

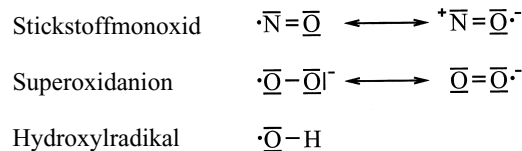
4.3 Elektronenspinresonanz-Spektroskopie (ESR)

J. MÜLLER, D. RÖSCH, L. W. KROH

4.3.1 Einleitung

Der in der deutschen Sprache verwendete Begriff Elektronenspinresonanz (ESR) ist gleichbedeutend mit den englischen Begriffen „electron spin resonance“ (ESR) und „electron paramagnetic resonance“ (EPR). Die ESR-Spektroskopie dient dem Nachweis, der Quantifizierung und der Strukturaufklärung paramagnetischer Substanzen [1].¹⁾ Chemische Verbindungen sind dann paramagnetisch, wenn sie ungepaarte Elektronen besitzen. Dies trifft insbesondere auf freie Radikale aber auch auf Übergangsmetallionen, Metalle und Kristallgitter (Fehlstellen) zu. In Übergangsmetallionen (solange es sich um stabile Oxidationsstufen handelt), Metallen und Kristallgittern sind ungepaarte Elektronen relativ stabil und somit einer Messung leicht zugänglich. Bei den meisten freien Radikalen handelt es sich um sehr reaktive Teilchen mit einer kurzen Halbwertszeit, deren Radikalcharakter für eine ESR-Messung stabilisiert werden muss.

Die Erforschung der Rolle freier Radikale, wie z. B. Stickstoffmonoxid, Superoxidanion und Hydroxylradikal in der Biologie, Biochemie und Medizin [2], hat in den letzten zehn Jahren zu einer erheblichen Weiterentwicklung auf dem Gebiet der ESR-Spektroskopie geführt.



Diese umfasst vor allem Methoden zur Stabilisierung freier Radikale, die Verwendung von stabilen freien Radikalen zur Untersuchung der Mikroumgebung und der Bestimmung von antioxidativen Eigenschaften von Naturstoffen und synthetischen Verbindungen. Die früher üblichen Großgeräte wurden bei gleicher Empfindlichkeit auf den Maßstab von Tischgeräten reduziert und sind heute vergleichsweise einfach zu bedienen (Abb. 4.3-1).

¹⁾ Die hier beschriebene Methode der ESR Spektroskopie widmet sich vorrangig der Bestimmung von Radikaleigenschaften und -konzentrationen und nicht der Strukturaufklärung radikalischer Verbindungen.



4.3 Elektronenspinresonanz-Spektroskopie (ESR)

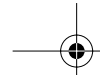


Abb. 4.3-1 Tisch-ESR-Spektrometer MiniScope MS200 (Magnettech GmbH, Berlin)

Für *in vivo* Messungen wurden Spektrometer mit einer dreidimensionalen Auflösung, dem Bildgebungsverfahren „3D Imaging“, für Versuchstiere wie Ratten oder Mäuse entwickelt. Diese Geräte erlauben die Lokalisierung von Radikalen in Organen oder Teilen des Körpers sowie die Untersuchung des Abbaus und der Bildung von Radikalen. Das Verfahren entspricht im Ergebnis dem der Magnetresonanztomographie in der Medizin, bei dem jedoch statt der ^1H -Kernresonanz die Resonanz ungepaarter Elektronen in freien Radikalen gemessen und abgebildet wird.

Unter physiologischen und ernährungsphysiologischen Gesichtspunkten gewinnt die Untersuchung und Beurteilung von Oxidationsprozessen in der tierischen und pflanzlichen Zelle, aber auch in verarbeiteten Lebensmitteln eine zunehmende Bedeutung. In beiden Fällen können durch Radikalreaktionen native Biomoleküle und/oder Lebensmittelinhaltsstoffe geschädigt werden, was unter dem Begriff „oxidativer Stress“ zusammengefasst werden kann. Allgemein bekannt ist beispielsweise die Autoxidation von Fetten (Lipidperoxidation), die über radikalische Zwischenstufen verläuft und durch die ESR-Spektroskopie nachweisbar ist. Eine Stabilisierung von Zellen sowie von empfindlichen, oxidierbaren Lebensmittelinhaltsstoffen ist an die Anwesenheit von antioxidativ wirksamen Verbindungen (Antioxidantien) geknüpft. Die Aktivität dieser Antioxidantien wiederum kann durch die ESR-Spektroskopie beurteilt werden.

