

Luís Guilherme Uhlig

**Construção de uma sonda *Microslot* para
Experimentos com Ressonância Magnética
Nuclear**

Rio de Janeiro

2017

Luís Guilherme Uhlig

**Construção de uma sonda *Microslot* para Experimentos
com Ressonância Magnética Nuclear**

Dissertação de Mestrado apresentada no âmbito do Programa de Mestrado Profissional em Instrumentação Científica

Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas - CBPF
Programa de Mestrado Profissional em Instrumentação Científica

Orientador: Alexandre Martins de Souza

Rio de Janeiro

2017

Agradecimentos

Agradeço a meus pais, Lourival e Raquel, por sempre terem me incentivado a estudar.

Agradeço a minha esposa, Cyntia, por ter me apoiado e incentivado a fazer este curso de mestrado.

Agradeço a meu orientador, Alexandre Martins, por ter me guiado na elaboração deste trabalho sempre pacientemente.

Agradeço a Roberto Sarthour, a Ivan Oliveira e a toda a equipe do laboratório de Ressonância Magnética Nuclear do CBPF por me receberem e propiciarem esta oportunidade.

Agradeço ao Coordenador do Programa de Mestrado Profissional Alexandre Mello pela ajuda e contribuições.

Agradeço aos professores André Rossi, Pablo Batista, Geraldo Cernicchiaro e Herman Júnior pelas disciplinas ministradas.

Agradeço ao professor João Paulo Sinnecker pela orientação na utilização da técnica de litografia no Labnano.

Agradeço aos alunos Leduc, Gabriel, Lesslie, Cilene, Bruno e demais alunos que contribuíram de alguma forma, seja por meio de ideias, dicas ou auxílio na utilização de equipamentos nos laboratórios.

Agradeço à Mariana Giffoni pelo auxílio no laboratório de química.

Agradeço a toda a equipe da oficina do CBPF pela produção de diversas peças para este trabalho.

Agradeço à Bete da Coordenação de Formação Científica e demais funcionários do CBPF, que contribuem para o bom funcionamento dos cursos.

Agradeço à ANP, cujo horário de trabalho flexível permitiu a realização deste curso.

Agradeço a Daisaku Ikeda e amigos da Soka Gakkai por todo o incentivo e por me levar a perceber que por trás de tudo deve haver um objetivo maior.

"Consta [no Sutra Vimalakirti] também que, se a mente das pessoas é impura, sua terra é igualmente impura. Mas, se sua mente é pura, assim é sua terra. Portanto, não há duas terras - pura e impura. A diferença reside apenas no bem e no mal da própria mente.

Isso se aplica tanto aos budas como aos mortais comuns. Quando uma pessoa é dominada pela ilusão, é chamada de mortal comum; mas, quando iluminada, é chamada de buda. Tal situação se assemelha a um espelho embaçado que brilhará como uma joia quando for polido. A mente que se encontra encoberta pela ilusão da escuridão inata da vida é como um espelho embaçado; mas, ao ser polida, tornar-se-á como um espelho límpido, que refletirá a natureza essencial dos fenômenos e da realidade. Manifeste profunda fé polindo seu espelho dia e noite. Como deve poli-lo? Não há outra forma senão recitar o

Nam-myoho-rengue-kyo"

Coletânea dos Escritos de Nichiren Daishonin, v. 1, p. 4, Ed. Brasil Seikyo

Resumo

A Ressonância Magnética Nuclear (RMN) é uma técnica de análise que possui aplicações em diversas áreas, que incluem a compreensão da estrutura molecular, cinética de reações, diagnóstico por imagem, caracterização e identificação de substâncias. Os experimentos de RMN possuem baixa sensibilidade, o que limita a utilização de amostras microscópicas. Uma das abordagens para aumentar a sensibilidade do experimento é a miniaturização do circuito ressonador contido na sonda, com o desenvolvimento de microbobinas ou microrressonadores. Este trabalho apresenta o desenvolvimento, construção e montagem de uma sonda do tipo *microslot*, desde a fabricação do circuito contendo o *microslot* mediante o emprego da técnica de litografia com *LASER*, passando pela seleção dos materiais, confecção dos desenhos técnicos e montagem da estrutura da sonda. Foram realizados experimentos para se comparar o desempenho do *microslot* com duas outras sondas comerciais do tipo sela. A sonda do tipo *microslot* apresentou maior eficiência de conversão, ao gerar um campo magnético mais intenso para uma dada potência elétrica. A partir dos experimentos de nutação, verificou-se que o campo de radiofrequência da sonda *microslot* é menos homogêneo do que para as sondas comerciais. A resolução obtida com a sonda *microslot* permitiu observar a presença de grupos químicos e o acoplamento entre *spins* de núcleos próximos em uma amostra de etanol. Ao se comparar a sensibilidade, por meio da relação sinal ruído normalizada pela quantidade de núcleos na amostra, a sonda *microslot* apresentou desempenho superior ao das sondas comerciais. Os experimentos envolveram ainda a aplicação dos métodos de inversão e recuperação, para medição de T_1 , e do método CPMG (Carr-Purcell-Meiboom-Gill) para se medir o tempo de relaxação transversal T_2 .

Palavras-chave: Microrressonador, *microslot*, ressonância magnética nuclear.

Abstract

Nuclear magnetic resonance (NMR) technique is applied in several areas, comprising molecular structure elucidation, chemical reaction kinetics, image diagnosis, identification and characterization of substances. Nuclear magnetic resonance experiments have low sensitivity, which limits the usage of the technique. One approach to enhance the sensitivity of NMR experiments is the miniaturization of the resonator circuit contained in the probe, by developing microcoils or microresonators. This work presents the development, construction and assembly of a microslot probe, from the fabrication of the circuit containing the microslot using LASER lithography, to the selection of materials, technical drawing and assembling of the probe structure. Experiments were performed to compare the microslot probe and commercial saddle type probes. The microslot probe presented higher conversion efficiency, since it can generate a more intense magnetic field for a given electrical power. By conducting nutation experiments, it was found that the radiofrequency field of the microslot probe is less homogeneous than those of the commercial probes. The resolution obtained with the microslot probe allows the observation of different chemical groups. When comparing the sensitivity of the probes through the signal to noise ratio normalized by the nuclei quantity, the microslot probe presented superior performance. Experiments also involved T_1 measurement using inversion-recovery method, and transverse relaxation time T_2 measurement using CPMG (Carr-Purcell-Meiboom-Gill) method.

Keywords: Microresonator, microslot, nuclear magnetic resonance.

Lista de figuras

Figura 1 –	Precessão do momento de dipolo magnético em torno do campo B_0 . . .	15
Figura 2 –	Magnetização $\vec{M}$ da amostra e aplicação do campo magnético oscilante $2\vec{B}_1$	16
Figura 3 –	a-b-c) Campo transversal oscilante d-e-f) Decomposição do campo em dois vetores girantes.	17
Figura 4 –	a) Componente estacionária do campo transversal no referencial girante. b) Rotação da Magnetização $\vec{M}$ devido ao campo transversal.	17
Figura 5 –	Precessão da Magnetização $\vec{M}$	18
Figura 6 –	Movimento da Magnetização $\vec{M}$ ao cessar a aplicação do campo transversal.	18
Figura 7 –	Bobina com eixo paralelo ao plano $x - y$ para captar o sinal de variação da magnetização $\vec{M}$	19
Figura 8 –	Exemplo de sinal de decaimento de indução livre (FID), obtido com uma sonda comercial de $5mm$, observando-se o núcleo H de uma amostra de $0,1\%$ de H_2O em D_2O , imersa em um campo de $11,7$ T.	19
Figura 9 –	Diagrama em Blocos típico de um espectrômetro de RMN.	20
Figura 10 –	Diferentes tipos de sondas de RMN. a) Sela, b) Solenóide, c) Microbobina plana, d) Microrressonador plano, e) <i>Stripline</i> , f) <i>Microslot</i>	22
Figura 11 –	Circuito ressonante para RMN.	24
Figura 12 –	Circuito equivalente de um indutor (à esquerda) e de um capacitor (à direita), considerando não idealidades.	25
Figura 13 –	Circuito ressonante para RMN considerando não idealidades dos componentes.	25
Figura 14 –	À esquerda: Sequência de pulsos utilizada no método da recuperação de inversão. À direita: Gráfico ilustrando a função exponencial obtida como resultado do método da recuperação de inversão.	30
Figura 15 –	Ilustração do Método de <i>spin-eco</i> ou Eco de Hahn. a) Estado inicial; b) Aplica-se um pulso $\pi/2$; c) Surge uma crescente diferença de fase entre as componentes da magnetização devido à não homogeneidade de B_0 ; d) Decorrido o tempo τ , aplica-se um pulso π ; e) As componentes da magnetização passam a se realinhar; f) O realinhamento atinge o máximo no tempo 2τ , quando se observa o eco.	32
Figura 16 –	Ilustração do Método CPMG para medição do tempo de relaxação <i>spin-spin</i> T_2 . Inicialmente, aplica-se um pulso $\pi/2$. Após um tempo escolhido τ , aplica-se um pulso π , e a partir de então, aplica-se um novo pulso π a cada intervalo 2τ	32

Figura 17 – À esquerda: Desenho da placa de circuito ressonante para RMN. São indicados a posição do <i>Microslot</i> e capacitores; À direita: Detalhe do desenho mostrando o <i>microslot</i>	33
Figura 18 – À esquerda: substrato sendo cortado com ferramenta de corte; à direita: pedaços de substrato limpos para deposição do resiste.	34
Figura 19 – Diagrama mostrando o processo de litografia. A litografia convencional utiliza uma máscara contendo o desenho a ser gravado. Já na litografia a <i>LASER</i> , o feixe concentrado percorre o desenho projetado no computador.	35
Figura 20 – À esquerda: Resiste AZ 1505 em um copo Becker; ao centro: Substratos em pré-aquecimento na placa quente, para eliminação de umidade; à direita: deposição do resiste na centrífuga modelo WS-650HZB-23NPPB.	35
Figura 21 – Desenho de dois circuitos para microrressonador formados apenas por objetos do tipo <i>polyline</i> , salvo no formato ".dxf".	37
Figura 22 – Foto do substrato após gravação e revelação. As áreas escuras possuem a proteção do resiste, enquanto as áreas claras expõem a camada de cobre diretamente.	38
Figura 23 – Testes de corrosão variando-se os parâmetros: proporções dos componentes do ácido, potência do feixe de <i>LASER</i> e espessura das bordas do <i>microslot</i> no desenho projetado.	39
Figura 24 – À esquerda: Fotografia do substrato após corrosão, preparado para o corte da placa de circuito. A fita branca foi colocada para proteger a área do <i>microslot</i> . À Direita: Fotografia da placa de circuito contendo o <i>microslot</i>	39
Figura 25 – Acima: Inspeção do <i>microslot</i> com microscópio óptico. As medidas são aproximadas e foram adicionadas com editor de imagem após a medição a partir da seleção visual na tela do microscópio eletrônico de varredura; abaixo: Inspeção do <i>microslot</i> com microscópio eletrônico de varredura.	40
Figura 26 – Fotografia da placa montada com o circuito ressonador.	41
Figura 27 – Estrutura básica: tubo e suporte. Unidades em milímetros.	42
Figura 28 – Vista superior do suporte para fixação do tubo no espectômetro. Unidades em milímetros.	43
Figura 29 – Vista geral da montagem da sonda, perfil do suporte para fixação do tubo no espectômetro, perfil longitudinal do tubo e visão das partes internas. Unidades em milímetros.	43

