

**ZADANIE WS4**  
**BADANIE ELEKTRONOWEGO REZONANSU**  
**PARAMAGNETYCZNEGO**

**I. Cel ćwiczenia**

Celem ćwiczenia jest zapoznanie się z techniką rezonansu magnetycznego. Wyznaczone zostaną wartości współczynnika  $g$ , podłużnego czasu relaksacji spinowej  $T_1$  i poprzecznego czasu relaksacji  $T_2$  dla próbek wzorca  $\text{Cr}^{3+}$  w  $\text{MgO}$ . W drugiej części ćwiczenia badane będą cząsteczki TEMPO w mieszaninie wody i gliceryny. Wyznaczone zostaną wartości współczynnika  $g$  i stałej struktury nadsztywnej  $a$  oraz czasy korelacji rotacyjnej.

**II. Wprowadzenie**

*Efekt Zeemana i rezonansowe pochłanianie energii*

Spinowy rezonans magnetyczny związany jest z absorpcją energii szybkozmennego pola elektromagnetycznego, jaka towarzyszy zmianie orientacji spinów w zewnętrznym, statycznym polu magnetycznym. Jeśli badamy spiny elektronu mówimy o elektronowym rezonansie paramagnetycznym (ang. electron paramagnetic resonance, EPR). Zamiennie stosowana jest nazwa elektronowy rezonans spinowy (ang. electron spin resonance, ESR). Jeśli zaś badamy spiny jądrowe, mówimy o jądrowym rezonansie magnetycznym (ang. nuclear magnetic resonance, NMR). Jednym z wariantów rezonansu magnetycznego jest również rezonans ferromagnetyczny (ang. ferromagnetic resonance, FMR), gdzie zamiast układów paramagnetycznych bada się namagnesowanie ferromagnetycznej próbki.

Do opisu rezonansu magnetycznego można z równym powodzeniem zastosować podejście klasyczne jak i kwantowe. Poniżej przedstawimy opis kwantowy. W podejściu kwantowym spin w zewnętrznym polu magnetycznym może przyjmować dyskretne orientacje określone przez magnetyczną liczbę kwantową  $m_S$ . W polu elektromagnetycznym oscylującym prostopadle do statycznego pola magnetycznego (a więc w konfiguracji jaka jest wykorzystywana w typowych spektrometrach EPR, również w tym z tego ćwiczenia), zmianę orientacji spinu określa reguła wyboru  $\Delta m_S = \pm 1$ , czyli liczba kwantowa  $m_S$  musi zmienić się o 1.

Rozważamy najprostszy przypadek swobodnego elektronu umieszczonego w polu magnetycznym. Ponieważ elektron obdarzony jest momentem magnetycznym  $\boldsymbol{\mu}_S = -g\mu_B\mathbf{S}$  i spinem  $S = 1/2$ , w polu magnetycznym może znajdować się w dwóch stanach o energii  $E = -\boldsymbol{\mu}_S\mathbf{B}_0$ : w stanie o wyższej energii i liczbie kwantowej  $m_S = +1/2$  lub stanie o niższej energii i liczbie kwantowej  $m_S = -1/2$ . Różnica między energiami tych dwóch stanów wynosi:

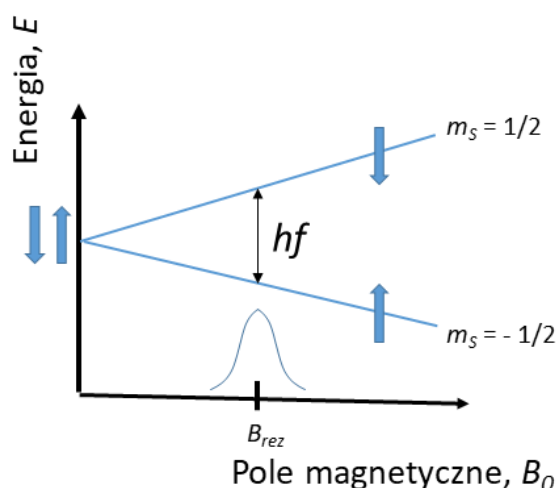
$$\Delta E = g\mu_B\Delta m_S B_0 = g\mu_B B_0, \quad (1)$$

gdzie  $g$  jest, tzw. **współczynnikiem  $g$**  (ang. g-factor) i wynosi  $g_0 = 2,0023$  dla swobodnego elektronu.  $\mu_B = 9,27401 \times 10^{-24} \text{ J T}$  to magneton Bohra, który jest naturalną miarą momentu magnetycznego elektronu a  $B_0$  jest indukcją statycznego pola magnetycznego.  $\Delta m_S$  jest zmianą liczby kwantowej  $m_S$  i tak jak wcześniej mówiliśmy może wynosić  $\pm 1$  (+1 w przypadku absorpcji promieniowania, -1 w przypadku emisji promieniowania). Energia  $\Delta E$ , która jest potrzebna do spowodowania przejścia pomiędzy dwoma stanami spinowymi wynosi:

$$\Delta E = hf = g\mu_B B_0, \quad (2)$$

gdzie  $f$  to częstość szybkozmiennego pola elektromagnetycznego (u nas mikrofalowego) w eksperymencie, a  $h$  to stała Plancka.

Jak widać z równania (2), istnieją dwa możliwe podejścia w celu uzyskania spektrum rezonansowego: można ustalić pole magnetyczne i skanować częstość promieniowania mikrofalowego lub zrobić na odwrót, przy stałej częstości mikrofal skanować wartość pola magnetycznego. Z powodów praktycznych częściej stosuje się drugie podejście, łatwiej jest bowiem skanować wartość indukcji pola magnetycznego niż częstość mikrofal. Wraz ze wzrostem indukcji pola magnetycznego różnica energii między stanem o  $m_S = +1/2$  a stanem o  $m_S = -1/2$  rośnie liniowo. Kiedy energia mikrofal użytych w eksperymencie zrówna się z wielkością rozszczepienia energetycznego następuje rezonansowe pochłanianie energii, które jest rejestrowane przez spektrometr. Efekt ten został schematycznie przedstawiony na Rysunku 1.



**Rysunek 1.** Zjawisko rezonansu spinowego. W polu magnetycznym  $B_0$  stan elektronowy o spinie  $S = 1/2$  ulega rozszczepieniu na dwa poziomy o  $m_S = \pm 1/2$  a różnica energii tych dwóch poziomów rośnie liniowo ze wzrostem indukcji pola magnetycznego. Kiedy energia rozszczepienia zrówna się z energią mikrofal użytych w eksperymencie  $hf$ , następuje rezonansowe pochłanianie energii. Spektrometr rejestruje linię rezonansową w polu rezonansowym  $B_{rez}$ .

