neq g_e = 2.0023193043662(15)$$

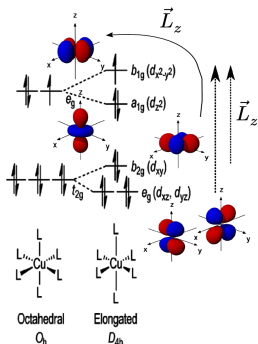
EPR spektrum (význam polohy spektra)

g-faktor a spin-orbitální interakce (Zjednodušené vysvětlení pomocí teorie krystalového pole)

Degenerované d-orbitály (Cu^{2+}):



Nedegenerované d-orbitály (Cu^{2+}) v krystalovém poli ligandů:



g-faktor je obecně směrově závislý
příklad ve směru *z*:

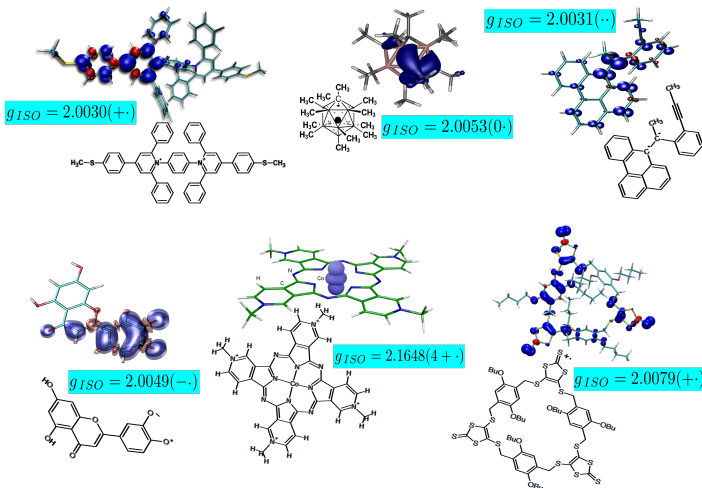
$$g_{zz} = g_e - \frac{8\lambda^*(\text{Cu})}{\epsilon_{d_{x^2-y^2}} - \epsilon_{d_{xy}}} \quad (\text{XXVI})$$

* $\lambda < 0$ pro Cu, Co, Fe

* $\lambda > 0$ pro Ti, Cr, V

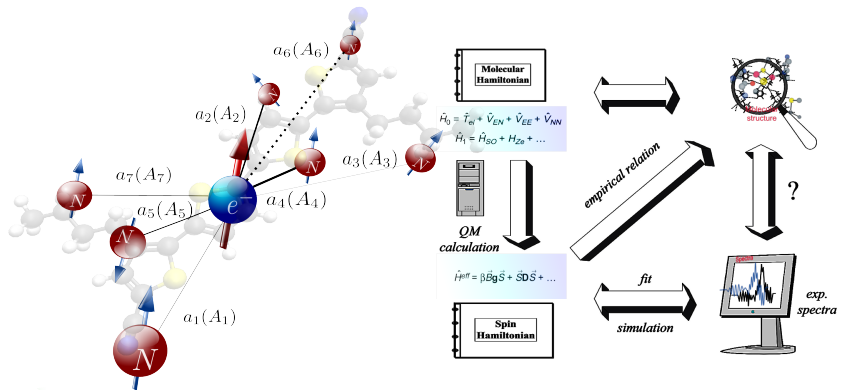
EPR spektrum (význam polohy spektra)

Příklady g -faktorů*



$$* g_{iso} = (1/3)(g_{xx} + g_{yy} + g_{zz})$$

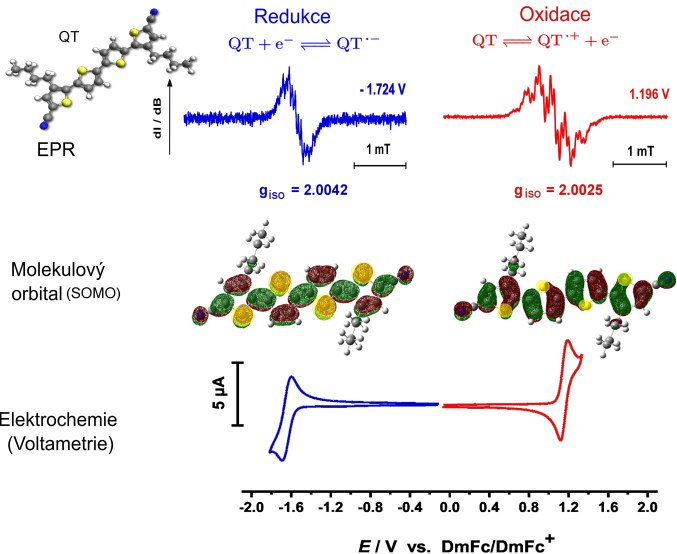
Analýza EPR spekter pomocí kvantové chemie a simulací



