

Einführung in die ENDOR- Spektroskopie

© Priv.-Doz. Dr. Burkhard Kirste
Institut für Chemie und Biochemie
Freie Universität Berlin

Stand: 1996

Inhalt (1)

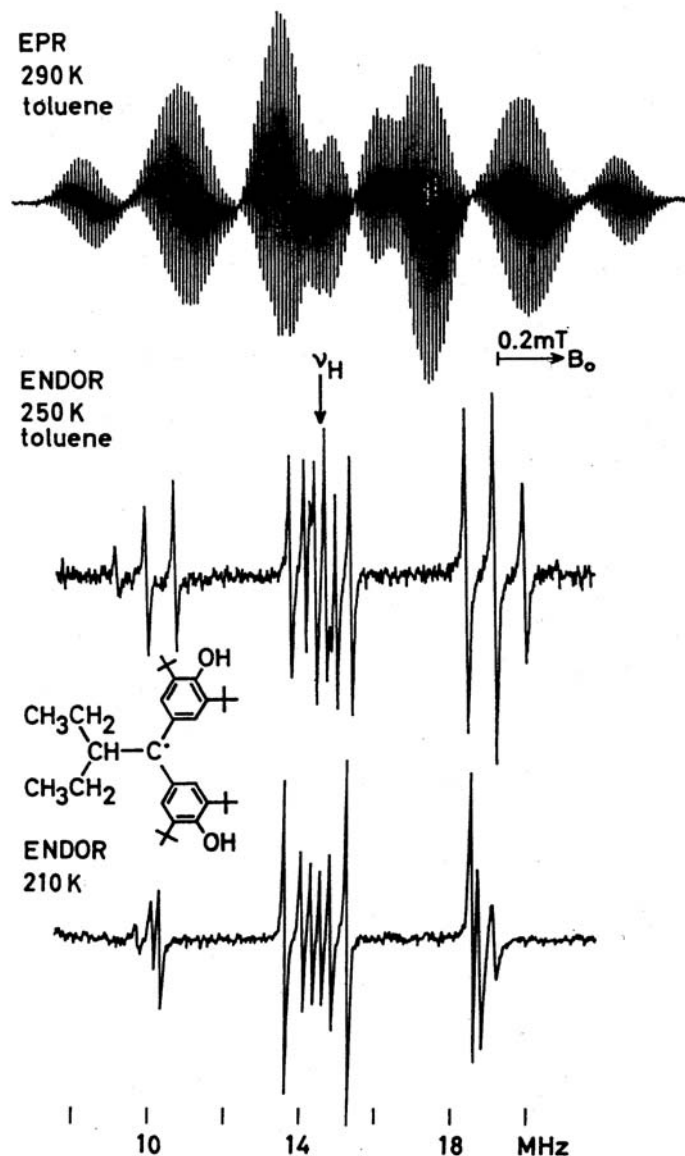
1. Einführung
2. Grundlagen
 - 2.1. ENDOR-Spektroskopie
 - 2.2. TRIPLE-Resonanz
 - 2.3. Spektrometer-Aufbau
3. Theoretische Aspekte der ENDOR-Spektroskopie
 - 3.1. Stromkreis-Analogie
 - 3.2. Bedingungen für das ENDOR-Experiment
 - 3.3. Relaxationsraten
 - 3.4. Optimierung des ENDOR-Effekts
 - 3.5. ENDOR-Signalintensitäten

Inhalt (2)

- 4. ENDOR-Spektroskopie anderer Kernsorten (außer Protonen)
 - 4.1. Wesentliche Kerneigenschaften
 - 4.2. Beispiele (^{13}C , ^2H , ^{14}N , ^{29}Si , ^{23}Na)
 - 4.3. Kreuzrelaxationseffekte
- 5. Spezielle Aspekte
 - 5.1. Anwendung auf biologische Systeme
 - 5.2. Dynamische Prozesse
 - 5.3. Flüssigkristalline Lösungen
 - 5.4. Biradikale und Mehrspinsysteme

1. Einführung

ENDOR-Spektren (unten)
sind erheblich linienärmer
als EPR-Spektren (oben)!



ENDOR - Vorteile

ENDOR = **E**lectron **N**uclear **DO**uble **R**esonance
(Elektron-Kern-Doppelresonanz)

Prinzip: Gleichzeitige sättigende Einstrahlung eines EPR- und eines NMR-Übergangs. Das ungepaarte Elektron in einem freien Radikal dient als „Detektor“ für ein NMR-Experiment.

Vorteile (gegenüber EPR):

- wesentlich höheres Auflösungsvermögen
- Spektren leichter interpretierbar
- Nachweis der betreffenden Kernart (^1H , ^2H , ^{13}C , ^{14}N , ^{19}F ...)
- sog. „Quadrupol-Kopplungen“ messbar (unter best. Bedingungen)

ENDOR - Nachteile, Literatur

Nachteile

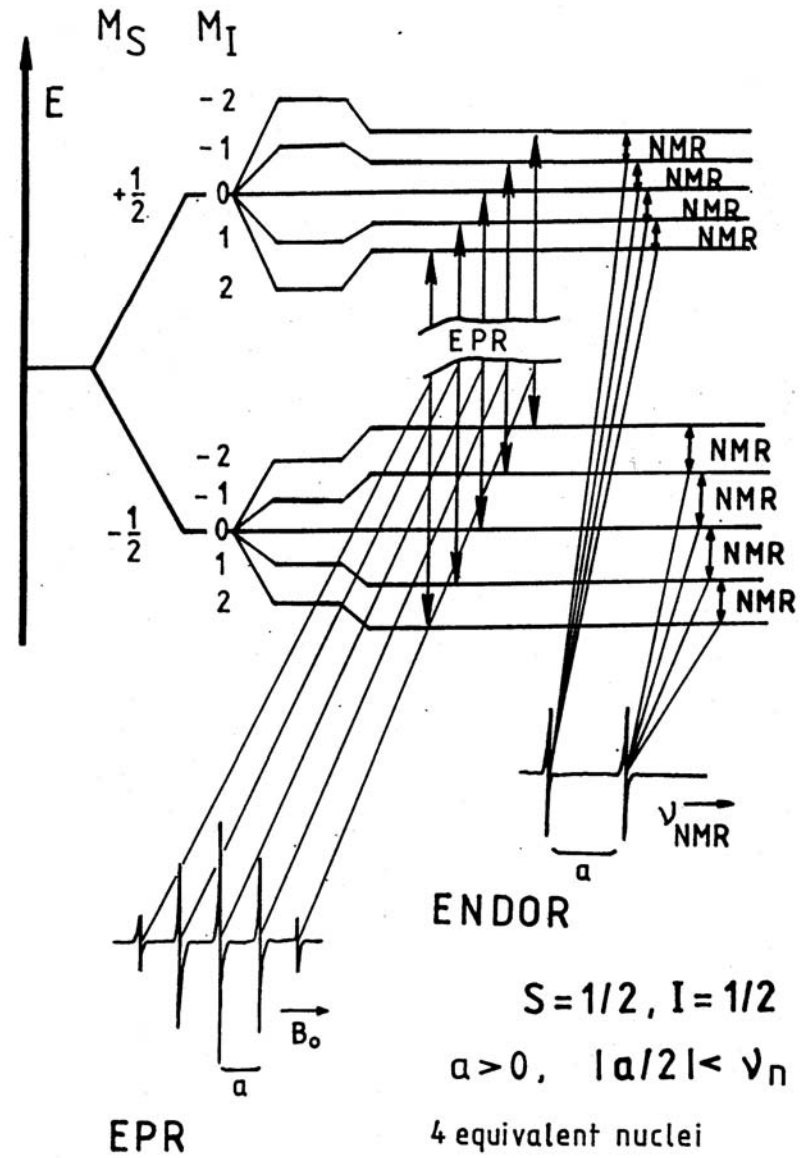
- Empfindlichkeitsverlust (ca. 1-10 % i. Vgl. zu EPR)
- erhöhter apparativer Aufwand
- schwierige Optimierung der exp. Parameter (Konz., Temp., MW- und RF-Leistung ...)

Literaturhinweise

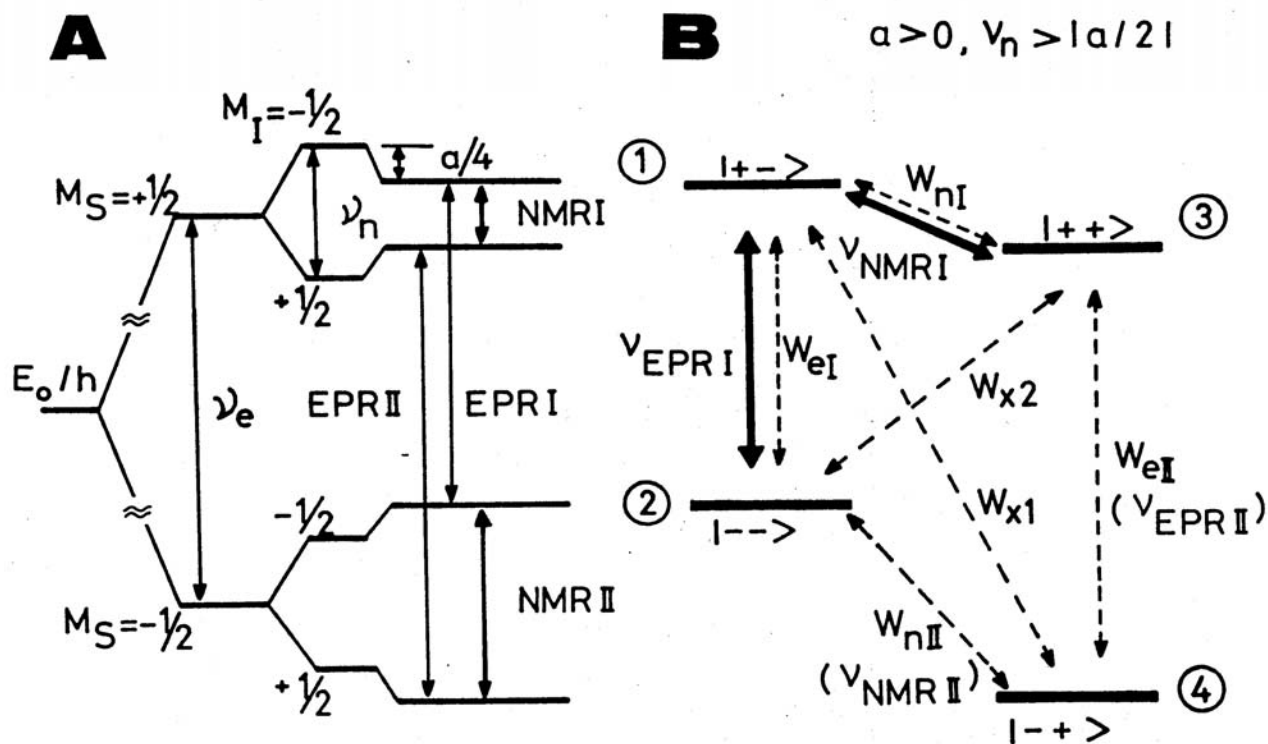
- 1) H. Kurreck, B. Kirste und W. Lubitz, *Angew. Chem.* **1984**, 96, 171-193
- 2) L. Kevan and L.D. Kispert, „Electron Spin Double Resonance Spectroscopy“, Wiley: New York, 1976.
- 3) M.M. Dorio and J.H. Freed (Eds.), „Multiple Electron Resonance Spectroscopy“, Plenum Press: New York, 1979.
- 4) H. Kurreck, B. Kirste and W. Lubitz, „Electron Nuclear Double Resonance Spectroscopy of Radicals in Solution“, VCH: Weinheim, 1988.

