

ЭПР-спектроскопия





Явление электронного парамагнитного резонанса было открыто в 1944 году Евгением Константиновичем Завойским, который обнаружил, что парамагнитный образец, помещенный в постоянное магнитное поле, может поглощать энергию подаваемого на него электромагнитного поля. Поглощение электромагнитного излучения парамагнитными образцами имело избирательный (резонансный) характер, поскольку оно наблюдалось лишь при определенном соотношении между напряженностью постоянного магнитного поля и частотой переменного электромагнитного поля. Поэтому открытое явление получило название *электронного парамагнитного резонанса* (ЭПР). Метод ЭПР нашел широкие применения в физике, химии, биологии и медицине.

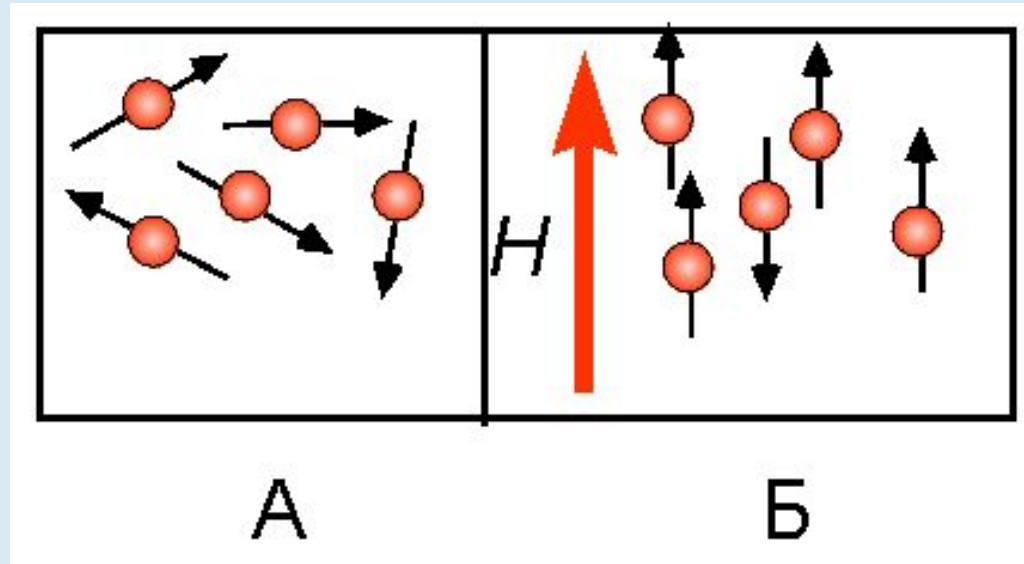
Парамагнетизм

Магнитные свойства атомов и молекул определяются магнитными моментами электронов, а также протонов и нейтронов, входящих в состав атомных ядер. Магнитные моменты атомных ядер существенно меньше магнитных моментов электронов, поэтому магнитные свойства вещества определяются главным образом магнитными моментами электронов. Магнитные свойства электронов в атомах обусловлены их орбитальным движением вокруг ядра (орбитальный механический момент), а также существованием собственного механического момента электрона, получившего название спина.

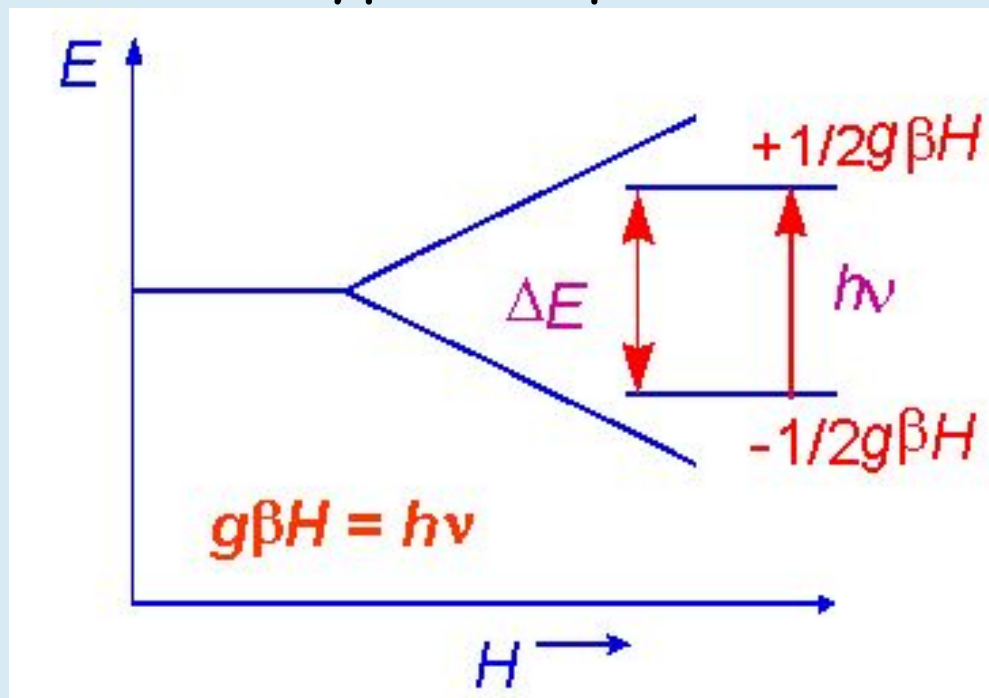
В зависимости от электронного строения атомы и молекулы могут различаться своими магнитными характеристиками. Вещества, молекулы которых обладают отличными от нуля магнитными моментами, называются парамагнетиками. Парамагнетиками являются некоторые газы (молекулярный кислород O_2 , окись азота NO), щелочные металлы, различные соли редкоземельных элементов и элементов группы железа. **Метод ЭПР является основным методом для изучения парамагнитных частиц присутствующих в системах.**

Эффект Зеемана

В отсутствие внешнего магнитного поля магнитные моменты электронов ориентированы случайным образом, и их энергия практически не отличается друг от друга (E_0). При наложении внешнего магнитного поля магнитные моменты электронов ориентируются в поле в зависимости от величины спинового магнитного момента



