

### [Akceptuję](#)

W ramach naszej witryny stosujemy pliki cookies w celu świadczenia państwu usług na najwyższym poziomie, w tym w sposób dostosowany do indywidualnych potrzeb. Korzystanie z witryny bez zmiany ustawień dotyczących cookies oznacza, że będą one zamieszczone w Państwa urządzeniu końcowym. Możecie Państwo dokonać w każdym czasie zmiany ustawień dotyczących cookies. Więcej szczegółów w naszej [Polityce Prywatności](#)

[Portal](#) [Informacje](#) [Katalog firm](#) [Praca](#) [Szkolenia](#) [Wydarzenia](#) [Porównania międzylaboratoryjne](#)  
[Kontakt](#)



[Laboratoria](#)  
[.net](#)  
[Innowacje](#)  
[Nauka](#)  
[Technologie](#)

[Logowanie](#) [Rejestracja](#) [pl](#)

Newsletter

zapisz się



- [Nowe technologie](#)
- [Felieton](#)
- [Tygodnik "Nature"](#)
- [Edukacja](#)
- [Artykuły](#)
- [Przemysł](#)

[Strona główna](#) > [Artykuły](#)

## Technika spektrometrii elektronowego rezonansu magnetycznego (EPR) w biologii

### Streszczenie

Większość znanych substancji jest diamagnetyczna bądź ferromagnetyczna. Tylko nieliczne oddziałują z polem magnetycznym, są to paramagnetyki. Efekt tych oddziaływań jest także bardzo niski, ale możliwy dzięki nieparzystym elektronom w cząsteczkach lub niesparowanym elektronom w cząsteczkach rodników. Elektronowy Rezonans Paramagnetyczny (EPR) zwany także Elektronowym Rezonansem Spinowym (ESR) pozwala na rejestrację i badanie tego całkiem

powszechnego, ale bardzo ważnego zjawiska w różnych dziedzinach nauki (chemia, biologia).

## Wprowadzenie

Elektronowy rezonans paramagnetyczny (EPR) został odkryty i opisany w 1944 przez E. K. Zavoiskii. Zastosowanie tej metody w biologii rozpoczęło się dopiero w latach 60 XX wieku. I od tego czasu metoda badania próbek biologicznych metodą EPR jest ciągle szeroko dyskutowana w literaturze [ ]. Szeroki zakres badań próbek biologicznych zostało przeprowadzonych na mediach ustroju ludzkiego: krwi, moczu, ślinie itp. Badania te zostały przeprowadzone w celach diagnostyki medycznej.

## Teoria

Elektronowy rezonans paramagnetyczny (EPR, ang. Electron Paramagnetic Resonance) jest związany ze zmianą orientacji spinu elektronowego w zewnętrznym polu magnetycznym, wywołanego absorpcją energii pola wysokiej częstości. Zjawisko to obserwuje się w atomach, cząsteczkach i kompleksach molekularnych posiadających niesparowane spinowe momenty magnetyczne  $\mu_s$ , tworzące centra paramagnetyczne badanych związków.

**Moment magnetyczny  $\mu_s$  i spin elektronu  $S$  centrum paramagnetycznego są kolinearne, ale przeciwnie skierowane:**

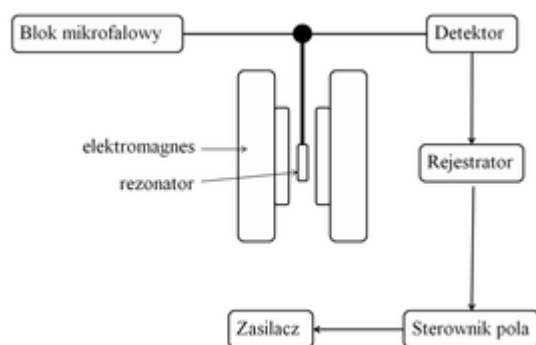
$$\mu_s = -g \mu_B S$$

$\mu_B$  - magneton Bohra ( $9,27 \times 10^{-24} \text{ JxT}^{-1}$ )

$g$  - współczynnik zeemanowskiego rozszczepienia

Współczynnik rozszczepienia  $g$  określa udział orbitalnego momentu magnetycznego w całkowitym momencie  $\mu$  danego centrum paramagnetycznego.

Dla spinu  $S=1/2$  wartości magnetycznej liczby spinowej wynoszą:  $m_s=+1/2$  i  $m_s=-1/2$ . Ze względu na dwie przeciwne orientacje spinu w polu magnetycznym możliwe są dwa poziomy energetyczne:  $W+1/2=1/2g\mu_B B$  i  $W-1/2=-1/2g\mu_B B$ , różnica energii ( $\Delta W= W+1/2-W-1/2$ ) tych poziomów rośnie wraz z przyłożonym polem magnetycznym  $B$ . Zmiana orientacji spinu nastąpi, gdy zostanie spełniony warunek rezonansu  $\Delta W = hf$ , czyli zostanie dostarczona energia równa różnicy energetycznej dwóch poziomów. Amplituda sygnału obserwowanego w rejestratorze jest miarą absorpcji mocy mikrofal wywołanej zmianą orientacji spinu elektronów względem kierunku stałego pola magnetycznego [ ].



