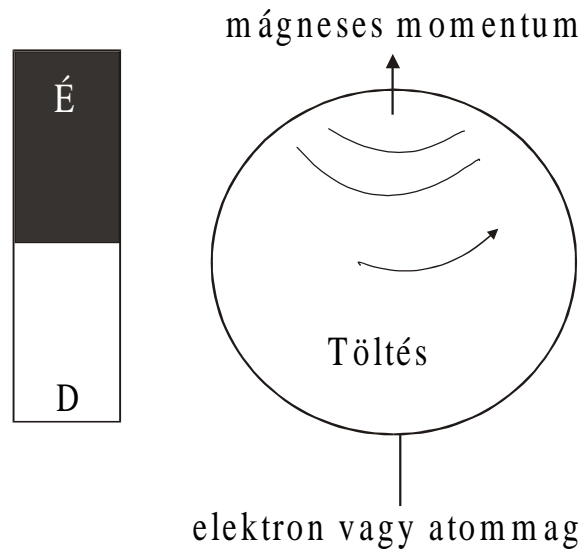


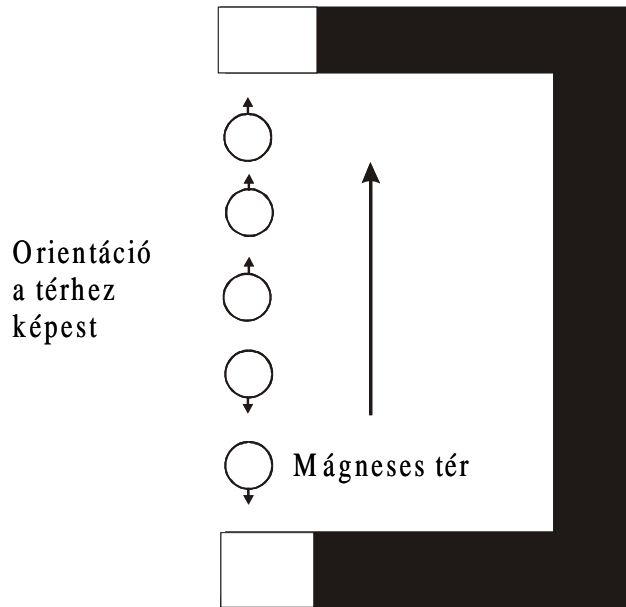
Elektron spin rezonancia (ESR)

A molekulákban fizikai illetve biológiai rendszerekben található elektronok túlnyomó többsége olyan párokban található, amelyek spinjei ellentétes orientációt mutatnak. Ezek az ún. diamágneses rendszerek, amelyek külső mágneses térrel nem lépnek kölcsönhatásba. Abban az esetben, ha az elektronnak nincs ellentétesen orientált spinű párja, ún. párosítatlan elektronnól beszélünk, ami mágneses térrel kölcsönhatásba lép. Ezen rendszereket paramágneses rendszereknek nevezzük (1. ábra).