Figura 30 – Acima: Guias para hastes de acrílico: Os três furos maiores são para as hastes fixas com função de suporte, o furo central é destinado à passagem do cabo coaxial e os outros dois furos para a passagens das hastes de ajuste para os capacitores variáveis. Abaixo: Tarugo de teflon com três furos maiores para conexão com as hastes de suporte, um furo vazado central para passagem do cabo coaxial, dois furos para passagem livre das hastes de ajuste dos capacitores e um vinco para encaixe da placa de circuito. Unidades em milímetros.	44
Figura 31 – Detalhe do encaixe de uma das hastes de acrílico no botão de ajuste do capacitor variável. Foi inserido um parafuso com a cabeça removida na haste de acrílico, para haver o encaixe no botão de ajuste do capacitor variável. Unidades em milímetros.	45
Figura 32 – Fotografias da estrutura da sonda montada. À esquerda, placa com o circuito ressonador encaixada no tarugo de teflon e hastes de suporte presas às guias. À direita, visão do suporte para encaixe no espectômetro.	45
Figura 33 – Capilar com $250\mu m$ de diâmetro interno posicionado sobre <i>Microslot</i> . .	47
Figura 34 – À esquerda, capilar sendo posicionado sobre o <i>microslot</i> com auxílio do microscópio ótico; À direita: Sonda instalada no espectômetro	47
Figura 35 – Sintonia do <i>microslot</i> no espectômetro. A frequência em que a curva possui o mínimo valor é a frequência de ressonância, ajustada em $500MHz$.	48
Figura 36 – Aquisição com 16 <i>scans</i> de uma amostra contendo 3% de H_2O em D_2O . À esquerda: Sinal FID; à direita: espectro em frequência.	48
Figura 37 – Calibração realizada com as diferentes sondas. Os pontos são calculados pela integral numérica do espectro em frequências e a curva cheia é um ajuste com a função seno. Acima: calibração com o <i>microslot</i> ; Ao centro: calibração com a sonda de $5mm$; Abaixo: calibração com a sonda de $10mm$	50
Figura 38 – As imagens ao lado esquerdo exibem o experimento de nutação, que mostra o decaimento da amplitude da magnetização total da amostra em função do tempo de pulso. As imagens ao lado direito mostram a probabilidade de que um <i>spin</i> esteja sob a influência de um determinado valor de campo B_1 . Acima: resultado obtido com <i>microslot</i> ; Ao centro: resultado para sonda de $5mm$; Abaixo: resultado para sonda de $10mm$.	51
Figura 39 – Gráfico mostrando a probabilidade de que um <i>spin</i> esteja sob a influência de um determinado valor de campo de radiofrequência B_1 . Quanto mais aberta a forma da curva, menos homogêneo é o campo.	52
Figura 40 – Teste de resolução realizado com uma amostra contendo 100% etanol, com a indicação de cada grupo químico identificado no espectro.	53

Figura 41 – Teste de resolução realizado com uma amostra contendo 100% etanol. São mostrados em escala ampliada os grupos químicos separadamente. Acima: grupo OH ; Ao centro: grupo CH_2 Abaixo: grupo CH_3	54
Figura 42 – Método da recuperação de inversão, para medição do tempo de relaxação $spin$ -rede T_1 , para uma amostra de 1% de H_2O em 99% de D_2O , utilizando a sonda <i>microslot</i>	55
Figura 43 – Método CPMG, para medição do tempo de relaxação $spin$ - $spin$ T_2 , para uma amostra de 1% de H_2O em 99% de D_2O utilizando a sonda <i>microslot</i>	56

Lista de tabelas

Tabela 1 – Comparação de eficiência entre o <i>microslot</i> e as sondas de 5mm, 10mm.	49
Tabela 2 – Comparação de sensibilidade entre as sondas <i>microslot</i> , 5mm e 10mm.	55

Sumário

1	INTRODUÇÃO	12
2	CONCEITOS BÁSICOS DE RMN	14
2.1	Introdução à RMN	14
2.2	Arranjo experimental básico de RMN	20
2.3	Sondas de RMN	21
2.3.1	Tipos de Bobinas	21
2.3.2	Circuitos Ressonadores	24
2.3.3	Microslot e Modelagem	25
2.4	Caracterização do Campo Transversal B_1 de uma Sonda de RMN .	26
2.5	Resolução em RMN	27
2.6	Sensibilidade dos Experimentos de RMN	27
2.7	Tempos de Relaxação	30
3	CONSTRUÇÃO E MONTAGEM DA SONDA COM <i>MICROSLOT</i> .	33
3.1	Construção do <i>Microslot</i>	33
3.2	Circuito Ressonador	41
3.3	Construção da Estrutura	41
4	EXPERIMENTOS REALIZADOS	46
4.1	Preparação das amostras	46
4.2	Sintonia	46
4.3	Testes de Intensidade e Homogeneidade do Campo Transversal B_1	49
4.4	Teste de Resolução	52
4.5	Testes de Sensibilidade	53
4.6	Medidas de Tempo de Relaxação	55
5	CONCLUSÃO	57
	REFERÊNCIAS	59

1 Introdução

A Ressonância Magnética Nuclear (RMN) é uma técnica de análise que possui aplicações em diversas áreas como química, biologia, física, medicina e ciências dos materiais. Essas aplicações incluem, por exemplo, a compreensão da estrutura molecular, cinética de reações, diagnóstico por imagem, caracterização e identificação de substâncias [1, 2].

A técnica de RMN consiste geralmente em se inserir a amostra estudada em um campo magnético fixo, o qual tende a alinhar os *spins*, que são uma propriedade intrínseca dos núcleos atômicos, em uma dada direção preferencial [3]. Aplica-se, então, um pulso de radiofrequência, que interage com a amostra, a qual responde com um sinal que é detectado por um circuito ressonante na sonda de RMN e posteriormente amplificado. Por fim, a análise desse sinal no espectro de frequências fornece as características da amostra, objeto de estudo no experimento.

Um aspecto importante nos experimentos com RMN é a sensibilidade, que consiste na habilidade de distinguir sinal de ruído. Uma das abordagens para aumentar a sensibilidade do experimento é a miniaturização do circuito ressonador contido na sonda, com o desenvolvimento de microbobinas ou microrressonadores. Devido ao tamanho reduzido, microressonadores produzem um campo magnético intenso confinado em uma pequena região. Por isso, tais dispositivos possuem uma elevada eficiência de conversão de corrente elétrica em campo magnético. Inversamente, o fluxo magnético gerado pela amostra produz um forte sinal elétrico no ressonador, resultando assim em uma maior sensibilidade. Trabalhos recentes têm demonstrado o funcionamento de microressonadores tanto para a ressonância magnética nuclear [4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11] quanto para ressonância magnética eletrônica [12, 13, 14].

Este trabalho apresenta o desenvolvimento, construção e montagem de uma sonda do tipo *microslot* [8, 15, 9, 11], desde a fabricação do circuito contendo o *microslot* mediante o emprego da técnica de litografia com *LASER*, passando pela seleção dos materiais, confecção dos desenhos técnicos e montagem da estrutura da sonda.

Foram realizados experimentos para testar o funcionamento da sonda construída e comparar o desempenho do *microslot* com duas outras sondas comerciais do tipo sela. Na sonda do tipo *microslot*, um tubo capilar contendo a amostra é posicionado logo acima do *microslot*, de modo a interagir com a onda de radiofrequência. Já nas sondas comerciais a amostra é inserida em um tubo padrão de RMN, posicionado no interior da bobina. O resultado da interação da amostra com a radiofrequência é analisado no espectômetro. Observou-se que a sonda construída neste trabalho é capaz de detectar um sinal de uma amostra com aproximadamente 600 nanolitros e também possui resolução para distinguir

linhas espectrais muito próximas, o que é importante para espectroscopia de RMN de alta resolução.

Esta dissertação é dividida da seguinte maneira: O capítulo 2 apresenta uma breve revisão dos conceitos básicos de RMN, sensibilidade e funcionamento de ressonadores na aplicação de RMN. Em particular é realizada a análise de modelagem de uma sonda do tipo *microslot*, que consiste em um condutor com uma pequena abertura, a qual funciona preponderantemente como uma indutância. No capítulo 3 é descrita a construção da sonda. No capítulo 4 são apresentados os resultados dos testes experimentais e comparações com sondas comerciais. No capítulo 5, são discutidas algumas conclusões a respeito do desempenho da sonda construída a partir dos resultados experimentais, envolvendo testes de calibração e nutação, resolução, sensibilidade e medidas de tempo de relaxação.

2 Conceitos Básicos de RMN

Neste capítulo, será feita uma breve revisão de alguns aspectos da Ressonância Magnética Nuclear importantes para o presente trabalho. Inicialmente, será apresentada uma introdução à técnica de RMN. Em seguida, será discutida a sensibilidade em um experimento de RMN. Posteriormente, será discutido o funcionamento básico de uma sonda de RMN e será feita a análise de modelagem de uma sonda do tipo *microslot*.

2.1 Introdução à RMN

A Ressonância Magnética Nuclear foi inicialmente desenvolvida por Felix Bloch e Edward Mill Purcell, em 1945. Experimentos de RMN são possíveis pois diversos núcleos atômicos possuem momento angular intrínseco (*spin*) [1, 3].

É possível atribuir um momento de dipolo magnético $\vec{\mu}$ associado ao momento angular $\vec{J}$, conforme a Eq. 2.1:

$$\vec{\mu} = \gamma \vec{J} \quad (2.1)$$

Onde γ é a razão giromagnética, que é uma constante característica de cada núcleo.

A 2ª Lei de Newton para o momento angular é dada por:

$$\frac{d\vec{J}}{dt} = \vec{\tau} \quad (2.2)$$

Onde $\vec{\tau}$ é o torque externo aplicado sobre o sistema.

Utilizando-se da analogia com a mecânica clássica, pode-se obter uma equação de movimento para os momentos de dipolo magnéticos nucleares $\vec{\mu}$.

Multiplicando a 2ª Lei de Newton por γ e utilizando o fato de que o torque aplicado por um campo magnético $\vec{B}$ sobre um momento magnético é dado por $\vec{\mu} \times \vec{B}$ [16], obtém-se a equação de movimento para o momento magnético Eq. 2.3.

$$\gamma \frac{d\vec{J}}{dt} = \frac{d\vec{\mu}}{dt} = \vec{\mu} \times \gamma \vec{B}_0 \quad (2.3)$$

Para um campo magnético constante, alinhado com a direção z , as soluções da Eq. 2.3 são dadas por:

$$\mu_x(t) = \mu_x(0)\cos(\omega_0 t) \quad (2.4)$$

$$\mu_y(t) = \mu_y(0)\sin(\omega_0 t) \quad (2.5)$$

$$\mu_z = \mu_z(0) \quad (2.6)$$

Assim, o momento de dipolo magnético interage com o campo estático $\vec{B}_0$ e realiza um movimento de precessão em torno deste com frequência de precessão dada pela Eq. 2.7.

$$\omega_0 = \gamma B_0 \quad (2.7)$$

Onde ω_0 é a chamada frequência de Larmor (ver Fig. 1).

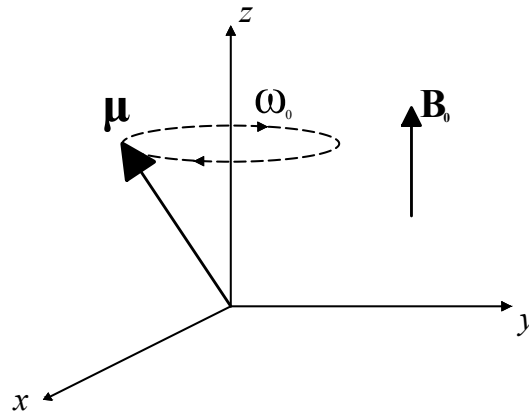


Figura 1 – Precessão do momento de dipolo magnético em torno do campo B_0 .

A técnica de RMN consiste em inicialmente inserir uma amostra em uma região com um magnético estático $\vec{B}_0$. Após um curto intervalo de tempo, o sistema evolui para um estado de equilíbrio, em que a magnetização (soma de todos os momentos magnéticos presente na amostra) se alinha com o campo $\vec{B}_0$, como ilustrado na Fig. 2.

Posteriormente, aplica-se um campo magnético oscilante $2B_1\cos(\omega t)$, perpendicular ao campo estático, conforme Fig. 2. O campo variável no tempo tem a finalidade de tirar a amostra do estado de equilíbrio, criando assim uma magnetização transversal.

Para simplificar o entendimento dos experimentos envolvendo RMN, é utilizado o referencial girante, que rotaciona em torno do eixo z com frequência do campo oscilante.

O campo magnético transversal $2B_1\cos\omega t$ pode ser decomposto em duas componentes girantes com sentido de rotação oposta, cada qual com intensidade B_1 e frequência de rotação ω , conforme as Eqs. 2.8 e 2.9.

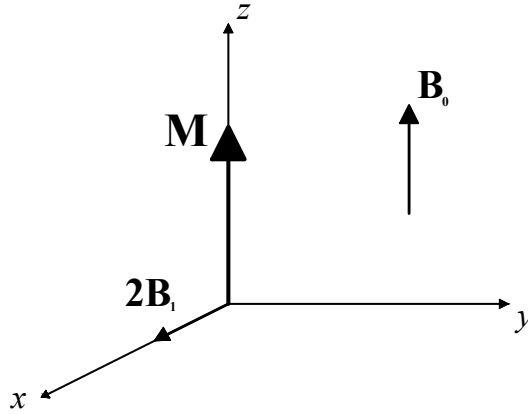


Figura 2 – Magnetização $\vec{M}$ da amostra e aplicação do campo magnético oscilante $2\vec{B}_1$.

$$B_{\text{horário}} = B_1[x\cos(\omega t) + y\sin(\omega t)] \quad (2.8)$$

$$B_{\text{anti-horário}} = B_1[x\cos(\omega t) - y\sin(\omega t)] \quad (2.9)$$

A Fig. 3 descreve passo-a-passo como se dá a decomposição: A todo momento, o campo transversal, conforme figuras *a-b-c*, pode ser decomposta em dois outros vetores, conforme figuras *d-e-f*.

