

OPŠTA TEORIJA ELEKTRONSKE PARAMAGNETNE REZONANCIJE

Elektronska paramagnetna rezonancija (EPR), takođe poznata kao elektronska spinska rezonancija (ESR) ili elektronska magnetna rezonancija (EMR), je rezonantna spektroskopska metoda kojom se detektuje proces rezonantne apsorpcije mikrotalasnog zračenja u homogenom magnetnom polju, u sistemima koji poseduju najmanje jedan nespareni elektron. Ti sistemi mogu biti molekuli, joni, intermedijeri, radikali, različiti tačkasti defekti u kristalima.... EPR je otkrio Zavojski 1944. godine. Danas se EPR koristi u hemiji, fizici, biologiji, medicini i drugim naučnim granama.

Ako atom ili molekul poseduje ukupni elektronski ugaoni (mehanički) moment, J , (koji je jednak zbiru orbitalnog, L , i spinskog, S , ugaonog momenta), tada će posedovati i magnetni moment, μ . Spoljašnje magnetno polje, B , u koje se unosi uzorak generiše nastanak $2J+1$ Zemanovih nivoa različite energije između kojih se mogu odigravati prelazi indukovani apsorpcijom kvanta zračenja čija se energija poklapa sa razlikom u energijama nastalih nivoa. Bez spoljašnjeg magnetnog polja, nivoi su istih energija (degenerisani) te nikakav prelaz nije moguć. Činjenica da magnetni moment elektrona najčešće potiče od spinskog ugaonog momenta sa malim doprinosom orbitalnog momenta je razlog zašto se ova tehnika zove elektronska spinska rezonancija (ESR). Za razliku od nemagnetnih spektroskopija gde je položaj linije dat kao frekvencija ili grupa frekvencija, položaj EPR linije se navodi kao g -vrednost. Sličan fenomen rezonantnih prelaza postoji i pri reorijentaciji nuklearnih magnetnih momenata u homogenom magnetnom polju, pri čemu se razmenjuje vrlo mala energija koja spada u radiotalasno područje, ali to je oblast nuklearne magnetne rezonantne spektroskopije (NMR).

U spoljašnjem magnetnom polju, vrednosti za ukupni spinski magnetni moment, μ_S , kvantuju se, i određene su ukupnim magnetnim spinskim kvantnim brojem, M_S . Postoji $2S+1$ dozvoljenih vrednosti za M_S (od $-S$ do $+S$). Tako je, na primer, za sistem sa jednim nesparenim elektronom vrednost $S=1/2$ pa su moguće vrednosti M_S ($1/2, -1/2$), za sistem sa dva nesparena elektrona $S=1$ pa je M_S ($1, 0, -1$), za sistem sa tri nesparena elektrona $S=3/2$ pa su moguće vrednosti za M_S ($3/2, 1/2, -1/2, -3/2$), itd. Izborno pravilo za prelaze između spinskih nivoa je $\Delta M_S = \pm 1$. Prelaz između dva Zemanova nivoa zahteva tačno određenu

frekvenciju elektromagnetnog zračenja čija je energija jednaka energiji cepanja generisanog primenjenim magnetnim poljem.

$$\Delta E = h\nu = g\beta_e B_0 \quad (1)$$

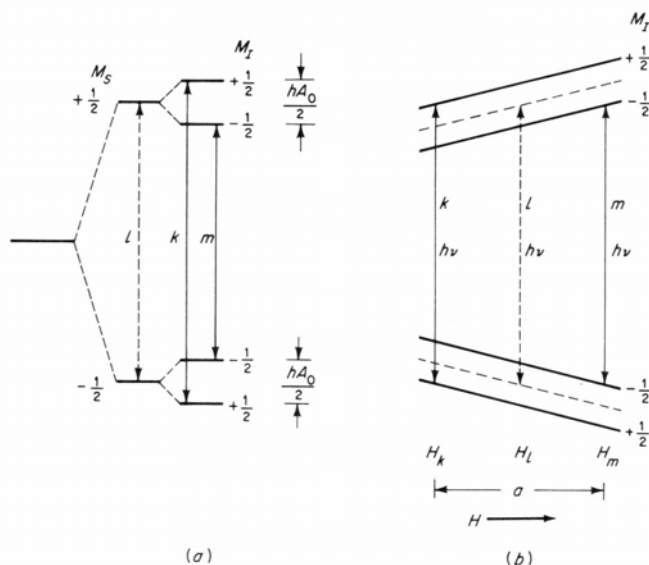
gde je g –Landeov g -faktor, β_e - Borov magneton ($9,27 \cdot 10^{-24}$ J/T), h - Plankova konstanta ($6,626 \cdot 10^{-34}$ Js), ν - frekvencija mikrotalasa i B_0 - intenzitet spoljašnjeg magnetnog polja. Na osnovu j-ne (1), mereći rezonantno B_0 i znajući ν , može se dobiti g -vrednost za određenu EPR liniju. Rezonantni uslov u EPR spektroskopiji se postiže menjanjem intenziteta spoljašnjeg magnetnog polja na jednoj fiksiranoj frekvenciji koja može biti od 1-2 GHz (L -oblast), 2-4 GHz (S -oblast), 8-10 GHz (X -oblast), 35 GHz (Q -oblast) i 95 GHz (W -oblast).