### Współczynnik $g$

Podstawowym parametrem wyznaczanym w eksperymencie rezonansu magnetycznego jest współczynnik  $g$ . Wyznaczamy go łatwo po przekształceniu wzoru (2):

$$g = \frac{hf}{\mu_B B_{rez}}. \quad (3)$$

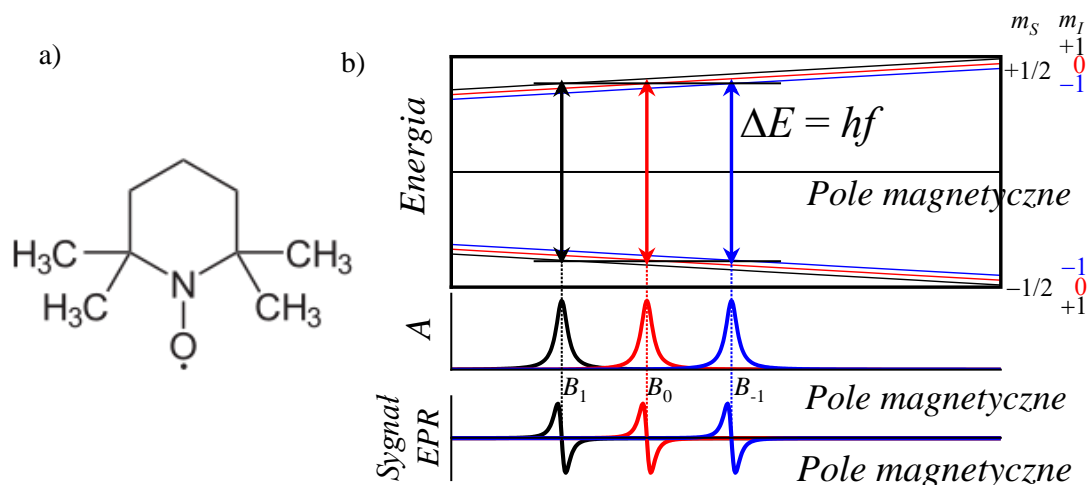
$B_{rez}$  oznacza tu wartość indukcji pola magnetycznego  $B_0$ , przy którym obserwujemy linię rezonansową,  $f$  to częstość mikrofal w chwili przechodzenia przez rezonans. W praktyce nie badamy nigdy swobodnych elektronów ale, tzw. niesparowane elektrony występujące w związkach organicznych lub nieorganicznych. Współczynnik  $g$  różni się wtedy od wartości dla swobodnego elektronu  $g_0$  o niewielki wkład orbitalny  $g = g_0 + \Delta g$ . Współczynnik  $g$  jest więc zazwyczaj bliski wartości 2, ale też może się znacząco różnić od 2 w materiałach

charakteryzujących się silnymi oddziaływaniami spin-orbitalnymi. Współczynnik  $g$  jest charakterystyczny dla danego centrum w danym otoczeniu, często jest określany mianem jego „odcisku palca”.

### Struktura nadsubtelna

Dodatkowe informacje na temat badanego centrum paramagnetycznego niesie ze sobą struktura nadsubtelna widma rezonansowego. Powstaje ona na skutek oddziaływania spinu elektronu z otaczającymi go spinami jądrowymi. Linia rezonansowa struktury subtelnej ulega wtedy rozszczepieniu na kilka linii struktury nadsubtelnej. Ile jest tych linii zależy od liczby jąder, z którymi oddziałuje spin elektronu. Ogólna zasada mówi o  $2nI+1$  linii, gdzie  $n$  jest liczbą równoważnych jąder a  $I$  ich spinem.

W przypadku cząsteczki TEMPO opisanej w dalszej części instrukcji, niesparowany elektron o spinie  $S = 1/2$  oddziałuje z atomem azotu o spinie jądrowym  $I = 1$  (izotop  $^{14}\text{N}$  o zawartości 99,6% w naturalnie występującym pierwiastku). Jak zostało to przedstawione na Rysunku 2 pole magnetyczne powoduje rozszczepienie stanu podstawowego na 2 poziomy związane z kolejnymi rzutami spinu na oś kwantyzacji,  $m_S = \pm 1/2$ . Każdy z tych poziomów jest dodatkowo rozszczepiony na 3 poziomy związane z oddziaływaniem z jądrem azotu,  $m_I = 0, \pm 1$ . Reguły wyboru dla przejść magnetycznych dipolowych wymagają  $\Delta m_I = 0$ , czyli przejścia rezonansowe następują bez zmiany spinu jądrowego. W efekcie obserwujemy 3 linie rezonansowe (tzw. tryplet struktury nadsubtelnej).



**Rysunek 2.** (a) Wzór strukturalny cząsteczki TEMPO. Kropką schematycznie zaznaczony jest niesparowany elektron. (b) Schemat rozszczepienia poziomów stanu podstawowego cząsteczki TEMPO w polu magnetycznym. Strzałkami zaznaczone są dozwolone przejścia magnetyczne dipolowe. Obserwuje się trzy linie struktury nadsubtelnej.

Wartość energii poszczególnych poziomów zależy oczywiście od ich liczb kwantowych  $m_S$  i  $m_I$ . Energie te,  $E_{m_S, m_I}$ , można zapisać jako:

$$\begin{aligned}
 E_{\frac{1}{2}, 1} &= \frac{1}{2} g \mu_B B + \frac{1}{2} a, & E_{\frac{1}{2}, 0} &= \frac{1}{2} g \mu_B B, & E_{\frac{1}{2}, -1} &= \frac{1}{2} g \mu_B B - \frac{1}{2} a, \\
 E_{-\frac{1}{2}, 1} &= -\frac{1}{2} g \mu_B B - \frac{1}{2} a, & E_{-\frac{1}{2}, 0} &= -\frac{1}{2} g \mu_B B, & E_{-\frac{1}{2}, -1} &= -\frac{1}{2} g \mu_B B + \frac{1}{2} a,
 \end{aligned}
 \tag{4}$$

gdzie  $g$  to współczynnik  $g$  a  $a$  to parametr struktury nadsubtelnej. Energia trzech dozwolonych przejść magnetycznych dipolowych  $E_{ml}$  z uwzględnieniem reguł wyboru  $\Delta m_s = 1$  i  $\Delta m_l = 0$  wynosi:

$$E_1 = g\mu_B B + a, \quad E_0 = g\mu_B B, \quad E_{-1} = g\mu_B B - a, \quad (5)$$

a pole magnetyczne przy których zaobserwujemy linie rezonansowe wynosi:

$$B_1^{rez} = \frac{hf}{g\mu_B} - \frac{a}{g\mu_B}, \quad B_0^{rez} = \frac{hf}{g\mu_B}, \quad B_{-1}^{rez} = \frac{hf}{g\mu_B} + \frac{a}{g\mu_B}. \quad (6)$$

**W ćwiczeniu będziesz wyznaczać współczynnik  $g$  i parametr struktury nadsubtelnej  $a$ .**  $g$  jest współczynnikiem bezwymiarowym. Możemy go najłatwiej wyznaczyć z położenia linii centralnej  $B_0^{rez}$ . Z kolei parametr  $a$  najwygodniej jest wyznaczyć z różnicy położenia linii satelitarnych:  $B_{-1}^{rez} - B_1^{rez} = 2 \frac{a}{g\mu_B}$ . W spektroskopii rezonansów magnetycznych często podaje się wartość parametru  $a$  w jednostkach pola magnetycznego. Przykładowy prawidłowy zapis wygląda wtedy następująco:  $\frac{a}{g\mu_B} = 30 \text{ G}$ .