9

Příklad komplexní EPR analýzy

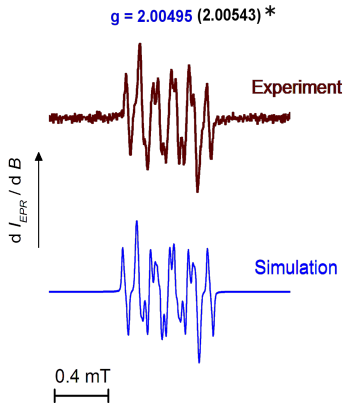
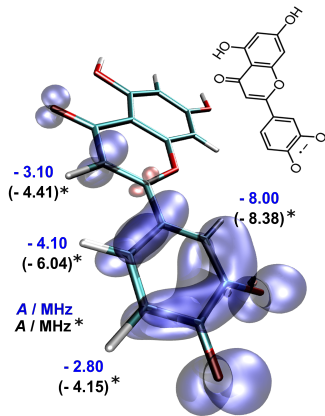
Redukce a oxidace α,ω -Dikyano- β,β' -dibutylquartherthiofenu (QT) ¹⁰



¹⁰Haubner K., Tarábek, J., et al. *J. Phys. Chem. A* 114, 2010, 11545-11551

Příklad komplexní EPR analýzy

Radikál aniont flavonoidu Luteolin



* Kvatově-chemické výpočty

Shrnutí

Analogie mezi NMR a EPR

1 Základní princip EPR & NMR je stejný (mechanický princip MR)

EPR ⇔ **NMR**

Hlavní objekt: nepárový elektron(y) ⇔ jádro (jádra)

Experiment: mikrovlnné frekvence ⇔ rádiové frekvence

$$\nu_{\text{EPR}} = \text{konst}(\text{CW}) \quad \Leftrightarrow \quad B_{\text{NMR}} = \text{konst}(\text{pulsní})$$

2 Analogie mezi parametry EPR & NMR spekter:

EPR ⇔ **NMR**

Štěpení (interakce): $a_X(A_X)/\text{mT}(\text{MHz})$ (e-Nu) ⇔ J_{XY}/Hz (Nu-Nu)

Poloha spektra: g -faktor (g) ⇔ chemický posun (δ)

Intenzita: dvojný integrál (CW) ⇔ integrál (pulsní)

Šířka spektrální linie: $\Delta B_{\text{pp}}/\text{mT}$ (CW) ⇔ $\Delta\nu_{1/2}/\text{Hz}$ (pulsní)

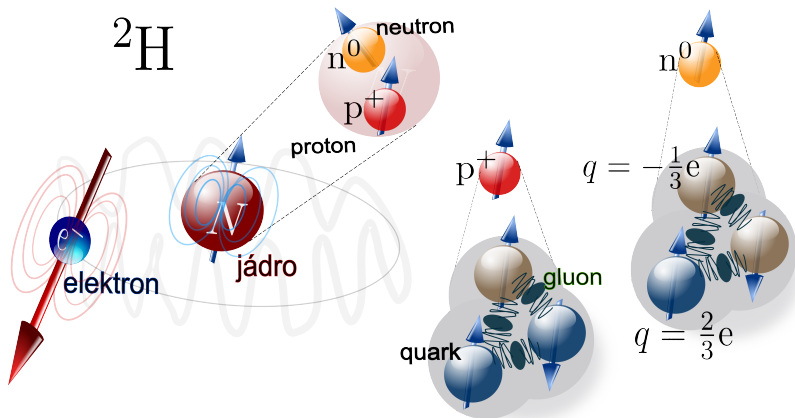
Obsah

- 1 Základní pojmy a principy, vznik EPR
 - Rezonance a magnetická rezonance
 - Koncepce spinu
 - Malá exkurze do historie EPR
- 2 Studované látky pomocí EPR (Aplikace)
- 3 Měření a vyhodnocování EPR spekter
 - Experimentální uspořádání
 - Parametry EPR spektra a jejich význam
 - Příklady komplexní analýzy EPR spekter
- 4 Závěr
- 5 **Dodatky**