Međutim, izgled EPR spektra ne zavisi samo od broja nesparenih elektrona. Jedna od mogućih interakcija nesparenog elektrona je i interakcija sa jezgrom koje se nalazi u njegovoj blizini, i naziva se hiperfina interakcija. Ovo je u osnovi magnetna dipol-dipol interakcija između elektrona i jezgra. Javlja se kod sistema koji poseduju nuklearni magnetni moment kao posledica sprezanja magnetnih momenata elektrona i jezgra. Dakle, ukoliko jezgro poseduje nuklearni spinski magnetni moment različit od nule, ono će uticati na dodatno cepanje energijskih nivoa elektrona. Ukupan spinski kvantni broj jezgra zavisi od broja protona (Z) i neutrona (N) od kojih se ono sastoji, i to po sledećem zakonu:

- Parno Z , parno N : $I=0$
- Neparno Z , parno N ili parno Z , neparno N : $I=1/2, 3/2, 5/2...$
- Neparno Z , neparno N : $I=1, 2, 3...$

Jezgra sa $I \neq 0$ dovode do cepanja elektronskih energijskih nivoa tako što će za svaku vrednost M_S biti $2I+1$ dodatnih nivoa. Takođe, za sistem sa N ekvivalentnih jezgara sa spinom I , broj nivoa će biti $2NI+1$, tako da EPR spektar sistema sa izraženom hiprefinom interakcijom ima finu strukturu tj. sastoji se od $2NI+1$ linija. Ako jezgro ima ukupan spin I , nuklearni magnetni spinski kvantni broj M_I može imati vrednosti (od $-I$ do I). Sopstveno magnetno polje jezgra se superponira na spoljašnje magnetno polje i rezultujuće (efektivno) magnetno polje utiče na cepanje Zemanovih elektronskih nivoa. Izborno pravilo za prelaze između nivoa je $\Delta M_I = 0$. Kao rezultat hiperfine interakcije, dolazi do povećanja broja linija u EPR spektru. Neki primeri jezgara sa spinom različitim od nule su: ^1H , $I=1/2$; ^2H , $I=1$; ^{31}P , I

$=1/2$; ^{14}N , $I=1$; ^{15}N , $I=1/2$; ^{55}Mn , $I=5/2$; ^{13}C , $I=1/2$. Treba napomeniti i da je g -faktor jezgra, kao mera uticaja jezgra na efektivno cepanje EPR linija, takođe veoma bitan u konačnom izgledu EPR spektra.



Slika 1.

(a) Energijski nivoi dobijeni hiperfinim cepanjem u statičnom magnetnom polju.

(b) Energijski nivoi dobijeni postepenom promenom magnetnog polja.

Isprekidana linija l označava energijski prelaz koji bi se desio da ne postoji hiperfino cepanje nivoa.

Veličina A_o se zove konstanta hiperfinog cepanja, dok je proizvod hA_o mera interakcije između elektrona i jezgra. Konstanta hiperfinog sprežanja (ili Fermijeva konstanta) data je izrazom:

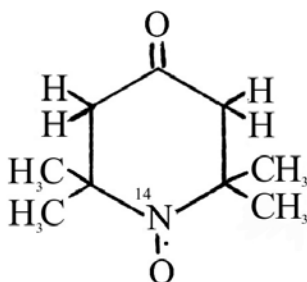
$$A_o = \frac{2\mu_o}{3} g_e \beta_e g_N \beta_N |\Psi(0)|^2 \quad (2)$$

gde je μ_o permeabilnost u vakuumu, g_e elektronski g -faktor, g_N nuklearni g -faktor, β_e Borov magneton, β_N nuklearni Borov magneton, a $|\Psi(0)|^2$ je verovatnoća nalaženja elektrona na položaju jezgra.

Za ilustraciju EPR spektara koji se dobijaju kao posledica hiperfine interakcije biće razmatran stabilni slobodni radikal (Tempon).