и их энергетический уровень расщепляется на два



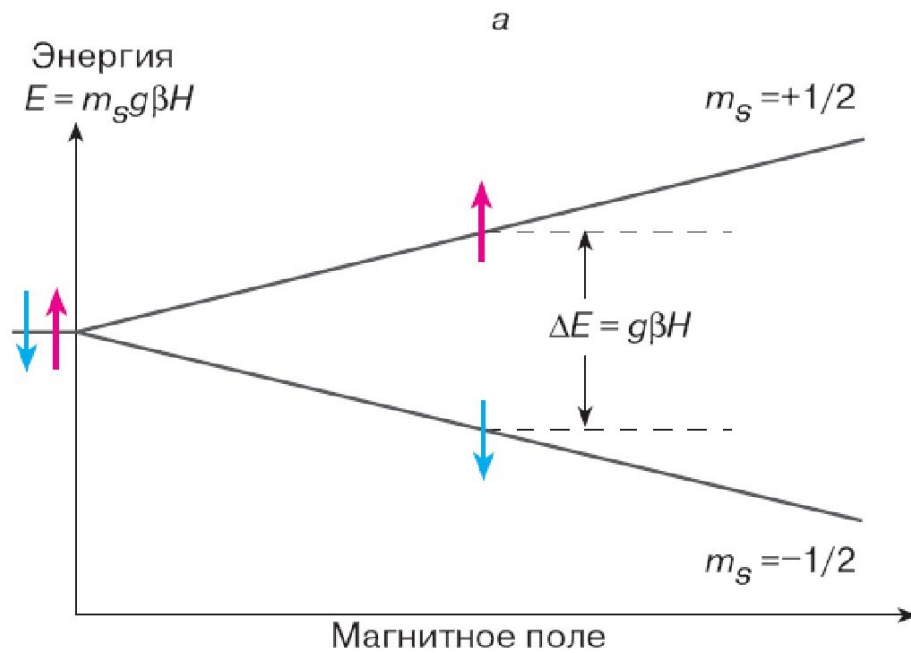
Энергия взаимодействия магнитного момента электрона с магнитным полем выражается уравнением:

$$E = -\vec{\mu} \vec{H} = -\mu H \cos(\vec{\mu} \vec{H})$$

где μ - магнитный момент электрона, H - напряженность магнитного поля, $\cos(\mu H)$ - косинус угла между μ и H

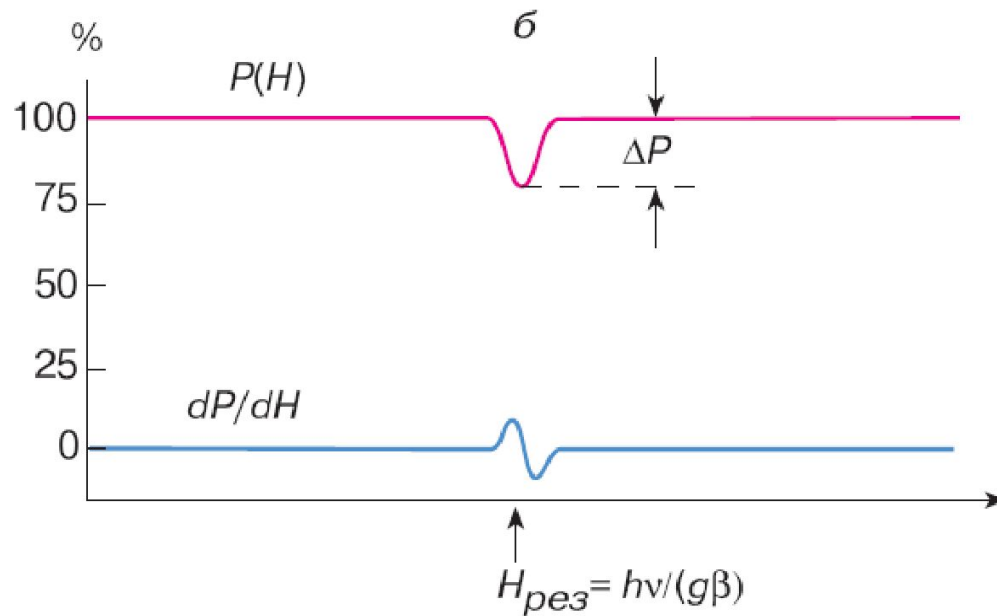
Различным значениям квантовых чисел L , S и J , как правило, соответствуют разные энергетические уровни атома. Электронные состояния атомов характеризуются также маг. квантовыми числами m_L , m_S и m_J , которые определяют проекции орбитального, спинового и суммарного моментов в заданном направлении. Квантовые числа m_L , m_S и m_J могут принимать следующие наборы значений: $m_L = L, L-1, \dots, -(L-1), -L$; $m_S = S, S-1, \dots, -(S-1), -S$; $m_J = J, J-1, \dots, -(J-1), -J$. В сферически-симметричном атоме отсутствует какое-либо физически выделенное направление осей координат. Поэтому при отсутствии внешнего м. п. энергетические уровни атома, характеризуемые разными значениями маг. квантовых чисел, совпадают. Принято говорить, что такие энергетические уровни вырождены по маг. квантовому числу.

Если атом оказывается во внешнем м. п. \mathbf{H}_0 , то в направлении вектора \mathbf{H}_0 можно определить проекции орбитального, спинового и суммарного моментов электронов. В этом случае вырождение по маг. квантовым числам снимается – разным значениям m_L , m_S и m_J отвечают разные уровни энергии. Экспериментально это проявляется в том, что спектральные линии парамагнитных атомов в м. п. расщепляются (рис. 1). Расщепление энергетических уровней в м. п. было обнаружено в 1896 году голландским физиком П. Зееманом. Эффект Зеемана лежит в основе явления ЭПР.



а - расщепление энергетического уровня электрона в зависимости от магнитного поля \mathbf{H}_0 ;

б - зависимость мощности P микроволнового излучения, прошедшего через парамагнитный образец, от напряженности внешнего магнитного поля. Величина ΔP - резонансное поглощение микроволнового излучения (сигнал ЭПР). Голубая кривая - первая производная сигнала ЭПР.



Парамагнитные центры:

примесные ионы в минералах, имеющие магнитный момент:

- **3d-металлы** Ti, V, Cr, Mn, **Fe**, Co, Ni, Cu;
- **4d-металлы** Zr, Nb, Mo, Tc, Ru, Rh, **Pd**, Ag;
- **5d-металлы** Hf, Ta, W, Re, Os, Ir, **Pt**, Au;
- **4f-металлы (РЗЭ)** Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb;
- **5f-металлы (актиноиды)** Th, Pa, U, Np, Pu;
- собственные структурные дефекты минералов;
- свободные радикалы в органических соединениях (угли, битумы, нефти, ископаемые растения и животные);
- парамагнитные ионы в жидкостях.