2.1. ENDOR Grundlagen: Termschema

Termschema
eines freien
Radikals (HFS)
mit EPR- und
NMR-Übergängen



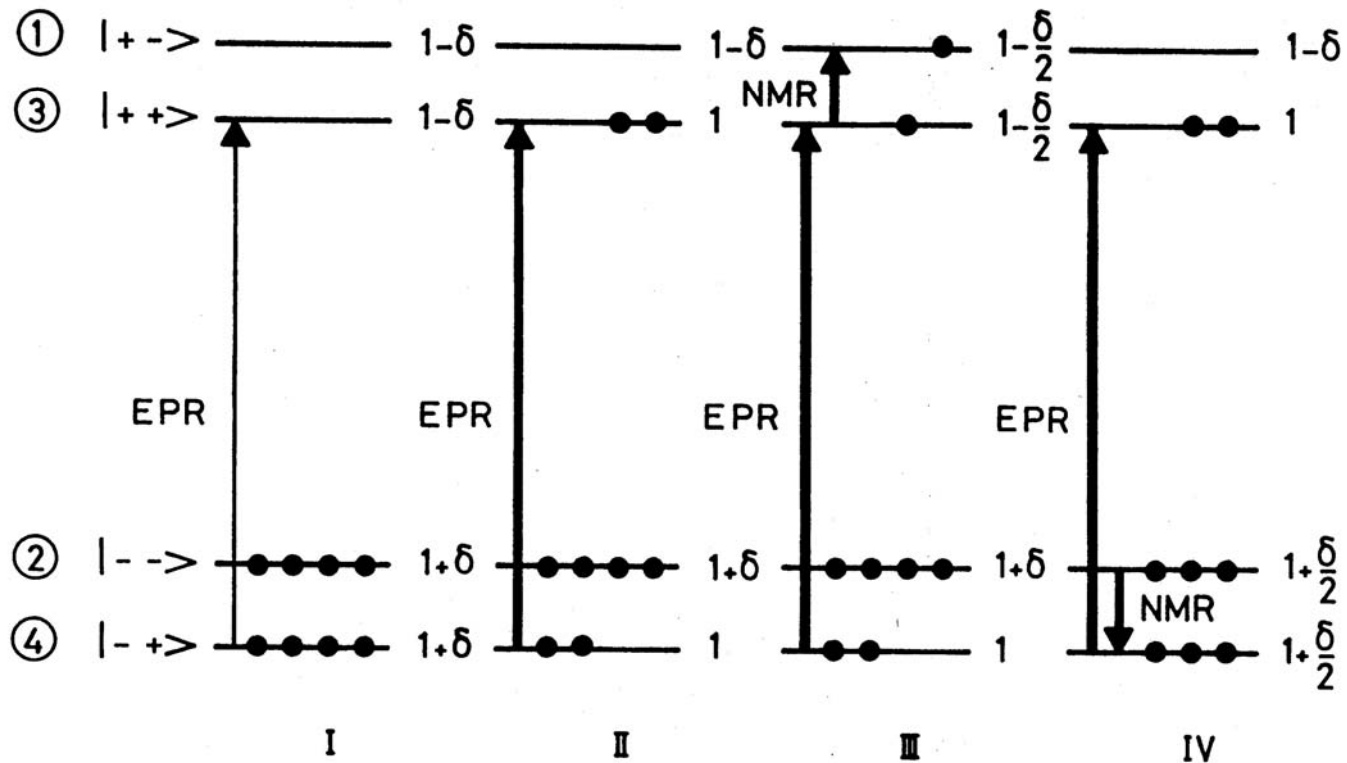
Vier-Niveau-Schema, Relaxationswege



$$E(M_S, M_I) = g\mu_B B_0 M_S - g_n \mu_n B_0 M_I + a M_S M_I$$

Elektronen- Kern-Zeeman HFS

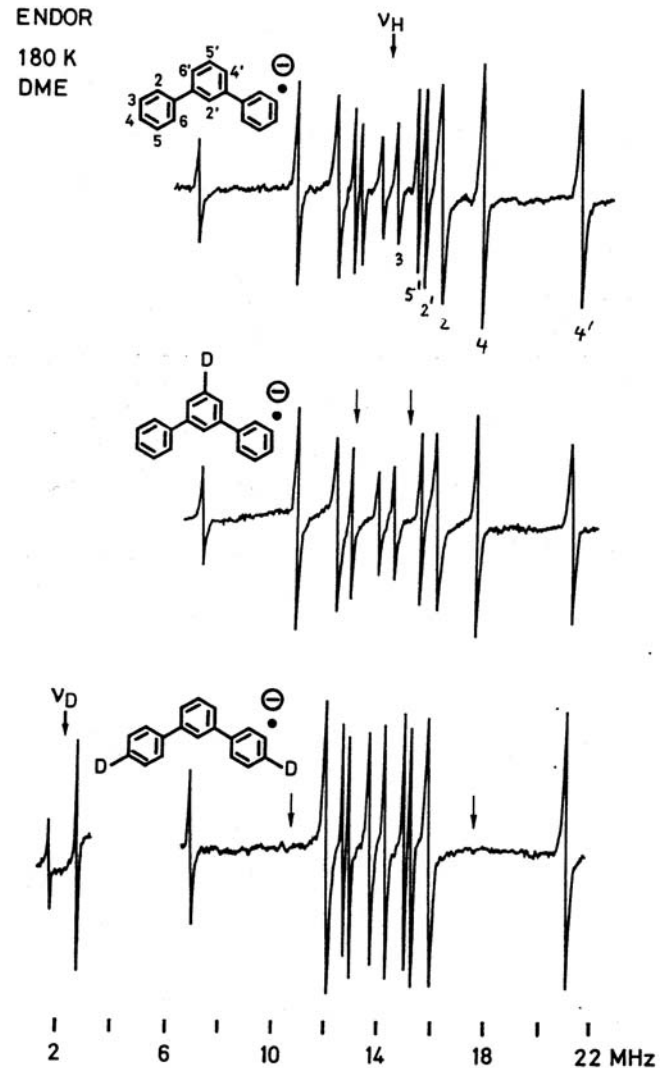
Änderung der Besetzungszahlen



schematisch („Puls-Experiment“): RF-Einstrahlung entsättigt das EPR-Signal

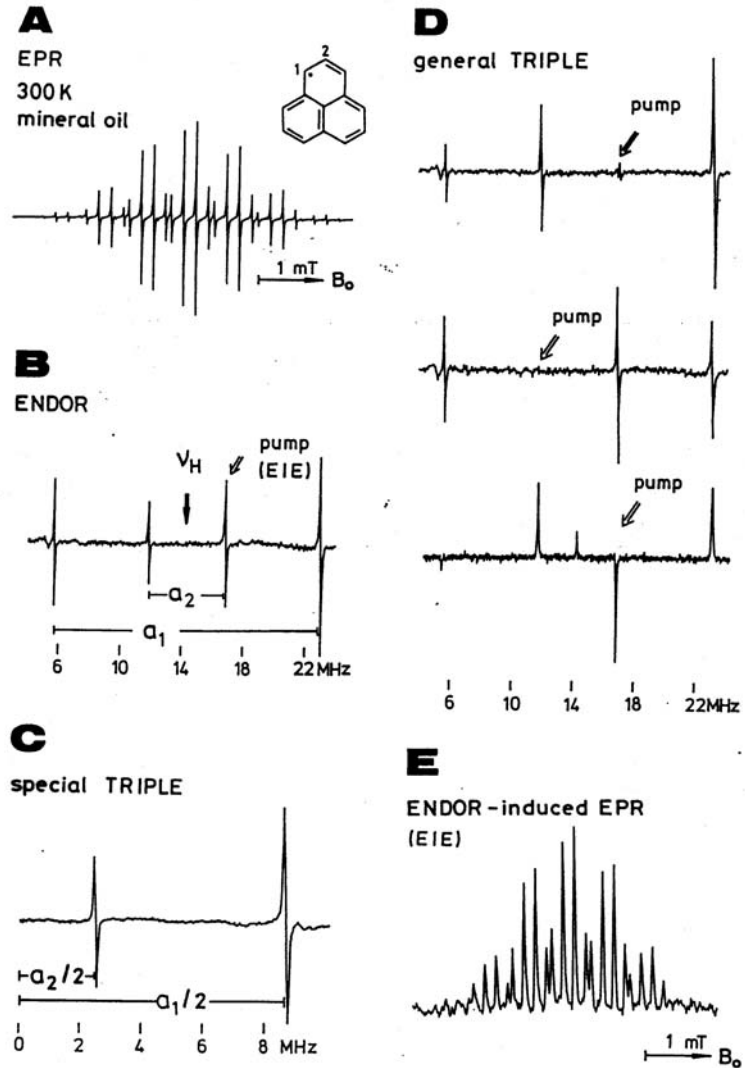
Deuterierung

Selektive Deuterierung ermöglicht eine eindeutige Zuordnung von ENDOR-Signalen zu Molekülpositionen (Beispiel: m-Terphenyl-Anionradikal)