Magnetické rezonanční metody

- Nukleární magnetická rezonance (NMR)
 - Elektronová paramagnetická rezonance (EPR)
 - Zobrazování pomocí magnetické rezonance (MRI, pomocí NMR i EPR)
 - Nukleární kvadrupólová rezonance (NQR)
 - Opticky detekovaná magnetická rezonance (ODMR)
-
- Feromagnetická rezonance (FMR)
 - Antiferomagnetická rezonance (AFMR)
 - Ferimagnetická rezonance (FIMR)

Deuterium a jeho jádrové částice



Vnitřní moment hybnosti (spin)

Základní vztahy pro elektron

$|S, M_S\rangle$

$$|\alpha\rangle \equiv \left| \frac{1}{2}, \frac{1}{2} \right\rangle$$

$$\hat{S}_x |\alpha\rangle = \frac{1}{2} \hbar |\beta\rangle$$

$$\hat{S}_y |\alpha\rangle = i \frac{1}{2} \hbar |\beta\rangle$$

$$\hat{S}_z |\alpha\rangle = \frac{1}{2} \hbar |\alpha\rangle$$

$$\hat{S}^2 |\alpha\rangle = \frac{3}{4} \hbar^2 |\alpha\rangle$$

$$|\beta\rangle \equiv \left| \frac{1}{2}, -\frac{1}{2} \right\rangle$$

$$\hat{S}_x |\beta\rangle = \frac{1}{2} \hbar |\alpha\rangle$$

$$\hat{S}_y |\beta\rangle = -i \frac{1}{2} \hbar |\alpha\rangle$$

$$\hat{S}_z |\beta\rangle = -\frac{1}{2} \hbar |\beta\rangle$$

$$\hat{S}^2 |\beta\rangle = \frac{3}{4} \hbar^2 |\beta\rangle$$

Vnitřní moment hybnosti (spin)

Základní vztahy pro proton a elektron

$$\vec{\mu}_I = g_N \frac{e}{2m_p} \vec{I}$$

$$\mu_N = \frac{e\hbar}{2m_p}$$

$$\vec{\mu}_I = \frac{1}{\hbar} g_N \mu_N \vec{I}$$

$$\mu_{iz} = \frac{1}{\hbar} g_N \mu_N I_z$$

$$\hat{H}_I \equiv -B_0 \hat{\mu}_{iz}$$

$$\vec{\mu}_S = -g_e \frac{e}{2m_e} \vec{S}$$

$$\mu_B = \frac{e\hbar}{2m_e}$$

$$\vec{\mu}_S = -\frac{1}{\hbar} g_e \mu_B \vec{S}$$

$$\mu_{sz} = -\frac{1}{\hbar} g_e \mu_B S_z$$

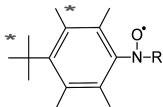
$$\hat{H}_S \equiv -B_0 \hat{\mu}_{sz}$$

pro elektron ($\hat{S}_z|\alpha\rangle = \frac{1}{2}\hbar|\alpha\rangle$):

$$\varepsilon_{|\alpha\rangle} = \langle\alpha|\hat{H}_S|\alpha\rangle = -B_0\langle\alpha|\hat{\mu}_{sz}|\alpha\rangle$$

$$\varepsilon_{|\alpha\rangle} = \langle\alpha|\hat{H}_S|\alpha\rangle = -B_0\left(-\frac{1\hbar}{2\hbar}g_e\mu_B\right) = \frac{1}{2}g_e\mu_B B_0$$