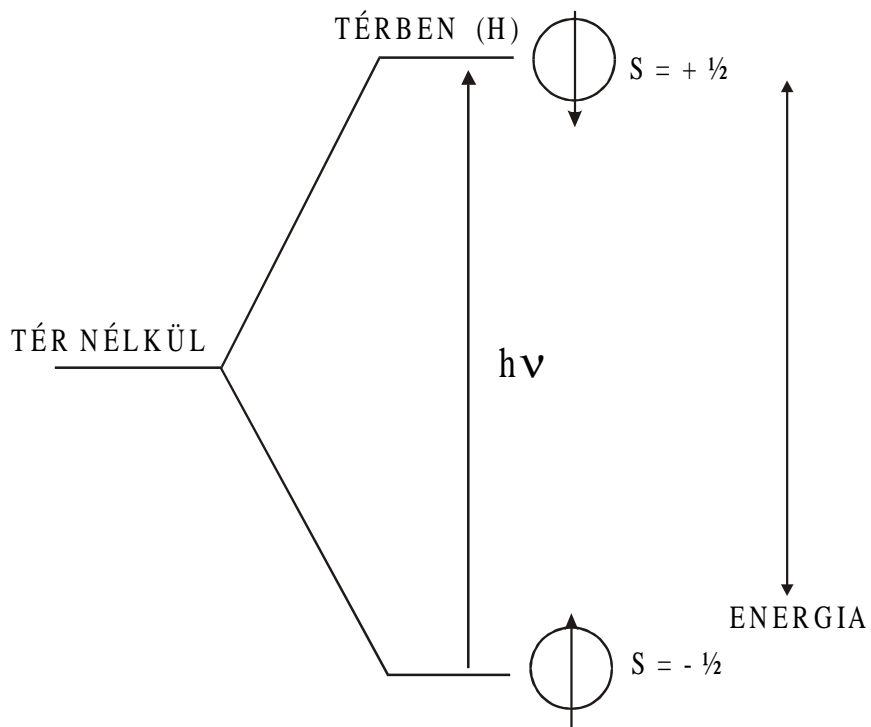


1. ábra. Az elektronok illetve egyes atommagok mágneses momentummal rendelkeznek

Külső mágneses tér alkalmazása esetén a mágneses momentumok (a spin iránya) a tér irányához képest diszkrét (kvantált) orientációkat vesz fel. Ez a legegyszerűbb esetben a külső térrel azonos vagy ellentétes irányt jelent (2. ábra). A különböző orientációk különböző energiaszinteknek felelnek meg (a térrel párhuzamos a legalacsonyabb, a tér irányával ellentétes a legmagasabb). Így a külső mágneses térbe helyezett párosítatlan elektron diszkrét energiaszintekkel rendelkezik. Az elektron spinjének orientációja, azaz energia állapota, elektromágneses sugárzással megváltoztatható, ha annak energiája megegyezik a különböző spin-orientációkhoz tartozó energia különbséggel. Az elv ugyanaz, mint az optikai spektroszkópiánál, ahol az elektron megfelelő fény (azaz elektromágneses sugárzás) elnyelés hatására magasabb energiájú állapotba kerül (3. ábra).



2. ábra. Az elektron mágneses momentumának orientálódása külső mágneses térben



3. ábra. Elektromágneses sugárzás által indukált átmenet a külső mágneses térben felhasadt energiaszintek között.

A mágneses térbe helyezett párosítatlan elektron energiaszintjei közötti különbség azonban jóval kisebb, mint az atomi vagy molekula pályák közötti energia különbség. Ezért az elektron spin orientáció megváltoztatásához (azaz a rezonancia feltétel teljesítéséhez) az elektromágneses spektrumnak nem a látható, hanem a mikrohullámú tartományába eső sugárzást kell alkalmazni. A spin orientáció megváltozásához szükséges energiaelnyelés (vagy kibocsátás) megfigyelése az ESR spektroszkópia alapja.

A mágneses térbe helyezett párosítatlan elektron energiaszintjei közötti különbség,

$$E = -\mu\mathbf{H} \quad (1)$$

ahol az E energia, μ a mágneses momentum, \mathbf{H} a külső mágneses tér térerőssége.

A rezonancia létrejöttének feltétele az, hogy az elektromágneses tér energiája,

$$E = h\nu, \quad (2)$$

ahol E az energia, h a Planck állandó, ν a frekvencia, megegyezzen a mágneses térrel való kölcsönhatás miatt kialakuló energia különbséggel (1).

A mágneses momentum nagysága a következő módon adható meg:

$$\mu = -g\beta\mathbf{S}, \quad (3)$$

ahol S a spínkvantumszám, β a Bohr magneton, g pedig egy arányossági tényező, amelynek értéke erősen függ a párosítatlan elektront hordozó molekula tulajdonságaitól.

Fentiek alapján a rezonancia feltétel:

$$h\nu = g\beta\mathbf{H}\mathbf{S} \quad (4)$$

Abban a legegyszerűbb esetben, amikor a spinnek csak kétféle orientációja van a külső mágneses térhez képest az S lehetséges értékei $-1/2$ (párhuzamos) és $+1/2$ (ellentétes irányú).

Ekkor a rezonancia feltétel:

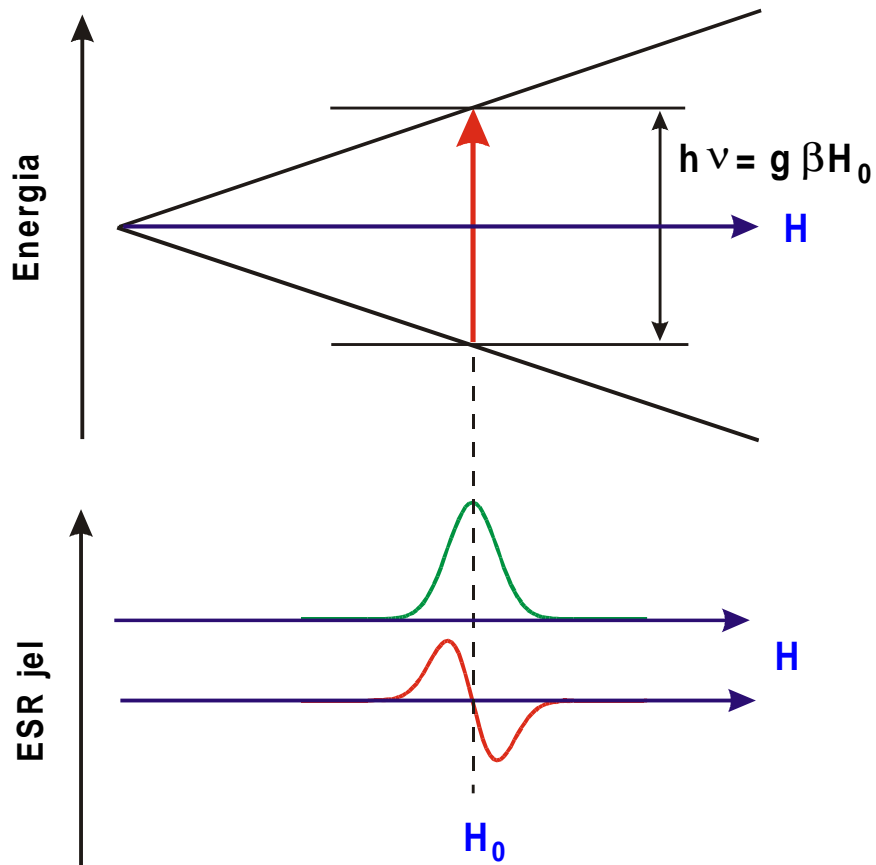
$$h\nu = g\beta\mathbf{H}(1/2) - g\beta\mathbf{H}(-1/2) = g\beta\mathbf{H}$$

Tipikus ESR mérési körülmények között $H = 0.3 \text{ T}$ (3000 G), ν pedig kb. 9 GHz.

Méréstechnika

A rezonancia feltételt leíró kifejezésben két változó (változtatható) mennyiség van, az elektromágneses sugárzás frekvenciája és a külső mágneses tér. A mikrohullámú frekvencia tartományban nem lehet folyamatosan változtatható frekvenciájú sugárforrást előállítani. Ezért az ESR mérésnél állandó mikrohullámú frekvencia mellett a mágneses tér erősségét

változtatják, és így pásztázzák végig a rezonancia szempontjából szobajöhető tartományt. A detektálás során nem közvetlenül az abszorpciót, hanem annak első deriváltját mérik, ami a jel feloldását megnöveli (4. ábra).



4. ábra ESR mérésnél a rezonancia kialakítása állandó mikrohullámú és változó mágneses tér alkalmazásával történik.

Mivel a víznek szobahőmérsékleten igen nagy a mikrohullámú tartományban az abszorpciója (mikrosütő) ezért a mintát lehűtik. Folyékony N_2 hőmérséklet (77 K) elegendő a víz abszorpciója miatti probléma kiküszöbölésére. A legtöbb jel azonban csak ennél alacsonyabb hőmérsékleten mérhető, ezért ESR méréseknél tipikus a folyékony héliummal hűtött kriosztátok alkalmazása, aminek 1.8 K-ig lehet a hőmérsékletet csökkenteni.

