

Základní principy a použití elektronové paramagnetické (spinové) rezonance, EPR (ESR). Porovnání s nukleární magnetickou rezonancí, (NMR).

Ján Tarábek

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



ÚOCHB
IOCB PRAGUE



Oddělení *NMR a molekulové spektroskopie*

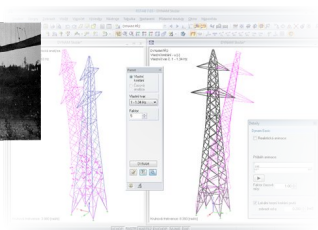
- 1 Základní pojmy a principy, vznik EPR
 - Rezonance a magnetická rezonance
 - Koncepce spinu
 - Malá exkurze do historie EPR
- 2 Studované látky pomocí EPR (Aplikace)
- 3 Měření a vyhodnocování EPR spekter
 - Experimentální uspořádání
 - Parametry EPR spektra a jejich význam
 - Příklady komplexní analýzy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

Mechanická rezonance ve fyzice

Rezonance

Jev, při kterém

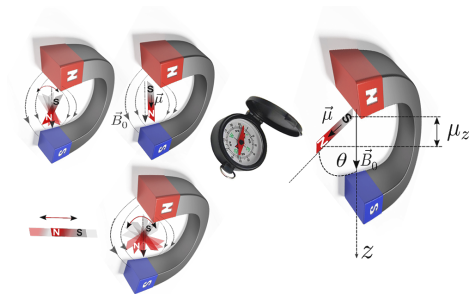
kyvadlo/oscilátor je schopen kmitat s větší výchylkou (amplitudou) v porovnání s původními kmity při stejné frekvenci, ν . Dochází k tomu tehdy, kdy se ν_{vynucena} (způsobená vnějším podnětem nebo silou) vyrovná s ν_{vlastni} . Síla nebo podnět nemusí být přítom nutně velká.



1

¹http://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):

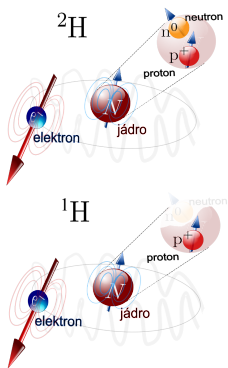
$$\varepsilon(\theta) = -\vec{\mu}\vec{B}_0 = -\mu B_0 \cos(\theta) = -\mu_z B_0 \quad (I)$$

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

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

Elektrony a jádra jako magnetky?

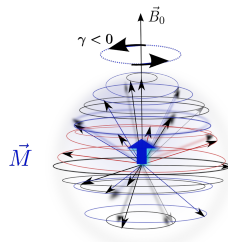
Zjednodušené schéma atomu deuteria a protia



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

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

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

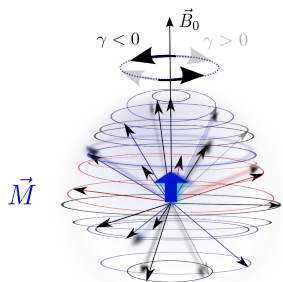


* $\gamma \equiv$ magnetogyrický poměr

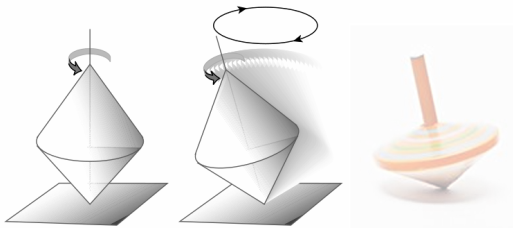
$$\vec{M} = (1/V) \sum \vec{\mu} \equiv \text{magnetizace}$$

Precese

**Magnetické momenty
jader a elektronů
v magnetickém poli \vec{B}_0 :**



Setrvačnick v gravitačním poli země:



Elektrony a jádra jako magnetky?

Příklady magneticky aktivních (neaktivních) jader & vlastnosti elektronu:

jádro	$\gamma^*/10^6 \text{ rad s}^{-1} \text{ T}^{-1}$	přir.výskyt / %	$\nu_{N(e)}/\text{MHz}$ při 11.74 T
^1H	267.522	99.985	-500.000
^{12}C	-	98.930	-
^{13}C	67.283	1.070	-125.725
^{14}N	19.338	99.636	-36.132
^{15}N	-27.126	0.364	50.684
^{16}O	-	99.962	-
^{17}O	-36.281	0.038	67.782
^{31}P	108.394	100.000	-202.606
e^-	-176 085.971	-	329 016.005



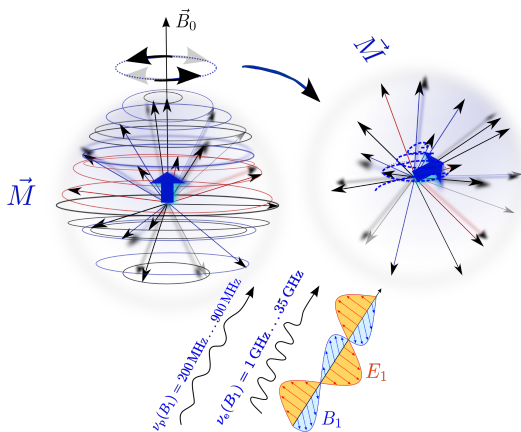
Volný elektron je \approx 650-krát silnější „magnetka“ než proton