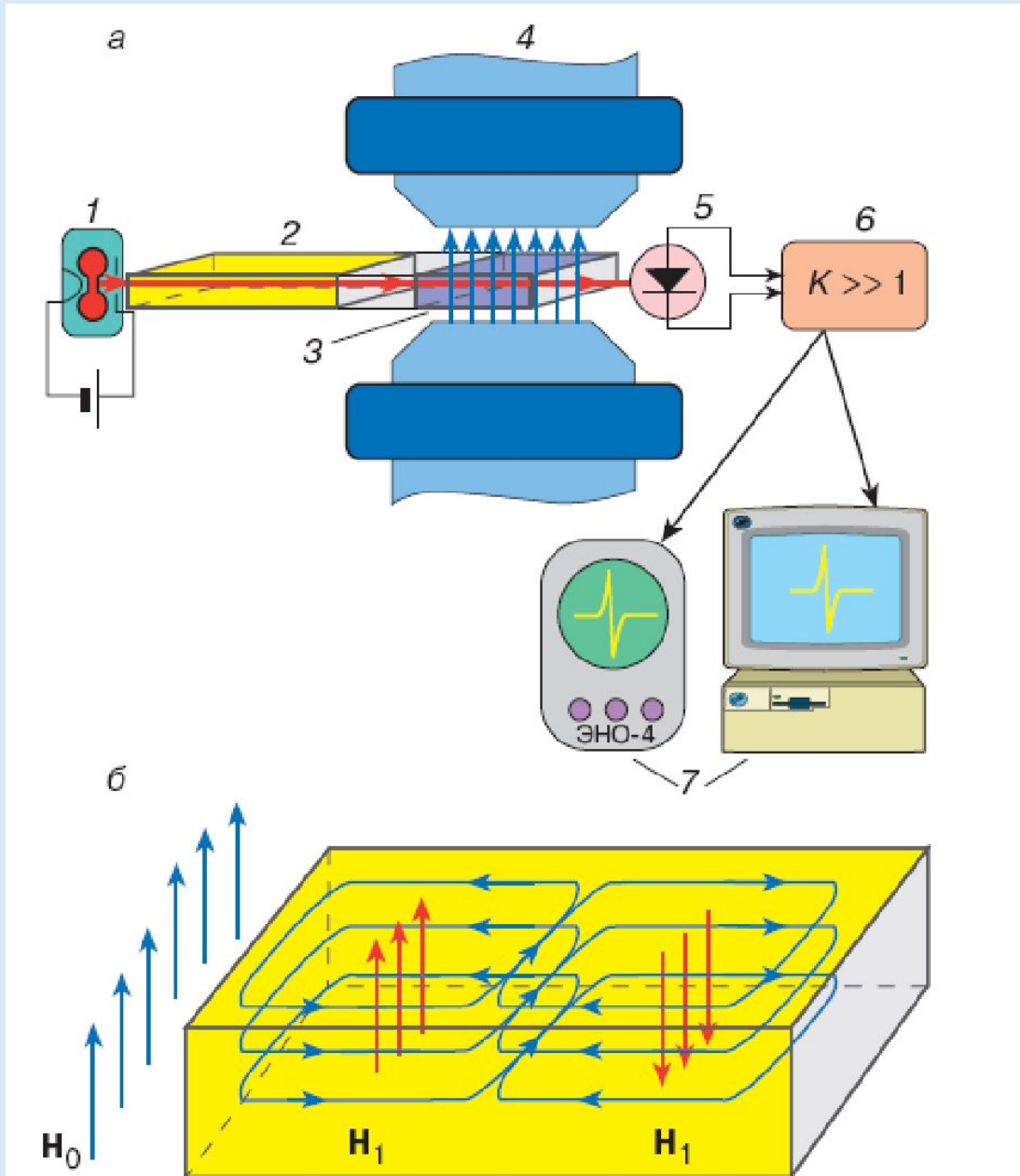
ЭПР основан на явлении резонансного поглощения радиочастотной энергии парамагнитными центрами (ПЦ) образца, помещенного в постоянное магнитное поле. Условием резонанса является равенство радиочастотного кванта $h\nu$ и разности энергии между спиновыми подуровнями

Спектрометры ЭПР

Е.К. Завойский проводил свои первые измерения в радиочастотном диапазоне эл-маг. излучения ($\lambda \approx 25$ м). Затем он использовал микроволновое излучение и наблюдал рез. поглощение энергии в полях около 1000 Э. В дальнейшем диапазон излучений, используемых для регистрации ЭПР, существенно расширился. В настоящее время в спектрометрах ЭПР чаще всего используют источники эл-маг. излучения в интервале длин волн $\lambda \approx 2\text{мм} - 10\text{см}$, соответствующего диапазону сверхвысоких частот (СВЧ).

Экспериментально подобрать условия парамагнитного резонанса можно двумя способами. Поместив образец в постоянное м. п. H_0 , можно затем постепенно изменять частоту эл-маг. излучения. По достижении рез. частоты образец начнет поглощать энергию. Именно так были устроены самые первые спектрометры ЭПР. Однако изменять частоту микроволнового излучения в широком диапазоне весьма непросто. Поэтому в дальнейшем стали использовать другой, технически гораздо более простой и удобный способ, когда при постоянном значении частоты ν пер. поля медленно изменяют м. п., добиваясь тем самым выполнения условия резонанса.

Схема простейшей установки для регистрации ЭПР



а – схема спектрометра ЭПР: 1–генератор микроволнового излучения, 2 – волновод, 3 – резонатор, 4 – магнит, 5 – детектор микроволнового излучения, 6 – усилитель сигнала ЭПР, 7 – регистрирующие устройства (ЭВМ или осциллограф);

б – распределение силовых линий магнитного (голубые линии) и электрического (красные линии) полей в резонаторе

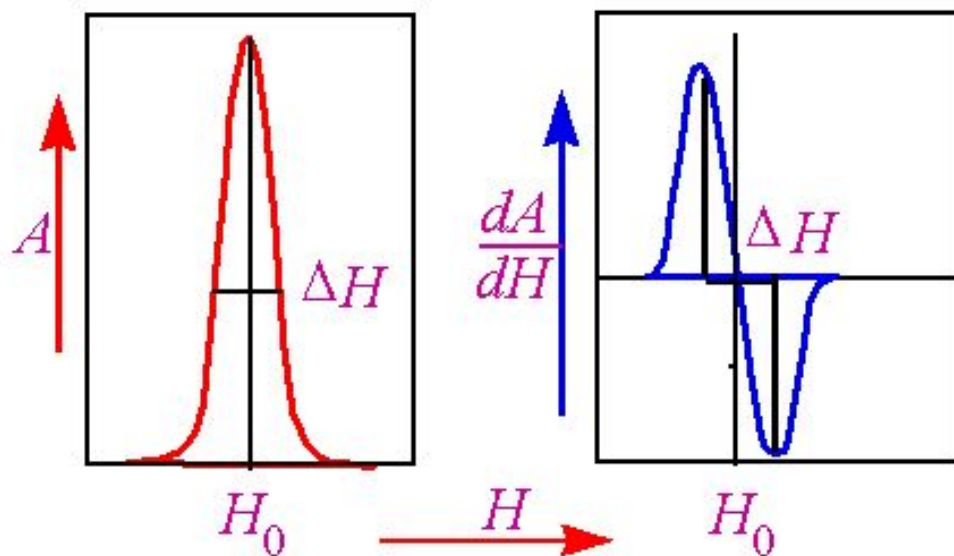
Спектрометры ЭПР включают в себя в качестве обязательных элементов следующие устройства.