Řešení EPR spekter-cvičení



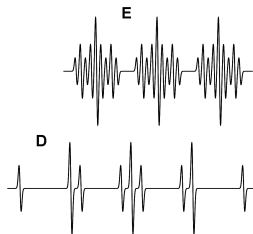
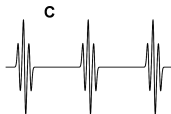
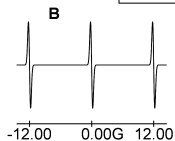
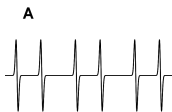
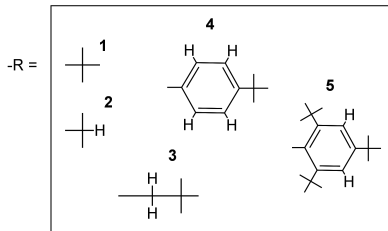
$$a_N (-NO\cdot) = 12 \text{ G}$$

$$a_H (-CH-) = 5 \text{ G}$$

$$a_H (-CH_2-) = 10 \text{ G}$$

$$a_H^o (=CH-) = 3 \text{ G}$$

$$a_H^m (=CH-) = 1 \text{ G}$$

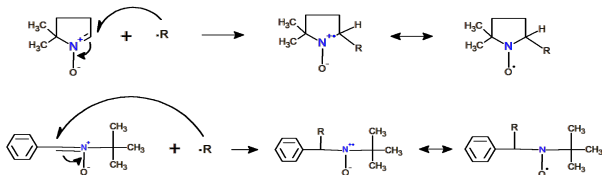


* Uvažujeme, že štěpení od *t-butylu* a $-CH_3$ je zanedbatelně malé

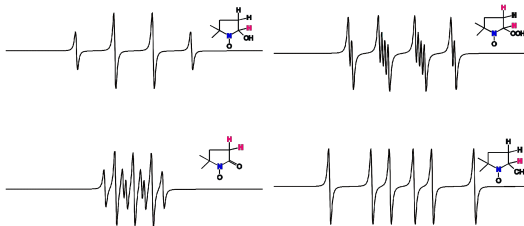
Přechodné radikály a spinové lapače (angl. „Spin Traps“)

angl. 5,5-Dimethyl-1-pyrroline N-oxide (DMPO)
& N-*tert*-Butyl- α -phenylnitron (PBN)

Mechanism

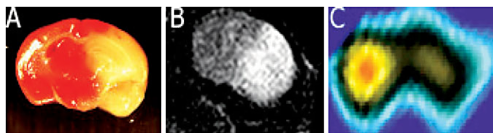


EPR Detection of adducts



Zobrazování pomocí EPR: „EPR Imaging“

Obnovení průtoku krve po ischemii (nedokrvení) mozku¹²



A: Histology

B: MRI

C: EPR Imaging



11

¹¹ Bruker Corporation

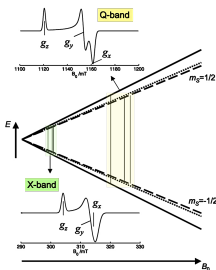
¹² Liu, S., Timmins, G. S., et al. *NMR Biomed* 17, 2004, 327-334

Energetické přechody v multifrekvenční EPR

Mikrovlnné komponenty se dají použít jen pro **úzký rozsah** $\nu_{\text{EPR}} \Rightarrow h\nu_{\text{EPR}} = \text{konst}$
& **mění se** B_{EPR}

$$h\nu_{\text{EPR}} \propto B$$

13



Multifrekvenční EPR:

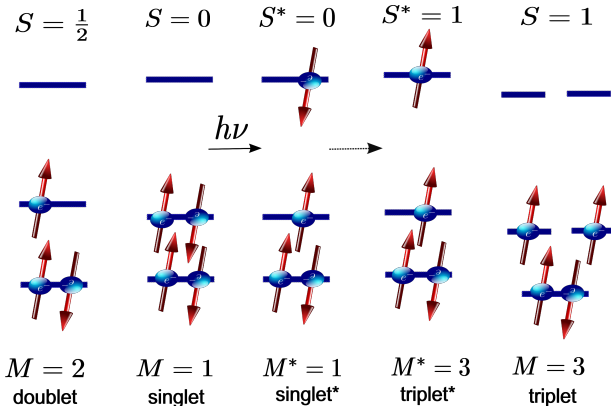
Podmínky / Rozsah	L	S	X	Q	W	J
ν / GHz	1	3	10	35	90	270
λ / mm	300	100	30	8.60	3.30	1.11
B / T ($g = 2$)	0.04	0.11	0.36	1.25	3.22	9.64