* $\gamma \equiv$ magnetogyrický poměr

Magnetická rezonance protonů a elektronů

Působení elektromagnetického záření (B_1 , E_1)

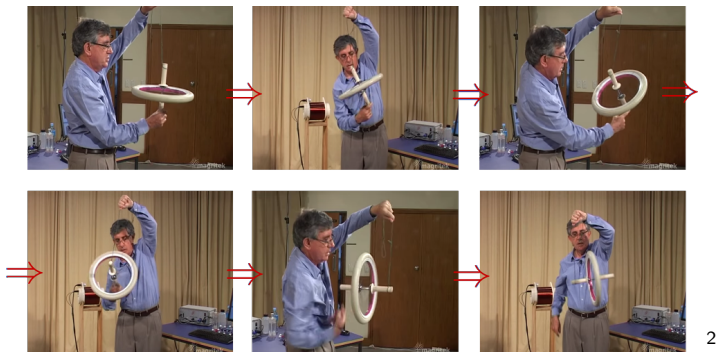
Běžně používané frekvence proměnlivého magnetického pole (B_1)
pro protony ($\nu_p(B_1)$) a elektrony ($\nu_e(B_1)$):



Precese a mechanická rezonance gyroskopu

Analogie s elektrony a jádry

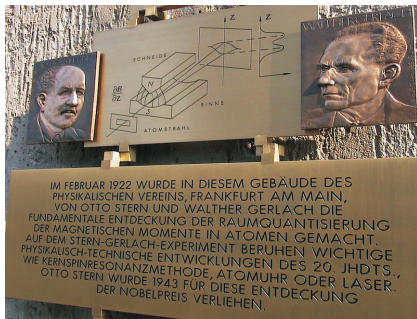
vynucená frekvence = vlastní frekvence



²<http://www.drcmr.dk/MR>
<https://www.youtube.com/watch?v=7aRKAXD4dAg>

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**)



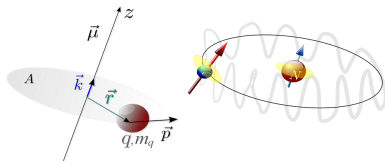
3

- **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 $\vec{\mu}$



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

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

q, m_q nosič náboje q a jeho hmotnost

γ_q magnetogyrický poměr

γ_j spinový magnetogyrický poměr

A

$g_{e(N)}$

$j \equiv S$ nebo I

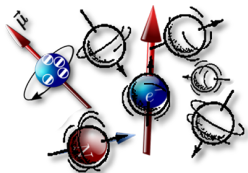
plocha proudové smyčky

g -faktor elektronu/jádra

spin elektronu/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.

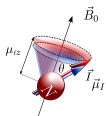
- Neutrony nejsou nosiče náboje a přesto spin mají!
- Kdyby se částice točily kolem své vlastní osy $\Rightarrow \Rightarrow$ rychlost rotace $\gg c!$
- Neznáme přesný tvar a tudíž ani rotační osy částic!

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

Energie v NMR a EPR

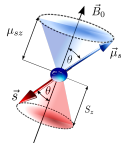
Základní stavy magnetického spinového momentu při působení \vec{B}_0

Proton



$$\begin{aligned}\varepsilon_{|\alpha\rangle}^p &= -\frac{1}{2}g_p\mu_N B_0 \\ \varepsilon_{|\beta\rangle}^p &= \frac{1}{2}g_p\mu_N B_0\end{aligned}\quad (VI)$$

Elektron



$$\begin{aligned}\varepsilon_{|\alpha\rangle}^e &= \frac{1}{2}g_e\mu_B B_0 \\ \varepsilon_{|\beta\rangle}^e &= -\frac{1}{2}g_e\mu_B B_0\end{aligned}\quad (VII)$$

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

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

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

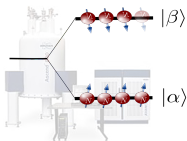
$$g_e = 2.002\,319\,304\,366\,2(15)$$

Energie v NMR a EPR

Populace základních spinových stavů při $T = 298\text{ K}$

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

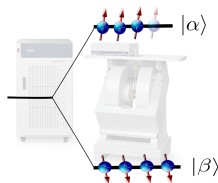
Proton (NMR)



$$\frac{N_{|\beta\rangle}}{N_{|\alpha\rangle}} = 99.990\%$$

(IX)

Elektron (EPR)



$$\frac{N_{|\alpha\rangle}}{N_{|\beta\rangle}} = 99.842\%$$

(X)

Energie v NMR a EPR

Podmínky měření spekter



Proton (NMR)

$$\begin{aligned}\Delta\varepsilon_p &= h\nu_p \\ &= \hbar g_p \gamma_p B_0(\text{NMR})\end{aligned}$$

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

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

(XI)



Elektron (EPR)

$$\begin{aligned}\Delta\varepsilon_e &= h\nu_e \\ &= -\hbar g_e \gamma_e B_0(\text{EPR})\end{aligned}$$