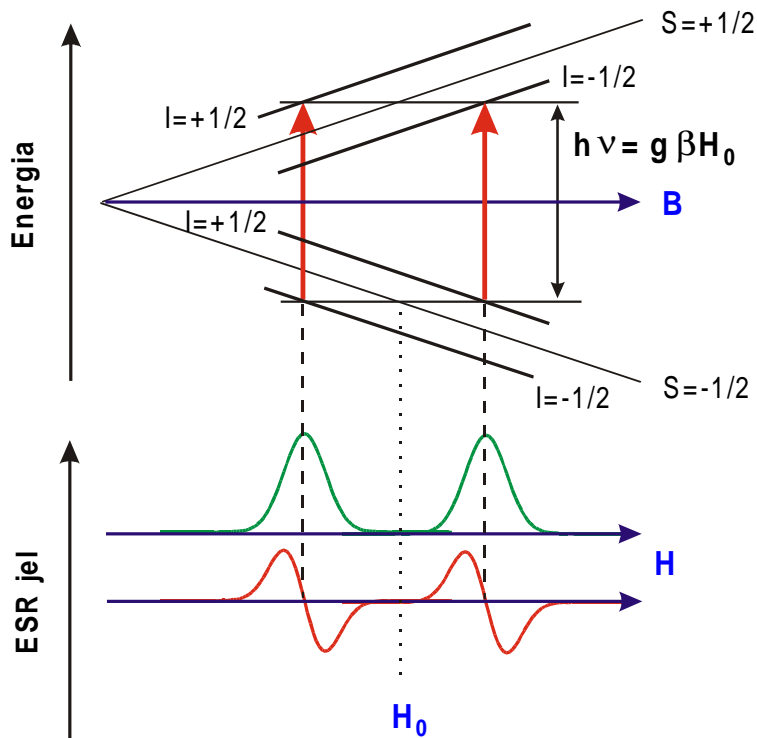
Környezeti kölcsönhatások

Az elektron spinek környezetükkel energetikai kölcsönhatásban vannak. Ennek eredményeként az elektromágneses sugárzás elnyelésével magasabb energiaszintre hozott spin rendszer, az elnyelt energiát környezetének előbb-utóbb átadja és így visszajut az

alacsonyabb energiaszintre. Ez a relaxációnak nevezett folyamat az energiát első lépésben a spin rendszerről az atomok (molekulák) által alkotott rácshoz közvetíti hő formájában, ezért spin-rács relaxációnak is nevezik. Majd az energia a rácstól a környezetbe kerül. Ez a folyamat analóg az optikai spektroszkópiából ismert sugárzás nélküli, hő formájában történő, energia disszipációval. A spin relaxáció időbeli kinetikájának mérése a környezettel való kölcsönhatásról ad információt.

Hiperfinom kölcsönhatások

Ha a párosítatlan elektron olyan molekulában található, amely mágneses momentummal rendelkező atommagot tartalmaz, az elektron és a magspin egymással kölcsönhatásba lép. Ez lényegében annyit jelent, hogy az elektronspin a közelében lévő mag mágneses momentumát külső mágneses térként érzi. Ez az ún. hiperfinom kölcsönhatás, aminek következtében az elektronspinhez (ill. magspinhez) tartozó energiaszintek felhasadnak, és egy ESR átmenet helyett kettő vagy több látható - a magspin értékétől függően (5. ábra).



5. ábra. ESR vonal felhasadás hiperfinom kölcsönhatás eredményeként. S és I jelenti az elektron- és magspinszám értékeit.

Anizotrópia

Szilárd oldatokban az ESR aktív molekulák nem tudnak szabadon mozogni, ezért a külső mágneses térhez képest állandó orientációt tartanak fenn. Ugyanakkor, a párosítatlan elektron sem egyenletesen oszlik el a molekulán, hanem adott elektronpályának megfelelő orientációt mutat. Mivel a rezonancia feltételt meghatározó μ mágneses momentum és a külső mágneses tér H térerőssége vektormennyiségek, skalárszorzatuk nagysága függ kölcsönös orientációjuktól. Ezért a mágneses térhez különböző képen orientált molekulák esetén különböző energia értékek esetén van rezonancia, azaz abszorpció. Ennek következtében a szilárd oldatokban mért ESR spektrumok vonalai kiszélesednek, amit anizotrópiának nevezünk. A szabad elektron g faktor értéke 2.00232. Egy molekulán vagy komplex biológiai rendszeren belül ez az érték jelentősen függ a környezettől, valamint a molekulának a mágneses térhez való orientációjától. A g faktor anizotrópiájának leírására általános esetben egy tenzor szükséges. Megfelelő koordináta rendszer alkalmazása esetén három mennyiség, a g_x , g_y , és g_z elegendő a faktor teljes jellemzésére. Ezen értékek megfelelnek azon g faktoroknak, amelyek akkor mérhetők, ha a mágneses térrendre egy orientált kristály x , y és z tengelyei irányába mutat. Egy axiális szimmetriával rendelkező kristály esetén $g_x = g_y \neq g_z$. Ekkor két g érték elegendő az anizotrópia leírására, amelyeket g_{\perp} ($= g_x = g_y$) és g_{\parallel} ($= g_z$) szimbólumokkal jelölünk. Egy oldatban gyorsan mozgó molekula esetén az ún. átlagos g faktor, a $g_0 = (g_x + g_y + g_z) / 3$ mérhető.