Do ponto de vista do referencial girante, de eixos x' , y' e z' , com z' colinear a z , uma das componentes parecerá estacionária, enquanto a outra estará girando com frequência 2ω na direção oposta. Esta última componente pode ser negligenciada, visto que haverá pouca interação com a magnetização $\vec{M}$ [1].

Portanto, no referencial girante o campo transversal é percebido como um campo estático, conforme Fig. 4-a). A equação de movimento Eq. 2.3 também deve ser modificada. Pode-se mostrar [1] que no referencial girante a Eq. 2.3 é escrita como:

$$\frac{d\vec{M}}{dt} = \gamma(\vec{B}_{ef} \times \vec{M}) \quad (2.10)$$

Onde $\vec{B}_{ef}$ é um campo magnético efetivo. Na ressonância, $\vec{B}_{ef} = B_1$, o campo estático é cancelado e a magnetização gira apenas em torno do campo B_1 , como ilustrado na Fig. 4-b)

Escolhendo-se uma combinação adequada da intensidade e da duração pela qual o campo transversal é aplicado, é possível rotacionar a magnetização $\vec{M}$ até um ângulo desejado, conforme a Fig. 4-b).

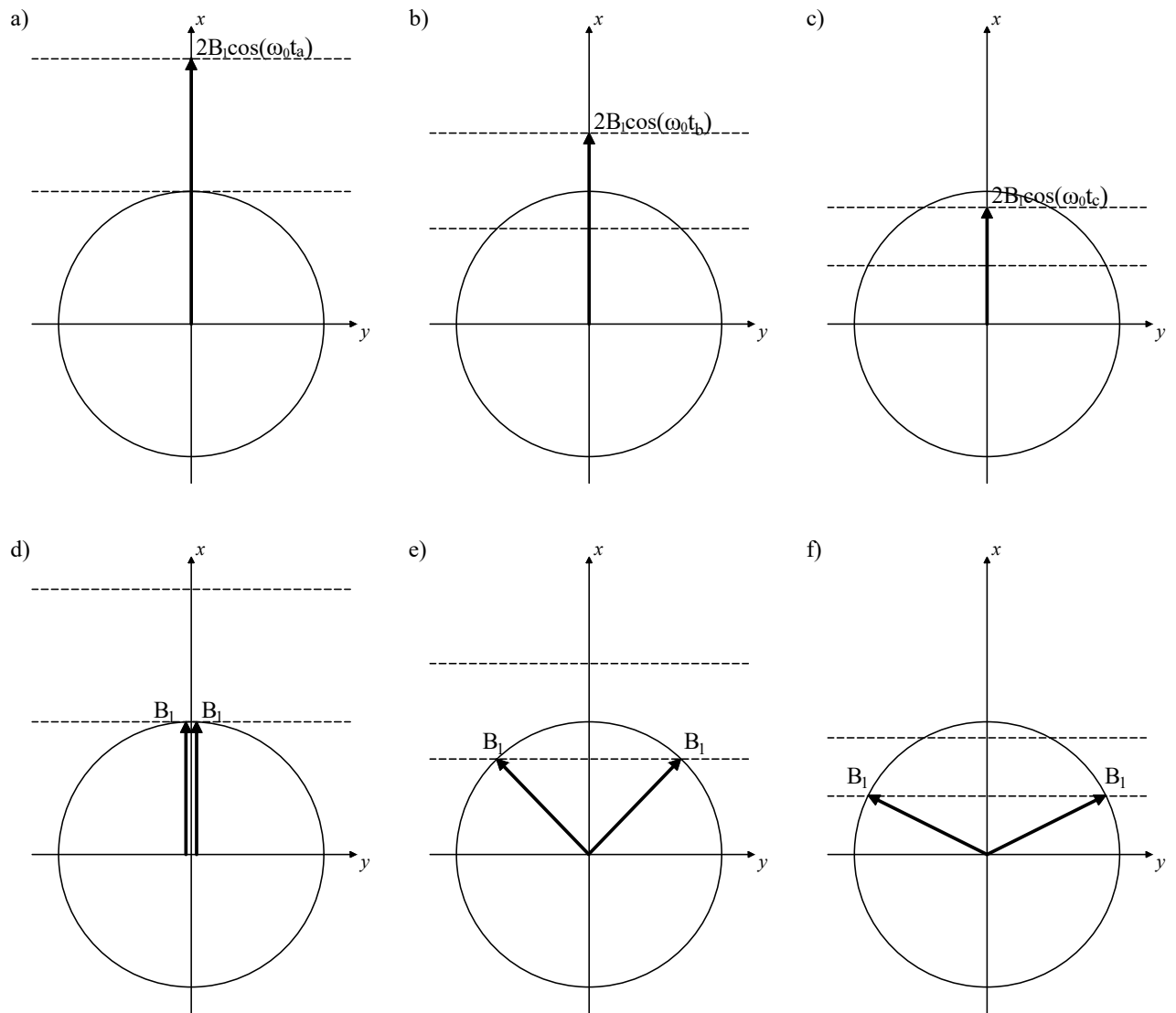


Figura 3 – a-b-c) Campo transversal oscilante d-e-f) Decomposição do campo em dois vetores girantes.

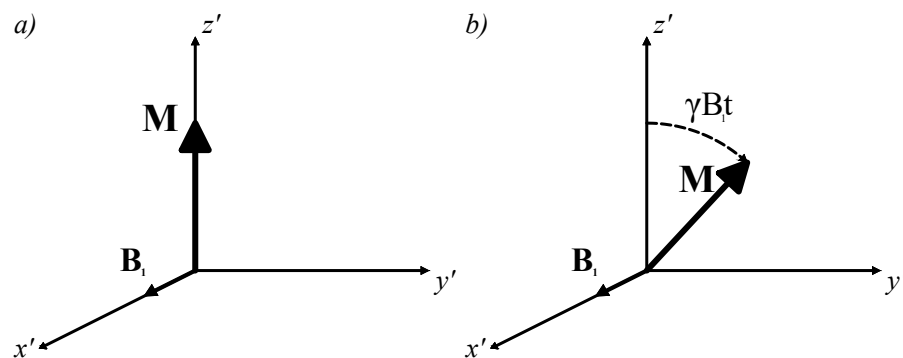
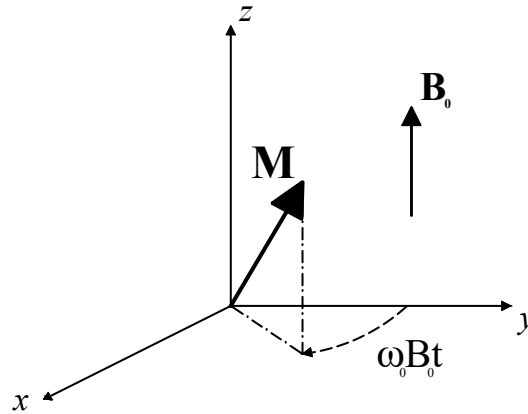
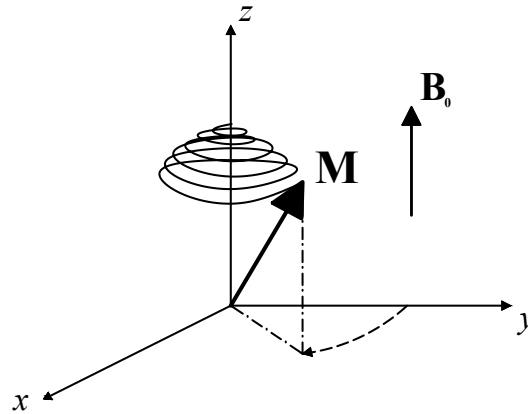


Figura 4 – a) Componente estacionária do campo transversal no referencial girante. b) Rotação da Magnetização $\vec{M}$ devido ao campo transversal.

Figura 5 – Precessão da Magnetização $\vec{M}$.Figura 6 – Movimento da Magnetização $\vec{M}$ ao cessar a aplicação do campo transversal.

Usualmente, a intensidade do campo transversal B_1 é 1000 vezes menor do que o campo estacionário do laboratório e um pulso capaz de rotacionar a magnetização $\vec{M}$ de 90° tem duração da ordem de microsegundos.

Ao mesmo tempo, a magnetização $\vec{M}$ precessa com frequência ω_0 em relação ao referencial do laboratório devido ao campo $\vec{B}_0$, conforme Fig. 5.

Ao cessar a aplicação do campo transversal, a magnetização M descreverá um movimento em espiral, retornando ao estado de equilíbrio, conforme Fig. 6.

Uma bobina disposta perpendicularmente ao campo do laboratório, com eixo paralelo ao plano $x - y$, como mostrado na Fig. 7, captará um sinal variável no tempo, devido à oscilação da magnetização $\vec{M}$ em torno do campo externo $\vec{B}_0$. Tal sinal induzido na bobina é chamado de decaimento de indução livre (do inglês: *free induction decay* - FID). Um exemplo de um sinal de RMN obtido em laboratório é apresentado na Fig. 8.

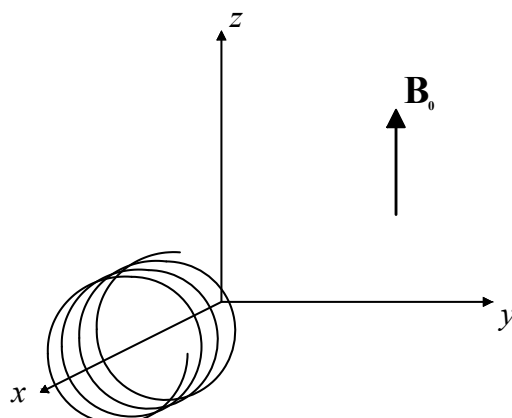


Figura 7 – Bobina com eixo paralelo ao plano $x - y$ para captar o sinal de variação da magnetização $\vec{M}$.

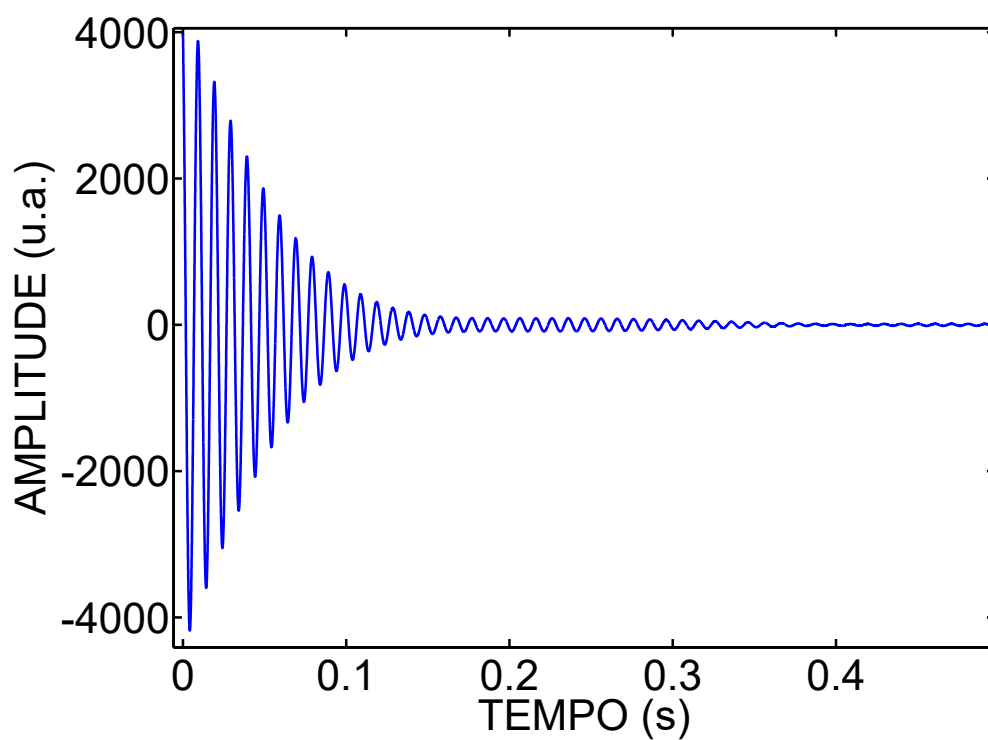


Figura 8 – Exemplo de sinal de decaimento de indução livre (FID), obtido com uma sonda comercial de 5mm , observando-se o núcleo H de uma amostra de $0,1\%$ de H_2O em D_2O , imersa em um campo de $11,7\text{ T}$.