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

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

(XII)

Spektroskopie NMR a EPR

Nejčastější způsob dosažení rezonance

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



Proton (NMR)

frekvence(ν_p) \neq konst
 $B_0(\text{NMR}) = \text{konst}$



Elektron (EPR)

frekvence(ν_e) = konst
 $B_0(\text{EPR}) \neq \text{konst}^{**}$

** CW \equiv angl. „continuous wave“

NMR a EPR historicky jako „sestry“

NMR



EPR



„Datum narození“: 1938-1946

1944-1946

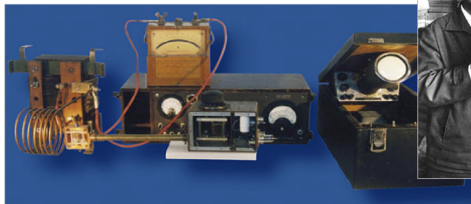
„Matka“: kvantová mechanika (+ radarová technika)

„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**

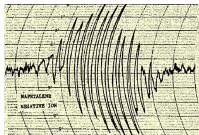


5

⁵<http://www.old.kpfu.ru/mlz>

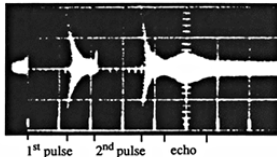
První hyperjemné štěpení EPR spekter a pulsní metody

- **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 orbitálním momentem hybnosti.

Většina stabilních molekul má e^- se spárovanými 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://old.iupac.org/goldbook/E02005.pdf>

Příklady paramagnetických látek s nepárovými elektrony

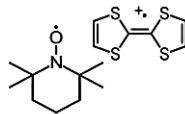
Paramagnetický kapalný O₂



Diamagnetický kapalný N₂



- **Radikály**—organické, anorganické, neutrální (např. HO•, nitroxyl), kationty, anionty



- 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)

Příklady paramagnetických látek s nepárovými elektrony

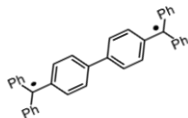
Paramagnetický kapalný O₂



Diamagnetický kapalný N₂



- Radikály—organické, anorganické, neutrální (např. HO[•], nitroxyl), kationty, anionty
- **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)



Příklady paramagnetických látek s nepárovými elektrony

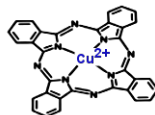
Paramagnetický kapalný O₂



Diamagnetický kapalný N₂



- Radikály—organické, anorganické, neutrální (např. HO[•], nitroxyl), kationty, anionty
- 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)



Příklady paramagnetických látek s nepárovými elektrony

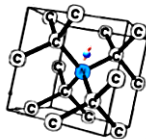
Paramagnetický kapalný O₂



Diamagnetický kapalný N₂



- Radikály—organické, anorganické, neutrální (např. HO[•], nitroxyl), kationty, anionty
- 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)



Příklady paramagnetických látek s nepárovými elektrony

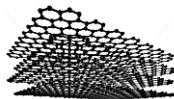
Paramagnetický kapalný O₂



Diamagnetický kapalný N₂



- Radikály—organické, anorganické, neutrální (např. HO[•], nitroxyl), kationty, anionty
- 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)



Oblast použití EPR

Chemie

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



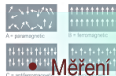
Elektronová paramagnetická rezonance



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



Průmysl a materiály

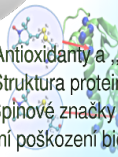


- Měření magnetické susceptibilitě
- Studium vodivostních elektronů
 - Iony přechodných kovů
 - Defekty v krystalech



Fyzika

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

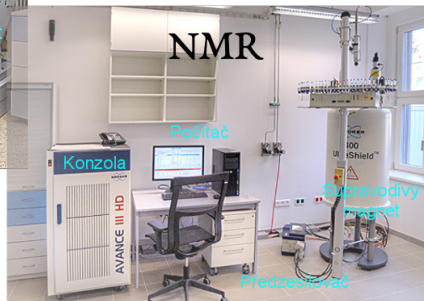
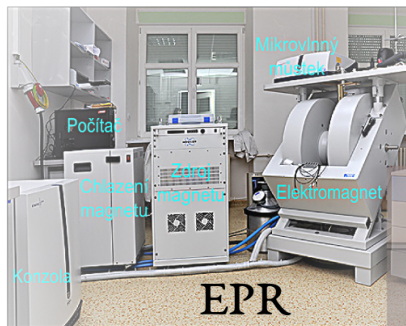