Orientáció

Ha az ESR minta rendezett szerkezetű (pl. kristály, vagy a molekulák mechanikusan orientáltak), akkor lényegében az összes molekulán található elektronspin azonos orientációban van a külső mágneses térhez képest. Mivel a rezonanciához szükséges energia függ a spin és a tér kölcsönös orientációjától, az ESR spektrum alakja változik, ha a mintát a tér irányához képest forgatjuk. Ilyen mérésekből a spin orientációja a mintához (pl. kristály tengely, vagy egy másik ESR aktív komponens spinjéhez képest meghatározható.

A fotoszintetikus ESR vizsgálatok előnyei és hátrányai

Előnyök:

- Az elektrontranszport minden redox komponense vizsgálható.
- Az ESR aktív állapotról nagyon pontos, elméleti úton jól leírható információk nyerhetők.
- Széles körben elterjedt és alkalmazott, nagyon magas színvonalú műszerezettséggel támogatott módszer.

Hátrányok:

- Költséges berendezés ($\approx 100,000$ USD)
- Legtöbb jel csak folyékony He hőmérsékleten vizsgálható.
- Csak nagyon tiszta preparátumokra alkalmazható, (intakt leveleken, algákon stb. nem).

Mag mágneses rezonancia (NMR)

Mágneses momentummal nemcsak párosítatlan elektronok, hanem egyes atommagok is rendelkeznek. Külső mágneses térben az elektron spinekhez hasonlóan a mag mágneses momentumok is diszkrét irányokba állnak be, amelyekhez különböző energiaszintek tartoznak. Elektromágneses térben ezek között átmenetek jönnek létre, amelyek az ESR-hez hasonlóan detektálhatók. Ez képezi a mag mágneses rezonancia, azaz Nuclear Magnetic Resonance (NMR) mérések alapját. A rezonancia feltétele:

$$h\nu = g_n \beta_n \mathbf{HI}, \text{ ahol}$$

I a mag spin kvantumszám, β_n a mag magneton, g_n pedig a mag g faktora. Mivel az atommagok mágneses momentuma az elektronénál jóval kisebb, a rezonancia kialakításához

szükséges elektromágneses sugárzás energiája kisebb ($\gamma = 600$ MHz), ami a rádiófrekvenciás tartományba esik. Emellett, az NMR mérésekhez szükséges mágneses térerősség nagyobb (≈ 14 T), mint az ESR-nél, ami folyékony He-al hűtött szupravezető mágneseket igényel.

Megfigyelhető:

- Minden olyan rendszerben, ami 0-tól eltérő magspin-kvantumszámú atommagokat tartalmaz.
 ^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^{31}P
- Biológiai rendszerek esetén tipikusan, oldott állapotú mintákon, szobahőmérsékleten.

Információk:

- a vizsgált atomok környezete
- térszerkezet

Biológiai alkalmazások:

- pigment kölcsönhatások
- makromolekulák térszerkezete
- protonációs változással járó folyamatok

A mágneses rezonancia technikák elve az optikai módszerekhez hasonló, érzékenységük és alkalmazhatóságuk azonban nagymértékben különböző (I. táblázat)

	Optikai spektroszkópia	ESR	NMR
Frekvencia	$3 \cdot 10^{14} - 10^{15}$ Hz	$10^{10} - 10^{11}$ Hz	$10^6 - 5 \cdot 10^8$ Hz
Alkalmazható	kromofórok	paramágneses centrumok (átmeneti fémek, gyökök)	magspinnel rendelkező atommagok (^1H , ^{13}C , ^{31}P)
Relatív érzékenység	1000	1	0.001
Spektrális információ	alacsony	alacsony	Magas
Szelektivitás	alacsony	magas	alacsony

I. táblázat. Az optikai ESR és NMR spektroszkópia alapvető jellemzőinek összehasonlítására

Irodalmak:

Knowles, P.F., Marsh, D., Rattle, H.W.E., „Magnetic resonance of biomolecules” (pub. John Wiley, 1976).

Cohen, J.S. „Magnetic Resonance in biology” Vol. 1-2. (pub. Wiley, 1980, 1982).

Foster, M.A., „Magnetic resonance in medicine and biology” (Pergamon, 1985)

Weil, J.A., Bolton, J.R., Wertz, J.E. „Electron paramagnetic resonance” (pub. Wiley, 1994)

Bertini, I. and Drago, R.S. „ESR and NMR of paramagnetic species in biological and related systems” (pub. Kluwer, 1980).