1. Генератор эл-маг. излучения. В современных спектрометрах ЭПР чаще всего используется излучение трехсантиметрового диапазона СВЧ ($\lambda \approx 3$ см), которое соответствует $\nu \approx 1010$ Гц.
2. Волноводы – полые металлические трубы, имеющие в сечении прямоугольную форму. Предназначены для передачи эл-маг. СВЧ-излучения от генератора к образцу и от образца к детектору мощности СВЧ.
3. Объемные резонаторы, внутри которых концентрируется энергия эл-маг. излучения. Схема расположения силовых линий м. и эл. полей в резонаторе показана на рис. 3. В центральной части резонатора, где имеется пучность пер. м. п., помещается исследуемый образец.
4. Электромагнит, в зазоре которого находится резонатор. Меняя ток, протекающий через обмотку электромагнита, можно регулировать напряженность м. п. в зазоре электромагнита. Для создания сильных м. п. ($H \approx 50$ кЭ), которые необходимы для создания условий резонанса при использовании коротковолнового излучения СВЧ ($\lambda \approx 2$ мм), в настоящее время используют магниты со сверхпроводящим соленоидом.
5. Детектор электромагнитного излучения.
6. Электронный усилитель сигнала, выдаваемого детектором.
7. Регистрирующее устройство (осциллограф, самописец или ЭВМ), на которое подается сигнал ЭПР.

Характеристики спектров ЭПР

Амплитуда сигнала

Площадь под линией поглощения пропорциональна концентрации парамагнитных частиц в образце.



Если два сигнала имеют одинаковую ширину, то концентрации парамагнитных центров соотносятся как амплитуды сигналов линии поглощения.

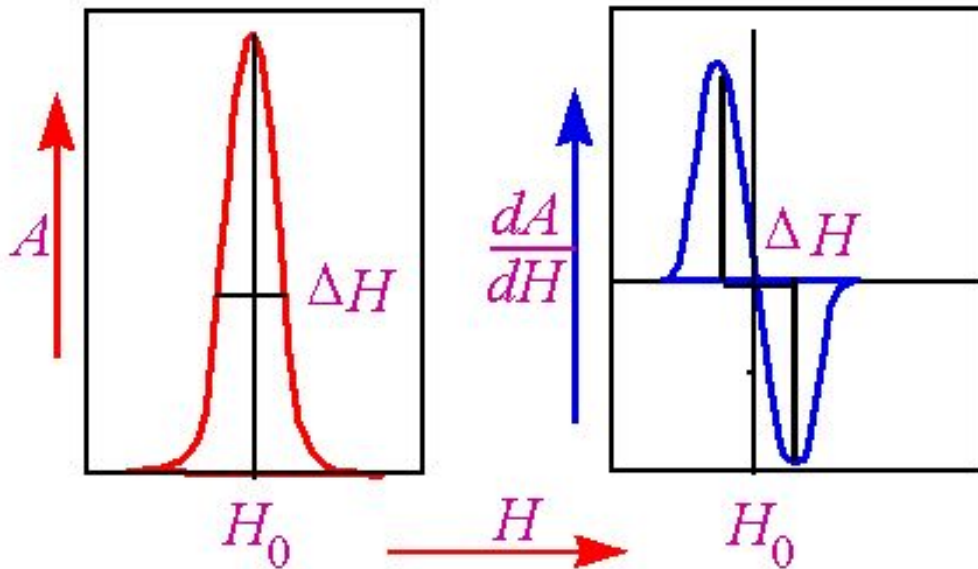
$$C_{\text{изм.}} = C_{\text{эт.}} \frac{S_{\text{изм.}}}{S_{\text{эт.}}}$$

Следовательно концентрации у измеряемого образца находят по пропорции:

Ширина линии

- Сигналы ЭПР характеризуются определенной шириной спектральной линии. Чем сильнее спин-спиновое и спин-решеточное взаимодействия, тем шире спектральная линия.
- Ширина одиночной линии ЭПР обратно пропорциональна этим параметрам:

$$\Delta H \sim T_1^{-1}, T_2^{-1}$$



T_1 - время спин-решеточной релаксации

T_2 - время спин-спиновой релаксации

Исследование формы спектра ЭПР в зависимости от различных физико-химических факторов является важным источником информации о природе и свойствах парамагнитных центров. На рис. *а* показан типичный спектр ЭПР одного из стабильных азотокисных свободных радикалов, которые часто употребляются в химических и биофизических исследованиях. Форма спектров ЭПР таких радикалов чувствительна к изменениям их окружения и подвижности, поэтому они часто используются в качестве молекулярных зондов, с помощью которых изучают микровязкость и структурные изменения в различных системах: в растворах, полимерах, биологических мембранах и макромолекулярных комплексах. Так, например, из температурных зависимостей интенсивности и ширины спектров ЭПР спиновых зондов можно получить важную информацию о фазовых переходах в системе, содержащей парамагнитные центры. На рис. *б* показана температурная зависимость одного из параметров спектра ЭПР (ΔH_{\max} – расстояние между крайними компонентами СТС) для азотокисного радикала, растворенного в многослойной пленке жидкокристаллического типа, сформированной из молекул дистеарофосфатидилхолина. Подобные структуры составляют основу биологических мембран. Видно, что температурная зависимость параметра ΔH_{\max} имеет характерный излом, по которому можно судить о том, что при температуре 53°C в системе происходит фазовый переход, сопровождающийся увеличением подвижности молекул азотокисного радикала.