Radiační poškození biologických vzorků

Biologie

CW EPR & FT NMR spektrometr

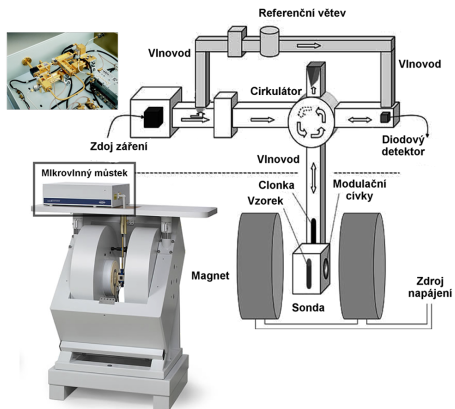
Celkový pohled a porovnání



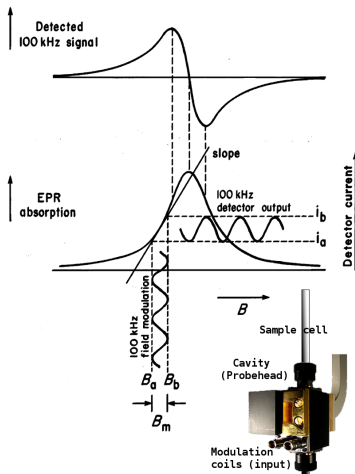
CW EPR spektrometr

Magnet, mikrovlnný můstek a sonda

Mikrovlnný můstek s magnetem



Vznik a tvar EPR signálu (spektra)



Možnosti měření a charakterizace EPR spektra

Skupenství[#]:

kapalné + tuhé

Teplota[§]:

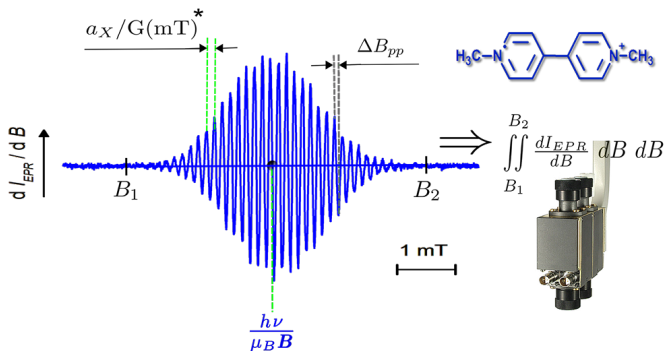
od ≈ 77 K (-196 °C)

do ≈ 500 K (227 °C)

Koncentrace:

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

do ≈ 0.1 mol dm $^{-3}$

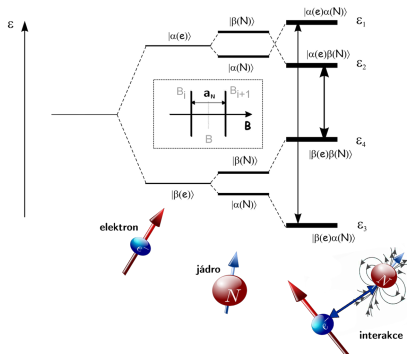


[#] i plynné, [§] rozšíření z 3.8 K na 1273 K

* 1 G(Gauss) = 0.1 mT

Význam tvaru (štěpení) EPR spektra

Hyperjemné štěpení/interakce s jádrem $I_N = 1/2$ (^1H)



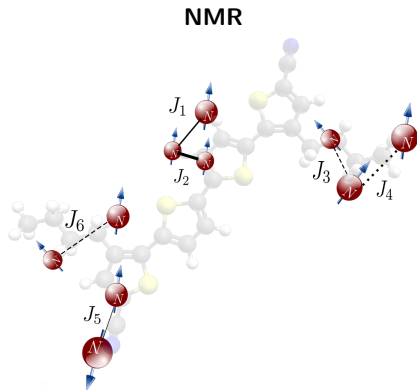
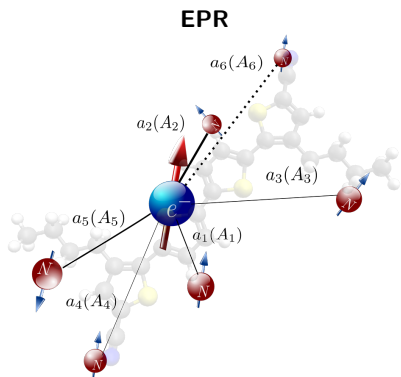
$$g\mu_B(B_{i+1} - B_i) = g\mu_B a_N^* \text{ (štěpná konst)} = A_N^{**} \text{ (interakční konst)} \quad (\text{XIII})$$

* G(mT)

** MHz(cm^{-1})

Význam tvaru (štěpení) EPR spektra

Schematické znázornění interakce e-N v EPR a N-N v NMR / Analogie

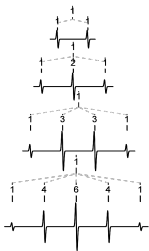


Hyperjemné štěpení od N jader

Multiplicita a intenzita

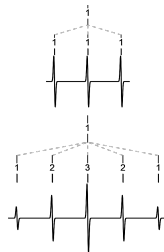
$$I_N = \frac{1}{2} (^1\text{H})$$

$N = 0:$	1				
1:	1	1			
2:	1	2	1		
3:	1	3	3	1	
4:	1	4	6	4	1



$$I_N = 1 (^{14}\text{N})$$

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



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

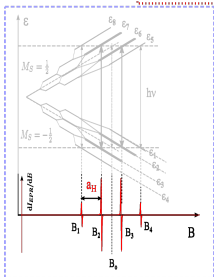
(XIV)

Hyperjemné štěpení (EPR/NMR)