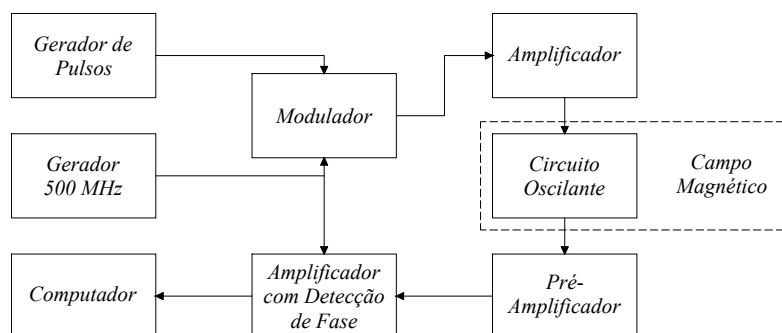


Figura 9 – Diagrama em Blocos típico de um espectrômetro de RMN.

2.2 Arranjo experimental básico de RMN

O equipamento básico de um experimento de ressonância magnética envolve a aplicação de um campo magnético estático, um transmissor de radiofrequência (RF), um receptor de RF e uma sonda. Além disso, também é utilizado um sistema de controle e aquisição de dados. O diagrama em blocos do arranjo experimental é detalhado na Fig. 9 [1].

Em sistemas de alta resolução, o campo magnético estático é gerado por espiras supercondutoras. Quanto mais intenso e homogêneo, mais finas serão as linhas espectrais observadas e melhor será a resolução [10].

O transmissor consiste de um gerador de sinais de RF, um gerador de pulsos de RF, um circuito modulador e um amplificador. O gerador de sinais sintetiza um sinal na frequência de ressonância do núcleo estudado. Para o hidrogênio imerso em um campo magnético de 11,7 Tesla a frequência do sinal sintetizado é de aproximadamente 500 MHz. O sinal gerado é então modulado para formar pulsos de radiofrequência (RF), que após a etapa de amplificação são guiados até amostra.

Os pulsos de RF são aplicados na amostra através da sonda. Uma sonda de RMN consiste basicamente de um circuito ressonante contendo um elemento indutivo e uma componente capacitiva. A impedância do circuito, na frequência de interesse, deve ser ajustada para 50Ω , a fim de garantir que o sinal de entrada na sonda seja transmitido à amostra e não seja refletido de volta ao transmissor. Para o ajuste da impedância, em geral, são utilizados capacitores variáveis. O elemento indutivo L pode ter diferentes formas, como por exemplo a de uma bobina. Neste caso, a mostra é inserida na bobina e excitada pelo campo magnético gerado devido à passagem da corrente elétrica de alta frequência

pelo elemento indutivo.

Após a excitação inicial, os momentos magnéticos excitados realizarão precessão em torno no campo estático B_0 . Este movimento de precessão induz um sinal elétrico em uma bobina de captação. Comumente, a mesma bobina de excitação da sonda é utilizada para captação. O sinal captado é então guiado para o circuito receptor, onde este é amplificado, filtrado e demodulado, para posteriormente ser digitalizado. O demodulador extrai a informação do sinal captado comparando a fase deste com um sinal de RF de referência fornecida pelo gerador de RF. Essa informação é então digitalizada e enviada ao computador para processamento.

2.3 Sondas de RMN

Nesta seção, são descritos os tipos de sondas utilizados em RMN, conceitos básicos sobre circuitos ressonantes e a modelagem básica de um circuito ressonante contendo o *microslot*.

2.3.1 Tipos de Bobinas

Os circuitos utilizados em RMN são constituídos de ressonadores, que contém capacitores e indutores. Estes são normalmente constituídos de bobinas, onde se posiciona a amostra.

Uma abordagem para o incremento da sensibilidade tem sido o desenvolvimento de sondas alternativas, baseada principalmente no fato de que a sensibilidade do experimento é inversamente proporcional ao diâmetro da bobina da sonda, dada uma relação constante entre tamanho da amostra e diâmetro [5].

Pode-se miniaturizar a espira na forma de estruturas planas, as quais concentram o campo magnético e possuem uma alta eficiência de conversão [12].

A seguir, é apresentado um pequeno resumo dos diversos tipos de bobinas utilizadas em RMN [4, 8, 14, 18]:

Sela (*Saddle*)

A geometria tipo sela (Fig. 10-a) é típica em experimentos convencionais, visto que gera um campo magnético bastante homogêneo, ortogonal à direção do campo $\vec{B}_0$. A desvantagem reside na dificuldade de miniaturização [4].

Solenóides (*Solenoids*)

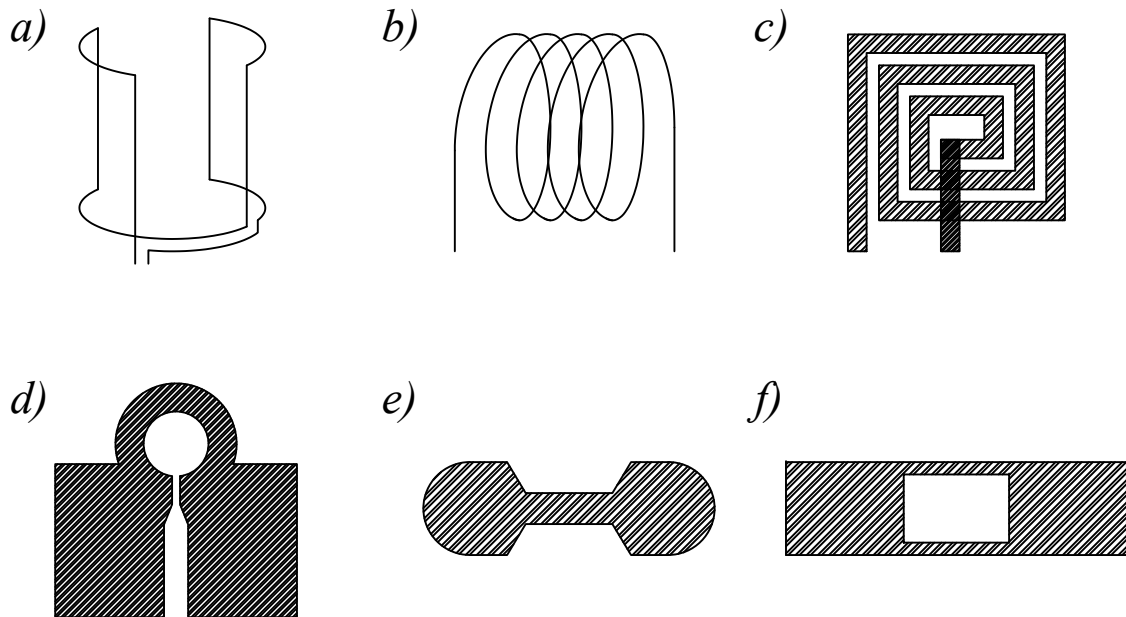


Figura 10 – Diferentes tipos de sondas de RMN. a) Sela, b) Solenóide, c) Microbobina plana, d) Microrressonador plano, e) *Stripline*, f) *Microslot*

Solenóides são construídas enrolando-se um condutor em forma helicoidal (Fig. 10-b), em torno de um tubo que contém a amostra. Podem ser miniaturizadas utilizando-se capilares, recebendo o nome de microsolenóides (*microsolenoids*).

Uma desvantagem está na dificuldade de manufatura devido às dimensões e difícil posicionamento da amostra. Uma alternativa é a técnica de microimpressão, porém, com perda de sensibilidade devido ao aumento da resistência elétrica. Outras alternativas são técnicas de litografia com torneamento a laser, microfabricação e litografia utilizando moldagem a partir de réplicas [4].

Microbobinas planas (*Planar Microcoils*)

Microbobinas planas podem ser construídas mediante técnicas de fotolitografia ou microfabricação (Fig. 10-c). Neste tipo de bobina, dados uma amostra e um raio da bobina, a relação sinal ruído depende das características geométricas: número de voltas, espaçamento entre voltas, espessura e largura do condutor. Também é possível construir bobinas espiraladas cilíndricas, consistindo em camadas de silício e bobinas planas, dispostas na forma chamada Helmholtz. A grande vantagem de modelos de bobinas planas é a possibilidade de integração juntamente com outros componentes eletrônicos em um único *chip* [4].

Modelos físicos para microbobinas planas têm sido desenvolvidos, sendo uma das principais dificuldades encontradas a complexidade ao se trabalhar em altas frequências devido ao efeito de correntes parasitas decorrentes da proximidade entre os condutores (interconexão), além de perdas no substrato de silício. Esses efeitos em estruturas fabricadas utilizando a tecnologia metal-óxido-silício (MOS) são modelados por três elementos que afetam do desempenho do ressonador, sendo eles a capacitância do óxido, a capacitância do substrato e a resistência do substrato [18].

Microrressonadores planos (*Planar microresonators*)

Microrressonadores planos utilizam uma microbobina plana com elementos de sintonia integrados (Fig. 10-d). Eles oferecem acesso fácil à amostra, sendo ideais para medidas em superfície ou amostras monocamada. O substrato deve ter baixa perda dielétrica e alta condutividade térmica. Para uma dada potência e dimensão de amostra, o campo magnético na bobina é maximizado reduzindo-se as dimensões da bobina. Uma grande vantagem apresentada por este tipo de bobina é a baixa potência requerida [14].

Stripline

Uma *stripline* consiste em um condutor de metal, com espessura muito fina (Fig. 10-e), sendo que acima e abaixo são aproximadas placas de aterramento.

A *stripline* é posicionada na direção do campo magnético $\vec{B}_0$, de maneira que a magnetização transversal seja perpendicular a ele e paralela ao condutor.

Em relação às microbobinas planas, a *stripline* possui a vantagem de que todas as conexões são feitas no mesmo plano. A distribuição de corrente dentro do condutor é bastante homogênea, exceto nas bordas, e correntes parasitas são evitadas. A homogeneidade do campo resulta em um alto fator de preenchimento [10].

Microslot

Um *microslot* é baseado em *microstrips* (Fig. 10-f). Uma *microstrip* é uma estrutura plana consistindo de um condutor, um substrato e uma placa de aterramento (em contraste com as duas placas da *stripline*). Para a construção do *microslot* é aberta uma fenda no *microstrip*, normalmente com a utilização de ablação por *LASER*. Essa fenda produz uma indutância pura em série [8].

A amostra é posicionada dentro de um capilar logo acima da fenda. No interior da fenda é produzido um campo magnético bastante homogêneo. Já o campo elétrico é concentrado no substrato. A geometria do *microslot* é uma das menores e mais simples.

2.3.2 Circuitos Ressonadores

Como foi dito, a bobina que se acopla com os momentos magnéticos de *spin* faz parte de um ressonador, o qual é obtido pela associação de capacitores e indutores. Existem diversas configurações utilizadas para circuitos ressonadores. Porém, uma configuração que é bastante utilizada possui a bobina indutora e três capacitores, sendo um deles o capacitor de sintonia C_1 , e os outros de casamento de impedância C_2 e C_3 . Pelo fato de haver dois capacitores C_2 e C_3 , o circuito é dito balanceado [19]. A configuração descrita é mostrada na Fig. 11.

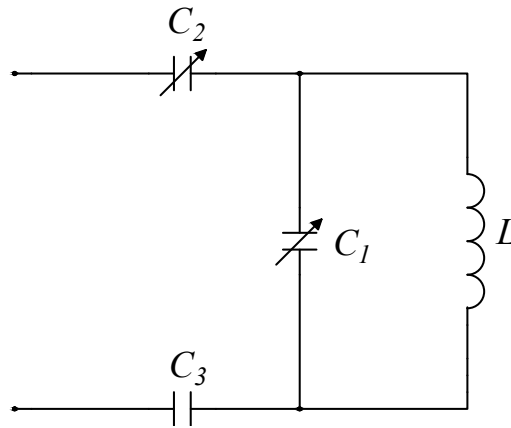


Figura 11 – Circuito ressonante para RMN.

Os componentes reais de um circuito possuem não idealidades, de forma que um indutor não é constituído de uma indutância pura, assim como um capacitor não é constituído de uma capacitância pura. Os circuitos que melhor representam um indutor real e um capacitor real são mostrados na Fig. 12 [15]. Para o indutor, inclui-se uma resistência R_{Ls} em série devido à condutividade finita do condutor, uma capacitância C_L em paralelo, que ocorre devido à proximidade dos enrolamentos da bobina (ou pela proximidade dos condutores em cada extremidade do *microslot*), e uma resistência R_{Lc} em série devido à resistência dos contatos elétricos. Já no circuito que melhor representa cada capacitor, incluem-se uma resistência R_C e uma indutância L_C devido aos contatos elétricos e ao encapsulamento do capacitor, além da resistência R_d do dielétrico, em paralelo com a capacitância.