Jak będzie opisane poniżej, parametry  $g$  i  $a$  dla cząsteczki TEMPO są anizotropowe, tzn. ich wielkość zależy od orientacji cząsteczki względem zewnętrznie przyłożonego pola magnetycznego. W ćwiczeniu będziesz badać zespół cząsteczek o przypadkowym ułożeniu, tak że parametry  $g$  i  $a$  wyznaczone na podstawie zmierzonego widma rezonansowego możesz traktować jako efektywne wartości.

***Efekty relaksacyjne (dla ogólnej wiedzy-na potrzeby tego ćwiczenia należy tylko zapamiętać jak je wyznaczyć)***

Z efektem rezonansowej absorpcji energii nierozłącznie związane są efekty relaksacji. W eksperymentach rezonansu magnetycznego rozróżnia się dwa charakterystyczne czasy relaksacji, **czas  $T_1$  zwany czasem relaksacji podłużnej** lub czasem relaksacji spin-sieć i **czas  $T_2$  zwany czasem relaksacji poprzecznej** lub czasem relaksacji spin-spin.

W zobrazowaniu czasów relaksacji przydatny będzie klasyczny opis rezonansu magnetycznego. W klasycznym obrazie rezonansu badany obiekt ma moment pędu  $\mathbf{J}$  i związany z nim moment magnetyczny  $\boldsymbol{\mu} = \gamma \mathbf{J}$ .  $\gamma$  to, tzw. współczynnik żyromagnetyczny, który dla swobodnego elektronu wynosi  $\gamma = 1,760\,859\,644 \times 10^{11} \text{ s}^{-1} \text{ T}^{-1}$ , zaś dla protonu jest trzy rzędy wielkości mniejszy i wynosi  $\gamma = 2,675\,221\,900 \times 10^8 \text{ s}^{-1} \text{ T}^{-1}$ . Wektor momentu magnetycznego  $\boldsymbol{\mu}$  wykonuje precesję wokół kierunku wektora stałego pola magnetycznego  $\mathbf{B}_0$  z częstością  $\omega_0 = \gamma B_0$ , zwaną częstością Larmora, zgodnie z równaniem:

$$\frac{d\boldsymbol{\mu}}{dt} = \gamma(\boldsymbol{\mu} \times \mathbf{B}_0) \quad (7)$$

Gdy na moment magnetyczny  $\boldsymbol{\mu}$  oprócz stałego pola magnetycznego  $\mathbf{B}_0$  działa zmienne w czasie pole magnetyczne o indukcji  $\mathbf{B}_1$  o częstości  $\omega = \omega_0$  mamy do czynienia z efektem rezonansu. Wówczas, w układzie wirującym wokół kierunku wektora  $\mathbf{B}_0$  z częstością Larmora, wektor momentu magnetycznego będzie wykonywał precesję wokół kierunku pola  $\mathbf{B}_1$  z częstością  $\omega_1 = \gamma B_1$ . Przykładając pole  $\mathbf{B}_1$  możemy więc zmienić orientację momentu magnetycznego  $\boldsymbol{\mu}$  względem  $\mathbf{B}_0$ . Zmiana orientacji powoduje zwiększenie energii układu, która

jest czerpana z oscylującego pola  $\mathbf{B}_1$ . Pole  $\mathbf{B}_1$  jest polem magnetycznym mikrofalowej fali elektromagnetycznej w twoim eksperymencie.

W praktyce, nie badamy nigdy pojedynczych momentów magnetycznych, ale ich zespół w próbce. Sumę momentów magnetycznych w próbce w jednostce objętości opisuje wielkość zwana namagnesowaniem  $\mathbf{M}$ . Po włączeniu pola magnetycznego  $\mathbf{B}_0$  składowe elementarnych wektorów  $\boldsymbol{\mu}$  wchodzących w skład namagnesowania:  $\mu_x$  i  $\mu_y$  wirują niekoherentnie (niespójnie) w płaszczyźnie  $xy$  (oś  $z \parallel \mathbf{B}_0$ ), zaś składowe  $\mu_z$  pozostają w spoczynku. W efekcie, po włączeniu pola  $\mathbf{B}_0$  namagnesowanie próbki ma składowe  $M_x = 0$ ,  $M_y = 0$ ,  $M_z = M_0$ , przy czym namagnesowanie wzdłuż osi  $z$  osiąga wartość maksymalną po czasie  $T_1$ .  $T_1$  jest charakterystycznym czasem narastania (lub zaniku) składowej namagnesowania  $M_z$ . Widać już, dlaczego  $T_1$  nosi nazwę czasu relaksacji podłużnej. Zamiennie stosowana nazwa, czas relaksacji spin-sieć, związana jest z faktem iż narastanie składowej  $M_z$  w efekcie porządkowania się spinów wzdłuż pola magnetycznego powoduje zmniejszenie energii układu spinowego. Nadmiar energii musi być przejęty przez otoczenie, zwane ogólnie „siecią”. Ewolucję w czasie składowej namagnesowania  $M_z$  opisuje równanie różniczkowe:

$$\frac{dM_z}{dt} = -\frac{M_z - M_0}{T_1}. \quad (8)$$

W rezonansie, po przyłożeniu oscylującego pola  $\mathbf{B}_1$  prostopadłego do  $\mathbf{B}_0$ , precesja składowych momentów magnetycznych staje się koherentna. Pojawia się poprzeczna składowa namagnesowania, z charakterystycznym czasem narastania (bądź zaniku)  $T_2$ . Nazwa *czas relaksacji poprzecznej* związana jest z narastaniem (bądź zanikiem) poprzecznej składowej namagnesowania podczas przechodzenia układu przez rezonans. Z kolei nazwa *czas relaksacji spin-spin* związana jest ze statystycznym charakterem ustalania się równowagi w układzie spinów. Ewolucję w czasie składowych namagnesowania  $M_{x,y}$  opisuje równanie różniczkowe:

$$\frac{dM_{x,y}}{dt} = -\frac{M_{x,y}}{T_2}. \quad (9)$$

Składając razem powyższe elementy otrzymujemy słynne równanie Blocha opisujące precesję wektora namagnesowania w rezonansie, tzn. gdy  $\omega = \omega_0 = \gamma B_0$ . Jest to newtonowskie równanie ruchu uzupełnione o człony relaksacyjne:

$$\frac{d\mathbf{M}}{dt} = \gamma(\mathbf{M} \times \mathbf{B}) - \hat{x} \frac{M_x}{T_2} - \hat{y} \frac{M_y}{T_2} - \hat{z} \frac{M_z - M_0}{T_1}. \quad (10)$$