Stabilni slobodni radikali (nitroksidi) su pirolidinski ili piperidinski prstenovi čiji EPR spektar potiče od nesporenog elektrona N-O veze (Slika 2.). Njihova stabilnost u odnosu na druge, vrlo reaktivne slobodne radikale, uglavnom potiče od toga što četiri CH_3 grupe, koje su smeštene u *orto*-položaju u odnosu na azot, sterno zaklanjaju nesporeni elektron i omogućavaju im da kao radikali opstaju duži vremenski period. Mogućnost supstitucije različitih grupa u *para*-položaju, omogućuje veliku raznovrsnost njihovih hemijskih osobina,

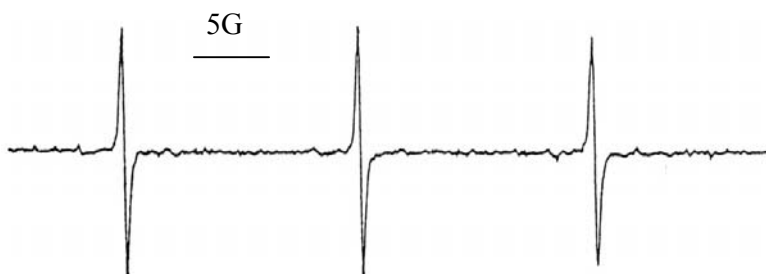
pa se ovi nitroksidi često koriste kao spinske sonde ili kao spinski obeleživači u biohemijskim i biofizičkim istraživanjima.



Slika 2.

Strukturna formula molekula nitroksida tempona (4-okso-2,2,6,6-tetrametil-piperidin-1-oksil).

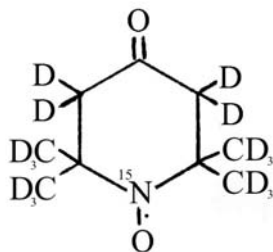
Tipičan spektar nitroksida u vodenom rastvoru, gde je moguća slobodna rotacija molekula, je prikazan na slici 3.



Slika 3.

EPR spektar
Tempona.

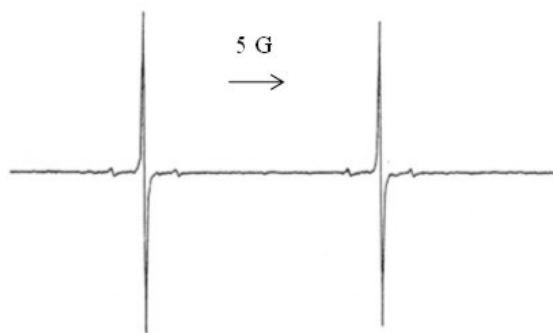
Tri spektralne linije potiču od hiperfine interakcije nesparenog elektrona sa jezgrom ^{14}N ($I=1$) (zbog tri moguće vrednosti nuklearnog magnetnog spinskog momenta određene vrednostima $M_I (+1, 0, -1)$). Svaka linija je i dodatno proširena usled interakcije sa protonima ($I=1/2$) iz susednih CH_3 grupa (super hiperfina interakcija). Ukoliko se sintetiše Tempon kod koga je izvršena potpuna deuterizacija i zamena ^{14}N izotopom ^{15}N (slika 4), dobija se spektar prikazan na slici 5.



Slika 4.

Strukturna formula ^{15}N -deuterisanog oblika molekula nitroksida tempona (4-okso-2,2,6,6-tetrametil-piperidin-1-oksil).

EPR spektar deuterisanog tempona sadrži dve EPR linije (spin jezgra ^{15}N je $I=1/2$, tj. moguće vrednosti nuklearnog magnetnog spinskog kvantnog broja su $-1/2$ i $1/2$). Zamenom vodonika deuteronima, uklanja se super hiperfino cepanje nivoa, što rezultuje sužavanjem linija (iako ^2H ima spin $I=1$ u odnosu na ^1H sa $I=1/2$, g -faktor jezgra deuterijuma od 0,857 u odnosu na vodonik sa 5,586 ima znatno manji uticaj na super hiperfino cepanje linija). Ukupan efekat je znatno poboljšanje spektralne rezolucije i odnosa signal/šum.