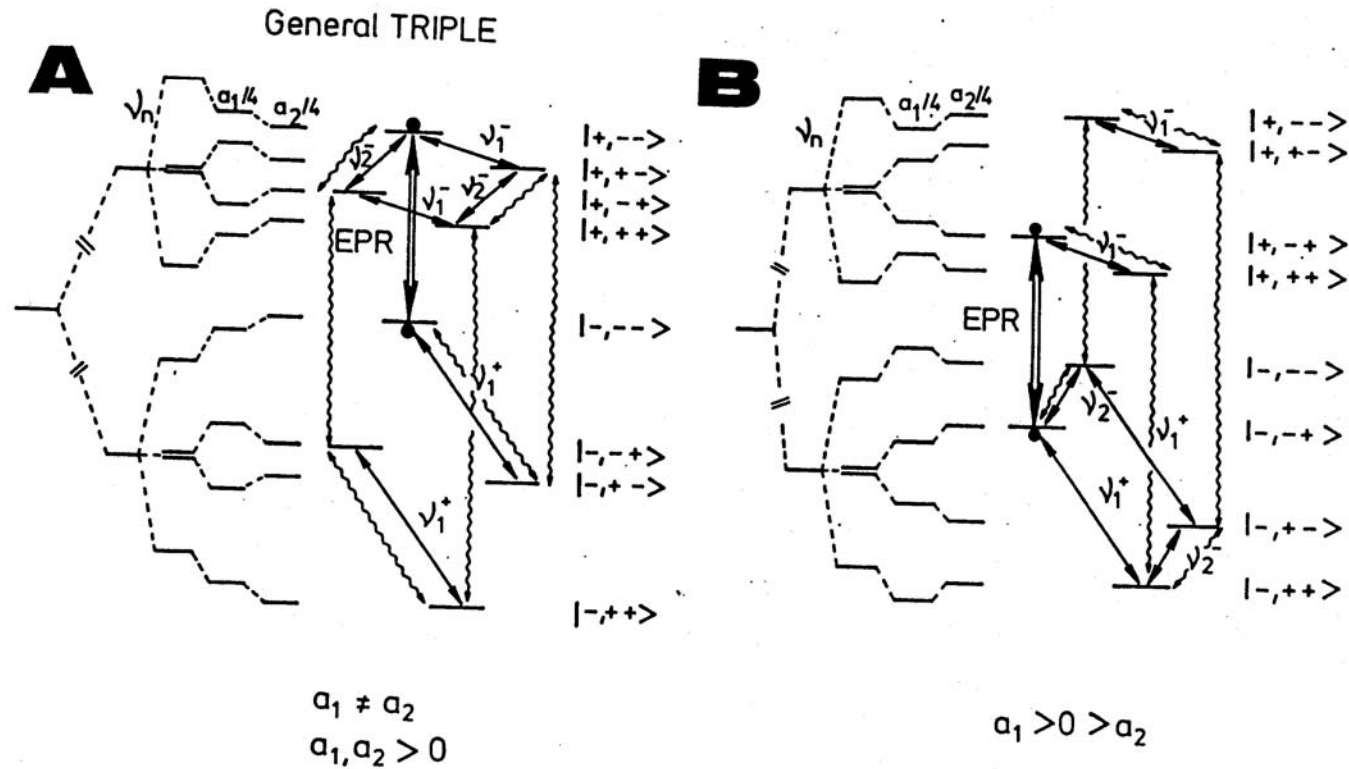


2.2. TRIPLE-Resonanz

Durch „Pumpen“ eines zweiten RF-Übergangs kann man relative Vorzeichen von Kopplungskonstanten (HFS) bestimmen (General TRIPLE)



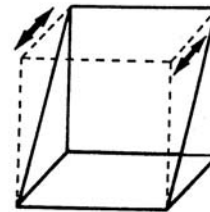
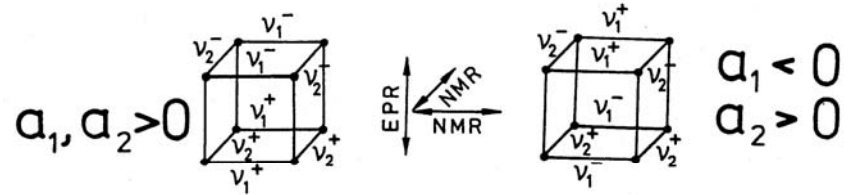
General TRIPLE



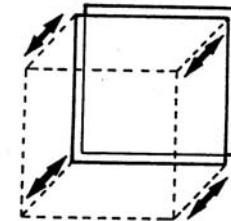
Schemata für gleiche (A) und ungleiche (B) Vorzeichen der HFS-Konst.

TRIPLE: geometrische Modelle

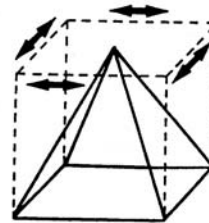
Tetraeder \Rightarrow Signalverstärkung
 Pyramide \Rightarrow Signalabschwächung



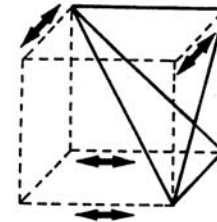
ENDOR



TRIPLE (special)

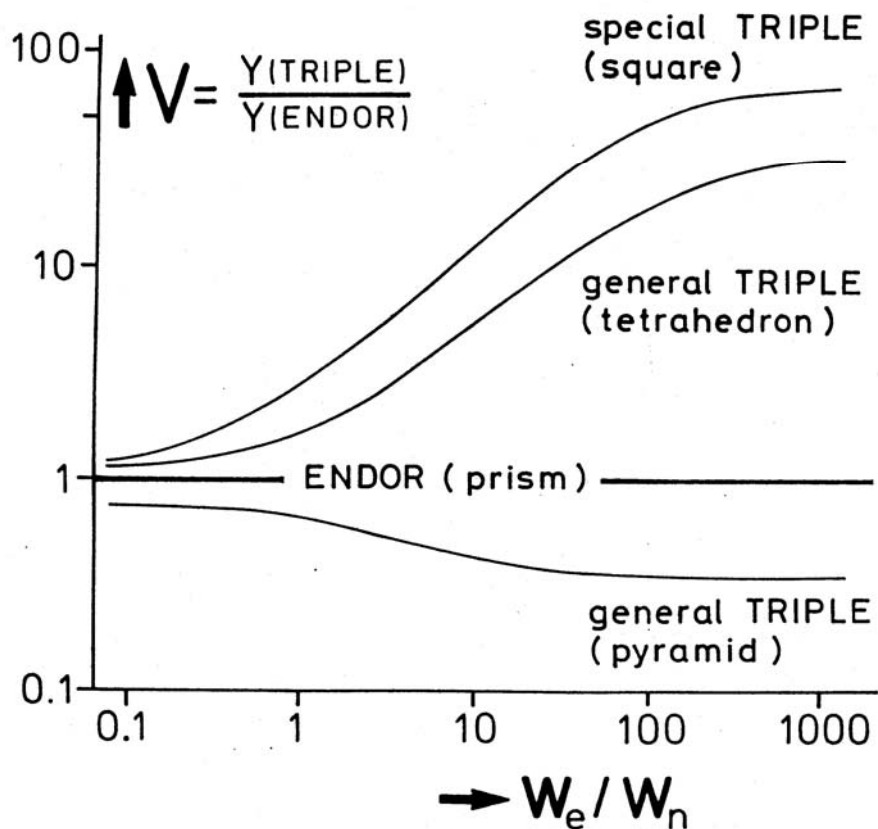


TRIPLE (general)
(pyramid)