Diese Untersuchungen werden künftig Voraussagen über die Stabilität von Zellen und die Haltbarkeit von Lebensmitteln zu einem Zeitpunkt ermöglichen, der deutlich vor den eigentlichen, entscheidenden Veränderungen durch Oxidation liegt. Auch im Hin-



4.3 Elektronenspinresonanz-Spektroskopie (ESR)

blick auf so genannte „functional foods“, denen eine präventive, gesundheitsfördernde Wirkung zugeschrieben wird, ist die Bewertung von Oxidationsprozessen *in vivo* und im Lebensmittel von großem Interesse.

4.3.2 Theoretische Aspekte der ESR-Spektroskopie

Die ESR-Spektroskopie basiert auf der Absorption von Mikrowellenstrahlung durch ungepaarte Elektronen, die sich in einem von außen angelegten Magnetfeld befinden. Ungepaarte Elektronen haben aufgrund ihres Eigendrehimpulses, der auch als „Spin“ bezeichnet wird, ein magnetisches Moment. In einem äußeren Magnetfeld bestehen für ungepaarte Elektronen zwei Möglichkeiten der Spin- bzw. Magnetfeldorientierung. Der Grundzustand entspricht der Magnetfeldorientierung der Anziehung im äußeren Magnetfeld (Abb. 4.3-2) und wird als „parallel“, der angeregte Zustand ist durch Abstoßung im äußeren Magnetfeld gekennzeichnet und wird als „antiparallel“ bezeichnet (Zeemann-Aufspaltung). Der energetische Abstand ΔE zwischen den beiden Energieniveaus ist linear von der äußeren Magnetfeldstärke abhängig:

$$\Delta E = h \cdot \nu = g \cdot \mu_B \cdot H_0 \quad (1)$$

h = Plancksches Wirkungsquantum = $6,6260755 \cdot 10^{-34}$ J s

ν = Frequenz der Mikrowellenstrahlung [s^{-1}]

g = Landé-Faktor (g-Wert)

H_0 = Feldstärke des äußeren Magnetfeldes [T = Tesla]

μ_B = Bohr'sches Magneton = $0,92740154 \cdot 10^{-23}$ J T $^{-1}$.

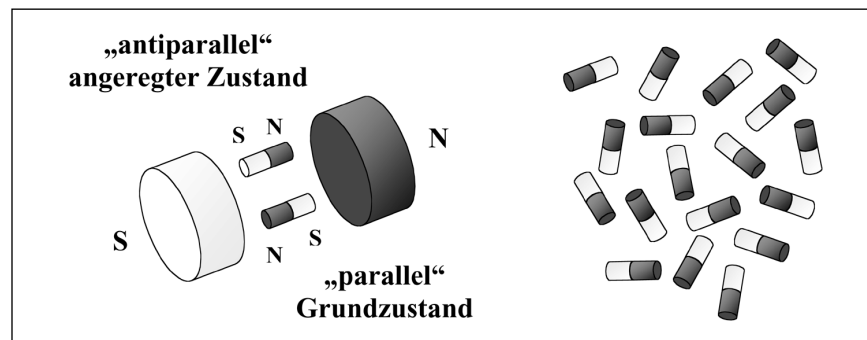


Abb. 4.3-2 Ausrichtung des magnetischen Momentes von ungepaarten Elektronen, modellhaft dargestellt als Elementarmagneten.

Links: Mögliche Ausrichtung im äußeren Magnetfeld

Rechts: Freie ungepaarte Elektronen mit beliebiger Orientierung im Raum



4.3 Elektronenspinresonanz-Spektroskopie (ESR)

Der Wert des Landé-Faktors für ein völlig freies Elektron beträgt $g = 2,0023$. Der g -Wert eines ungepaarten Elektrons in einem Radikal oder in einem Übergangsmetallion ist von der Umgebung des Elektrons und der Wechselwirkung mit anderen magnetischen Momenten bzw. Spins abhängig (Stoffkonstante) und liegt für die Mehrzahl organischer Radikale bei ca. 2,0, für Übergangsmetallionen zwischen 1 und 7.