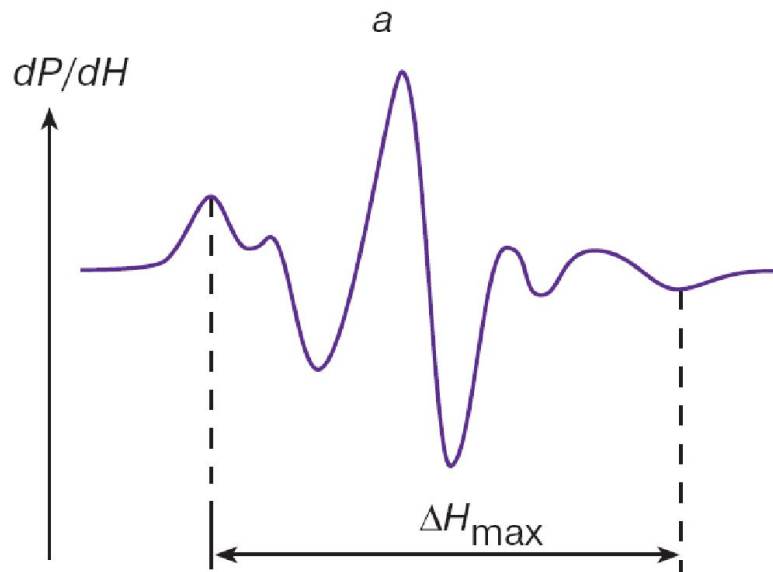
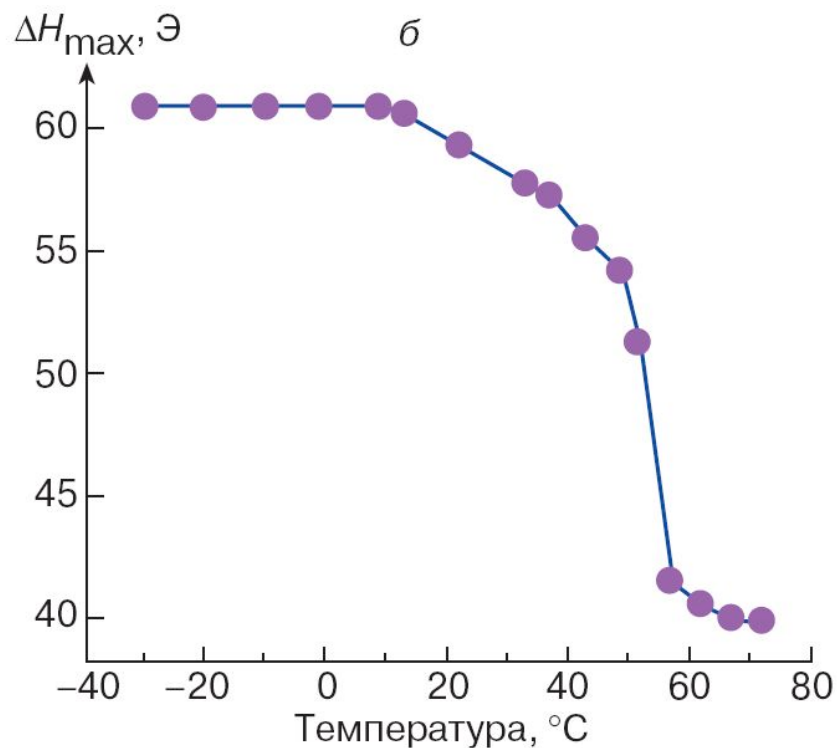


Рис. 6. *а* – спектр ЭПР нитроксильного радикала, растворенного в многослойной пленке из молекул дистеарофосфатидилхолина. Форма спектра ЭПР определяется молекулярной подвижностью и ориентацией нитроксильного радикала; *б* – зависимость параметра спектра ЭПР ΔH_{\max} от температуры. Резкое уменьшение параметра ΔH_{\max} при температуре 53°C обусловлено увеличением молекулярной подвижности радикала в результате фазового перехода молекул дистеарофосфатидилхолина из гелеобразного (“твердого”) состояния в жидкокристаллическое (“жидкое”)



g-Фактор

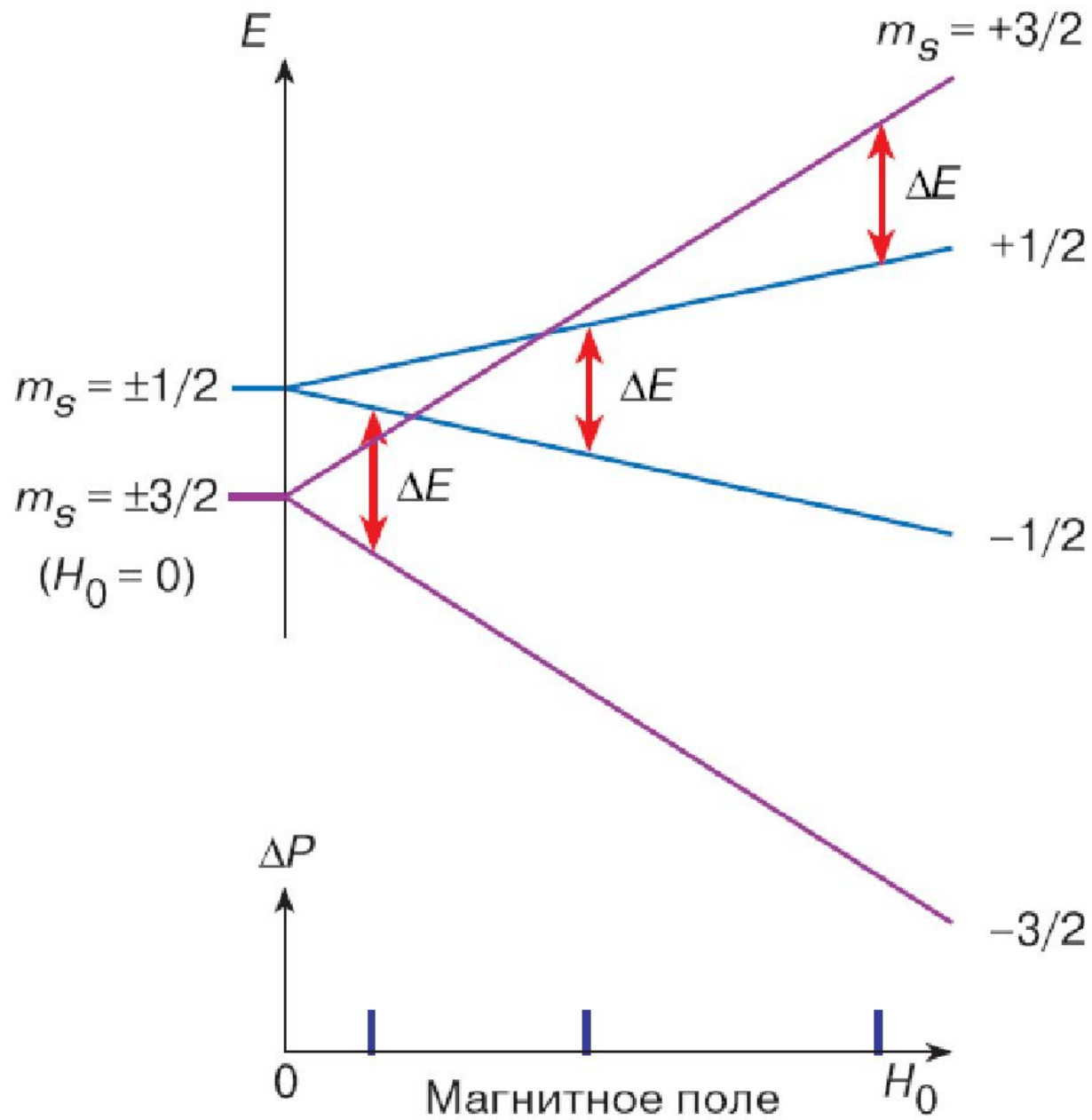
Положение линии в спектре ЭПР характеризуется величиной g-фактора. Резонансное значение магнитного поля обратно пропорционально g-фактору $H = hv/(g\beta)$. Измерение величины g-фактора дает важную информацию об источнике сигнала ЭПР. Для свободного электрона $g=2$. С учетом поправки, обусловленной влиянием флуктуаций электрон-позитронного вакуума, эта величина составляет $g = 2,0023$. В очень многих важных случаях (органические свободные радикалы, парамагнитные дефекты кристаллических решеток и др.) величины g-факторов отличаются от чисто спинового значения не более чем во втором знаке после запятой. Однако это не всегда так. Парамагнитные частицы, исследуемые методом ЭПР, как правило, не являются свободными атомами. Воздействие анизотропных электрических полей, окружающих атомов, расщепление зеемановских уровней в нулевом внешнем магнитном поле (см. ниже) и другие эффекты часто приводят к существенным отклонениям g-фактора от чисто спинового значения и к его анизотропии (зависимости g-фактора от ориентации образца во внешнем магнитном поле). Значительные отклонения g-факторов от чисто спинового значения $g = 2,0023$, как мы уже отмечали выше, наблюдаются при наличии достаточно сильного спин-орбитального взаимодействия.