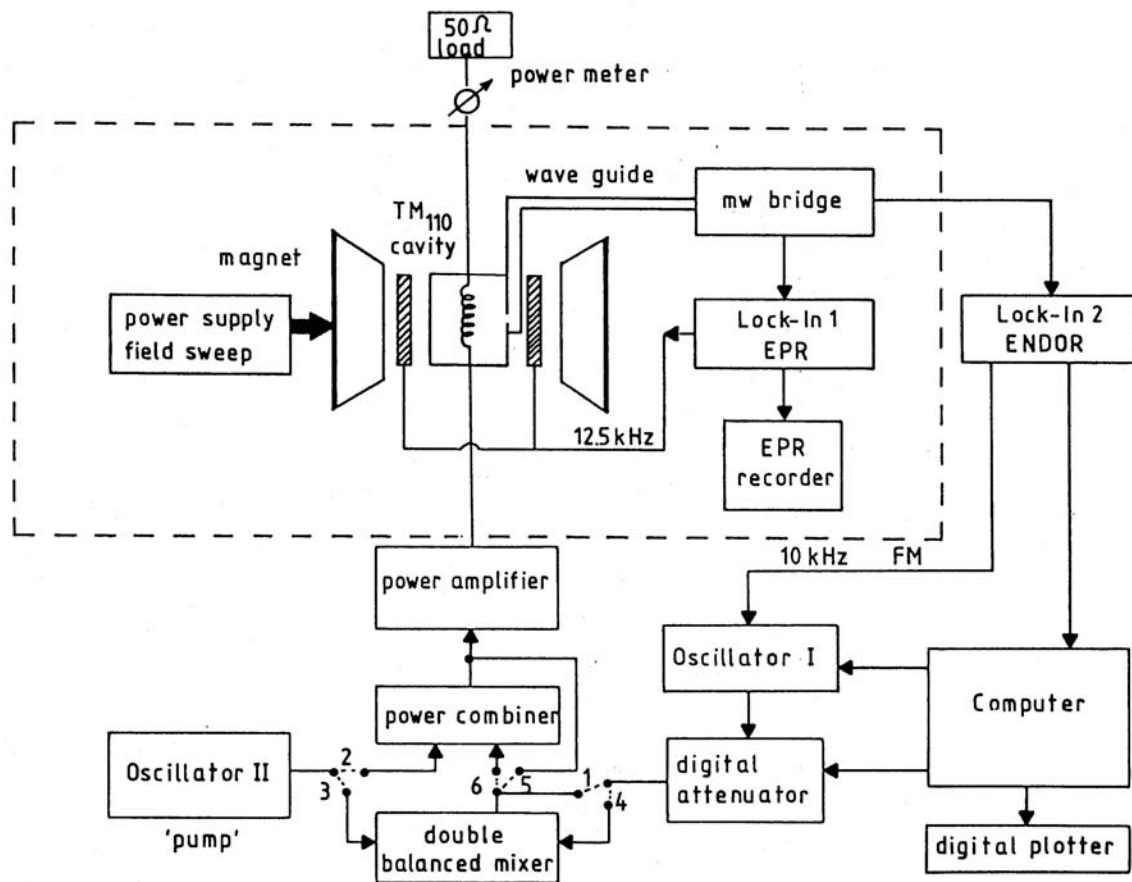
TRIPLE (general)
(tetrahedron)

Stärke des TRIPLE-Effekts

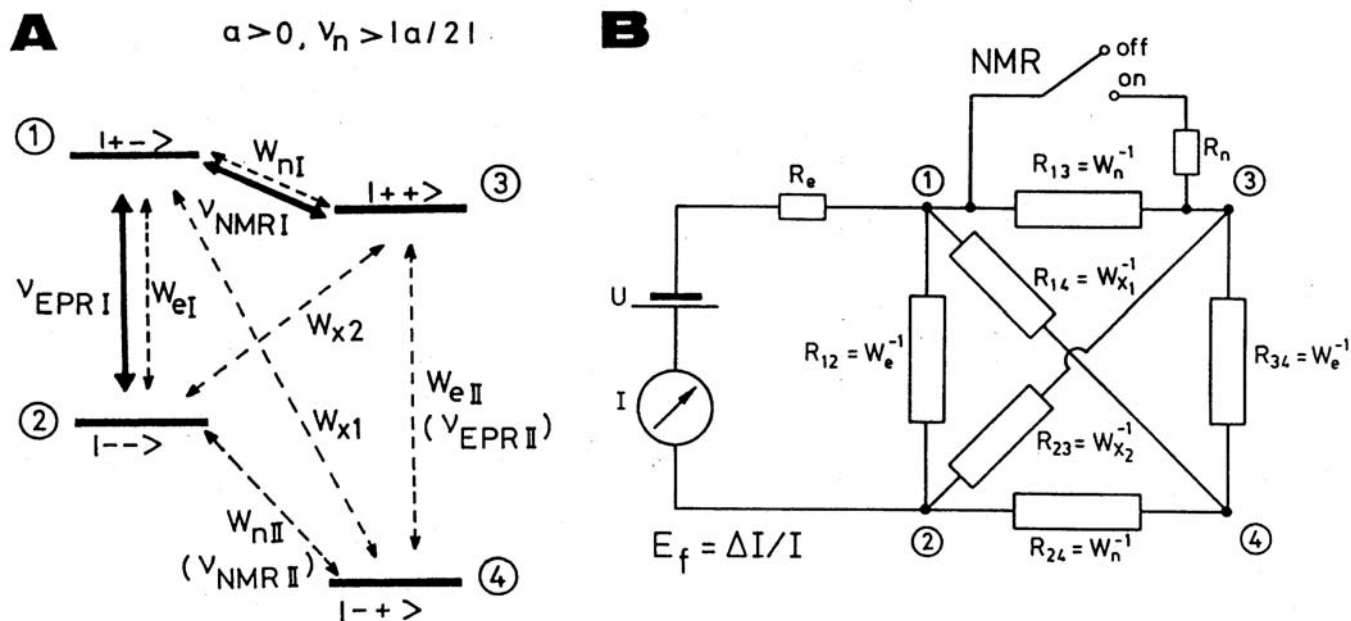


Abhängigkeit des TRIPLE-Effekts von den Relaxationsraten (W_e/W_n)

2.3. Spektrometer-Aufbau



3.1. Stromkreis-Analogie



Die Widerstände R in der Stromkreis-Analogie sind umgekehrt proportional zu den Relaxationsraten W .

3.2. Bedingungen für das ENDOR-Exp.

1. Sättigung eines EPR-Übergangs

$$\sigma_e = \gamma_e^2 B_e^2 T_{1e} T_{2e} \geq 3$$

(σ_e : Sättigungsparameter EPR, γ_e : gyromagnet. Verhältnis des Elektrons, B_e : MW-Feldstärke, T_{1e} : longitudinale und T_{2e} : transversale Relaxationszeit des Elektrons)

optimale MW-Leistung: $P_{\text{MW}}^{\text{opt}} \sim (B_e^{\text{opt}})^2 \sim \gamma_e^{-2} W_e \Delta v_{\text{EPR}}$

2. Sättigung eines NMR-Übergangs, $\nu_{\text{NMR}} = |\nu_n \pm a/2|$

$$\sigma_n = \gamma_n^2 B_n^2 T_{1n} T_{2n} \geq 1$$

(σ_n : Sättigungsparameter NMR, γ_n : gyromagnet. Verhältnis des Kerns, B_n : RF-Feldstärke, T_{1n} : longitudinale und T_{2n} : transversale Relaxationszeit des Kerns)

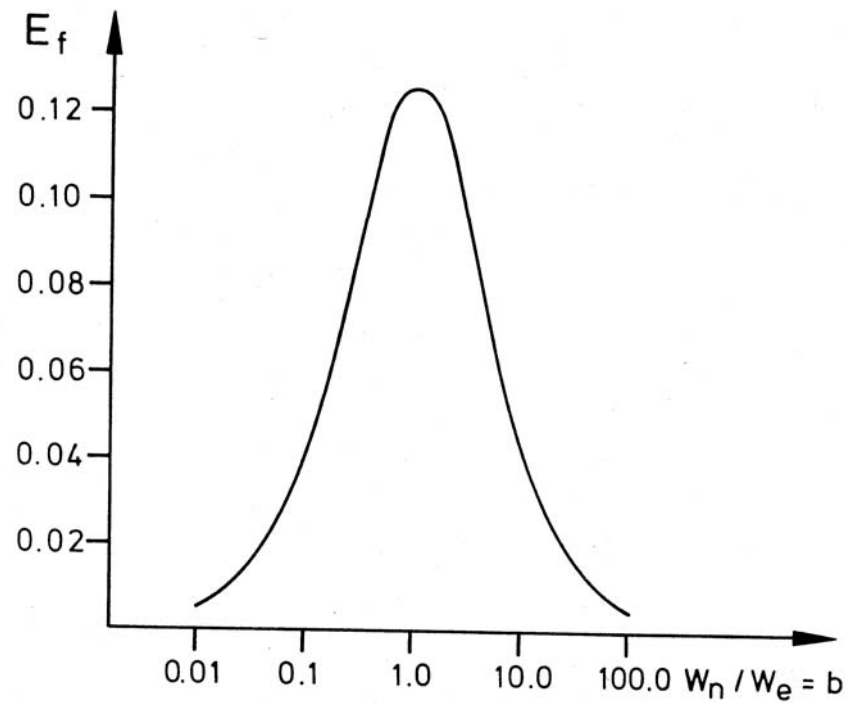
optimale RF-Leistung: $P_{\text{RF}}^{\text{opt}} \sim (B_n^{\text{opt}})^2 \sim \gamma_n^{-2} W_n \Delta v_{\text{ENDOR}}$

3. Ungefähre Gleichheit der Relaxationsraten, $W_e \approx W_n$

ENDOR-Enhancement

Abhängigkeit des „ENDOR-Enhancements“ von den Relaxationsraten

$$W_n/W_e$$



3.3. Relaxationsraten

Die Größen der Relaxationsraten (W_e , W_n) sind von entscheidender Bedeutung für das ENDOR-Experiment; sie bestimmen u.a. die Höhe der zur Sättigung erforderlichen MW- bzw. RF-Leistungen.