Geralmente, o efeito da capacitância C_L no indutor se torna relevante em valores típicos de operação a partir de 10GHz , o que pode ser assumido como válido para o *microslot* [15]. Já o efeito da indutância L_C no capacitor se evidencia usualmente a partir de 8GHz . Visto que a operação do *microslot* ocorrerá na frequência de 500MHz , os efeitos de C_L e L_C serão desprezados. A resistência do dielétrico do capacitor R_d é da ordem de $G\Omega$ e somente é considerada em baixas frequências. Assim, pelo que foi discutido e associando-se os efeitos de R_{Ls} e R_{Lc} em uma única resistência R_L , a modelagem do

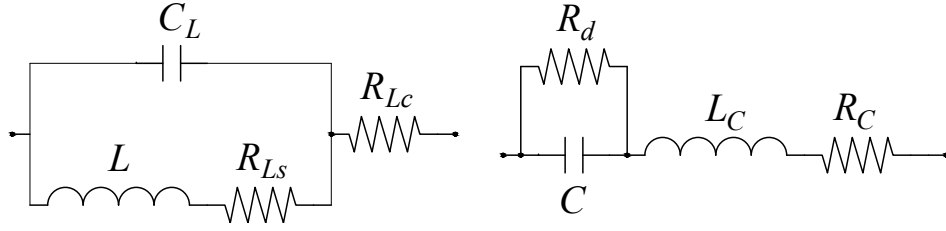


Figura 12 – Circuito equivalente de um indutor (à esquerda) e de um capacitor (à direita), considerando não idealidades.

circuito é redesenhada como na Fig. 13. As Equações 2.11 e 2.12 mostram as partes real e imaginária calculadas da impedância equivalente do circuito ressonador.

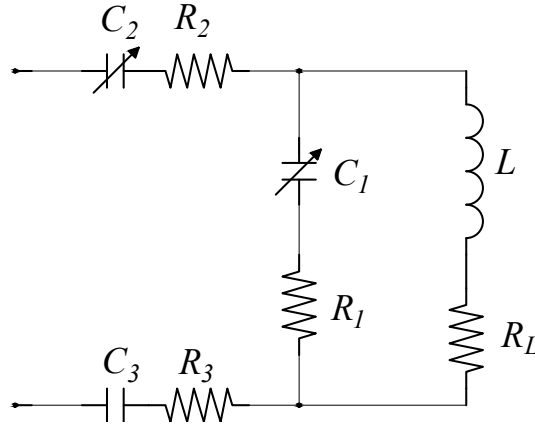


Figura 13 – Circuito ressonante para RMN considerando não idealidades dos componentes.

$$Re(Z) = \frac{\omega^2 C_1 (R_1 + R_L) (R_1 R_L C_1 + L) + (\omega^2 L C_1 - 1) (\omega^2 R_1 L C_1 - R_L)}{\omega^2 C_1^2 (R_1 + R_L)^2 + (\omega^2 L C_1 - 1)^2} + R_2 + R_3 \quad (2.11)$$

$$Im(Z) = \frac{\omega C_1 (R_1 + R_L) (\omega^2 R_1 L C_1 - R_L) - \omega (R_1 R_L C_1 + L) (\omega^2 L C_1 - 1)}{\omega^2 C_1^2 (R_1 + R_L)^2 + (\omega^2 L C_1 - 1)^2} - \frac{1}{\omega C_2} - \frac{1}{\omega C_3} \quad (2.12)$$

2.3.3 Microslot e Modelagem

Conforme já abordado anteriormente, o *microslot* consiste em uma fenda no condutor de um *microstrip*, a qual funciona preponderantemente como uma indutância em série no circuito [15]. É uma geometria plana e que pelas reduzidas dimensões possui a característica de proporcionar aumento da sensibilidade em relação às sondas convencionais (tipo sela).

Um *microslot*, em uma *microstrip*, com dimensões menores do que a altura do dielétrico, ocasionam um aumento ΔL na indutância da *microstrip* [15], conforme Eq. 2.13.

$$\Delta L = \frac{\Phi}{i} \quad (2.13)$$

Onde: Φ é o fluxo através do *microslot* e i a corrente fluindo pela *microstrip*.

Para uma fenda em uma *microstrip* em que a altura do furo é menor do que a altura do dielétrico, o incremento na indutância pode ser modelado pela Eq. 2.14 [8].

$$\Delta L = \frac{\mu_0 \pi}{2} h \left[1 - \frac{Z_0}{Z'_0} \sqrt{\frac{\epsilon'_0}{\epsilon_0}} \right]^2 \quad (2.14)$$

Onde: μ_0 a permeabilidade magnética do vácuo; h é a altura do dielétrico; Z_0 é a impedância do *microstrip*; ϵ_0 é a constante dielétrica do *microstrip*; Z'_0 e ϵ'_0 são respectivamente a impedância e a constante dielétrica na região da fenda.

2.4 Caracterização do Campo Transversal B_1 de uma Sonda de RMN

É possível caracterizar o campo transversal B_1 a partir do procedimento de calibração da sonda de RMN. Isso pode ser feito modulando-se o sinal de $500MHz$ por um pulso retangular com duração progressivamente maior e procedendo-se à aquisição do sinal, em seguida deixando-se a amostra voltar ao equilíbrio. Assim, o tempo em que o sinal de RMN atinge a intensidade máxima identifica quando a magnetização $\vec{M}$ atinge 90° de deslocamento angular, usualmente chamado de tempo de pulso de $\pi/2$ ou $Pw_{\pi/2}$.

Determinado o tempo de pulso $Pw_{\pi/2}$, é possível calcular a intensidade do campo magnético B_1 gerado pelo ressonador, segundo a Eq. 2.15.

$$B_1 = \frac{2\pi}{\gamma_H Pw_{\pi/2}} \quad (2.15)$$

Onde $\gamma_H = 267,513.10^6 rad.s^{-1}T^{-1}$ é a razão giromagnética para o Hidrogênio.

Define-se então a eficiência de conversão E_C [9], dada pela razão entre o campo magnético gerado pela sonda e a raiz quadrada da potência aplicada, conforme a Eq. 2.16. Essa expressão indica que quanto menor for a potência utilizada para gerar um dado valor de campo magnético, mais eficiente será a sonda.

$$E_C = \frac{B_1}{\sqrt{P}} \quad (2.16)$$

Foi visto anteriormente que a aplicação do campo de radiofrequência faz com que o vetor magnetização $\vec{M}$ afaste-se da direção do campo estático B_0 e rotacione. Esse movimento é

chamado de nutação e, em analogia à Eq. 2.7, pode-se escrever a Eq. 2.17, para a frequência de nutação ω_1 .

$$\omega_1 = \gamma_n B_1 \quad (2.17)$$

Onde γ_n é uma constante característica do núcleo.

O experimento de nutação fornece uma medida de quão uniforme é o campo de radio-frequência aplicado, o que é uma importante característica da sonda de RMN. Quando o campo B_1 não é uniforme, cada *spin* da amostra possuirá uma frequência de nutação ω_1 levemente diferente, em acordo com a Eq. 2.17, fazendo com que os *spins* difiram em fase à medida em que rotacionam. Por consequência, a resultante vetorial da magnetização global da amostra $\vec{M}$ diminuirá de intensidade ao longo do tempo, enquanto o campo de radiofrequência estiver sendo aplicado.

2.5 Resolução em RMN

Em RMN, a resolução consiste na capacidade de se distinguir dois picos que se encontram em posições próximas no espectro de frequências. Dentro das moléculas, ocorre a interação entre os átomos vizinhos, fazendo com que se alterem as condições de campo nas redondezas, acarretando em um deslocamento na frequência de ressonância em relação àquela percebida por um átomo isolado. Esse fenômeno é denominado deslocamento químico (do inglês: *chemical shift*). Dentro de um grupo químico, ocorre ainda o desdobramento do espectro devido ao fenômeno de acoplamento entre os *spins*, que interagem entre si.

2.6 Sensibilidade dos Experimentos de RMN

Para se quantificar a performance de um sistema de RMN, pode-se utilizar diferentes parâmetros. Uma das propriedades mais importantes na qualificação de uma sonda de RMN é a sensibilidade. De maneira simplificada, pode-se dizer que a sensibilidade quantifica a habilidade de se distinguir um sinal de RMN do ruído.

Em geral, um experimento de RMN é realizado à temperatura ambiente. Nesta condição, a energia térmica dos *spins* nucleares é muito maior do que a energia magnética de interação dos *spins* com o campo magnético estático. Apesar da tendência dos *spins* de se alinharem com o campo externo, a agitação térmica da vizinhança fornece energia suficiente para desalinhar uma grande fração de *spins*. Dessa forma, a magnetização nuclear resultante é, em geral, devido a apenas uma pequena fração de *spins* presentes na amostra. Por isso, os experimentos de RMN possuem baixa sensibilidade, requerendo amostras que contenham o número de *spins* da ordem de 10^{23} [1]. A razão entre o número de spins em cada estado pode ser dada em função da distribuição de Boltzmann, conforme Eq. 2.18 [3].

$$\frac{n_2}{n_1} = e^{-(\xi_2 - \xi_1)/kT} \quad (2.18)$$

Onde n_2 e n_1 são o número de *spins* em cada estado; ξ_2 e ξ_1 são as energias em cada estado; k é a constante de Boltzmann e T é a temperatura absoluta.

A componente de ruído mais relevante em uma sonda de RMN é o ruído térmico, que se traduz em uma fonte de tensão modelada pela Eq. 2.19 [17].

$$v_n = \sqrt{4kT\Delta f R} \quad (2.19)$$

Onde v_n é a tensão RMS do ruído, k é a constante de Boltzmann, T é a temperatura da sonda, R é o resistor equivalente da sonda, e Δf é a largura de banda (largura espectral).

A largura de banda Δf está relacionada ao tempo de aquisição t_a pela Eq. 2.20.

$$t_a = N\Delta t = \frac{N}{\Delta f} \quad (2.20)$$

Onde N é o número de pontos adquiridos e Δt o intervalo de tempo entre cada aquisição.

O valor do ruído quadrático médio no domínio do tempo $x(t)$ e no domínio da frequência $X(f)$ estão relacionados pelo Teorema de Parseval, Eq. 2.21.

$$\sum_{n=0}^{N-1} |x_n(t)|^2 = \frac{1}{N} \sum_{k=0}^{N-1} |X_k(f)|^2 \quad (2.21)$$

Assim, a partir das Eqs. 2.19 e 2.21, a relação entre o ruído RMS nos domínios do tempo v_n e da frequência V_n pode ser escrita na forma da Eq. 2.22.

$$V_n = \sqrt{N}v_n = \sqrt{N}\sqrt{4kT\Delta f R} \quad (2.22)$$

A forma mais usual de se quantificar a sensibilidade é pela relação sinal ruído (do inglês: signal-to-noise ratio - SNR). Em RMN, pode-se definir a relação sinal ruído como a razão entre a amplitude do sinal e o desvio quadrático médio do ruído (do inglês: root mean square - RMS), conforme a Eq. 2.23 [9].

$$SNR = \frac{A}{2V_{RMS}} \quad (2.23)$$

Onde A é a amplitude do sinal estudado e V_{RMS} é o desvio quadrático médio do ruído.

A relação sinal ruído pode ser definida tanto no domínio do tempo quanto no domínio da frequência. No domínio do tempo, a amplitude A utilizada é a amplitude do sinal detectado, ou seja, a amplitude do FID. No domínio da frequência, a amplitude utilizada é a amplitude de um dado pico do espectro de RMN, sendo que o espectro é obtido através da Transformada de Fourier do sinal temporal, o FID. Tanto no domínio da frequência quanto no domínio do tempo, a amplitude depende basicamente da quantidade de amostra utilizada e do acoplamento da sonda de RMN com a amostra.

A relação sinal ruído depende dos parâmetros de aquisição e da geometria da bobina presente na sonda, a qual afeta diretamente o acoplamento entre a sonda e a amostra. Também é importante mencionar que a relação sinal ruído observada depende de outras componentes do espectrômetro, como por exemplo os amplificadores. Portanto, para se comparar o desempenho de diferentes sondas é interessante utilizar quantidades normalizadas. Por exemplo, é possível obter a relação sinal ruído normalizada em relação à quantidade de núcleos presentes na amostra SNR_n , conforme a Eq. 2.24.

$$SNR_n = \frac{SNR}{C * V} \quad (2.24)$$

Onde C é a concentração de moléculas de H_2O na amostra em mol/l e V é o volume da amostra em *litros*.

Outra quantidade utilizada com frequência é o limite de detecção (inglês: limit of detection - LOD), definido como o número de *spins* nucleares que devem entrar em ressonância [4], considerando-se uma largura de banda de $1Hz$, a fim de fornecer um sinal de intensidade maior do que o ruído RMS, conforme Eq. 2.25.

$$LOD = \frac{N_s}{SNR_t \sqrt{\Delta f}} \quad (2.25)$$

Onde: N_s é o número de *spins* nucleares, SNR_t é a SNR para uma aquisição no domínio do tempo e Δf é a largura de banda.