Тонкая структура спектров ЭПР

Если спин. и орб. моменты в атоме отличны от нуля, то за счет вз-вия спин. и орб. моментов (спин-орбитальное вз-вие) энергетические уровни могут дополнительно расщепиться. В результате этого вид спектра ЭПР усложнится и вместо одной спектр. линии в спектре ЭПР появятся несколько линий. В этом случае говорят о том, что спектр ЭПР имеет тонкую структуру. При наличии сильного спин-орб. взаимодействия расщепление зеемановских уровней может наблюдаться даже при отсутствии внешнего м. п.

Проиллюстрируем появление тонкой структуры на примере спектра ЭПР хромовых квасцов. Ион Cr^{3+} имеет суммарный спин $3/2$ (три неспаренных электрона), следовательно, возможны четыре значения маг. квантового числа: $m_s = 3/2, 1/2, -1/2$ и $-3/2$. В хромовых квасцах сильная спин-орб. связь и электрическая анизотропия кристал. решетки приводят к тому, что расщепление энерг. уровня происходит в нулевом поле, при этом энерг. уровень расщепляется на два уровня, соответствующие значениям $m_s = \pm 3/2$ и $\pm 1/2$ (рис. 4). В м. п. каждый из этих уровней расщепляется на два подуровня. Учитывая правило отбора для переходов между электронными зеемановскими уровнями ($\Delta m_s = \pm 1$), получим схему электронных переходов, показанную на рис. 4. Из той схемы видно, что условие резонанса ($\Delta E = g\beta H$) будет выполняться при трех разных значениях м. п., благодаря чему в спектре ЭПР появятся три резонансные линии, то есть возникнет тонкая структура спектра ЭПР

Схема энергетических уровней ионов Cr^{3+} , иллюстрирующая возникновение тонкой структуры спектра ЭПР



Сверхтонкая структура

Если кроме неспаренных \bar{e} исследуемый парамагнитный образец содержит атомные ядра, обладающие собственными маг. моментами (^1H , ^2D , ^{14}N , ^{13}C и т.д.), то за счет вз-ия электронных и ядерных маг. моментов возникает сверхтонкая структура (СТС) спектра.

Рассмотрим возникновение СТС на примере вз-ия неспаренного \bar{e} с парамагнитным ядром N (рис. 5). Такое вз-ие наблюдается в молекуле NO, а также в нитроксильных радикалах, которые широко используются для исследования различных биологических систем. Если неспаренный \bar{e} локализован вблизи ядра N, то к внешнему м. п. \mathbf{H}_0 , действующему на \bar{e} , добавляется м. п., создаваемое маг. моментом μ_N ядра N. Ядро N имеет спин $I=1$, поэтому возможны три проекции маг. момента μ_N : по направлению, \perp и против внешнего м. п. \mathbf{H}_0 . Этим ориентациям ядерного спина соответствуют значения маг. квантового числа $I_z = +1, 0, -1$. Поэтому за счет вз-ия неспаренного \bar{e} с ядром N каждый из зеемановских уровней энергии неспаренного \bar{e} расщепится на три подуровня (рис. 5). Индуцируемые микроволновым излучением переходы между энергетическими уровнями должны удовлетворять квантовомеханическим правилам отбора: $\Delta S_z = \pm 1$ (ориентация спина \bar{e} изменяется) и $\Delta I_z = 0$ (ориентация ядерного спина сохраняется). Таким образом, в результате сверхтонкого вз-ия в спектре ЭПР нитроксильного радикала появятся три линии, соответствующие трем возможным ориентациям маг. момента ядра N ($I_z = -1, 0, +1$).