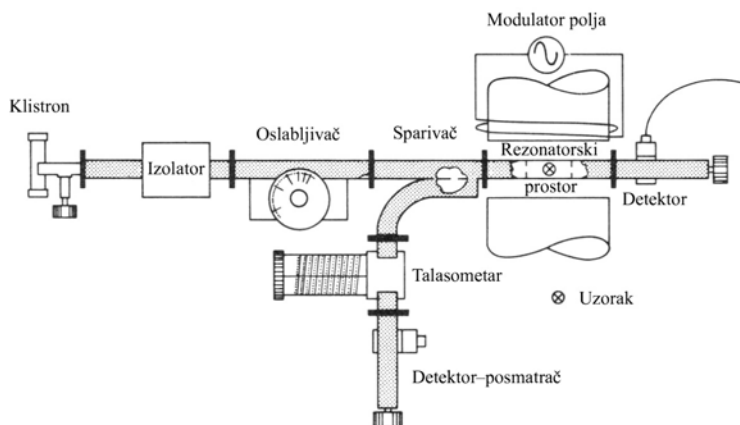
Slika 5.

EPR Spektar ^{15}N -deutrisanog
Tempona (^{15}N -PDT).

Činjenica da deuterisani molekul tempona ima samo dva EPR pika je i iskorišćena za primenu ^{15}N -PDT kao spoljašnjeg EPR standarda za vrste koje imaju EPR signal sa g -vrednošću oko dva. Dve spektralne linije manjeg intenziteta, koje su simetrično raspoređene u odnosu na osnovne linije potiču od dodatnog cepanja nivoa pod uticajem jezgra izotopa ^{13}C ($I=1/2$) prisutnog u prirodnom odnosu izotopa ugljenika (^{13}C "satelitske linije"). Spektralna linija u EPR spektru predstavlja prvi izvod odgovarajuće linije iz apsorpcionog spektra. Dvostrukom integracijom EPR spektralne linije dobija se vrednost integralnog intenziteta koja je srazmerna broju spinova u uzorku. Kada su svi molekuli Tempona deuterisani i kada spektri prikazani na slikama potiču od iste količine uzorka (a dobijeni su na istoj temperaturi i korišćenjem iste frekvencije mikrotalasnog zračenja), ukupna površina ispod tri linije u EPR spektru ^{14}N -PDT molekula, nalaziće se ispod samo dve linije EPR spektra ^{15}N -PDT molekula. S obzirom da ne dolazi do širenja linija, pikovi ^{15}N -PDT molekula su većeg intenziteta u odnosu na pikove ^{14}N -PDT.

Opis EPR spektrometra i način detekcije EPR signala

EPR spektrometar je uređaj pomoću koga se može detektovati prethodno opisani fenomen elektronske paramagnetne rezonancije. Osnovna razlika između EPR i optičkog

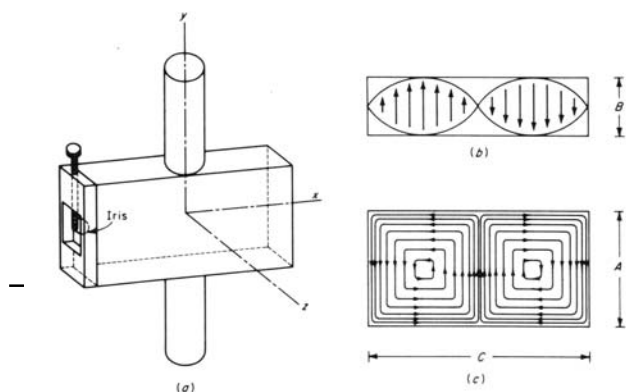


Slika 6. Opšta shema EPR spektrometra.

spektrometra je u tome što EPR spektrometar kao izvor elektromagnetnog zračenja koristi klistron koji emituje monohromatsko mikrotalasno zračenje dok se linearno menja vrednost magnetnog polja u rezonatoru u kome se nalazi uzorak. Uopštena šema jednog EPR spektrometra prikazana je na slici 6.

Kada se promenom spoljašnjeg magnetnog polja uspostavi rezonantni uslov, dolazi do apsorpcije energije mikrotalasa što se ogleda u promeni detektorske struje. Detektor je uređaj na bazi poluprovodnika koji konvertuje mikrotalase u jednosmernu struju. Takođe, ovaj spektrometar poseduje i sistem za modulaciju, koji pomoću naizmeničnog magnetnog polja male amplitude jednosmerni signal prevodi u naizmenični signal. Ovaj naizmenični signal može se i pojačati fazno osetljivim pojačavačam. Uobičajena frekvencija mikrotalasa na kojoj se vrši EPR snimanje je oko 9,5 GHz.

Centralni deo EPR sistema predstavlja rezonatorski prostor (*cavity*) u koji se smešta uzorak. Mikrotalasi koji se koriste u EPR spektrometriji, kao i svako elektromagnetno zračenje, imaju vektore električnog (E_1) i magnetnog polja (H_1) koji svoje maksimalne vrednosti ne postižu u istoj tački. U rezonatorskom prostoru uzorak se smešta na poziciji sa



Slika 7. EPR rezonatorski deo u obliku paralelopipeda (TE_{102} cavity).