Ainda, pode ser encontrado o LOD expresso em termos da massa normalizada $nLOD_m$, que considera a quantidade de amostra necessária para se obter uma SNR desejada para um pico específico no espectro e um dado tempo de aquisição [9], segundo Eq. 2.26.

$$nLOD_m = \frac{3n\sqrt{t_a}}{SNR} \quad (2.26)$$

Onde: n é a quantidade em *mols* da amostra e t_a é o tempo de aquisição.

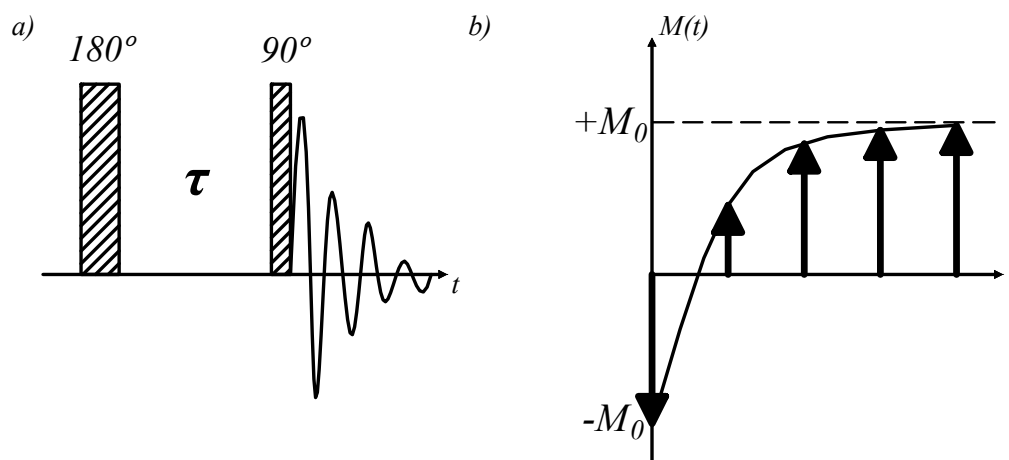


Figura 14 – À esquerda: Sequência de pulsos utilizada no método da recuperação de inversão. À direita: Gráfico ilustrando a função exponencial obtida como resultado do método da recuperação de inversão.

2.7 Tempos de Relaxação

A medida dos tempos de relaxação se tornou uma importante ferramenta em várias áreas da RMN, como no estudo de moléculas complexas e na caracterização de meios porosos, por exemplo em tecidos humanos e em rochas [2].

O processo de relaxação longitudinal, ou relaxação *spin-rede* (do inglês: *spin-lattice*), é o processo pelo qual a amostra retorna ao estado de equilíbrio térmico, após a excitação inicial com o campo de radiofrequência. Esse processo é caracterizado pelo tempo de relaxação T_1 e ocorre devido a trocas de energia entre os *spins* e o ambiente vizinho.

Para a medição do tempo de relaxação T_1 , pode ser empregado o método chamado de inversão e recuperação. Ele consiste na aplicação de um pulso π , que inverte a magnetização $\vec{M}$ em 180° no eixo z até uma amplitude $-M_0$, a qual possui a tendência natural de gradualmente diminuir até zero e então aumentar no sentido positivo de z , até retornar ao estado de equilíbrio novamente. Antes que isso aconteça, porém, decorrido um tempo τ após aplicação do pulso π , é aplicado um pulso $\pi/2$ (ver Fig. 14, à esquerda). Este pulso desloca a magnetização em 90° , deslocando-a para o plano $x - y$, para que seja possível a aquisição do espectro nesse momento. Repetindo-se esse processo para uma sequência crescente de valores para τ , é possível verificar a variação temporal exponencial caracterizada por T_1 , conforme o gráfico na Fig. 14, à direita.

O processo de relaxação transversal, ou relaxação *spin-spin*, é responsável pelo desaparecimento da magnetização no plano $x - y$. Após a excitação inicial, quando se deixa o sistema de

spins evoluir livremente, a magnetização decai exponencialmente com o tempo característico T_2^* . Este decaimento ocorre devido à interação dos *spins* nucleares com o ambiente e também devido a inhomogeneidade do campo estático $\vec{B}_0$.

Quando o campo magnético aplicado $\vec{B}_0$ não é homogêneo, núcleos de diferentes regiões da amostra experenciam intensidades de campo ligeiramente diferentes, ocasionando perda de fase entre as componentes da magnetização $\vec{M}$, e consequentemente, a diminuição da magnetização.

Para se eliminar o efeito da inhomogeneidade, pode-se utilizar o método de *spin-eco* ou Eco de Hahn. Este consiste na aplicação da sequência de pulsos $\pi/2 - \tau - \pi - \tau$ e a observação, no tempo 2τ , do chamado "eco", no sinal de indução livre (FID). Após a aplicação do pulso $\pi/2$, a magnetização $\vec{M}$ é deslocada para o plano $x - y$. Ocorre, porém, analogamente ao observado no experimento de nutação, uma crescente diferença de fase entre as componentes da magnetização, desta vez devido à não homogeneidade de B_0 . Para contornar esse efeito, decorrido o tempo τ , é aplicado o pulso π , que inverte a direção das componentes de $\vec{M}$ no plano $x - y$. A partir daqui, ocorre o efeito de realinhamento dessas componentes devido à não homogeneidade de B_0 . No tempo 2τ o realinhamento atinge seu ápice e se observa um pulso no sinal FID, que consiste no eco. A amplitude do eco observada é tanto menor quanto maior for o tempo τ escolhido. O decaimento dessa amplitude é parametrizada em função do tempo de relaxação T_2 . A Fig. 15 ilustra a aplicação do método.

Para se medir o tempo de relaxação transversal T_2 , pode-se ainda utilizar o método CPMG (Carr-Purcell-Meiboom-Gill), o qual consiste na criação de uma sequência de ecos. Inicialmente, aplica-se um pulso $\pi/2$, que desloca a magnetização $\vec{M}$ para o plano $x - y$. A magnetização começará a decrescer. Após um tempo escolhido τ , aplica-se um pulso π , que inverte a direção da magnetização no plano $x - y$. A partir de então, aplica-se um novo pulso π a cada intervalo 2τ por diversas vezes. Ocorre que, decorrido um tempo τ após a aplicação de cada pulso π , haverá o realinhamento dos *spins* e será observado um eco no FID. A amplitude do eco observado será cada vez menor, devido à relaxação transversal. A Fig. 16 ilustra a aplicação desse método.

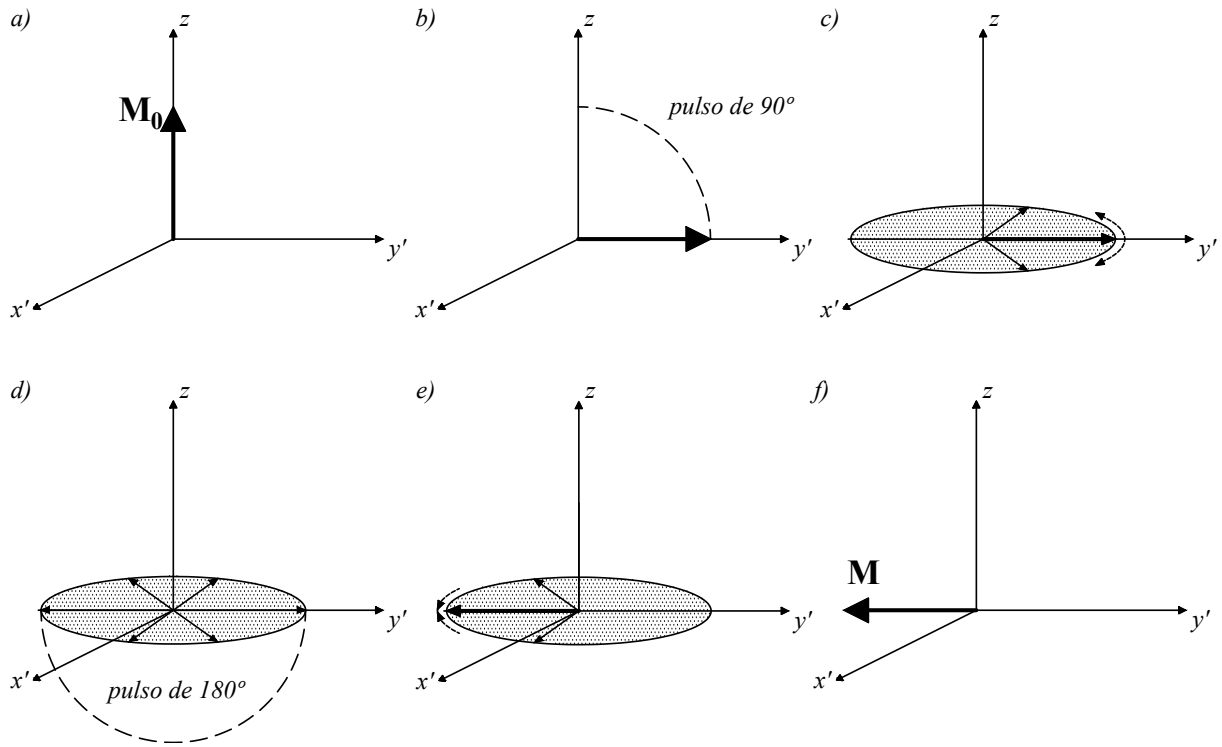


Figura 15 – Ilustração do Método de *spin-eco* ou Eco de Hahn. a) Estado inicial; b) Aplica-se um pulso $\pi/2$; c) Surge uma crescente diferença de fase entre as componentes da magnetização devido à não homogeneidade de B_0 ; d) Decorrido o tempo τ , aplica-se um pulso π ; e) As componentes da magnetização passam a se realinhar; f) O realinhamento atinge o máximo no tempo 2τ , quando se observa o eco.

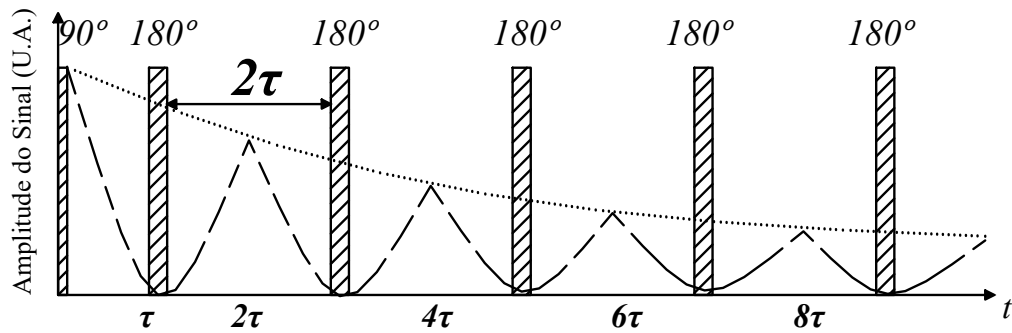


Figura 16 – Ilustração do Método CPMG para medição do tempo de relaxação *spin-spin* T_2 . Inicialmente, aplica-se um pulso $\pi/2$. Após um tempo escolhido τ , aplica-se um pulso π , e a partir de então, aplica-se um novo pulso π a cada intervalo 2τ .

3 Construção e Montagem da Sonda com *Microslot*

Como explicado anteriormente, o objetivo deste trabalho consiste em construir uma sonda de RMN com sensibilidade para detectar amostras de volume reduzido, da ordem de nanolitros. Para atingir este objetivo, utilizamos microressonadores planares descritos no capítulo anterior. Mais especificamente utilizamos o ressonador *microslot*. Neste capítulo será descrito a construção do ressonador e também a estrutura da sonda de RMN.

3.1 Construção do *Microslot*

O circuito ressonante para RMN, apresentado na Fig. 11 foi utilizado para implementação em placa de circuito. O desenho da placa de circuito é apresentado na Fig. 17. Esse formato de desenho foi criado por Yael Maguire [15].

O substrato utilizado para confecção do circuito foi a placa *Rogers RT duroid 5880*, constituído de um dielétrico em fibra de vidro reforçado com PTFE (Politetrafluoretileno), na espessura de $3,175mm$, e cobre eletrodepositado nas duas faces, com espessura de $35\mu m$. Foram preparados, com a utilização de uma ferramenta de corte e uma régua de metal, pedaços quadrados do substrato com aproximadamente $7,3cm$ de lado, mostrados na Fig. 18, à esquerda.