### ***Kształt linii rezonansowej***

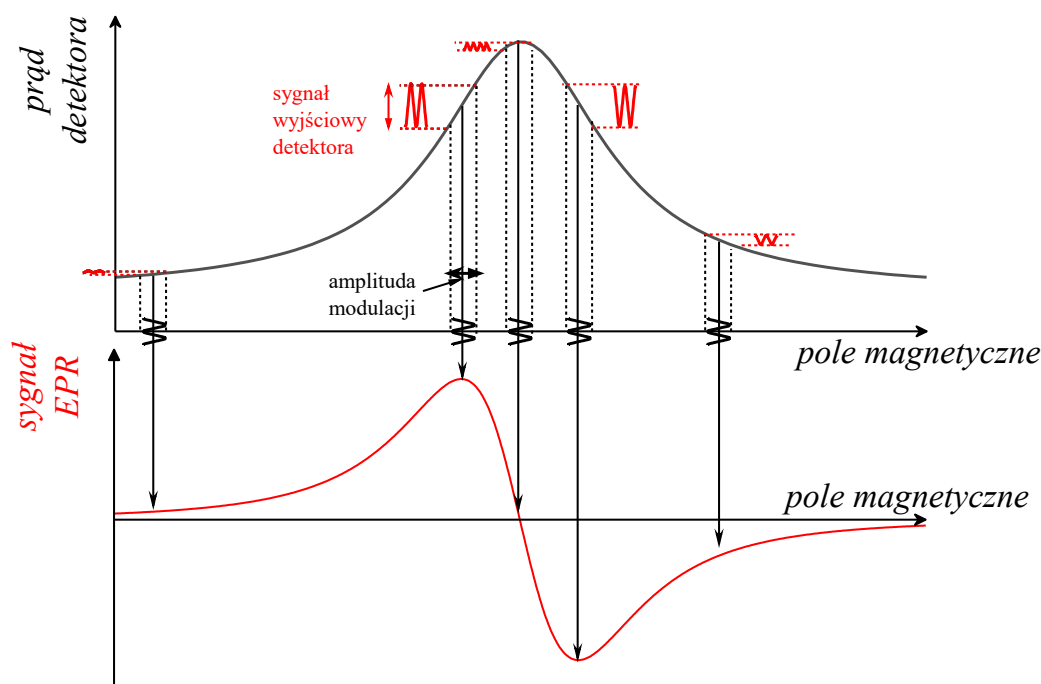
Kształt linii rezonansowej wynika z równań Blocha i można go opisać przy pomocy *dynamicznej podatności magnetycznej*. Funkcja  $\chi''$ , która opisuje kształt rezonansu magnetycznego, to absorpcyjna część dynamicznej podatności magnetycznej, przesunięta w fazie o kąt  $\pi/2$  względem oscylującego pola  $\mathbf{B}_1$ . Amplituda sygnału rezonansu jest proporcjonalna do  $\chi''$ . Jest to kształt linii Lorentza. Postać  $\chi''$  podana jest poniżej:

$$\chi''(\omega) = \omega_0 \chi_0 T_2 \frac{s}{1 + (\omega_0 - \omega)^2 T_2^2 s}, \quad (11)$$

gdzie,  $\omega_0$  – częstość rezonansowa (u nas częstość użytych mikrofal),  $\chi_0$  – statyczna podatność magnetyczna,  $T_2$  – czas relaksacji podłużnej,  $s$  – współczynnik nasycenia dany jest równaniem:

$$S = \frac{1}{1 + \gamma^2 B_1^2 T_1 T_2} \quad (12)$$

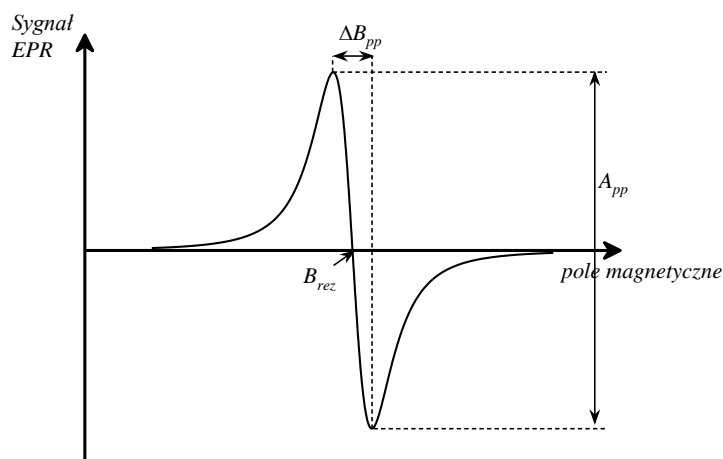
W większości badanych próbek natężenie sygnału rezonansowego jest bardzo małe. Sygnał rezonansowy najczęściej jest porównywalny lub nawet mniejszy niż wartość szumów tła. Dlatego w spektrometrach EPR stosuje się modulację pola magnetycznego i rejestrację sygnału przy użyciu wzmacniacza lock-in. Modulowane jest pole magnetyczne, najczęściej z częstotliwością około 100 kHz i amplitudą modulacji którą wybiera operator spektrometru. Modulacja ta wpływa na sygnał rezonansowy, który jest oddzielany od szumów używając detekcji fazowej przy zadanej częstotliwości modulacji. W efekcie uzyskuje się znaczną poprawę stosunku sygnału do szumu. Rysunek 3 pokazuje schematycznie zasadę działania tej techniki.



**Rysunek 3.** Zasada działania modulacji pola magnetycznego i techniki detekcji fazowej przy zadanej częstotliwości modulacji. Linia absorpcyjna jest odwzorowywana podczas skanowania pola magnetycznego przy ustalonej częstotliwości mikrofal.