(a) Oblik rezonatorskog prostora. Iris omogućava regulaciju dotoka mikrotalasne energije.

(b) Konture linija električnog polja u xz ravni.

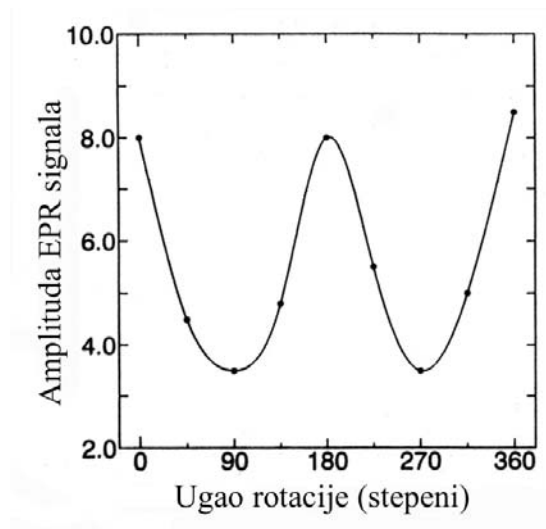
(c) Konture linija magnetnog polja u xy ravni.

maksimumom H_1 i to tako da H_1 bude normalno na spoljašnje magnetno polje H . Rezonatorski deo EPR spektrometra koji je obično u obliku paralelopipeda prikazan je na slici 7.

Položaj uzorka u rezonatorskom prostoru od velikog je značaja za intenzitet linija dobijenog spektra. Na slici 8. prikazana je zavisnost intenziteta EPR signala od ugla rotacije uzorka film dozimetra, koji nema cilindričnu simetriju, u rezonatoru. Za merenja se iz ovog razloga često koriste cilindrične kivete čija orijentacija u magnetnom polju nema uticaja na intenzitet dobijenog EPR signala.

Kao izvor mikrotalasnog zračenja koristi se klistronska cev koja u zavisnosti od napona koji se na nju dovodi, emituje monohromatski mikrotalas određene frekvencije.

EPR spektrometar poseduje sistem za modulaciju u cilju povećanja odnosa signal/šum. Modulacija polja se postiže pomoću Helmholtzovih zavojnica koji se postavljaju sa svake strane rezonatorskog prostora duž ose spoljašnjeg magnetnog polja. Kao detektor, najčešće se koristi silicijumski kristal koji se ponaša kao mikrotalasni ispravljač. Ovaj detektor proizvodi šum koji je obrnuto proporcionalan frekvenciji detektovanog signala.

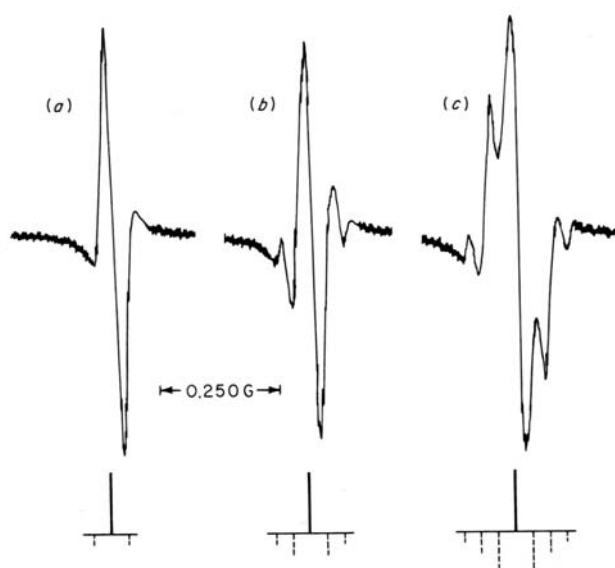


Slika 8.

Zavisnost amplitude EPR signala od ugla rotacije za film-dozimetar snimanog u TE_{102} rezonatoru.

Najčešće se koristi modulaciona frekvencija od 100 kHz. Mana ovakvog sistema je moguća pojava modulacionih linija sa obe strane apsorpcione linije (± 35 mG). Ove linije se obično ne vide, ali mogu praviti probleme prilikom detekcije vrlo uskih linija (reda < 50 mG). Intenzitet modulacionih linija se povećava sa porastom modulacione amplitude. Modulacione linije su u obrnutoj fazi u poređenju sa apsorpcionim linijama. Na slici 9. prikazano je

postepeno maskiranje signala od strane modulacionih linija, sa porastom modulacione amplitude. Ako se koriste niske modulacione amplitude radi izbegavanja pojave ovih linija, povećaće se rezolucija uređaja, ali će se smanjiti njegova osetljivost. Smanjenje same modulacione frekvencije uticalo bi na povećanje šuma detektora. Smanjenje modulacione frekvencije, bez povećanja detektorskog šuma, uz postizanje bolje rezolucije, bez gubitka osetljivosti, postiže se pomoću kontra-diode. Ona omogućava smanjenje modulacione frekvencije do 10 kHz uz istu osetljivost kao silicijumski kristal na 100 kHz.