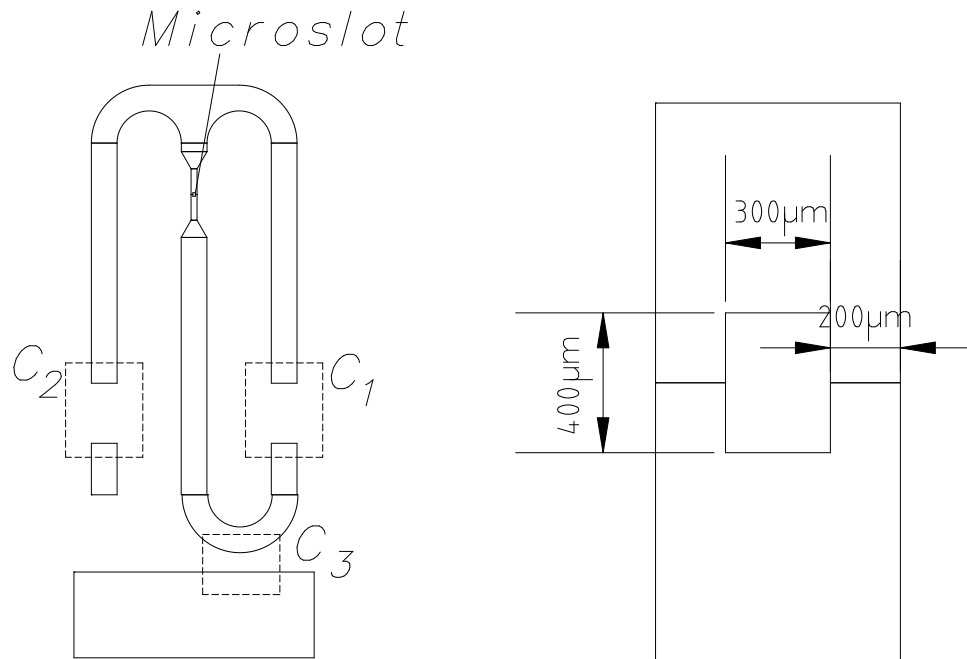


Figura 17 – À esquerda: Desenho da placa de circuito ressonante para RMN. São indicados a posição do *Microslot* e capacitores; À direita: Detalhe do desenho mostrando o *microslot*.



Figura 18 – À esquerda: substrato sendo cortado com ferramenta de corte; à direita: pedaços de substrato limpos para deposição do resiste.

Os substratos quadrados foram ainda limados e polidos com lixa comum para pintura.

A técnica escolhida para o desenho do circuito no substrato foi a litografia óptica com *LASER*. Esse processo é mostrado na Fig. 19. O primeiro passo é a deposição de um resiste fotosensível na placa de cobre com a utilização de uma centrífuga. A seguir, a superfície é exposta a um feixe de *LASER*. Ressalte-se que, em contraste com a litografia convencional, que utiliza uma máscara física contendo o desenho a ser gravado, na litografia com feixe de *LASER* a máscara é digital, isto é, um desenho no formato CAD projetado no computador, o qual determina o caminho a ser percorrido pelo feixe concentrado. Quando é utilizado um resiste do tipo positivo, a luz quebra as ligações químicas, enfraquecendo o resiste. Já quando a luz endurece o resiste localmente, este é dito do tipo negativo. A superfície é então revelada com a utilização de um solvente revelador, o qual remove as áreas enfraquecidas do resiste. A partir de então, pode haver processos de corrosão, como no caso deste projeto, ou de deposição de material. Por fim, ocorre a finalização, com a remoção do resiste remanescente pela aplicação de outro solvente.

Para o projeto do *microslot*, todo o processo de deposição de resiste ocorreu na Sala Limpa do laboratório Labnano do CBPF, que é uma sala classe 1000 (concentração de até 1000 partículas por pé cúbico de ar), equipada com capelas classe 100 (concentração de até 100 partículas por pé cúbico de ar).

Antes de se realizar a deposição propriamente dita, é necessário lavar três vezes a superfície do substrato, sendo a primeira vez com acetona, em seguida com álcool isopropílico e por fim com água destilada, sempre secando o substrato com jato de ar entre as lavagens. A partir de então, o processo é definido em função das especificações requeridas pelo resiste escolhido. Normalmente, esse processo consiste em um pré-aquecimento, uma etapa de rotação em uma centrífuga para espalhamento uniforme do resiste e uma etapa de pós-aquecimento.

No presente projeto, foi utilizado o resiste AZ 1505, do tipo positivo. Na folha de dados fornecida pelo fabricante, constatou-se que deve ser feito um pré-aquecimento do substrato em uma placa quente durante 50s a 100°C . Para o espalhamento do resiste, o substrato deve ser rotacionado em uma centrífuga a 2000rpm para se obter uma espessura de $0,71\mu\text{m}$ e deve haver um pós-aquecimento de 50s a 115°C . O resiste, a placa quente e a centrífuga são mostrados na Fig. 20.

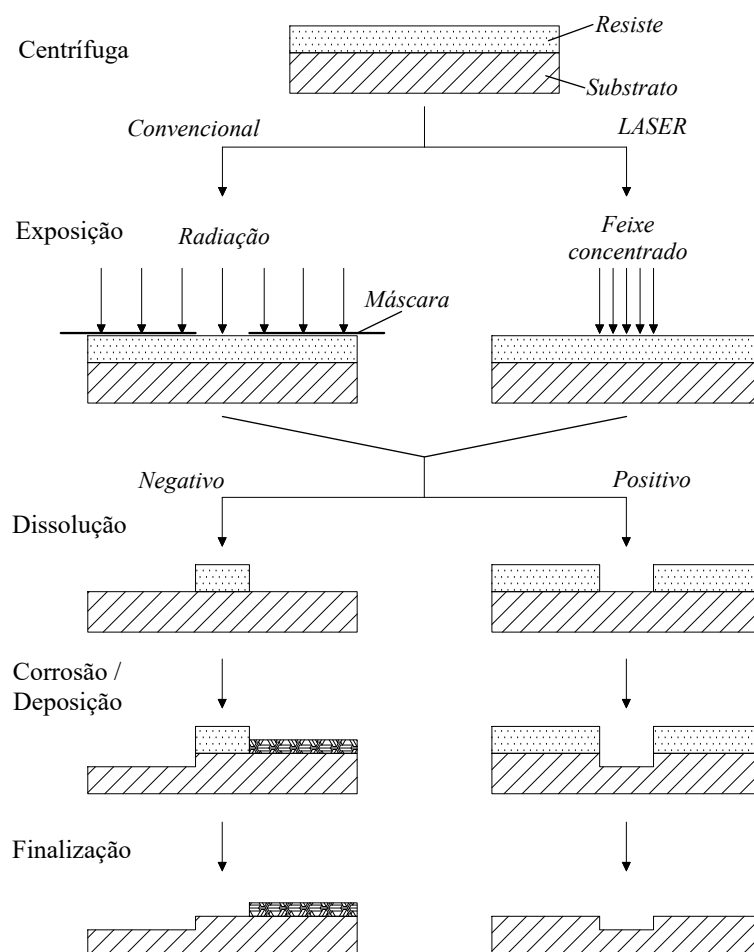


Figura 19 – Diagrama mostrando o processo de litografia. A litografia convencional utiliza uma máscara contendo o desenho a ser gravado. Já na litografia a *LASER*, o feixe concentrado percorre o desenho projetado no computador.

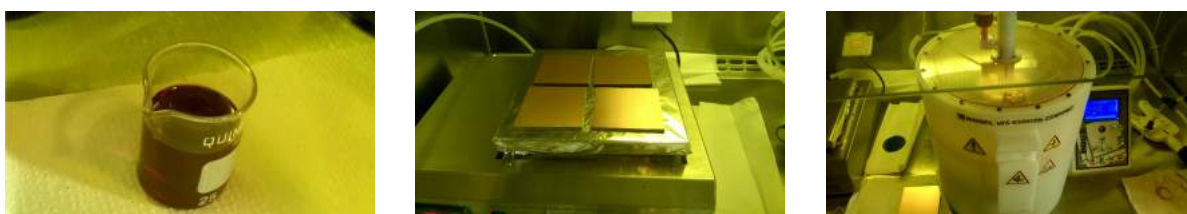


Figura 20 – À esquerda: Resiste AZ 1505 em um copo Becker; ao centro: Substratos em pré-aquecimento na placa quente, para eliminação de umidade; à direita: deposição do resiste na centrífuga modelo WS-650HZB-23NPPB.

Os dados fornecidos pelo fabricante, porém, são válidos principalmente para substratos em *wafers* convencionais, sendo que o substrato de cobre utilizado no projeto não é convencional. Além dos parâmetros mencionados, é necessário definir os tempos de deposição e de rotação, e a aceleração. Os parâmetros são configurados na centrífuga através de *software*. Dessa forma, a receita utilizada foi a seguinte:

1. Pré-aquecimento na placa quente a 100°C por 50s .
2. O substrato é acelerado, até a velocidade de 200rpm , à aceleração de 100rpm/s .
3. O substrato é acelerado, até a velocidade de 500rpm , a 100rpm/s enquanto o resiste é despejado, durante 3s .
4. O substrato rotaciona a 500rpm durante 5s .
5. O substrato é novamente acelerado, à aceleração de 1000rpm/s , até 2000rpm , permanecendo nesta velocidade durante 40s .
6. O motor é desligado, ocorrendo rápida desaceleração.
7. Pós-aquecimento na placa quente a 100°C por 60s .

Após a deposição do resiste em um dos lados de cada substrato, é realizada nova deposição na outra face, visto que a placa utilizada possui cobre nas duas faces. Dessa maneira, depois do pós-aquecimento, aguardou-se três minutos para que o substrato resfriasse, a fim de colocá-la novamente na centrífuga e se realizar a deposição na face oposta. Então, foi realizado novo pós-aquecimento. Por fim, os substratos foram acondicionados em potes limpos e cobertos com papel alumínio para impedir a entrada de luz.

Feita a deposição do resiste, foi realizada a gravação do desenho com a gravadora *LASER* modelo μPG 101, Heidelberg Instruments, que utiliza *LASER* com comprimento de onda 405nm , na faixa de ultravioleta. A Fig. 21 mostra o desenho técnico utilizado para a gravação, contendo duas vezes o circuito ressonador.

O desenho técnico foi confeccionado de maneira a conter somente objetos do tipo *polylines*, que são figuras constituídas por diversos traços, porém reconhecidos pelo *software* como um único objeto conectado. Isso é necessário para que a gravadora interprete o desenho corretamente. O *software* utilizado que melhor se adequou foi o LibreCAD, sendo que os arquivos devem ser salvos no formato ".dxf".

Para a fixação adequada do substrato com o vácuo da gravadora foi necessário lixar novamente as bordas com lixa de grão 80, eliminando-se a poeira com jato de ar antes da inserção na gravadora, afinal, qualquer irregularidade nas bordas do substrato pode causar o deslocamento indesejado durante a gravação.

Para se realizar o foco do feixe, o substrato foi centralizado e realizado primeiramente o foco automático. A partir de então o foco foi mantido em modo manual até o final da gravação. Esse procedimento é muito importante, pois, com o foco automático, ao ocorrer a aproximação

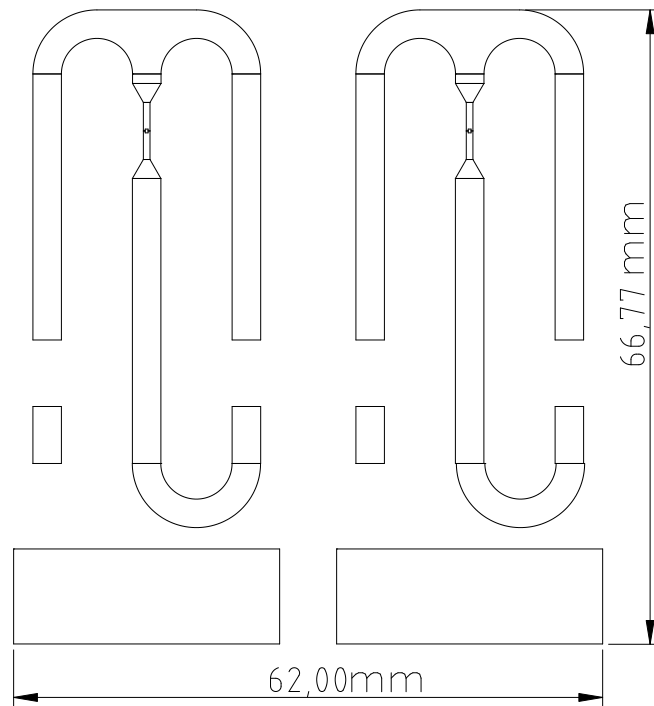


Figura 21 – Desenho de dois circuitos para microrressonador formados apenas por objetos do tipo *polyline*, salvo no formato ".dxf".

do feixe até as bordas do substrato, pode haver alteração indesejada na altura, ocasionando a colisão entre a lente de saída do feixe e o substrato, com conseqüente danificação do equipamento.