Aus Gleichung (1) geht hervor, dass es zwei mögliche Variablen der Messanordnung gibt. Entweder wird die Frequenz der Mikrowellenstrahlung bei konstantem Feld variiert oder die Mikrowellenfrequenz wird konstant gehalten und die Magnetfeldstärke wird verändert. Aus technischen Gründen hat man sich für die zweite Variante entschieden. Der Aufbau der Mikrowellenbrücke ist in Abb. 4.3-3 dargestellt. Die Strahlungsquelle, eine Gunn-Diode, erzeugt eine Mikrowelle im Frequenzbereich von 9-10 GHz (X-Band). Dies entspricht bei einem g -Wert von 2,0023 einem Magnetfeld von 323,9-359,9 mT (1 mT = 10 Gauss). Die Frequenz der Mikrowelle wird während der Messung konstant gehalten und durch einen Hohlleiter oder ein Koaxialkabel in den Probenraum geleitet. Der Probenraum ist ein Hohlraum-Resonator in rechteckiger oder zylindrischer Form; die so genannte Cavity. Durch eine geeignete Ankopplung (Tuning) wird im Resonator eine stehende Welle ausgebildet. Da die Änderung der Amplitude dieser Welle bei einem linearen Scan des magnetischen Feldes zu klein wäre, um ein geeignetes Signal-Rausch-Verhältnis zu erhalten, wird das magnetische Feld während des Messvorgangs von niederem zu höherem Feld (Scan) zusätzlich mit

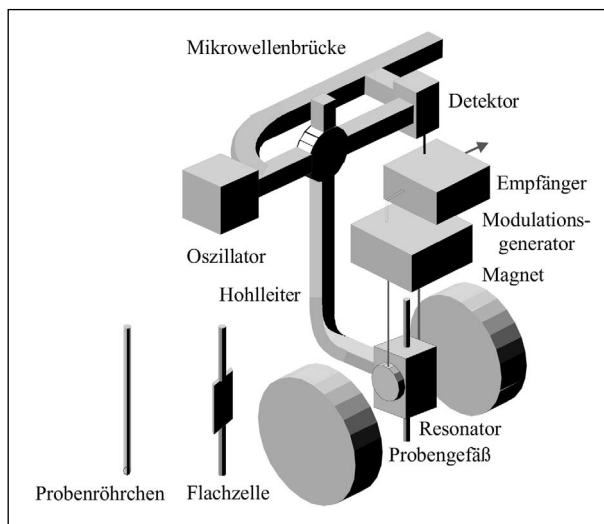


Abb. 4.3-3
Aufbau der Mikro-
wellenbrücke eines
ESR-Spektrometers
[3]

4.3 Elektronenspinresonanz-Spektroskopie (ESR)

100 kHz moduliert. Die Amplitude der Schwingung der Magnetfeldstärke lässt sich im Bereich 10 μT -1 mT (X-Band) variieren. Die Modulation der Magnetfeldstärke ist der Grund dafür, dass ein ESR-Spektrum der ersten Ableitung des Absorptionsspektrums der Mikrowellenstrahlung in Abhängigkeit von der Magnetfeldstärke entspricht (Abb. 4.3-4). Die Resonanzbedingung für eine Probe liegt dann vor, wenn die Energiediffe-