Elektronen-Spin-Gitter-Relaxationsrate W_e :

$$W_e \approx B/\tau_R$$

$$\text{wobei } B \approx (1/2)[(g_{xx} - g_e)^2 + (g_{yy} - g_e)^2 + (g_{zz} - g_e)^2]$$

(B: Spin-Rotations-Wechselwirkung, τ_R : Rotationskorrelationszeit,

$\tau_R = V_{\text{eff}} \eta/kT$ wobei η die Viskosität des Lösungsmittels ist)

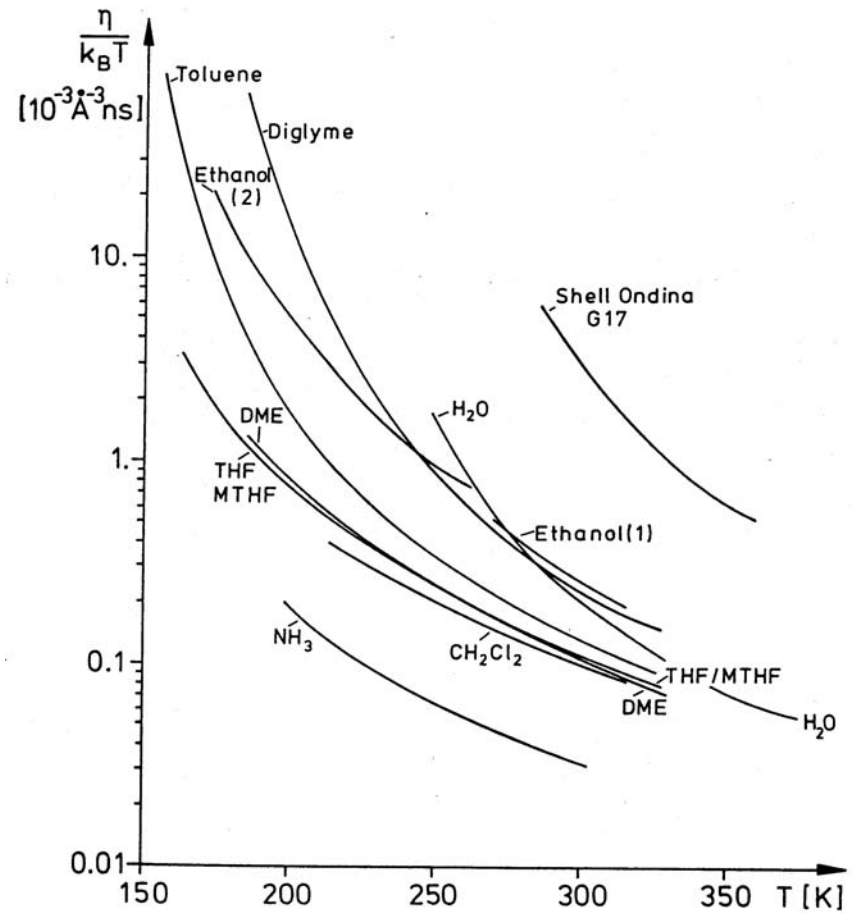
Kern-Spin-Gitter-Relaxationsrate W_n :

$$W_n \approx A \tau_R$$

$$\text{wobei } A \approx (\pi^2/10) \text{Tr}(A'^2)$$

A ist ein Maß für die Größe der anisotropen (dipolaren) Hyperfeinwechselwirkung

Viskositäten



Viskositäten η einiger Lösungsmittel in Abhängigkeit von der Temperatur

3.4. Optimierung des ENDOR-Effekts

optimal ist $W_e \approx W_n$, d.h. $W_n/W_e \approx 1$. Wegen $W_n \sim \tau_R$, $W_e \sim \tau_R^{-1}$ gilt
$$W_n/W_e \sim \tau_R^2 \sim (\eta/T)^2$$

$W_n/W_e \approx 1$ lässt sich in einem geeigneten Lösungsmittel (Viskosität η) durch Wahl der richtigen Temperatur T einstellen (η ist stark T -abhängig!)

Faustregel: ^1H -ENDOR an verhältnismäßig kleinen Molekülen in Lösungsmitteln wie Toluol, 1,2-Dimethoxyethan (DME) oder 2-Methyltetrahydrofuran (MTHF) ist kurz oberhalb des Schmelzpunkts des Lösungsmittels optimal.

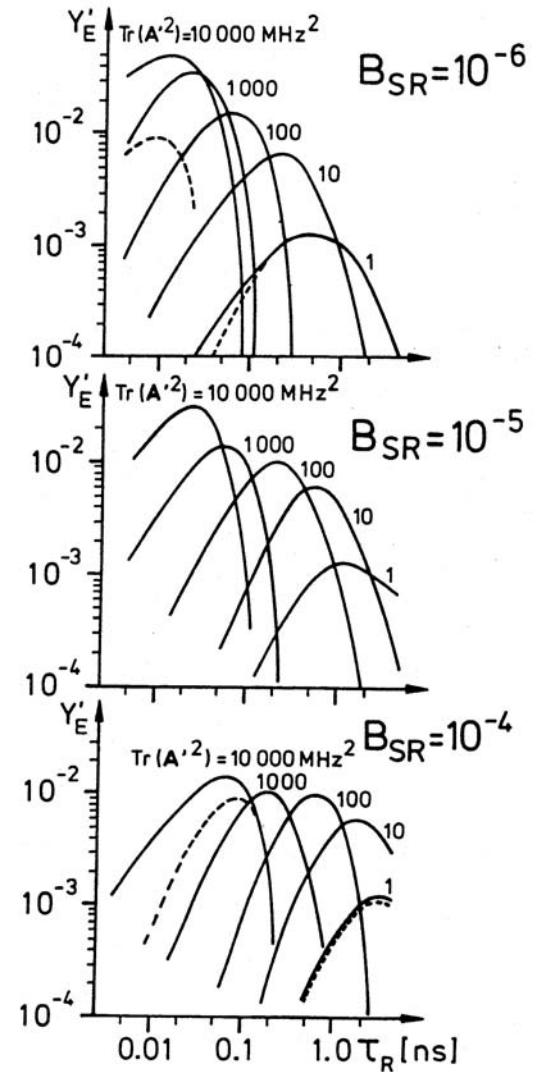
3.5. ENDOR-Signalintensitäten

Sind i.allg. *nicht* der Kernanzahl proportional. Ursachen:

1. komplizierte Abhängigkeit der Intensität von Relaxations- und Sättigungsverhältnissen
2. „Hyperfine Enhancement“-Effekt: Hochfrequente Signale sind i.allg. intensiver als tieffrequente ($B_n^{\text{eff}} = B_n (v_{\text{ENDOR}}/v_n)$)
3. Kreuzrelaxationen ($W_{x1} \neq W_{x2}$) können zu einem unsymmetrischen Intensitätsmuster führen
4. Sog. „Überlappungseffekte“ haben zur Folge, dass (z.B.) Signale nahe der freien Protonenfrequenz v_H relativ intensitätsschwach sind (kleine Kopplungen).

$$I = I_{\text{max}} a^2 T_{2e}^2 / (a^2 T_{2e}^2 + 0.063)$$

ENDOR-Signalintensitäten (2)



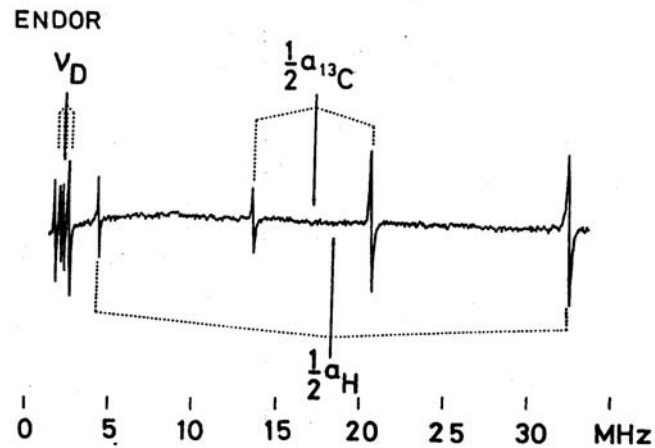
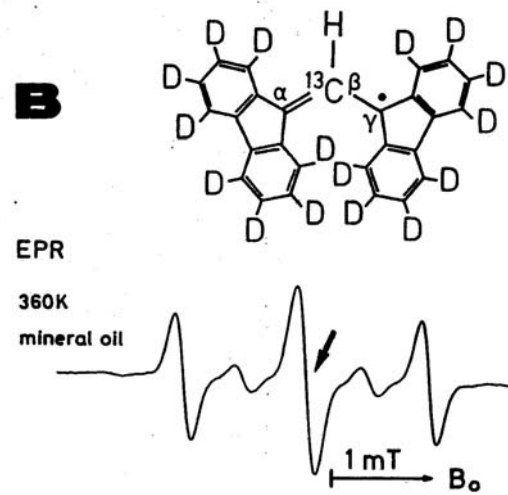
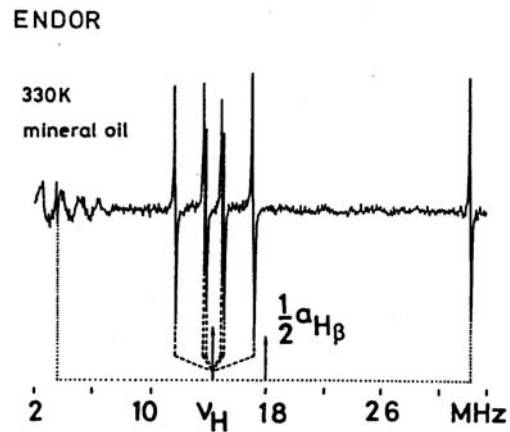
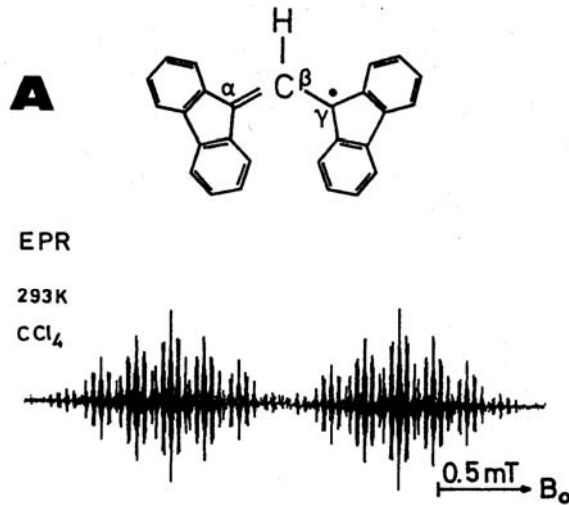
4. ENDOR an anderen Kernsorten

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
^1H ^2H								He
^6Li ^7Li	Be	^{10}B ^{11}B	^{13}C	^{14}N ^{15}N	O	^{19}F		Ne
^{23}Na	^{25}Mg	^{27}Al	^{29}Si	^{31}P	S	Cl		Ar
^{39}K	Ca	Ga	Ge	As	Se	Br		Kr
^{85}Rb ^{87}Rb	Sr	In	^{117}Sn ^{119}Sn	Sb	Te	I		Xe
^{113}Cs	Ba	^{203}Tl ^{205}Tl	Pb	Bi	Po	At		Rn