Slika 9.

Zavisnost veličine modulacionih linija koje se javljaju pored apsorpcione linije F-centra u CaO u zavisnosti od modulacione amplitude.

(a) Modulaciona amplituda 4mG.

(b) Modulaciona amplituda 20mG.

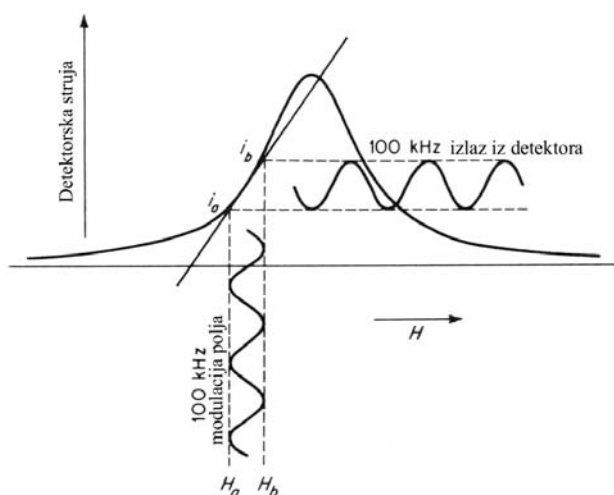
(c) 50mG.

Ako je modulaciona amplituda mala u odnosu na širinu linije, dobiće se sinusoidna zavisnost struje detektora, koja će pratiti oblik apsorpcione linije po zakonu promene modulacione frekvencije magnetnog polja. Ovaj proces je prikazan na slici 10.

Apsorpcionu liniju EPR signala uređaj prikazuje kao prvi izvod, mada postoji i mogućnost detekcije signala kao drugog izvoda (slika 11). Širina linije se može prikazati ili kao širina linije na poluvisini apsorpcione linije (I), ili kao razmak između ekstremuma prvog izvoda linije (ΔH_{pp}). Intenzitet neke linije u spektru se obično definiše kao ukupna amplituda signala između ekstremuma prvog izvoda linije ($2Y'_{max}$ ili A_{pp}).

Ako se koristi modulaciona amplituda čija se veličina približava širini linije, dolazi do distorzije oblika linije, tako da u opštem slučaju, modulaciona amplituda treba da zadovolji uslov da je $MA \leq 0.2 \Delta H_{pp}$.

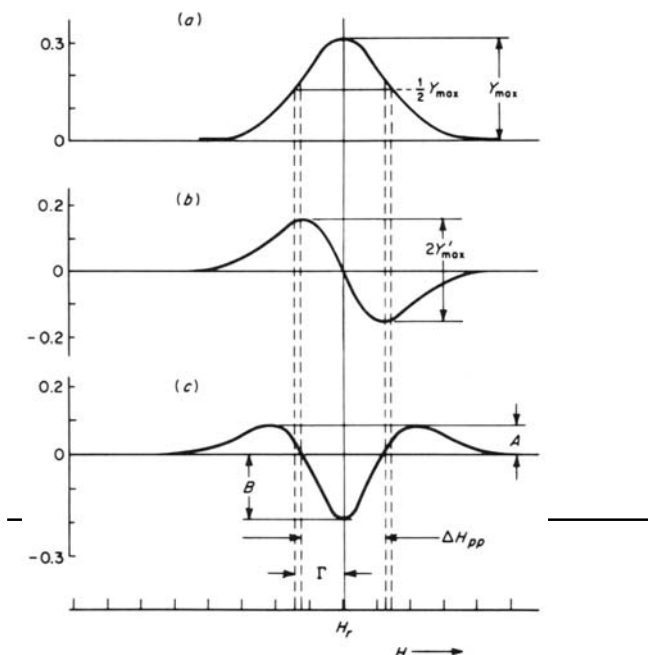
Širina EPR linija zavisi od više faktora. Jedan od faktora je spin-rešetka relaksaciono vreme, T_1 , koje predstavlja dužinu života određenog spinskog stanja. Što je T_1 manje veća je širina linije, što se može objasniti preko Hajzenbergove relacije neodređenosti ($\Delta W \cdot \Delta t \geq h/2\pi$), gde Δt predstavlja vreme relaksacije, a ΔW neodređenost energije. Smanjeno vreme relaksacije povećava neodređenost energije, tj. energijski nivoi će se "razmazati", što i dovodi do širenja linija dobijenog EPR spektra.