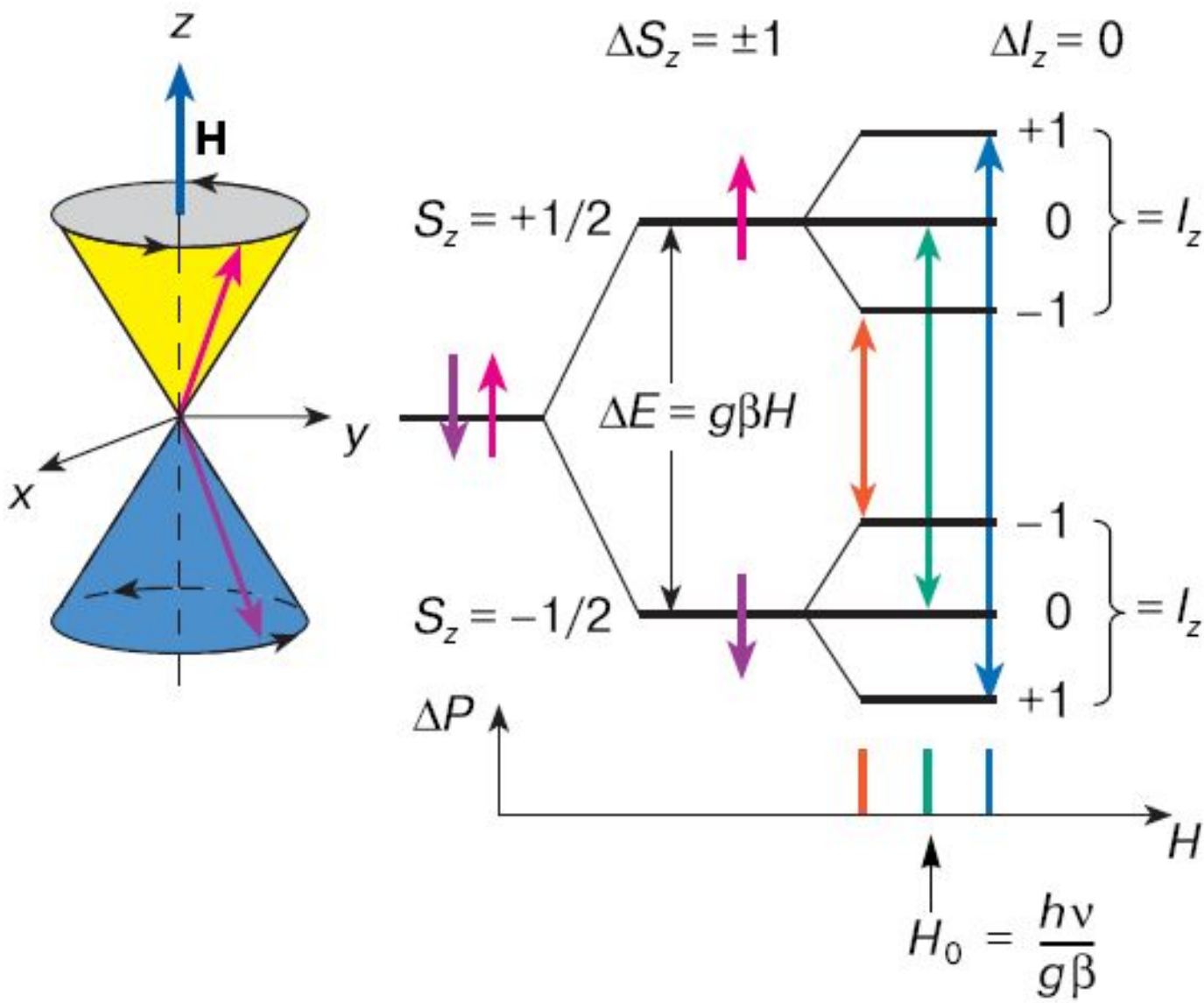
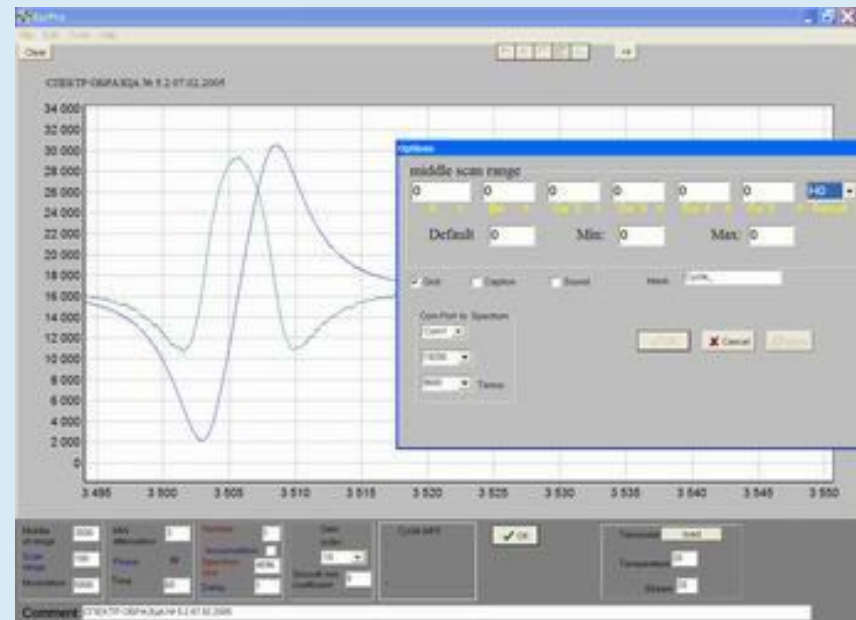
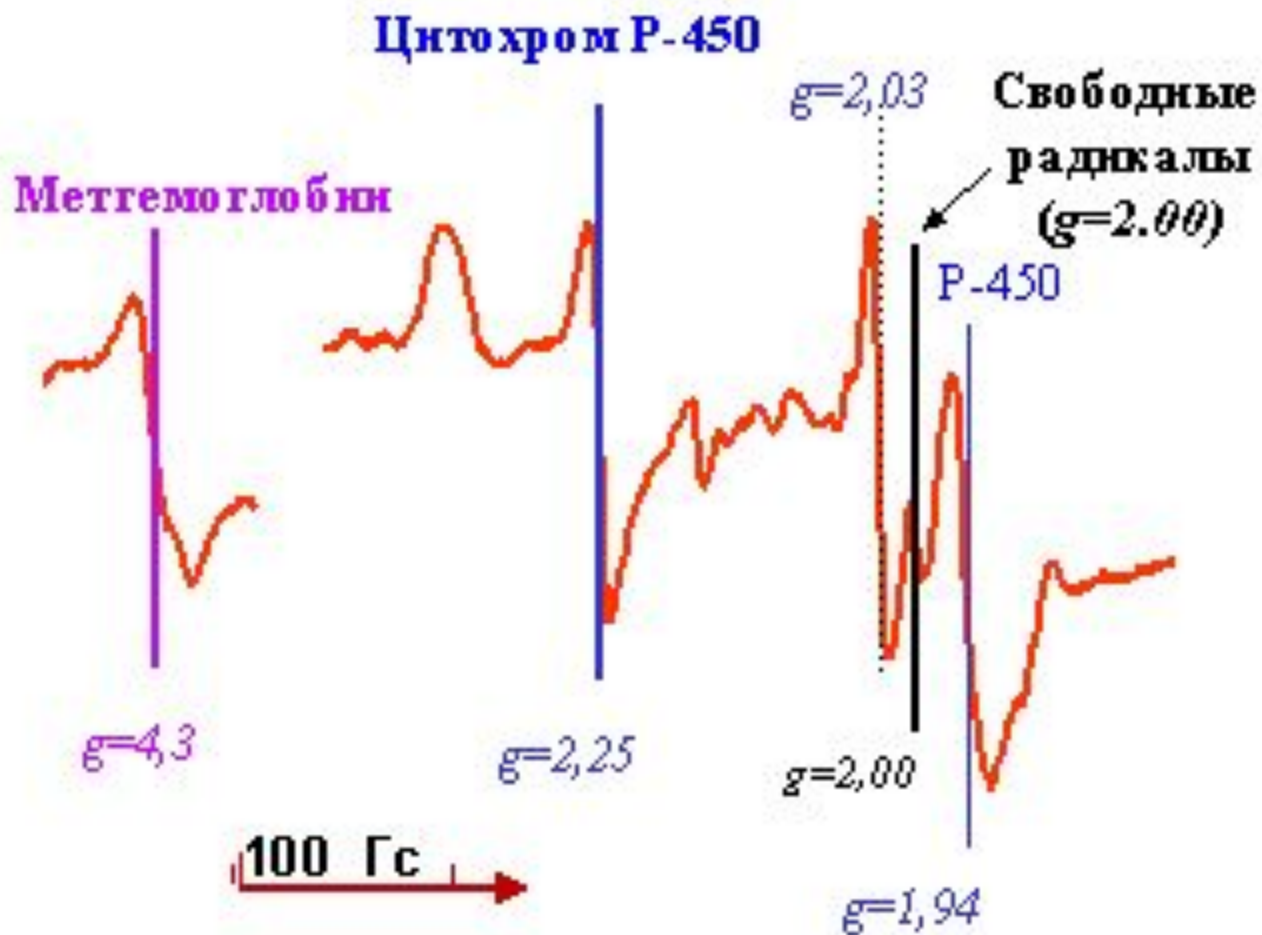


Схема энергетических уровней, иллюстрирующая возникновение сверхтонкой структуры спектра ЭПР парамагнитной молекулы NO