4.1. Wesentliche Kerneigenschaften

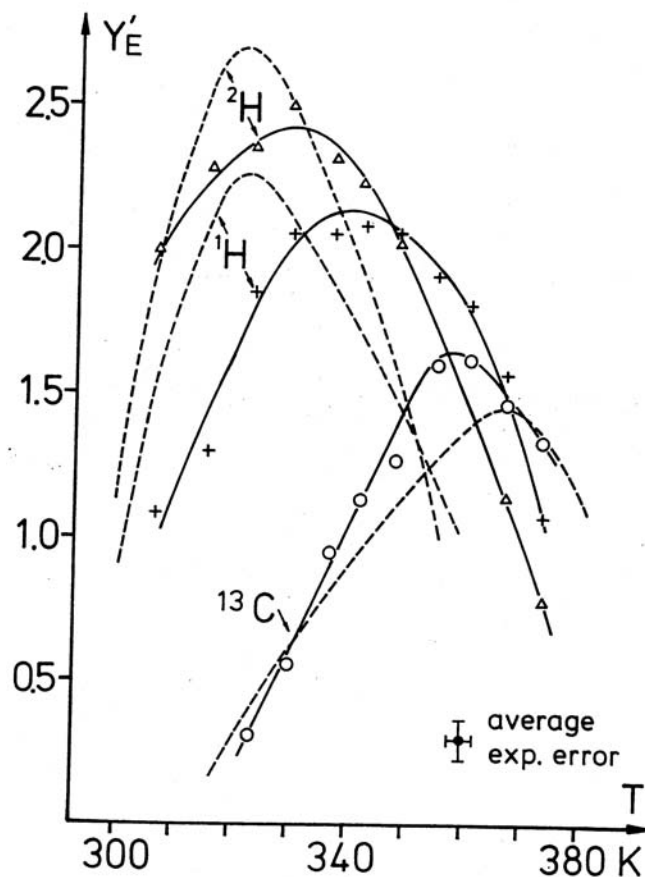
Kern	Spin I	Kernfrequenz γ_n [MHz] ($B_0 = 0.3288 \text{ T}$)	Magnet. Moment μ_I (in μ_n)	nat. Häufigkeit [%]	$\text{Tr}(A_0'^2)$ [MHz ²]*
¹ H	1/2	14.00	2.7927	99.99	3400
² H (D)	1	2.15	0.8574	0.015	80
⁷ Li	3/2	5.44	3.2560	92.58	169
¹¹ B	3/2	4.49	2.6880	80.22	1.69×10^4
¹³ C	1/2	3.52	0.7022	1.11	4.95×10^4
¹⁴ N	1	1.01	0.4035	99.63	1.37×10^4
¹⁵ N	1/2	1.42	-0.2830	0.37	2.70×10^4
¹⁹ F	1/2	13.17	2.6273	100	1.38×10^7
²³ Na	3/2	3.70	2.2161	100	1193
²⁹ Si	1/2	2.78	-0.5548	4.70	4.50×10^4
³¹ P	1/2	5.67	1.1305	100	4.94×10^5
³⁹ K	3/2	0.65	0.3910	93.10	111
⁸⁵ Rb	5/2	1.35	1.3482	72.15	1987
⁸⁷ Rb	3/2	4.58	2.7414	27.85	2.28×10^4
¹³³ Cs	7/2	1.84	2.5642	100	9600

4.2. Beispiel: ^2H , ^{13}C -ENDOR



Temperaturabhängigkeit

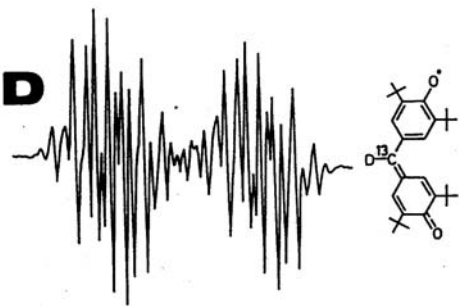
der Signalintensitäten im vorangehenden Beispiel



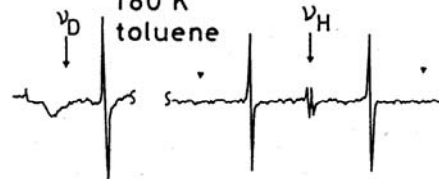
Coppingers Radikal (^2H , ^{13}C , ^{14}N)

EPR
295 K
toluene

D



ENDOR
180 K
toluene

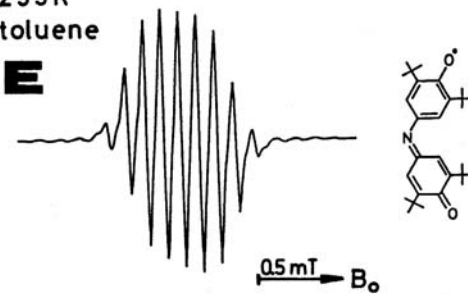


240 K

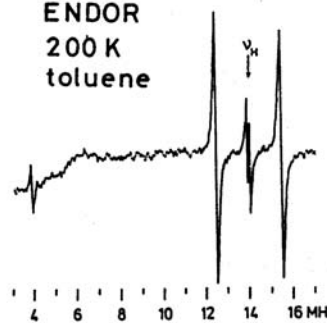
10 12 14 16 MHz

EPR
295 K
toluene

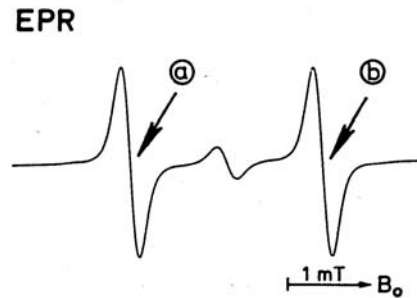
E



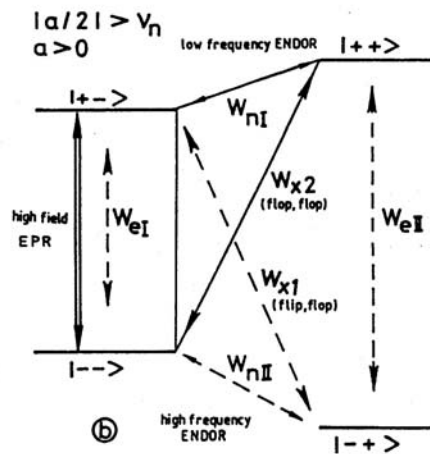
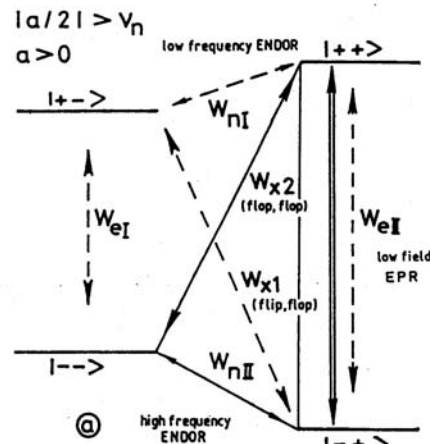
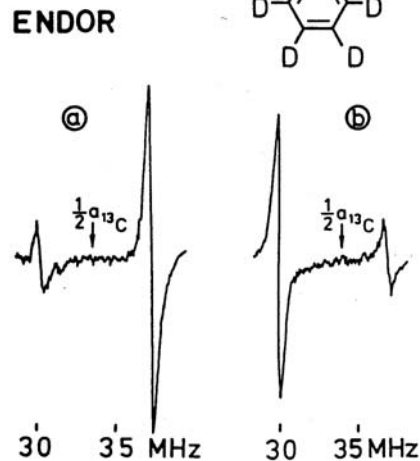
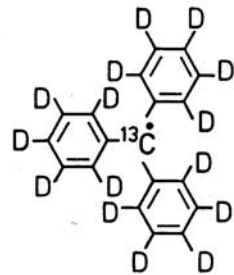
ENDOR
200 K
toluene



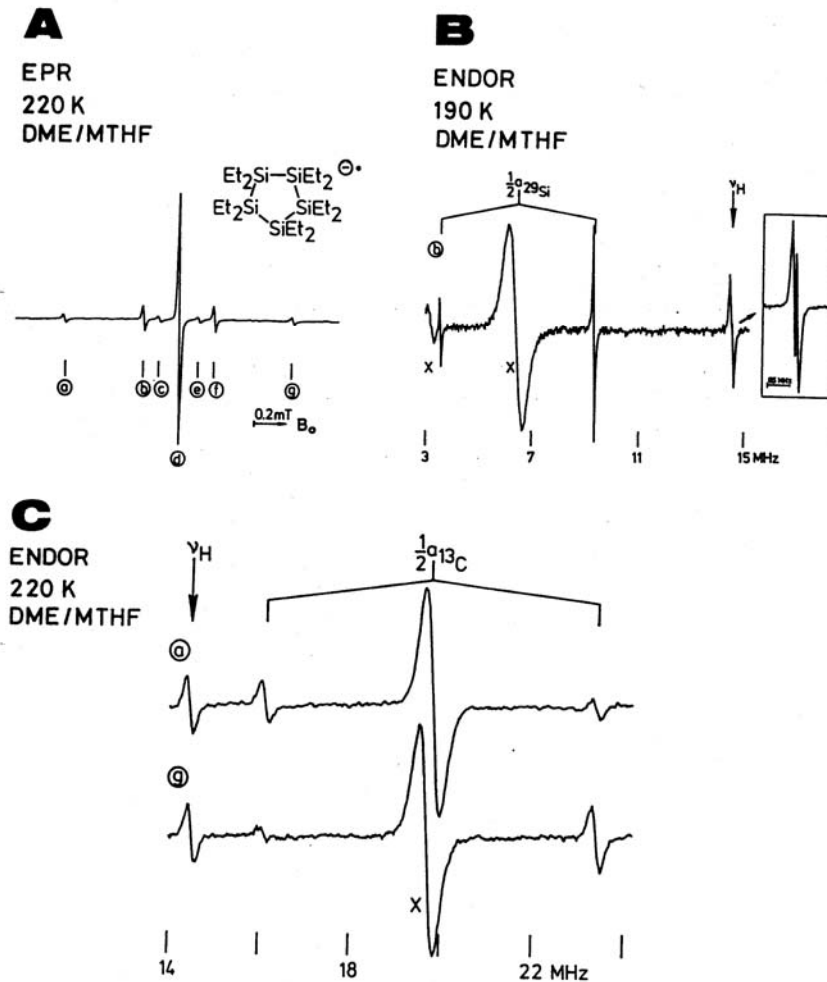
Kreuzrelaxation: ^{13}C (Trityl)