Slika 10.

Efekt modulacije magnetnog polja malom modulacionom amplitudom sa frekvencijom od 100 kHz, na izlaznu struju kristalnog detektora. Statično magnetno polje se modulira u granicama od H_a do H_b , dok se odgovarajuća struja detektora menja u granicama od i_a do i_b .

Drugi od faktora je pojava da u datom trenutku nisu svi spinovi istovremeno u rezonanciji, jer na njih lokalno deluje različito efektivno magnetno polje (nehomogeno širenje). Posmatrana linija je zbog toga superpozicija velikog broja individualnih komponenti koje su malo pomerene jedna u odnosu na drugu i najčešće ima Gausovski oblik. Pored



Slika 11.

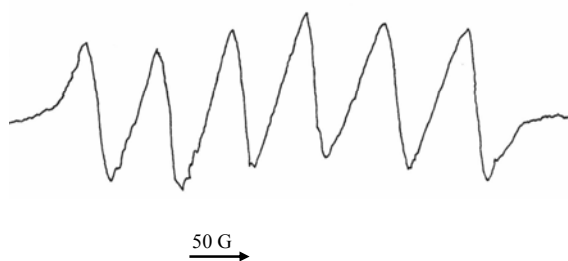
- (a) Apsorpcioni spektar.
- (b) Prvi izvod apsorpcionog spektra.
- (c) Drugi izvod apsorpcionog spektra.

nehomogenog magnetnog polja, ovakav efekat izazivaju i anizotropnosti kod slučajno orijentisanih sistema u čvrstom stanju.

Treći od faktora predstavlja spin-spin relaksacija. Spin-spin interakcija postoji u svim sistemima osim u onima koji su veoma razblaženi. To je interakcija nesparenog elektrona sa susednim nesparenim elektronom. Elektron svojim sopstvenim magnetnim poljem, menja fluktuirajuće magnetno polje oko posmatranog elektrona što se rezultuje širenjem EPR linija (oblik linije u ovakvim slučajevima je obično Lorencov, tj. može se najbolje opisati Lorencovom funkcijom). Zbog toga se za opisivanje širine linije uvodi spin-spin relaksacija, koja je po definiciji linearno povezana sa širinom linije (ΔH_{pp}).

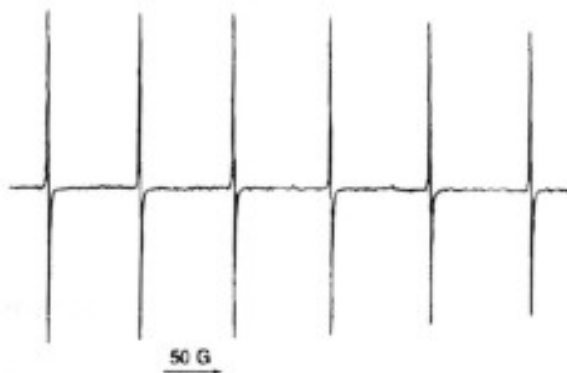
$$1/T_2 = \text{const } \Delta H_{pp}, \text{ tj. } 1/T_2 = 1/T_2' + 1/2T_1 \quad (3)$$

gde je T_2' spin-spin relaksaciono vreme.



Slika 12.

EPR spektar Mn^{+2} iz koncentrovanog rastvora MnCl_2 . Izražen je efekat širenja linija zbog spin-spin interakcije



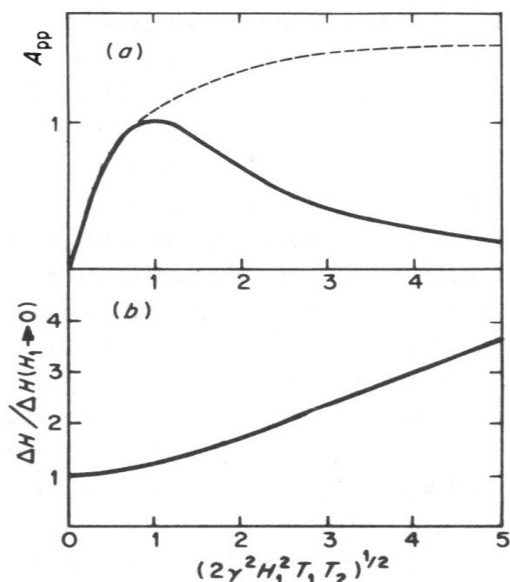
Slika 13.