W przypadku gdy stosowana jest technika modulacji i lock-in, kształt mierzonej linii rezonansowej jest pierwszą pochodną względem pola magnetycznego linii Lorentza. Kształt ten przedstawiony jest na Rysunku 4. Charakterystycznymi parametrami krzywej Lorentza jest jej szerokość połówkowa i amplituda. W przypadku krzywej opisanej pochodną, ze względu na wygodę analizy, podaje się wielkości szczyt-szczyt (ang. peak-to-peak): amplitudę peak-to-peak  $A_{pp}$  i szerokość peak-to-peak  $\Delta B_{pp}$  (patrz Rysunek 4).

Dobór amplitudy modulacji jest zadaniem operatora spektrometru. Im większa amplituda modulacji tym silniejszy sygnał. Z drugiej strony, zbyt duża amplituda modulacji przyczynić się może do zaburzenia kształtu sygnału. Badać będziesz ten efekt w tym ćwiczeniu. Przyjęło się, że amplituda modulacji nie przekraczająca  $\frac{1}{3} \Delta B_{pp}$  powoduje akceptowalnie małe zniekształcenie sygnału.



**Rysunek 4.** Schematyczny kształt pierwszej pochodnej względem pola magnetycznego krzywej Lorentza z zaznaczonymi wielkościami charakteryzującymi linię:  $A_{pp}$  i  $\Delta B_{pp}$ . Pole rezonansowe wyznacza oczywiście punkt przejścia krzywej przez 0.

### Wyznaczanie czasów $T_1$ i $T_2$

Przypomnijmy, że  $B_1$  jest amplitudą oscylującego pola magnetycznego mikrofal.  $B_1$  jest proporcjonalna do pierwiastka z mocy  $B_1 \sim \sqrt{P}$ . Dla małych pól  $B_1$ , a więc przy zastosowanych małych mocach mikrofal, współczynnik nasycenia  $s$  z równania (12) wynosi 1, a amplituda linii rezonansowej rośnie z pierwiastkiem mocy:

$$A_{pp} \sim \sqrt{P}. \quad (13)$$

Linia rezonansowa ma wtedy stałą szerokość, która zależy od czasu relaksacji poprzecznej  $T_2$ :

$$\Delta B_{pp} = \frac{2}{\sqrt{3}\gamma T_2}. \quad (14)$$

Gdy zwiększamy moc mikrofal istotne stają się efekty nasycenia,  $s$  zaczyna różnić się od 1. Obserwujemy wtedy odstępstwo od pierwiastkowej zależności amplitudy od mocy i poszerzanie się linii rezonansowej. Z równania (9) widać, że efekty nasycenia obserwowane będą gdy:

$$\gamma^2 B_1^2 T_1 T_2 > 1 \quad (15)$$

Wykorzystaj tę zależność do oszacowania czasu relaksacji  $T_1$  dla twojej próbki. Czas  $T_2$  wyznacz z szerokości linii rezonansowej zgodnie z równaniem (11). Zależność  $B_1$  od mocy jest cechą wykorzystanej wnęki rezonansowej, przyjmij:

$$B_1 [\text{G}] = 2\sqrt{P[\text{W}]} \quad (16)$$

Z jaką dokładnością jesteś w stanie oszacować czasy relaksacji poprzecznej i podłużnej dla mierzonych przez siebie linii rezonansowych?

Uwaga! Podane powyżej zależności są słuszne dla jednorodnie poszerzonych linii rezonansowych, to znaczy takich których kształt opisuje linia Lorentza. Dla niejednorodnie poszerzonych linii rezonansowych, opisanych kształtem linii Gaussa, należy stosować inny rachunek.

## TEMPO

W ćwiczeniu będziesz badać próbki TEMPO rozpuszczone w mieszaninie wody i gliceryny. TEMPO, 2,2,6,6-tetrametylopiperydynylooksyl o wzorze cząsteczkowym  $C_9H_{18}NO$ , jest stabilnym rodnikiem (posiada niesparowany elektron) wykorzystywanym powszechnie jako znacznik spinowy w chemii i biochemii. Badany obiekt i jego znacznik spinowy muszą posiadać zgodne grupy funkcyjne, które potrafią stworzyć stabilne wiązania.

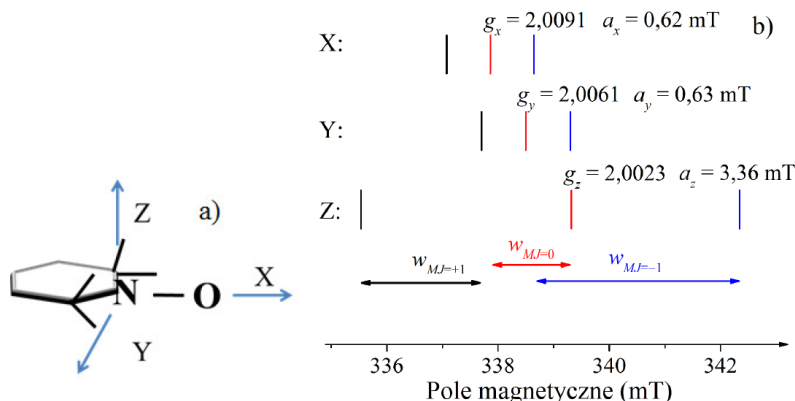
Cząsteczka TEMPO wykazuje silną anizotropię, to znaczy wartości współczynnika  $g$  i parametrów opisujących rozszczepienie nadsubtelne (a więc i położenie linii rezonansowych w widmie) zależą od orientacji cząsteczki względem zewnętrznie przyłożonego pola magnetycznego. W cząsteczce wyróżniamy trzy charakterystyczne osie: oś  $X$  wzdłuż wiązania N-O, oś  $Y$  prostopadle do wiązania N-O, w płaszczyźnie cząsteczki i oś  $Z$  prostopadle do płaszczyzny cząsteczki TEMPO. Schemat cząsteczki z zaznaczonym wiązaniem O-N i osiami  $X$ ,  $Y$ ,  $Z$  jest pokazany na Rysunku 5(a). Dla danego ustawienia cząsteczki względem pola magnetycznego, linia rezonansowa rozszczepiona jest na trzy linie struktury nadsubtelnej (tzw. tryplet), związane z oddziaływaniem spinu niesparowanego elektronu z jądrem azotu o spinie jądrowym  $I = 1$  (występują trzy możliwe rzuty  $I$  na oś kwantyzacji  $m_I = +1$ ,  $m_I = 0$  i  $m_I = -1$ ). Dla różnych orientacji cząsteczki względem kierunku pola magnetycznego te trzy linie występować będą przy różnych wartościach pola rezonansowego, tak jak zostało schematycznie pokazane na Rysunku 5(b). Jednocześnie wartość współczynnika  $g$  wyznaczonego przez położenie środkowej linii rezonansowej, oraz wartość parametru struktury nadsubtelnej  $a$  wyznaczonego jako odległość pomiędzy liniami struktury nadsubtelnej, zależą od orientacji pola magnetycznego względem cząsteczki. Proszę zwrócić uwagę, że anizotropia położenia linii rezonansowej  $m_I = +1$  jest największa.