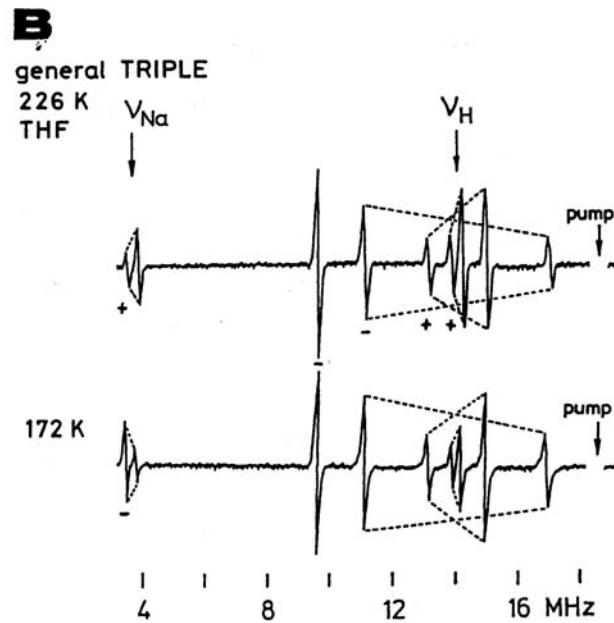
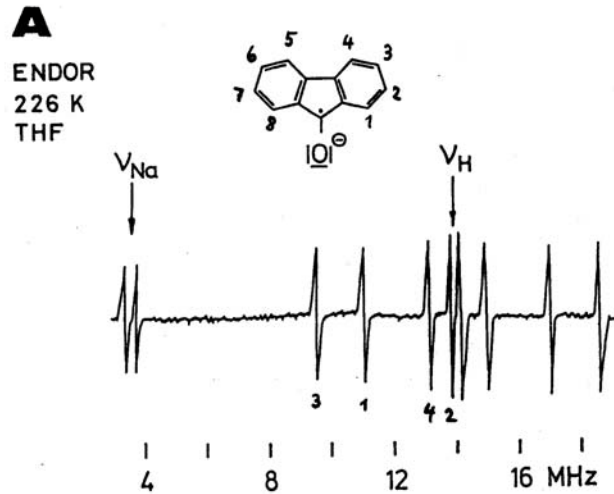
325 K
toluene



$^{13}\text{C}, ^{29}\text{Si}$ -ENDOR in nat. Häufigkeit

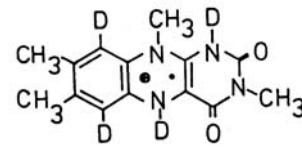


^{23}Na -ENDOR

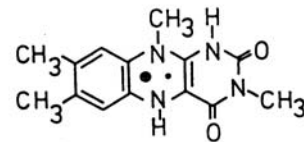
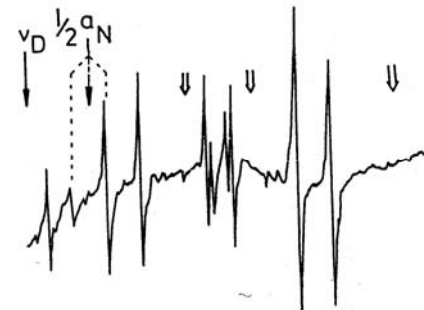


5.1. Biologische Systeme: Lumiflavin-Kationradikal

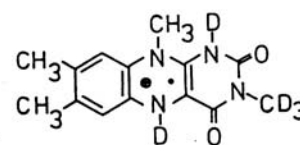
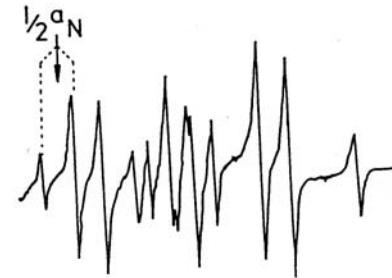
ENDOR



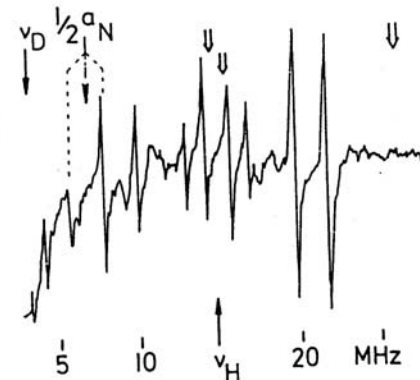
260 K
CF₃COOD/toluene (d₈)



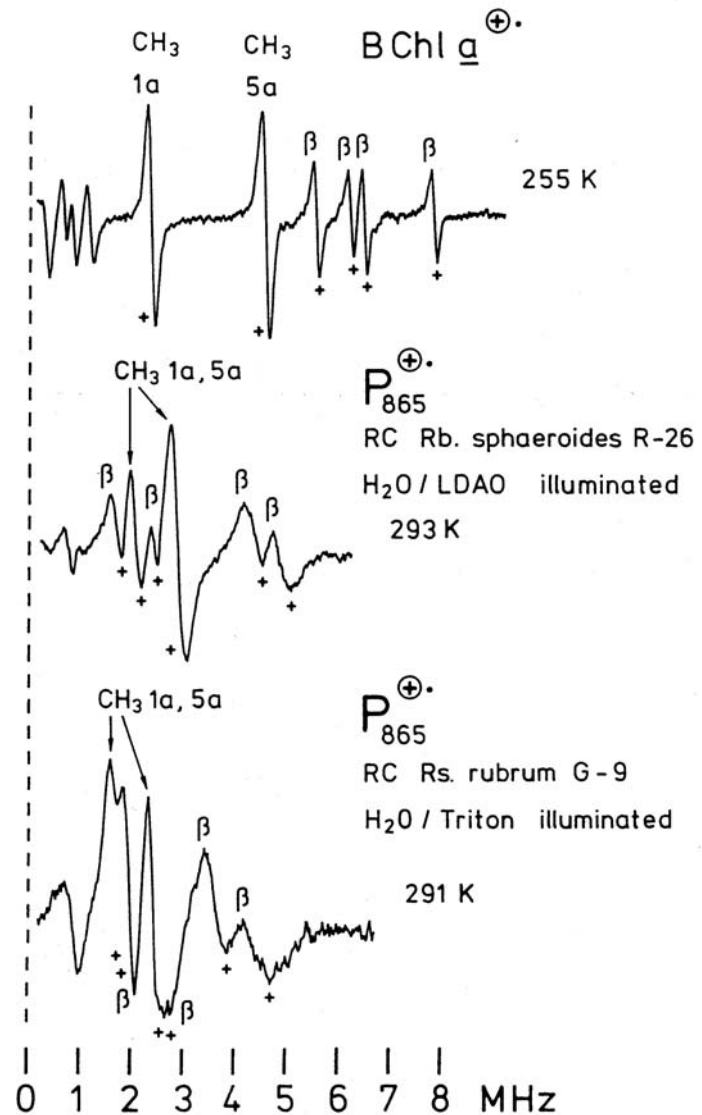
260 K
CF₃COOH/toluene



260 K
CF₃COOD/toluene (d₈)

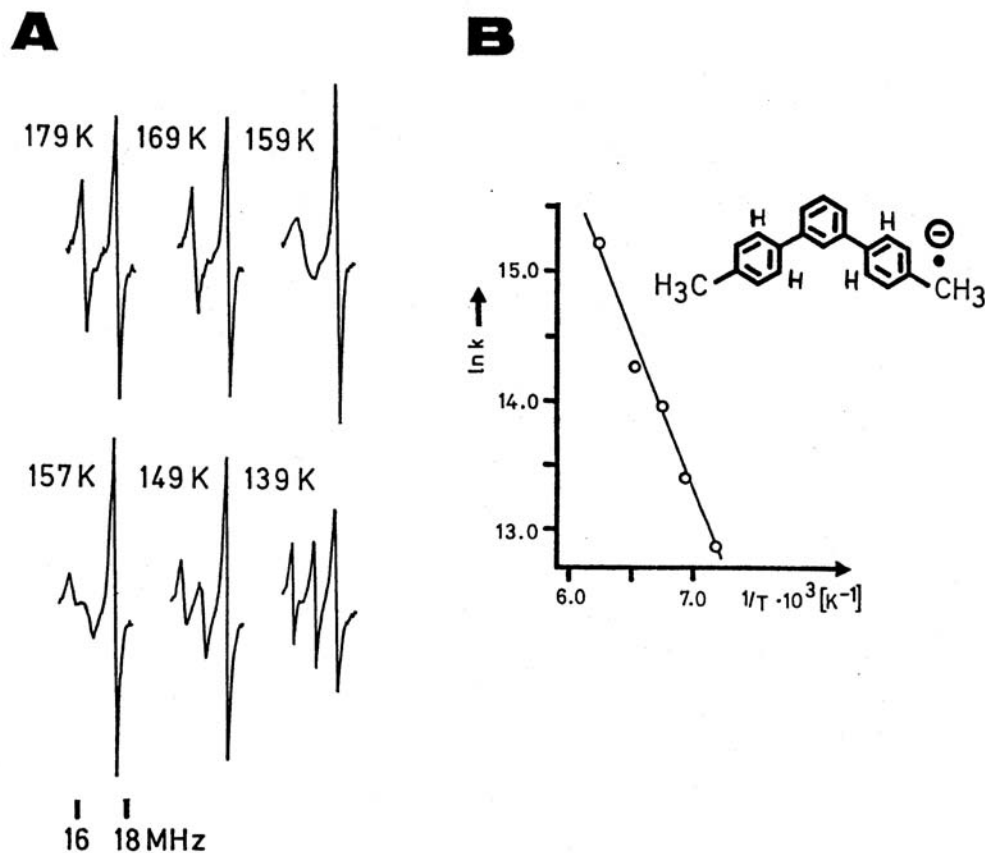


Bacteriochlorophyll A Kationradikal, photosynth. Reaktionszentrum

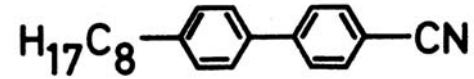


5.2. Dynamische Prozesse

Die gehinderte Rotation der Phenylringe führt zu stark temperaturabhängigen Linienbreiten