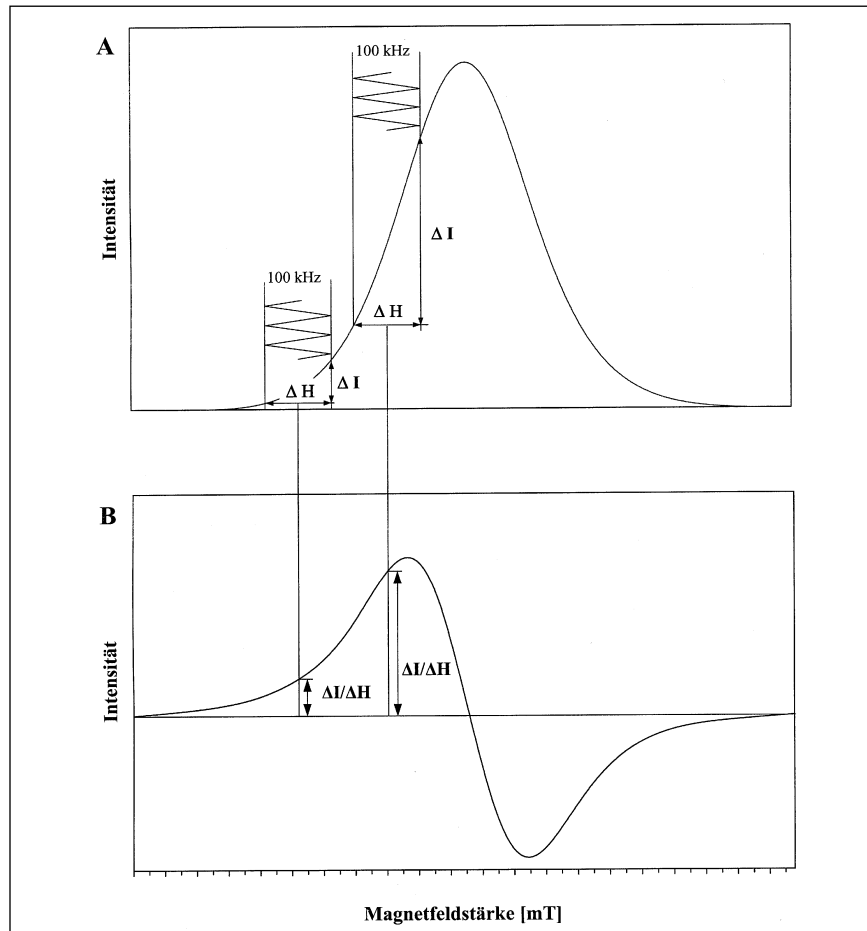


Abb. 4.3-4 Der differentielle Scan des Absorptionsspektrums aufgrund der Modulation der Magnetfeldstärke ergibt das Original ESR-Spektrum (1. Ableitung des Absorptionsspektrums). A: Absorptionsspektrum der Mikrowellenstrahlung; B: Original ESR-Spektrum

4.3 Elektronenspinresonanz-Spektroskopie (ESR)

renz ΔE zwischen angeregtem und Grundzustand bei einer bestimmten Magnetfeldstärke der Energie der konstant eingestrahlten Mikrowellenfrequenz entspricht (Abb. 4.3-5). Ist diese Resonanzbedingung erfüllt, so absorbiert das System Mikrowellenstrahlung. Das ESR-Spektrum stellt die Intensität (ΔI), die Differenz der Amplitude der Mikrowelle zwischen Feldstärkenmaximum und -minimum des modulierten Magnetfeldes, geteilt durch die Modulationsamplitude (ΔH) des Magnetfeldes, in Abhängigkeit von der Magnetfeldstärke dar.

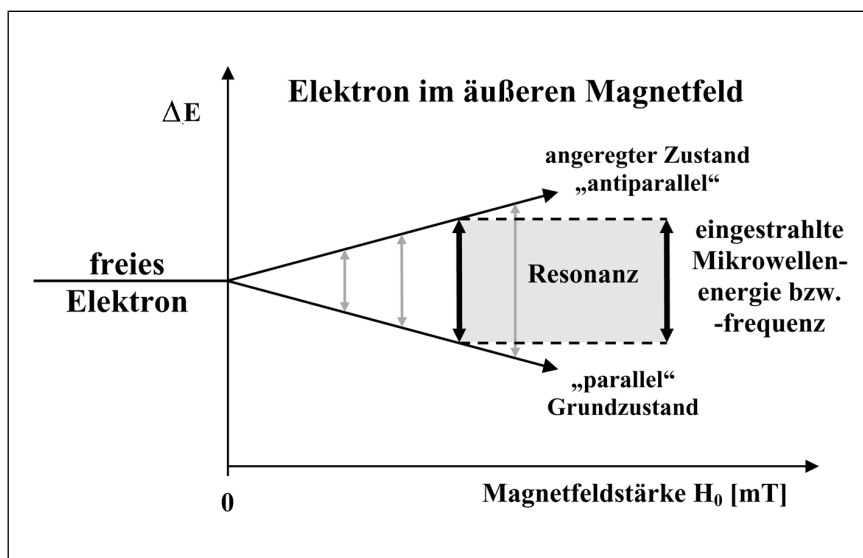


Abb. 4.3-5 Abhängigkeit der Energiedifferenz zwischen angeregtem Zustand und Grundzustand von der äußeren Magnetfeldstärke mit graphischer Darstellung der Resonanzbedingung

Je nach Frequenz des Mikrowellenoszillators unterscheidet man verschiedene Frequenzbänder (W-Band 95 GHz, Q-Band 35 GHz, X-Band 9-10 GHz, S-Band 2-3 GHz oder L-Band 1-1,5 GHz) und bevorzugte Anwendungen (je höher die Frequenz, desto geringer ist die Eindringtiefe der Mikrowellenstrahlung in eine Probe, z. B. W-Band 50-100 μm , L-band 1-1,5 cm). Die überwiegende Anzahl der Spektrometer werden im X-Band bei 9-10 GHz betrieben. Der Grund dafür ist historisch bedingt und mit der Entwicklung der Radartechnik im zweiten Weltkrieg verbunden. Während bis einschließlich zum Q-Band Elektromagneten eingesetzt werden, benötigt man für die Spektroskopie im W-Band heliumgekühlte, supraleitende Magneten.