¹³Van Doorslaer, S.; Carreti, I. et al. *Coord. Chem. Rev.* **2009**, 253, 2116-2130

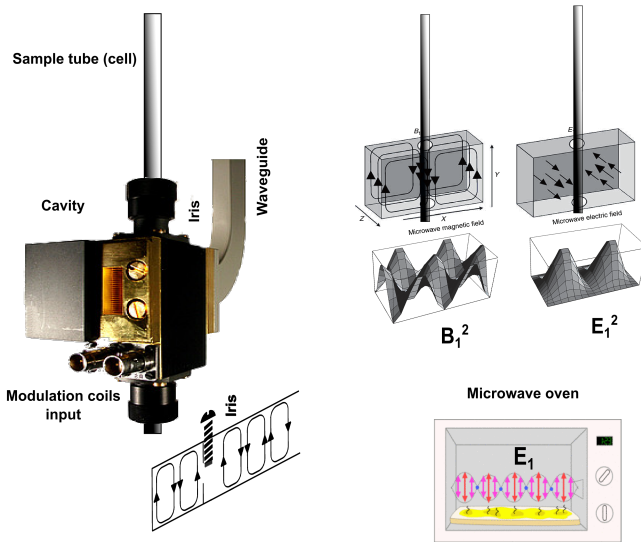
Multiplicita elektronových stavů

Schématické znázornění základních a excitovaných* stavů

Multiplicita: $M = 2S + 1$ $S = \sum_i s_i$



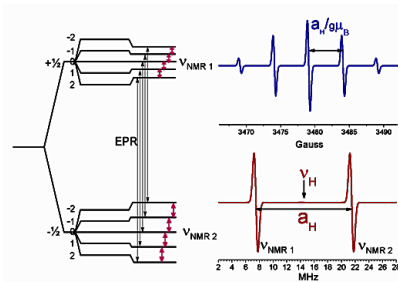
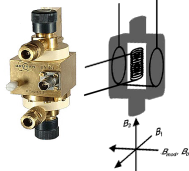
Dutina (sonda) EPR spektrometru



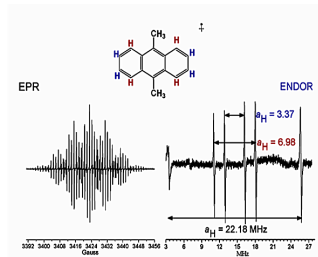
Interakční (štěpná) konstanta

Základní princip „Electron Nuclear Double Resonance“ (ENDOR) Spektroskopie

ENDOR sonda



14



14

¹⁴<http://www.cardiff.ac.uk/chemy/epr/enhancement.html>

Kvantitativní CW EPR

$DI \equiv$ dvojný integrál

$$DI_{EPR} = \text{const}_{ref} (G t_C N_{scan}) \left[\frac{P^{1/2} B_m Q n_B S(S+1) N_{spin}}{f(B_1, B_m)} \right]$$

const_{ref} kalibrační konstanta (závislá na spektrometru)

G zesílení

t_C/s „conversion time“ (integrační čas)

N_{scan} počet skenů („sweep-ů“)

P/W výkon zdroje záření

$B_m/G(\text{mT})$ modulační amplituda

Q faktor „kvality“ sondy

n_B Boltzmannův faktor (závislý na teplotě)

S celkové spinové kvant. číslo

N_{spin} počet nepárových e^-

$f(B_1, B_m)$ 3D distribuce B_1 a B_m v místě vzorku

Dvojitá pravoúhlá sonda



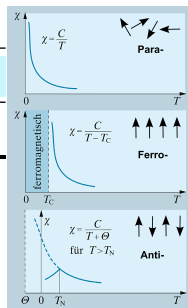
Kvantitativní CW EPR

Identifikace magnetických materiálů

Magnetická susceptibilita $\chi = \frac{\vec{M}}{\vec{H}}$ kde $\vec{B} = \mu_o(\vec{H} + \vec{M})$ a $\vec{M} = \frac{1}{V} \sum_{i=1}^N \mu_i$