Tipičan spektar $\text{Mn}^{+2}/\text{MgO}$ nakon "magnetnog" razblaživanja mangana (odnos $\text{Mn}/\text{Mg} = 1:500$)

S obzirom da je kod većine sistema $T_1 \gg T_2'$ može se smatrati da je $T_2 \cong T_2'$. Primer za ovakav efekat širenja je ilustrovan EPR spektrima mangana u koncentrovanom rastvoru MnCl_2

(Slika 12), i u smeši Mn^{+2}/MgO (Slika 13) gde zbog "magnetnog" razblaživanja dolazi do sužavanja linija.

Ovakav "magnetno razblažen" mangan, koristi se u merenjima kao spoljašnji standard jer njegove široko raspoređene EPR linije praktično ne zaklanjaju EPR linije uzorka.



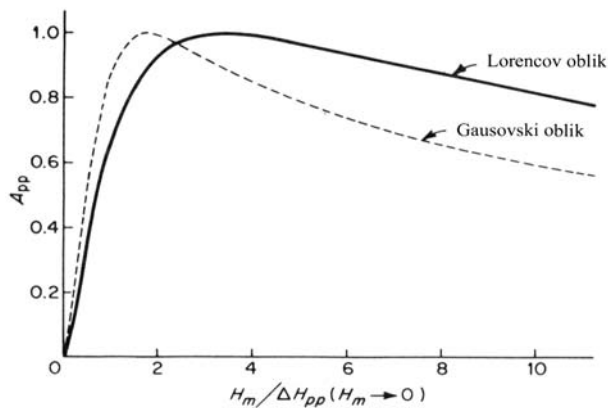
Slika 14.

(a) Zavisnost amplitude EPR signala (A_{pp}) od mikrotalasnog magnetnog polja (H_1) koje je proporcionalno korenu mikrotalasne snage ($P^{1/2}$) za homogeno proširenu EPR liniju. Linija sa crtama odnosi se na nehomogeno proširenu liniju.

(b) Zavisnost širine EPR linije (ΔH_{pp}), od H_1 za homogeno proširene linije.

Postoji veliki broj drugih interakcija koje utiču na oblik spektra i širinu linije, ali je potrebno istaći da i parametri snimanja EPR spektara, od kojih su najvažniji snaga mikrotalasa i modulaciona amplituda, mogu znatno uticati na oblik spektra i širinu linije.

Izbor snage mikrotalasa (P) je veoma bitan u cilju dobijanja pika maksimalnog intenziteta tj. povećavanju odnosa signal/šum. Na nivoima snage koji su veći od 10^{-4} W,



Slika 15:

Intenzitet pika u zavisnosti od odnosa $MA/\Delta H_{pp}$.

veličina izlaznog signala sa detektora (tj. intenzitet signala), će biti proporcionalna korenu mikrotalasne snage. Signal po ovom zakonu linearno raste sa korenom mikrotalasne snage sve do trenutka kada postepeno dolazi do saturacije, a zatim intenzitet signala opada (Slika 14).

Širenje linije, a samim tim i opadanje amplitude signala prvog izvoda nakon saturacije se takodje može objasniti preko principa neodređenosti. Veća mikrotalasna snaga uzrokuje brže prelaze između spinskih nivoa ("T₁-efekat") i samim tim smanjuje vreme relaksacije, što dovodi do širenja linije.

Modulaciona amplituda (*MA* ili *H_m*) ima mnogo veći uticaj na intenzitet i širinu linije od snage (*P*) (Slika 15). Povećanjem *MA* linearno se povećava *A_{pp}* (tj. raste signal/šum), ali kako se vrednost *MA* približava vrednosti ΔH_{pp} , intenzitet signala počinje da odstupa od linearne zavisnosti, za vrednosti $MA > \Delta H_{pp}$ dolazi do maksimuma, a zatim polako opada. Važno je primetiti da širina linije, ΔH_{pp} , počinje da raste pre nego što se dostigne maksimum.

Pravilan izbor *MA* i *P* od velike je važnosti pri snimanju EPR spektara. Ukoliko ispitivani uzorak daje signal sa dobrim odnosom signal/šum, oba parametra treba izabrati tako da ne dolazi do distorzije linije što omogućava dobru rezoluciju i merenje pravih spektralnih parametara linije. Ukoliko rezolucija i pravi oblik linije nisu od primarne važnosti, a postoji problem sa odnosom signal/šum, onda se može tolerisati povećavanje oba parametra do onih vrednosti koje daju maksimalan signal. Kod uzoraka koji imaju više od jedne spinske vrste moraju se praviti kompromisi ili se spektri snimaju više puta uz podešavanje uslova za svaku pojedinačnu vrstu.