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

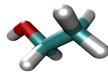
EPR

$\cdot\text{CH}_3$

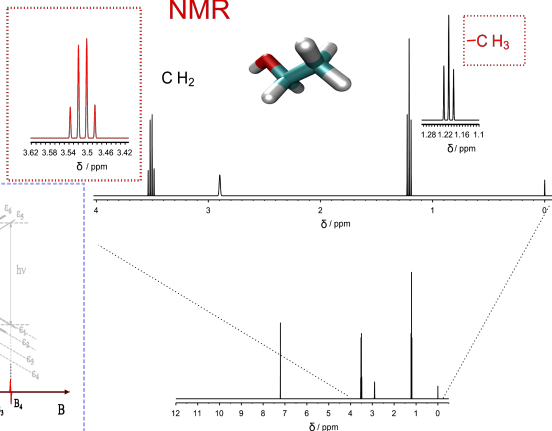


NMR

C H_2

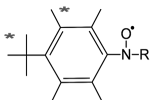


$-\text{C H}_3$



Hyperjemné štěpení od N jader

Příklady na řešení



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

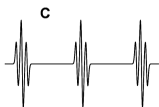
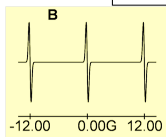
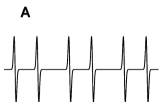
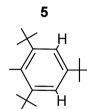
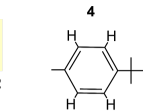
$$a_H (-CH\cdot) = 5 \text{ G}$$

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

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

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

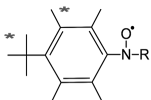
-R =



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

Hyperjemné štěpení od N jader

Příklady na řešení



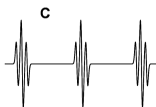
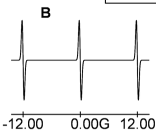
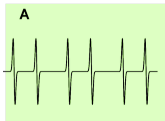
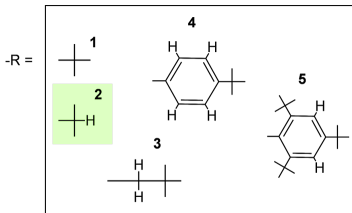
$$a_N (-NO\cdot) = 12 \text{ G}$$

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

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

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

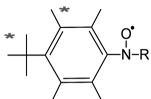
$$a_H^m (=CH\cdot) = 1 \text{ G}$$



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

Hyperjemné štěpení od N jader

Příklady na řešení



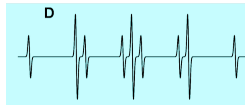
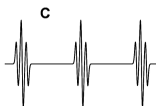
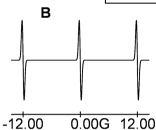
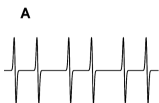
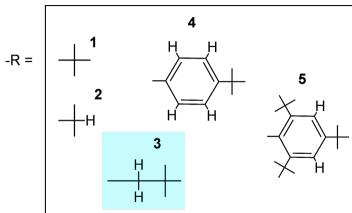
$$a_N (-NO\cdot) = 12 \text{ G}$$

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

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

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

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

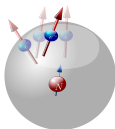


* Uvažujeme, že štěpení od *t-butylu* a $-CH_3$ je zanedbatelně malé

Význam konstanty hyperjemného štěpení/interakce (a/A)

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

s – orbital



Spinová hustota / Å^{-3} :

$$\begin{aligned}\rho_S^{\alpha-\beta}(0) &= \rho^{|\alpha\rangle,\uparrow}(0) - \rho^{|\beta\rangle,\downarrow}(0) \\ \rho^{|\alpha\rangle,\uparrow} &= N_{|\alpha\rangle}/V \\ \rho^{|\beta\rangle,\downarrow} &= N_{|\beta\rangle}/V\end{aligned}$$

(XV)

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

Obecně (i pro tuhé látky):

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

Spin. populace (integrovaná $\rho_S(0)$):

$$\begin{aligned}\rho_X^{\Psi}(\text{pop}) &= \rho_X^{\Psi|\alpha\rangle} - \rho_X^{\Psi|\beta\rangle} \\ X &\equiv \text{jádro} \\ \Psi &\equiv \text{orbital}\end{aligned}$$

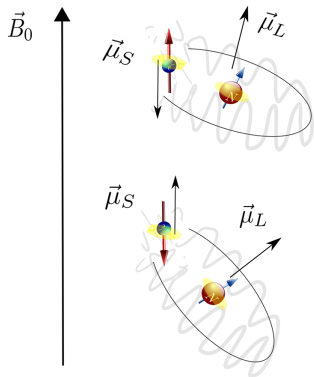
(XVII)

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

^{**} Maticе konstanty hyperjemné interakce (\mathbf{T}_{dip} je orientační maticе e & N interakce)

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:

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

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

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

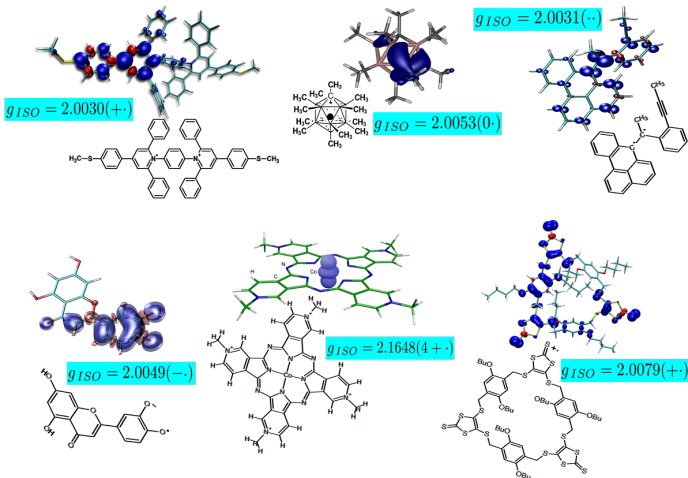
(XVIII)

$\lambda \Rightarrow$ spin-orbitální konstanta

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

EPR spektrum (význam polohy spektra)

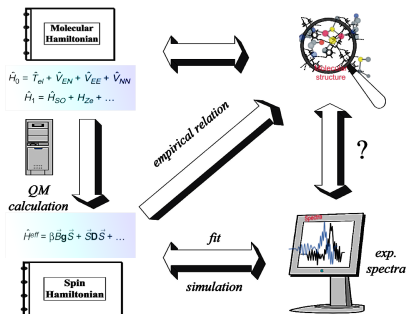
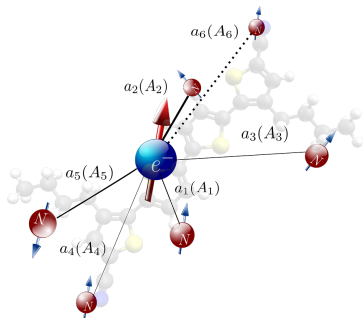
Příklady g -faktorů*



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

Komplexní analýza EPR spekter

Pomocí kvantové chemie a simulací

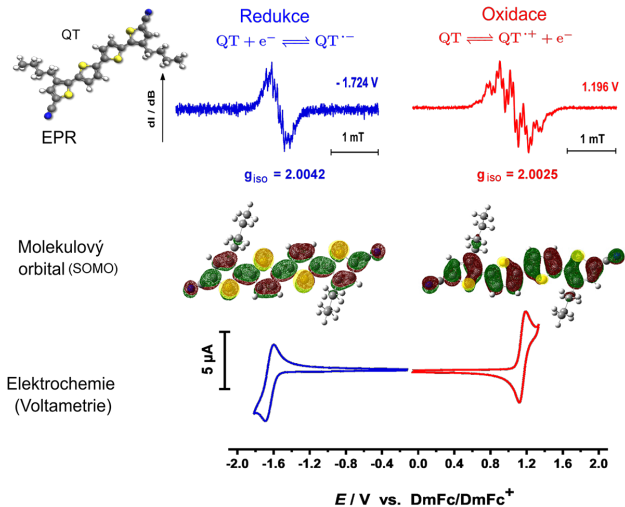


9

⁹F. Neese; *Curr. Opin. Chem. Biol.* 2003, 7, 125-135

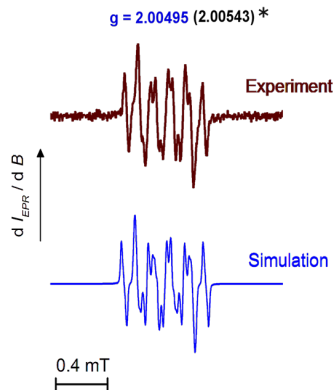
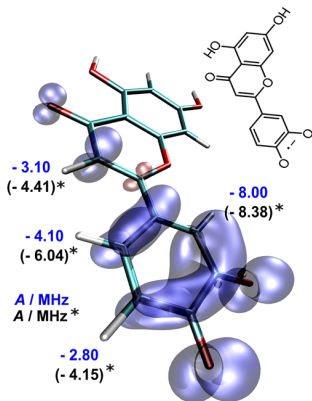
Komplexní analýza EPR spekter

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



Komplexní analýza EPR spekter

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
	$\nu_{\text{EPR}} = \text{konst}(\text{CW})$	↔	$B_{\text{NMR}} = \text{konst}(\text{pulzní})$

- 2 Analogie mezi parametry EPR & NMR spekter:

	EPR	↔	NMR
Štěpení (interakce):	$a_X(A_X)/\text{mT}(\text{MHz})$ (e-N)	↔	J_{XY}/Hz (N-N)
Poloha spektra:	g -faktor (g)	↔	chemický posun (δ)
Intenzita:	dvojný integrál (CW)	↔	integrál (pulzní)
Šířka spektrální linie:	$\Delta B_{pp}/\text{mT}$ (CW)	↔	$\Delta\nu_{1/2}/\text{Hz}$ (pulzní)

Shrnutí

Analogie mezi NMR a EPR

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

EPR \Leftrightarrow **NMR**

Hlavní objekt: nepárový elektron(y) \Leftrightarrow jádro (jádra)

Experiment: mikrovlnné frekvence \Leftrightarrow rádiové frekvence

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

- 2 Analogie mezi parametry EPR & NMR spekter:

EPR \Leftrightarrow **NMR**

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

Poloha spektra: g -faktor (g) \Leftrightarrow chemický posun (δ)