W rzeczywistości badamy zawsze zespół cząsteczek losowo ustawionych względem kierunku pola magnetycznego. Widmo rezonansowe powstaje wtedy w wyniku nałożenia wkładów od poszczególnych składników układu. W efekcie obserwujemy szerokie linie rezonansowe o uśrednionym położeniu, tak jak schematycznie zostało pokazane na Rysunku 5(b). W przypadku mobilności znacznika (np. rozpuszczonego w cieczy, mogącego wykonywać obroty) kształt widma rezonansowego będzie odzwierciedlał preferowane osie obrotów. I tak dla wyróżnionych obrotów wokół osi  $Z$  lub obrotów izotropowych, bez wyróżnionej żadnej osi, linia odpowiadająca  $m_I = -1$  będzie miała największą szerokość a dwie pozostałe linie  $m_I = 0$  i  $m_I = 1$  będą miały zbliżoną szerokość. W przypadku wyróżnionych obrotów względem osi  $X$  linia  $m_I = 0$  będzie szersza od linii  $m_I = +1$ . W przypadku wyróżnionych obrotów wokół osi  $Y$ , linia  $m_I = 0$  będzie węższa od linii  $m_I = +1$ . W każdym przypadku linia  $m_I = -1$  jest najszerszą linią w widmie. Dzieje się tak na skutek uśredniania wkładów prostopadłych do osi obrotu i jest efektem różnic w anizotropii poszczególnych linii. Analiza szerokości linii widma rezonansowego dostarcza nam więc informacji o mobilności znacznika. Mobilność tą można ilościowo opisać za pomocą czasu korelacji rotacyjnej  $\tau$ . Jest to średni czas jaki potrzebuje cząsteczka aby obrócić się o 1 radian [V. Chechik et al.]:

$$\tau(s) = 6,51 \cdot 10^{-9} w_{m_I} \left( \sqrt{\frac{A_{pp}(m_I=0)}{A_{pp}(m_I=1)}} + \sqrt{\frac{A_{pp}(m_I=0)}{A_{pp}(m_I=-1)}} - 2 \right), \quad (17)$$



gdzie  $w_{m_I}$  to pełna szerokość połówkowa linii  $m_I = 0$  wyrażona w mT (skorzystaj z przybliżenia:  $w = \frac{\sqrt{3}}{2} \Delta B_{pp}$ ), a  $A_{pp}(m_I = 0, +1, -1)$  to amplitudy peak-to-peak poszczególnych linii widma. W jednorodnym ośrodku (w temperaturze pokojowej) cząsteczka TEMPO wykonywać będzie rotacje bez wyróżnionej osi obrotu z czasem korelacji rotacyjnej  $\tau < 0,1$  ns. W przypadku spadku mobilności znacznika czas korelacji będzie rósł.



**Rysunek 5.** (a) Schemat cząsteczki TEMPO z zaznaczonym wiązaniem N-O i osiami X, Y, Z. (b). Położenie trzech linii struktury nadsubtelnej cząsteczki TEMPO (zaznaczonych odpowiednio pionowymi liniami w kolorze czarnym, czerwonym i niebieskim) w zależności od orientacji kierunku pola magnetycznego względem osi X, Y i Z cząsteczki. Wartość współczynnika  $g$  i parametru struktury nadsubtelnej  $a$  jest zależna od kierunku przyłożonego pola. W przypadku pomiaru wykonanego na zespole przypadkowo zorientowanych cząsteczek, położenie i szerokość linii rezonansowych zaznaczona jest schematycznie poziomymi strzałkami [P. Wyszkołek, Praca magisterska, 2016].

### III. Wykonanie pomiarów

#### III.1 Układ eksperymentalny

##### Zasada działania spektrometru EPR

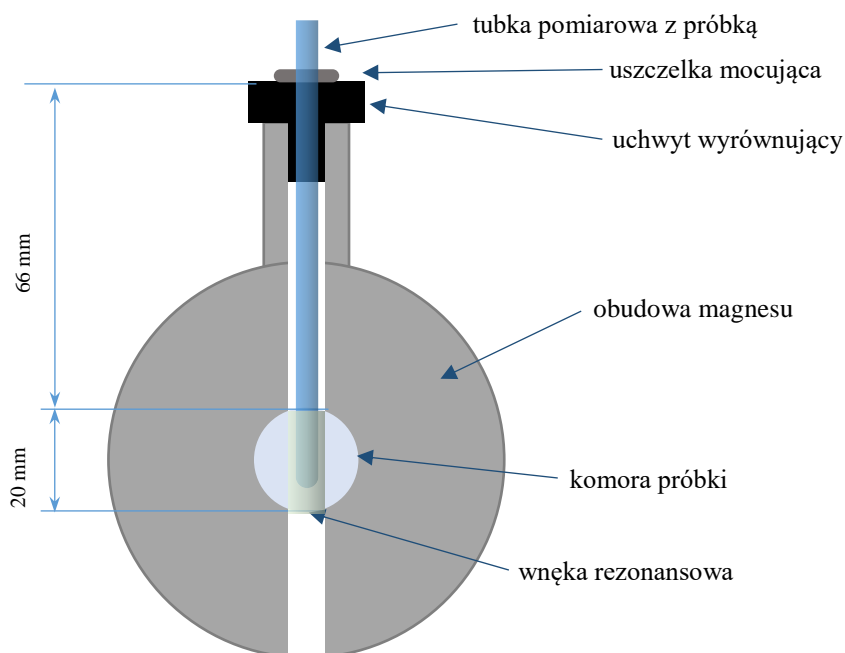
Typowy spektrometr EPR działający w trybie fali ciągłej zbudowany jest z mostka mikrofalowego kryjącego w sobie źródło promieniowania mikrofalowego i detektor. W starszych układach źródłem był klistron, w nowocześniejszych używa się diody Gunna. Nie można łatwo stroić mocy wyjściowej mikrofal, można ją jednak stłumić, dlatego często moc mikrofal określa się za pomocą tłumienia podawanego w dB. Odpowiedni dobór mocy mikrofal jest konieczny aby uniknąć efektów nasycenia. Większość spektrometrów EPR to spektrometry działające na zasadzie odbicia. Rejestrują zmiany mocy mikrofal odbitych od wnęki rezonansowej zawierającej próbkę, podczas przejścia przez rezonans (skanujemy pole magnetyczne). Próbka umieszczona jest we wnęce mikrofalowej, zwanej również rezonatorem, w której wytwarza się fala stojąca. Badane przejścia spinowe są to, tzw. przejścia magnetyczne dipolowe, wymagające absorpcji kwantu pola magnetycznego promieniowania mikrofalowego. Dlatego też wnęki rezonansowe EPR projektuje się tak, aby w miejscu próbki występowało maksimum magnetycznej składowej fali elektromagnetycznej. Układ wyposażony jest też oczywiście w magnes pola stałego.