Rys. Detekcja sygnału EPR [2]

Rys. Detekcja sygnału EPR [2]

## Standardowa analiza EPR

Metoda EPR w badaniach biologicznych pozwala badać wolne rodniki lub metale, które w wyniku biochemicznych przemian redoks posiadają niesparowany elektron np. hemoglobina, która była jednym z pierwszych metaloenzymów zbadanych tą metodą. Badanie wolnych rodników w komórkach nie patogennych nie jest łatwe, gdyż naturalny poziom rodników jest bardzo niski (10<sup>-8</sup>-10<sup>-10</sup>M) a nowoczesne spektrometry EPR są w stanie zarejestrować wolne rodniki w stężeniu 10<sup>-6</sup>-10<sup>-7</sup>. Stężenie wolnych rodników można zwiększyć wykorzystując jednolity materiał tkankowy (10<sup>14</sup>-10<sup>16</sup> na gram tkanki) lub traktując materiał biologiczny donorami wolnych rodników lub napromienieniem. Intensywność sygnału EPR jest także zależna od fazy wzrostu komórek i fazy cyklu komórkowego. Dodatkową trudność w pomiarach biologicznych stwarza stosunkowo duża ilość wody, która uniemożliwia dokładne zarejestrowanie sygnału oraz pozwala na dalsze przemiany biochemiczne. Dlatego próbki te zazwyczaj badane są w temperaturze poniżej 0°C lub w postaci zliofilizowanej. [ , ]

Mimo wielu trudności w zastosowaniu metody EPR przy badaniu próbek biologicznych metoda ta pozwala jakościowo a nawet ilościowo oznaczyć rodniki w tych bardzo złożonych próbkach.

## Pułapkowanie spinów

W roku 1965 w Rosji badaczom pierwszy raz udało się zarejestrować metodą EPR tlenek azotu(II) - NO. Rodnik ten posiada jeden niesparowany elektron przemieszczający się pomiędzy atomem azotu a atomem tlenu. NO został unieruchomiony i zablokowany wobec ewentualnych reagentów grupami metylowymi. W dalszych badaniach stwierdzono, że NO daje widma EPR, gdzie kształt ich zmienia się w zależności do lepkości, polarności i struktury otaczających go mediów. I tak powstała pierwsza sonda EPR, która po przyłączeniu do białek czy lipidów pozwala uzyskać informacje o miejscowej ruchliwości łańcucha polipeptydu. Badania nad sondami EPR pozwoliły określić struktury ciekłych kryształów i ruchliwości lipidów w membranach.

W biologii metoda „pułapkowania spinów” jest bardzo ważna w wykrywaniu reaktywnych form tlenu (RFT). Istota metody jest tworzenie paramagnetycznych adduktów w wyniku reakcji nitonów (związki azowe) z oznaczanymi rodnikami RFT. Powstały produkt jest bardziej stabilny niż oznaczany rodnik. Dodatkowo powstałe produkty różnią się miejscem akceptorowym elektronu w zależności od stabilizowanego rodnika co pozwala na jakościową analizę rodników. „Pułapki”, którymi są związki nitrowe różnią się od siebie nawzajem szybkością reakcji z rodnikami tlenowymi. Stałe szybkości tych reakcji są zazwyczaj małe dlatego też wskazane jest stosowanie dużych stężeń pułapek spinowych (5-200 mmol<sup>-1</sup>l<sup>-1</sup>). [ , ]

Niebawem dostępne będą banki danych zawierające parametry widm EPR adduktów pułapkowania, które pozwolą na dokładną identyfikację wolnego rodnika a będzie to możliwe w oparciu o widma EPR adduktów powstałych z pułapkowania.

*Autor: Karolina Wójciuk*

<https://laboratoria.net/artukul/15707.html>

**Informacje dnia:** [Nowy wzór elektronicznej legitymacji studenckiej Kleszcz to tylko pośrednik Pod względem leczenia czerniaka Polska w czołówce Europy Przyszłość pszczół zależy od ochrony ich naturalnych siedlisk Powstała niewidzialna elektroda dla podczerwieni Choroby serca mogą zaczynać się już w czasie życia płodowego Nowy wzór elektronicznej legitymacji studenckiej Kleszcz to tylko pośrednik Pod względem leczenia czerniaka Polska w czołówce Europy Przyszłość pszczół zależy od ochrony ich naturalnych siedlisk Powstała niewidzialna elektroda dla podczerwieni Choroby serca mogą zaczynać się już w czasie życia płodowego Nowy wzór elektronicznej legitymacji studenckiej Kleszcz to tylko pośrednik Pod względem leczenia czerniaka Polska w](#)

[czołówce Europy Przyszłość pszczół zależy od ochrony ich naturalnych siedlisk Powstała niewidzialna elektroda dla podczerwieni Choroby serca mogą zaczynać się już w czasie życia płodowego](#)

**Partnerzy**