Intenzita: dvojný integrál (CW) \Leftrightarrow integrál (pulzní)

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

Obsah

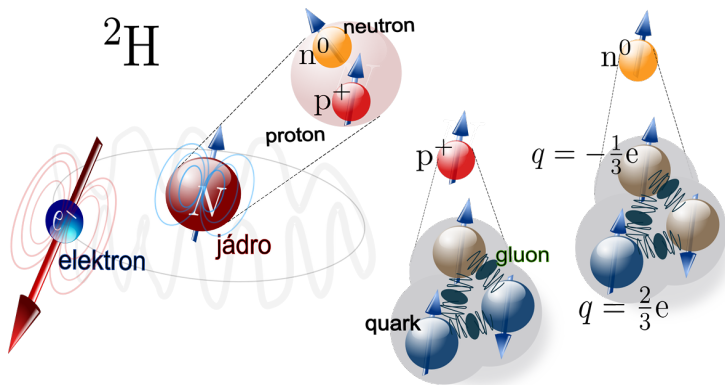
- 1 Základní pojmy a principy, vznik EPR
 - Rezonance a magnetická rezonance
 - Koncepce spinu
 - Malá exkurze do historie EPR
- 2 Studované látky pomocí EPR (Aplikace)
- 3 Měření a vyhodnocování EPR spekter
 - Experimentální uspořádání
 - Parametry EPR spektra a jejich význam
 - Příklady komplexní analýzy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

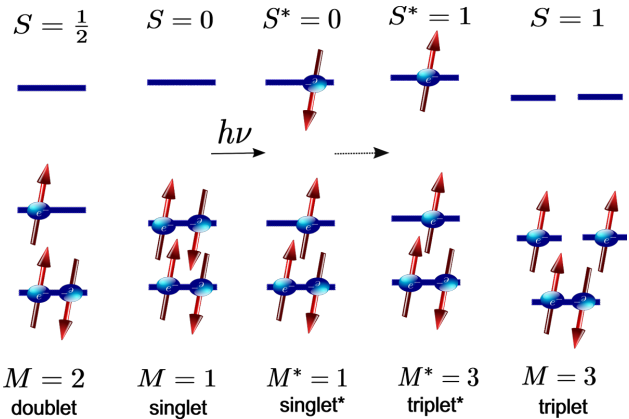
Deuterium a jeho jádrové částice



Multiplicita elektronových stavů

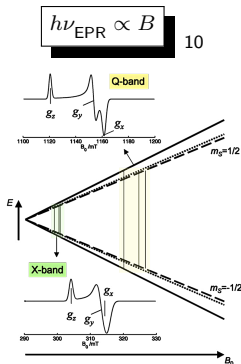
Schématické znázornění základních a excitovaných* stavů

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



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}



Frekvenční rozsahy a podmínky:

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

¹⁰Van Doorslaer, S.; Carreti, I. et al. *Coord. Chem. Rev.* **2009**, 253, 2116-2130

Kvantitativní CW EPR

$DI \equiv$ dvojný integrál

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

$\text{const}_{\text{ref}}$ 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



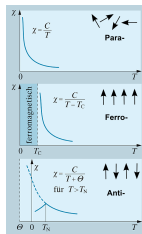
Kvantitativní CW EPR

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	$\chi_{\text{int}}(\geq 1 \cdot 10^4; \leq 1 \cdot 10^{-2}) > 0$	$\chi_{\text{int}} = \chi_{\text{int}}(T)$

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



11

¹¹D. Meschede; *Gerthsen Physik* 2006, 23. Auflage, S. 398

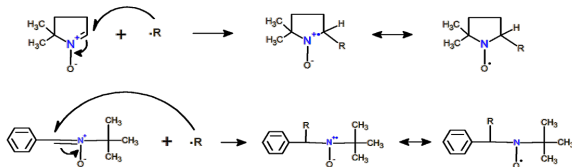
Přechodné radikály a spinové lapače

angl. „Spin Traps“

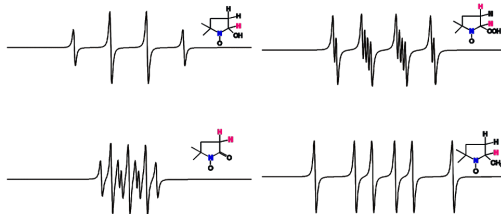
angl. 5,5-Dimethyl-1- pyrroline N-oxide (**DMPO**)

& N-*tert*-Butyl- α -phenylnitrone (**PBN**)

Mechanism

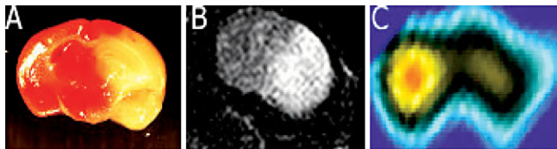


EPR Detection of adducts



Zobrazování pomocí EPR: „EPR Imaging“

Obnovení průtoku krve po ischemii (nedokrvení) mozku¹³



A: Histology

B: MRI

C: EPR Imaging



12

¹²Bruker Corporation

¹³Liu, S., Timmins, G. S., et al. *NMR Biomed* 17, 2004, 327-334

Základní rozdíly mezi CW a pulzní EPR

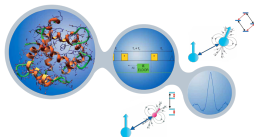
typické pro X-„band“

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

Pulsní EPR nedokáže úplně nahradit CW



CW & pulzní EPR jsou komplementární metody



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

14

¹⁴Bruker (Biospin) Corporation *Elexys E580 EPR Spectrometer brochure 2008*

Význam konstanty hyperjemného štěpení/interakce (a/A)