### *Spektrometr micro ESRedu*

Do dyspozycji masz **nabiurkowy spektrometr micro ESRedu** produkcji Bruker BioSpin GmbH wyposażony w magnes ziem rzadkich będący źródłem pola magnetycznego o indukcji 0,348 T (Tesli). Instrument pracuje w modzie fali ciągłej (ang. continuous wave, CW) w zakresie przemiatania 500 G (gaus). Centralna wartość pola magnetycznego została tak dobrana, aby odpowiadała współczynnikowi  $g = 2$ , charakterystycznemu dla swobodnych elektronów.

*Dygresja: warto zapamiętać, że  $1 T = 10\ 000 G$ , a więc  $0,348 T = 3480 G$ . Gaus jest jednostką z układu CGS, wypartego przez układ SI, jednak wciąż jest powszechnie używana w technikach rezonansu magnetycznego.*

Spektrometr wyposażony jest w cylindryczną wnękę dielektryczną  $TM_{011}$  o średnicy 5 mm i długości 20 mm. Użycie dielektrycznego materiału w rezonatorze (nieprzewodzącego, o wysokiej stałej dielektrycznej) modyfikuje rozkład pól magnetycznego i elektrycznego. Rezonatory dielektryczne charakteryzują się typowo dużo większą dobrocią wnęki (a więc i czułością spektrometru) niż klasyczne rezonatory wykonane z metalu. Schemat komory próbki pokazany jest na Rysunku 6.



**Rysunek 6.** Schemat komory próbki z podanymi wymiarami wnęki rezonansowej.

### III.2 Opis próbek

Do dyspozycji masz próbki:

- Próbka Cr w MgO
- Zestaw próbek TEMPO w mieszaninie z wodą i gliceryną. Stosunek wody do gliceryny w mieszaninie wskazany jest na etykiecie próbki, np. 20/80 oznacza, że TEMPO został rozpuszczony w mieszaninie składającej się w 20% wody i 80% z gliceryny (objętościowo).

### III.3 Rejestracja widma rezonansowego

- Włącz zasilanie spektrometru microESR.
- Uruchom oprogramowanie microESR.

*Przed przystąpieniem do pomiaru widma musisz najpierw zestroić wnękę.*

- W pasku głównym wybierz opcję **Tuning**, następnie **AUTO TUNE**. Pojawi się okienko **Auto Tune – Settings**. Kliknij **TUNE**. Nie zmieniaj domyślnych ustawień opcji strojenia. Poczekaj aż spektrometr automatycznie zestroi wnękę.

*Ustawienie parametrów pomiaru.*

- Przejdź do opcji **Spectrometer** na pasku głównym.  
**Sweep settings**  
**Sample Name** – wpisz nazwę próbki. Nazwa ta pojawi się w nazwie pliku.  
**Comment** – wpisz komentarz, np. „Seria pomiarowa w funkcji mocy, @ 25 mW”. Komentarz ten pojawi się w nagłówku pliku i pomoże ci później zidentyfikować zapisany plik.  
**Run Type** – wybierz, np. **Single Run**.  
**Number of Scans** – podaj ile skanów chcesz zmierzyć na jedno widmo. Oprogramowanie uśredni te pomiary.  
**Number of Points** – podaj ile punktów na osi X ma mieć twoje widmo.  
**Magnetic Field**  
Ustaw zakres pola magnetycznego, w którym chcesz mierzyć. Na początku możesz skorzystać z funkcji **Max Field**, później zawężysz zakres pola aby zmierzyć linię rezonansową z zadowalającą cię rozdzielczością.  
**Power Settings**  
**Microwave Power** – moc mikrofal.  
**Mod Coil Amplitude** – amplituda modulacji.  
**Digital Gain** – wzmocnienie sygnału.

*Uruchomienie pomiaru.*

- **START SWEEP** – uruchamia pomiar. Uwaga! Wskaźnik w **RF Cavity** powinien wskazywać **TUNED**.

*Zapis widma na dysku*

- Zapis widma powinien odbywać się automatycznie. Pliki nazywane są zgodnie z opisem w polu Sample Name. Przy domyślnych ustawieniach plik pojawi się na C:\DANE na ESR. Katalog ten możesz zobaczyć też na stacjonarnym komputerze umieszczonym przy układzie microESR. Komputer ten podłączony jest do internetu.

EXIT – jeśli chcesz wyjść z programu i wyłączyć spektrometr.

### III.4 Wykonanie ćwiczenia

Próbka Cr w MgO

- Umieść próbkę we wnęce rezonansowej na odpowiedniej głębokości. Twoja próbka powinna znajdować się w centrum wnęki rezonansowej (rys. 6).
- Wykonaj pomiar próbny dla zadanej mocy mikrofal 6 mW i amplitudy modulacji 0,5 G oraz domyślnych pozostałych parametrów. Dobierz właściwie zakres pola magnetycznego, tak aby zmierzyć całą linię rezonansową. Pamiętaj, że będziesz chciał/chciała wyznaczyć szerokość linii, amplitudę i pole rezonansowe. Sprawdź, czy wzmacnienie jest dobrze ustawione (czy linia nie jest „ucięta” i czy nie pojawia się „digitalizacja” wartości natężenia sygnału). Teraz też możesz zoptymalizować położenie pozycji próbki we wnęce – sygnał powinien mieć największą możliwą intensywność.
- Zorientuj się, jak wygląda struktura danych zapisywanych przez spektrometr, jakie parametry są zapisywane automatycznie w pliku a jakie powinieneś zapisać w notesie? Porównaj wartość częstości zapisaną w pliku i wartość częstości która wyświetla się w programie.
- Wykonaj pomiar w funkcji mocy dla amplitudy modulacji 0,5 G. Wykonaj na zajęciach wykres amplitudy peak-to-peak w funkcji pierwiastka z mocy. Możesz użyć oprogramowania Origin zainstalowanego na komputerze przy spektrometrze. Przy jakiej mocy mikrofal obserwujesz nasycenie sygnału?
- Wykonaj pomiar w funkcji amplitudy modulacji dla mocy mikrofal 6 mW. Nie wolno przekraczać amplitudy modulacji 4,5 G. Wykonaj na zajęciach wykres szerokości linii peak-to-peak w funkcji amplitudy modulacji. Możesz użyć oprogramowania Origin zainstalowanego na komputerze przy spektrometrze. Dla jakiej wartości amplitudy modulacji obserwujesz poszerzenie linii rezonansowej?
- Zarejestruj jedno dobre widmo z właściwie dobranymi parametrami pomiaru, które posłuży ci w domu do wyznaczenia wartości współczynnika  $g$ . Zanotuj jak zmienia się częstość mikrofal podczas pomiaru. Wykorzystasz tą wiedzę do wyznaczenia niepewności współczynnika  $g$ .