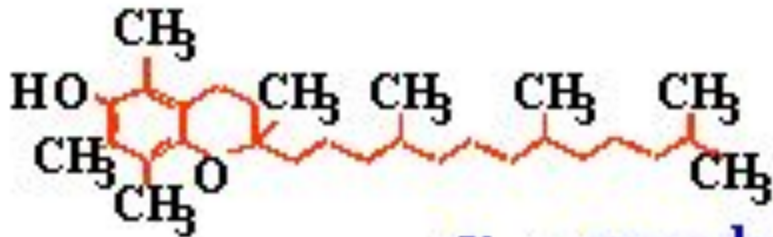
Перечисленные выше характеристики спектров ЭПР – g -фактор, тонкая и сверхтонкая структура спектра ЭПР, ширины отдельных компонент спектра – являются своего рода “паспортом” парамагнитного образца, по которому можно идентифицировать источник сигнала ЭПР и определить его физико-химические свойства. Так, например, наблюдая за сигналами ЭПР биологических объектов, можно непосредственно следить за ходом внутриклеточных процессов в листьях растений, тканях и клетках животных, в бактериях.



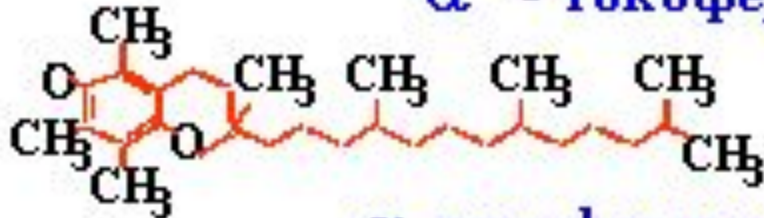
Применение метода ЭПР в биологических исследованиях



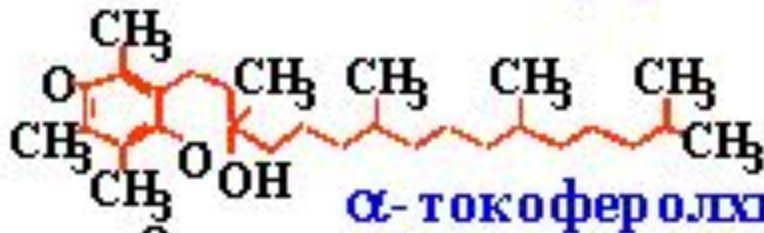
изучение металлов переменной валентности и/или их комплексов



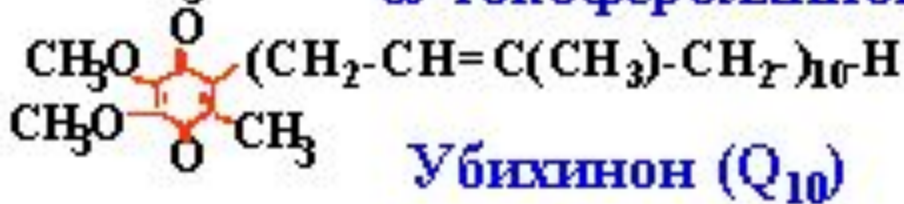
α - токоферол



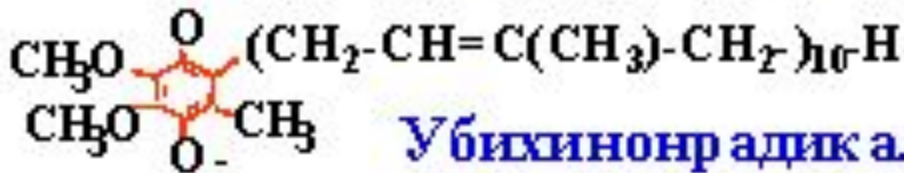
α-токофероксилрадикал



α-токоферолгидроксирадикал



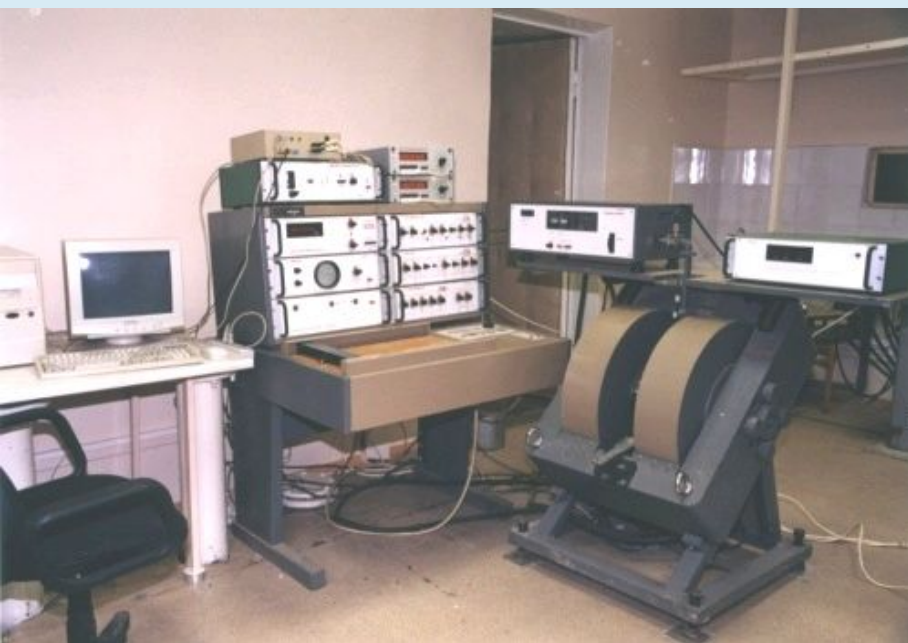
Убихинон (Q₁₀)



Убихинолрадикал (·Q₁₀)



ЭПР-спектромеры



Литература

1. Блюменфельд Л.А., Тихонов А.Н. «ЭПР»
2. Болтон Дж., Верц Дж. Теория и практические приложения метода ЭПР. М.: Мир, 1975.
3. Lebedev Ya. S. //Appl. Magn. Reson. 1994. V. 7. P. 339-362.
4. Chemerisov S. D., Grinberg O. Ya., Tipikin D. S., Lebedev Ya. S., Kurreck H., Mobius K. //Chem. Phys. Lett. 1994. V. 218. P. 353-361.
5. Lazarev G. G., Kuskov V. L., Lebedev Ya. S. //Chem. Phys. Lett. 1990. V. 170. P. 94-99.
6. Переходцев Г. Д., Типикин Д. С., Лебедев Я. С. //Журн. физ. химии. 1994. Т. 68. С. 1252-1255.
7. Чемерисов С. Д. Метод низкотемпературной поляризации спинов в сверхсильных полях в исследовании радикальных пар и высокоспиновых комплексов. Дис. на соиск. учен. степ. канд. физ.-мат. наук. М.: ИХФ РАН, 1996.