Diamagnetismus	$\chi_{\text{dia}}(1 \cdot 10^{-6}) < 0$	$\chi_{\text{dia}} \neq \chi_{\text{dia}}(T)$
Paramagnetismus	$\chi_{\text{para}}(1 \cdot 10^{-6}) > 0$	$\chi_{\text{para}} = \chi_{\text{para}}(T)$
Magnet. interakce	$\chi_{\text{int}}(\geq 1 \cdot 10^4; \leq 1 \cdot 10^{-2}) > 0$	$\chi_{\text{int}} = \chi_{\text{int}}(T)$

$$\chi_{\text{para}} = N_V \frac{\mu_o g^2 \mu_B^2 J(J+1)}{3k_B} \frac{1}{T}$$



¹⁵D. Meschede; *Gerthsen Physik* 2006, 23. Auflage, S. 398

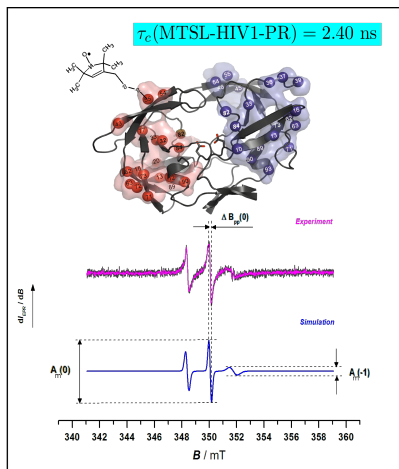
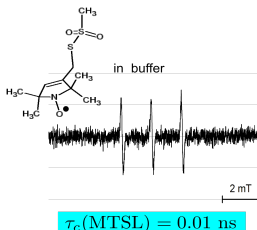
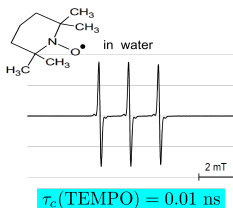
„Side Direct Spin Labeling (SDSL)“ proteinů

Základní schéma



„Side Direct Spin Labeling (SDSL)“ proteinů

Spinové značkování HIV1-Pr, TEMPO¹⁶ & MTSL¹⁷ jako spinové sondy/značky

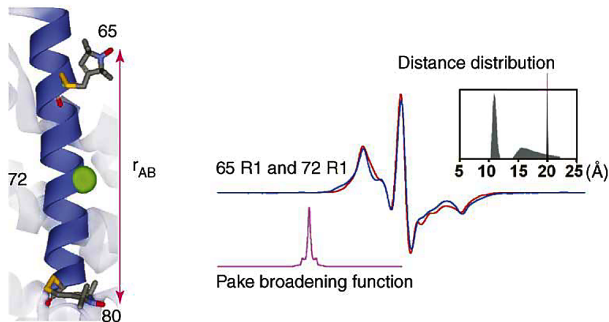


¹⁶TEMPO \equiv (2,2,6,6-Tetramethylpiperidin-1-yl)oxyl

¹⁷MTSL \equiv S-(2,2,5,5-tetramethyl-2,5-dihydro-1H-pyrrol-3-yl)methyl methanesulfonylthioate

„Side Direct Spin Labeling (SDSL)“ proteinů

CW EPR měření vzdáleností do ≈ 2.5 nm



18

¹⁸G. E. Fannuci, D. S. Cafiso; *Curr. Opin. Struc. Biol.* **2006**, 16, 644-653

Základní rozdíly mezi CW a pulsní EPR

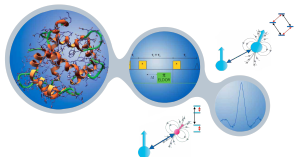
typické pro X- „band“

	Realizace	T/K	$t_p(\frac{\pi}{2})/ns$	Excit. šířka/MHz(mT)	P/mW	$\nu(B_m)/kHz$
Pulsní	$B = konst$ $\nu \neq konst$	$\ll 293$	10 – 16	$1 \cdot 10^2(3)$	$\geq 1 \cdot 10^6$	–
CW	$B \neq konst$ $\nu = konst$	293	–	$1.67 \cdot 10^4(500)$	2 – 20	100

Pulsní EPR nedokáže úplně nahradit CW



CW & pulsní EPR jsou komplementární metody



ESEEM, 2D spectroscopy, Pulse-ENDOR, Pulse-ELDOR (DEER),
Transient EPR and Multi-frequency EPR in Life science, Material science

19

¹⁹Bruker (Biospin) Corporation *Elexys E580 EPR Spectrometer brochure 2008*