Próbki TEMPO w wodzie i glicerynie.

- Zarejestruj widma rezonansowe dla wszystkich dostępnych próbek TEMPO. Pamiętaj o odpowiednim doborze parametrów pomiaru (moc mikrofal, amplituda modulacji, wzmacnienie, zakres pola magnetycznego).

### IV. Analiza wyników pomiarów

Raport powinien zawierać:

W przypadku próbki Cr w MgO

- Rysunek pokazujący widma zmierzone w funkcji amplitudy modulacji (zastanów się jak w sposób czytelny je zaprezentować) wraz z jego dyskusją. Przy jakim

stosunku szerokości linii do amplitudy modulacji zaczyna być widoczne zniekształcenie sygnału?

- Wykres zależności szerokości linii rezonansowej od amplitudy modulacji.
- Rysunek prezentujący widma zmierzone w funkcji mocy.
- Wykres zależności szerokości linii rezonansowej od mocy wraz z wyznaczoną szerokością linii  $\Delta B_{pp}$  poniżej nasycenia, niepewnością szerokości linii  $\Delta B_{pp}$ , czasem relaksacji  $T_2$  i niepewnością czasu relaksacji, patrz równanie (14).
- Wykres zależności amplitudy linii rezonansowej  $A_{pp}$  od pierwiastka mocy wraz z wyznaczoną krytyczną wartością mocą, przy której zaczynamy obserwować efekty nasycenia i niepewnością tej wartości oraz czasem relaksacji  $T_1$  i jego niepewnością, patrz równanie (15).
- Wyznaczone pole rezonansowe  $B_{rez}$  wraz z niepewnością, częstość mikrofal przy tym pomiarze wraz z niepewnością oraz współczynnik  $g$  wraz z niepewnością, patrz równanie (3).

W przypadku serii próbek TEMPO w wodzie i glicerynie.

- Rysunek pokazujący widma zmierzone dla wszystkich próbek TEMPO z zaznaczoną częstości mikrofal, przy której wykonywany był pomiar. Zastanów się dlaczego położenie linii rezonansowych jest inne dla każdego widma. Czy wpływa to na wartość współczynnika  $g$ ?
- Wyznaczenie pola rezonansowego  $B_{rez}$  z niepewnością, częstości mikrofal z niepewnością i współczynnika  $g$  wraz z niepewnością (z położenia centralnej linii trypletu) oraz parametru struktury nadsubtelnej  $a$  wraz z niepewnością (z odległości pomiędzy liniami trypletu) dla próbki TEMPO która charakteryzuje się najwęższymi liniami rezonansowymi.
- Wyznaczenie czasów korelacji rotacyjnej wraz z niepewnością dla wszystkich próbek, patrz równanie (17).
- Wykres czasu korelacji w funkcji wybranego przez siebie parametru charakteryzującego mieszaninę wody z gliceryną.

Jeśli na którymś z etapów analizy danych prowadzisz dopasowanie zależności modelowej metodą najmniejszych kwadratów, obowiązkowo podaj postać dopasowywanej funkcji oraz określ przyjęte niepewności. Podaj uzasadnienie wyboru zmiennej niezależnej, za wyjątkiem sytuacji, w których ona jest z góry narzucona. Przeprowadź walidację modelu uwzględniającą zasadność przyjętych niepewności pomiarowych. Jako wynik dopasowania podaj estymaty dopasowywanych parametrów wraz z ich niepewnościami. W uzasadnionych przypadkach przedyskutuj istotność dopasowywanych parametrów. Do dobrej praktyki należy również w przypadku dopasowania funkcji opisanej więcej niż jednym parametrem podanie kowariancji i współczynników korelacji parametrów a także wykresu reszt z tego dopasowania oraz jego dyskusja.

Pamiętaj też, że najczęściej używana metoda najmniejszych kwadratów wymaga wyników pomiarowych, z których każdy uzyskany jest w niezależnym akcie pomiarowym. **Nie mają takiego charakteru wielkości uzyskane np. w wyniku odejmowania jednej ustalonej wartości od wszystkich wyników pomiarów, jeśli wartość odejmowana pochodzi z pomiaru.**

## V. Dodatkowe uwagi odnośnie do raportu

Nim przygotujesz raport, zaznajom się z uwagami zawartymi w [wymaganiach dotyczących raportu](#) zamieszczonymi na stronie pracowni. Absolutnie zalecane jest także świadome przyjrzenie się redakcji tekstu, a także tabel, rysunków i wzorów, sposobów ich numerowania, tytułowania i opisywania w dowolnym, ale wydanym przez uznane wydawnictwo, akademickim podręczniku do fizyki, jak również zajrzenie do kilku publikacji w różnych czasopismach naukowych, co może ułatwić podjęcie decyzji co do podziału Twojego raportu na części.

W raporcie **obowiązkowo** zamieść wszystkie surowe wyniki pomiarów tak, aby sięgając jedynie do raportu i bez potrzeby odwoływania się do protokołu z doświadczenia można było wykonać pełną i niezależną analizę Twoich danych. Pamiętaj, że w niektórych przypadkach uzasadnione jest przeniesienie tych danych do Suplementu. W przypadku bardzo dużej liczby danych pomiarowych (np. zebranych komputerowo) dopuszczalne jest umieszczenie danych nie w formie tabel, ale w formie wykresów. Wówczas oryginalne dane należy dołączyć do raportu w formie cyfrowej (np. w wiadomości email do prowadzącego).

## VI. Literatura uzupełniająca

- Jan Stankowski, Wojciech Hilczer, *Wstęp do spektroskopii rezonansów magnetycznych*. Wydawnictwo naukowe PWN, Warszawa 2005.
- Gareth R. Eaton, Sandra S. Eaton, David Barr, Ralph T. Weber, *Quantitative EPR*, Springer, Wien, New York, 2010.
- Charles Kittel, *Wstęp do fizyki ciała stałego*, Wydawnictwo naukowe PWN, Warszawa 1999.
- Paulina Wyszmołek, *Synteza i charakteryzacja spinowo znakowanych analogów końca 5'mRNA jako sond molekularnych do badań EPR*, Praca magisterska, Uniwersytet Warszawski, 2016.
- V. Chechik, H.J. Wellsted, A. Korte, B.C. Gilbert, H. Caldararu, P. Ionita, A. Carageorghopol, *Faraday Discuss.* 125 (2004) 279–291; discussion 293–309.

Opracowanie: A. Wołoś, listopad 2021 r.