5.3. Flüssige Kristalle

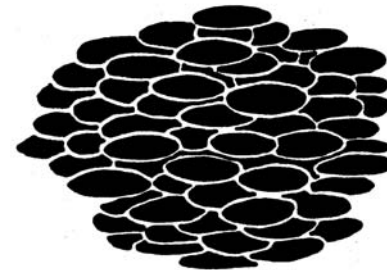


8CB

isotropic

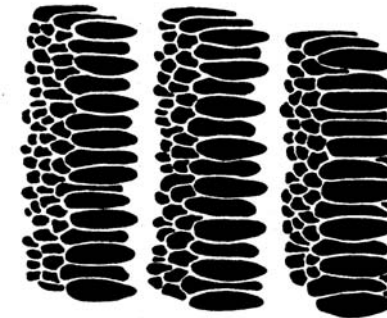
314 K \updownarrow

nematic



307 K \updownarrow

smectic A

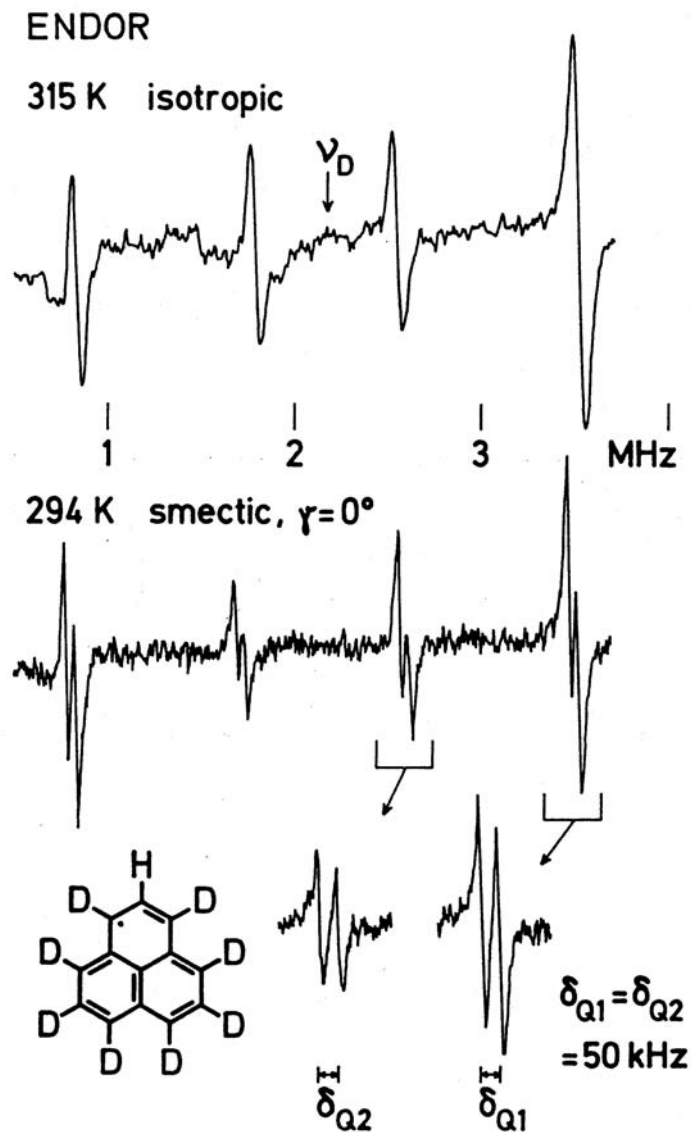


294 K \updownarrow

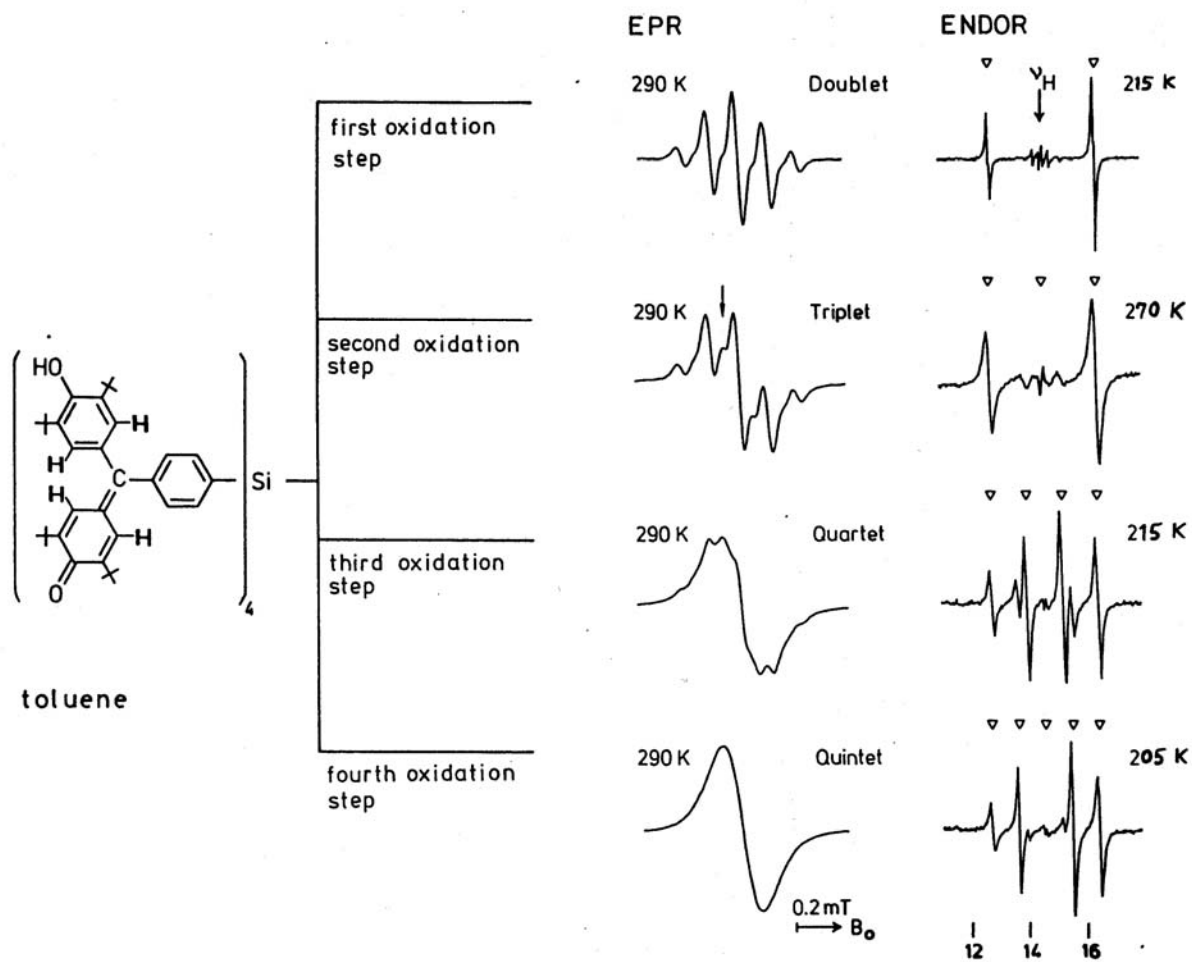
solid

Quadrupol- Aufspaltungen

^2H -ENDOR in
flüssigkristalliner
Lösung



5.4. Biradikale und Mehrspinsysteme



Anhang: Formeln

Hamilton-Operator für Radikale:

$$\mathcal{H} = \mathcal{H}_{EZ} + \mathcal{H}_{NZ} + \mathcal{H}_{HFS}$$

$$\mathcal{H} = \mu_B \mathbf{B}_0 \cdot \mathbf{g} \cdot \mathbf{S} - g_n \mu_n \mathbf{B}_0 \cdot \mathbf{I} + h \mathbf{S} \cdot \mathbf{A} \cdot \mathbf{I}$$

in isotroper Lösung:

$$\mathcal{H} = g \mu_B B_0 S_z - g_n \mu_n B_0 I_z + h a S \cdot I$$

Energie-Niveaus:

$$E_{M_S, M_I} = g \mu_B B_0 M_S - g_n \mu_n B_0 M_I + h a M_S M_I$$

freie Elektronen- und Kernfrequenzen:

$$\nu_e = g \mu_B B_0 / h$$

$$\nu_n = g_n \mu_n B_0 / h$$

$$E_{M_S, M_I} = \nu_e M_S - \nu_n M_I + a M_S M_I$$

EPR-Auswahlregel:

$$\Delta M_S = \pm 1, \quad \Delta M_I = 0$$

EPR-Resonanzbedingung (Hyperfleinwechselwirkung mit einem Proton):

$$\nu_{\text{EPR}} = \nu_e \pm \frac{a}{2}$$

NMR-Auswahlregel:

$$\Delta M_I = \pm 1, \quad \Delta M_S = 0$$

NMR-Resonanzbedingung ("ENDOR-Resonanzbedingung"):

$$\nu_{\text{NMR}} = \left| \nu_n \pm \frac{a}{2} \right|$$

verallgemeinerte "ENDOR"-Resonanzbedingung:

$$\nu_{\text{NMR}} = |-\nu_n + M_S a|$$