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

Spinová polarizace:

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

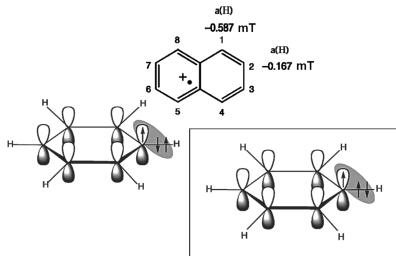
(XIX)

Hyperkonjugace:

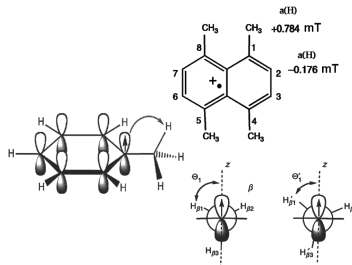
$$A_{N,\text{iso}}(a_{N,\text{iso}}) > 0$$

(XX)

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



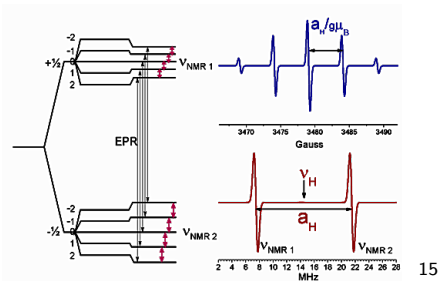
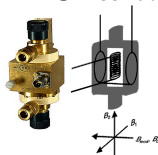
$$A_{H,\text{iso}}(\beta \text{ pos.}) = (K_1 + K_2 \cos^2(\theta_1)) \rho_{\text{C}}^{2p_z}(\text{pop})$$



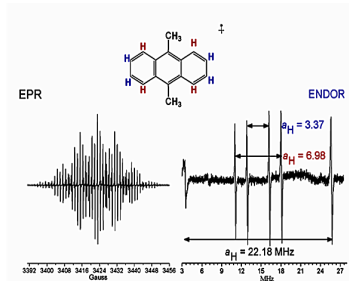
Interakční (štěpná) konstanta

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

ENDOR sonda



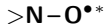
15



15

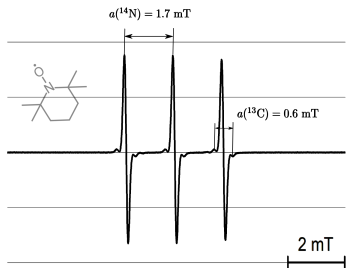
¹⁵<http://www.cardiff.ac.uk/chemy/epr/enhancement.html>

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



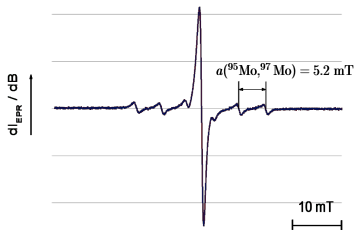
výskyt (^{14}N) = 99.60 %

výskyt (^{13}C) = 1.07 %



výskyt (^{95}Mo) = 15.92 %

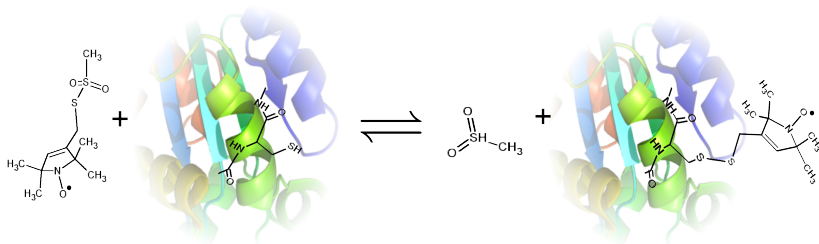
výskyt (^{97}Mo) = 9.95 %



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

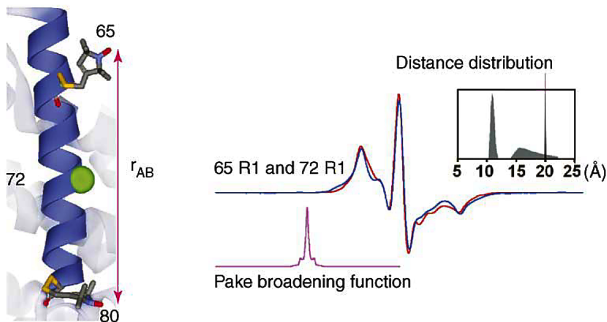
„Side Direct Spin Labeling (SDSL)“ proteinů

Základní schema



„Side Direct Spin Labeling (SDSL)“ proteinů

CW EPR měření vzdáleností do ≈ 2.5 nm



16

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