Já com o foco em modo manual, foi deslocado o feixe para inspeção da posição exata em que é gravada o *microslot*. Nessa posição, foi realizado o ajuste fino do foco, tendo em vista que a área do substrato em que houve gravação é bastante extensa e como o substrato possui ondulações e irregularidades, nem toda a área pode ser gravada com o foco uniforme.

A seguir, foi carregado o desenho ".dxf" no *software* da gravadora com o fator de escala 1.000.000 indicando que o desenho foi realizado usando escala em milímetros. Foi selecionado o modo de gravação invertido, ou seja, iluminação com o feixe na área não desenhada. Foi ainda adicionada uma borda de $1.000\mu m$, para espaçar o desenho do restante da placa.

Foi ajustado o *Offset*, que é o deslocamento da posição central do substrato com relação à origem do sistema de coordenadas referência da gravadora, com base nas dimensões da placa medidas com a ferramenta do próprio *software*, o qual possui um aplicativo automático de medição. Regulou-se também o *LASER Offset* referente à última calibração do feixe realizada, que é um ajuste fino do deslocamento do feixe de *LASER* com relação ao sistema de posicionamento da gravadora. Foi setada ainda a potência de $25mW$ e o parâmetro *duty cycle* do feixe para 100%. Finalmente, foi realizada a gravação.

Logo após a conclusão da gravação, foi realizada a revelação. Para tal, em uma capela, o substrato foi colocado em uma placa de vidro grande, com a face gravada voltada para cima. Foi



Figura 22 – Foto do substrato após gravação e revelação. As áreas escuras possuem a proteção do resiste, enquanto as áreas claras expõem a camada de cobre diretamente.

então despejado, com um copo Becker, o revelador AZ300, sem diluição, de maneira a cobrir toda a face da placa. Aguardou-se o tempo de 50s e em seguida procedeu-se à lavagem com jato de água destilada e secagem com jato de ar. O resultado obtido até então é mostrado na Fig. 22.

O procedimento seguinte foi o de corrosão da face revelada, para remoção do cobre nas áreas expostas do substrato, de maneira a formar a imagem do circuito desejada. A corrosão foi realizada com a utilização de uma mistura de ácido clorídico (HCl) P.A., água destilada (H_2O) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) P.A.. Previamente, haviam sido realizados diversos testes variando-se a potência do feixe de *LASER* na gravadora, as proporções dos componentes do ácido, e a espessura da borda do desenho projetador para o *microslot*. Esses testes são mostrados na Fig. 23. De maneira geral, observou-se que: o ácido sem diluição torna os vértices muito arredondados; espessuras menores que $140\mu m$ geram grande chance de falha no resultado; valores de potência do feixe acima de $25mW$ geram sempre bons resultados. A solução ácida escolhida foi na proporção $2HCl : 1H_2O : 4H_2O_2$.

A corrosão foi realizada em uma capela, gotejando-se a mistura corrosiva sobre o substrato com uma pipeta descartável. O substrato foi mantido levemente inclinado e se deixou que o líquido escorresse para uma placa de vidro. Isso permitiu o controle visual da corrosão. Após todo o cobre ter sido removido, lavou-se o substrato e secou-se com papel toalha. Por fim, o substrato foi finalizado com acetona para remoção do resiste. A Fig. 24, à esquerda, mostra o substrato corroído já preparado para o corte. Já a Fig. 24, à direita mostra a aparência final de uma placa de circuito contendo o *microslot*.

Após a fabricação, foi realizada a inspeção do *microslot* com microscópio óptico e com microscópio eletrônico, a fim de se avaliar a qualidade obtida, conforme imagens na Fig. 25.

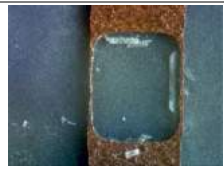
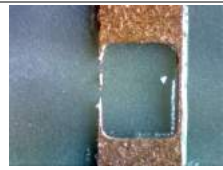
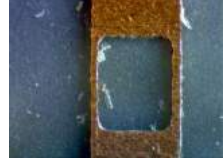
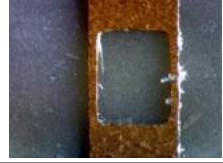
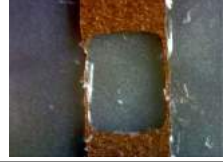
Potência do LASER Proporções do Ácido	Espessura da borda do microslot			
	240µm	190µm	140µm	90µm
25 mW 1HCl:2H ₂ O ₂				
25 mW 2HCl:1H ₂ O:4H ₂ O ₂				
30 mW 1HCl:1H ₂ O:2H ₂ O ₂				
40 mW 1HCl:2H ₂ O ₂				
40 mW 2HCl:1H ₂ O:4H ₂ O ₂				

Figura 23 – Testes de corrosão variando-se os parâmetros: proporções dos componentes do ácido, potência do feixe de *LASER* e espessura das bordas do *microslot* no desenho projetado.



Figura 24 – À esquerda: Fotografia do substrato após corrosão, preparado para o corte da placa de circuito. A fita branca foi colocada para proteger a área do *microslot*. À Direita: Fotografia da placa de circuito contendo o *microslot*.

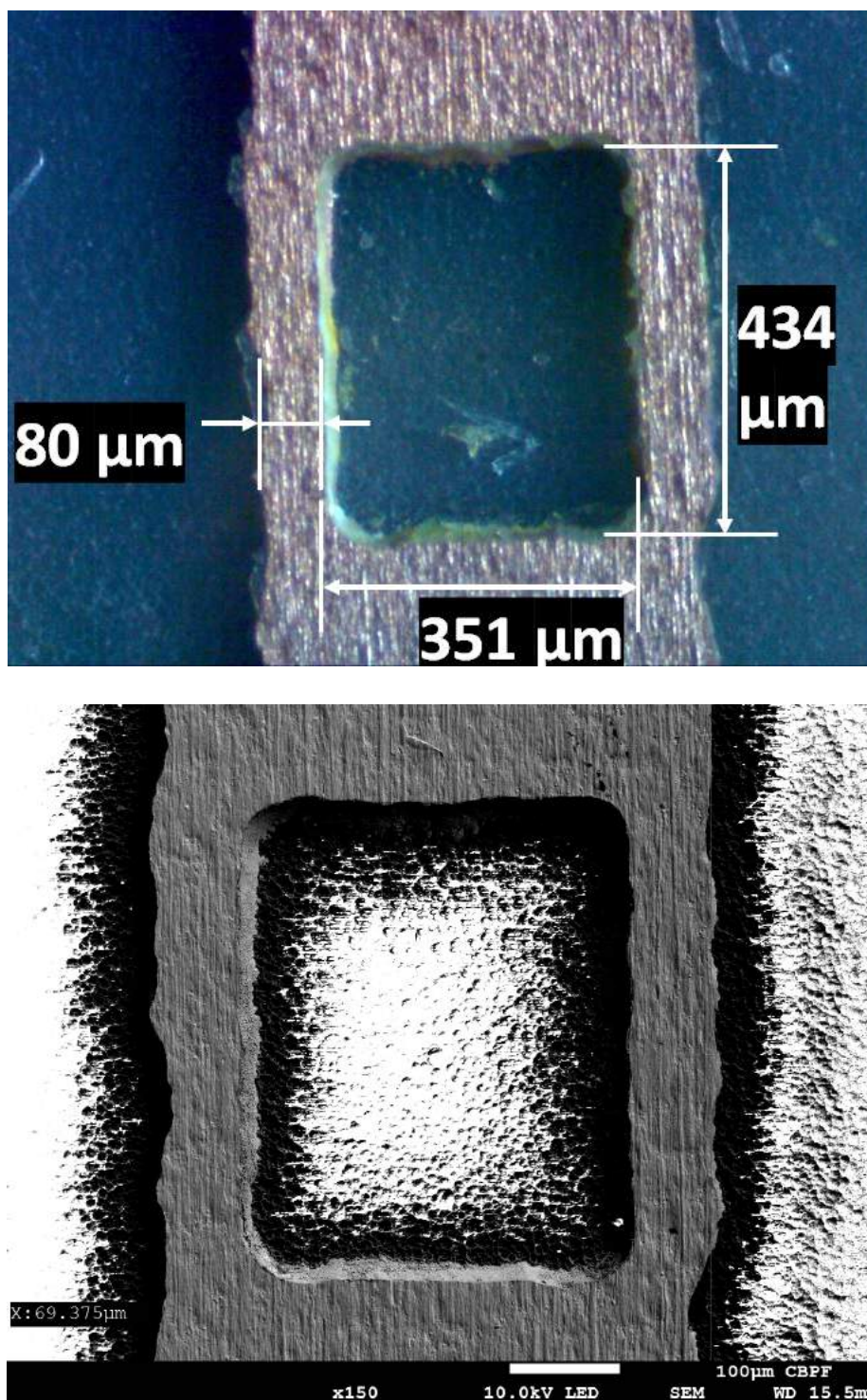


Figura 25 – Acima: Inspeção do *microslot* com microscópio óptico. As medidas são aproximadas e foram adicionadas com editor de imagem após a medição a partir da seleção visual na tela do microscópio eletrônico de varredura; abaixo: Inspeção do *microslot* com microscópio eletrônico de varredura.

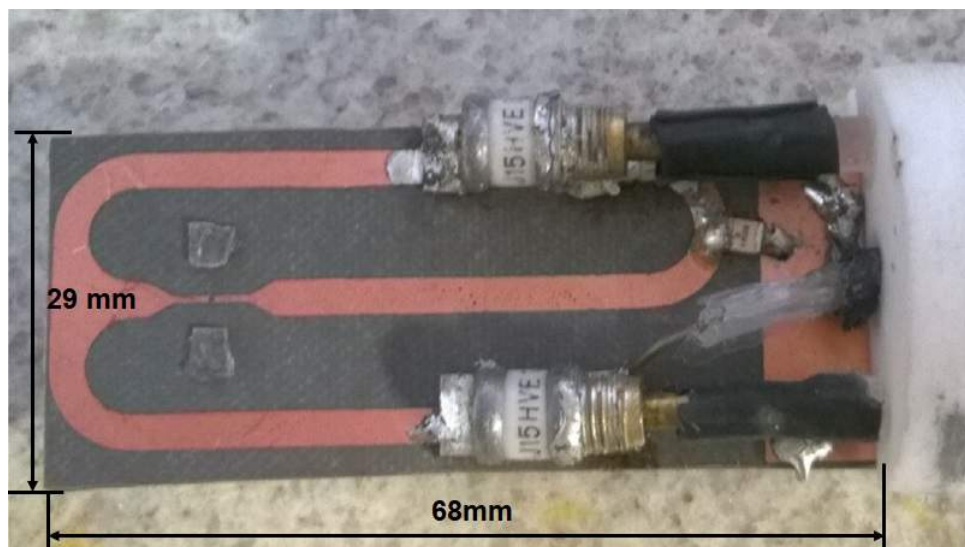


Figura 26 – Fotografia da placa montada com o circuito ressonador.

3.2 Circuito Ressonador

Para a montagem do circuito ressonador, foram utilizados capacitores variáveis com valores de 1 a $16pF$, não-magnéticos, código NMAJ15HVE (marca Voltronics). O capacitor fixo utilizado, também não magnético, possui valor de $1pF$ (marca ATC - American Technical Ceramics).

O cabo coaxial utilizado foi um dos cabos de extensão já prontos do espectômetro, que teve o conector de uma ponta cortado para a soldagem na placa de circuito. Foi feita ainda uma conexão do terra (conector malha externa do cabo coaxial) com a face virgem oposta da placa, utilizando-se com um pedaço do condutor central do cabo coaxial.

A placa do circuito ressonador foi montada com a solda Kester não magnética, de composição $Sn96.5\%/Ag3\%/Cu0,5\%$. A principal dificuldade encontrada na soldagem da placa foi a alta temperatura exigida pela solda, de $217^{\circ}C$, exigindo atenção para a uniformização dos pontos de solda. O resultado da placa montada é apresentado na Fig. 26.

3.3 Construção da Estrutura

A montagem da estrutura que posiciona o circuito ressonador no interior do espectômetro deve ser realizada utilizando-se materiais não-magnéticos, a fim de não interferir no experimento. Por isso, a escolha dos materiais é aspecto fundamental a ser considerado.

A estrutura confeccionada neste projeto foi inspirada naquela utilizada por Yael Maguire [15], com adaptações para a realidade encontrada no laboratório de RMN do CBPF e também em função dos materiais disponíveis para aquisição.

A Fig. 27 mostra a estrutura básica da montagem, que consiste em um tubo e um suporte transversal para fixação. A função do tubo é alojar o circuito em sua extremidade mais longa,

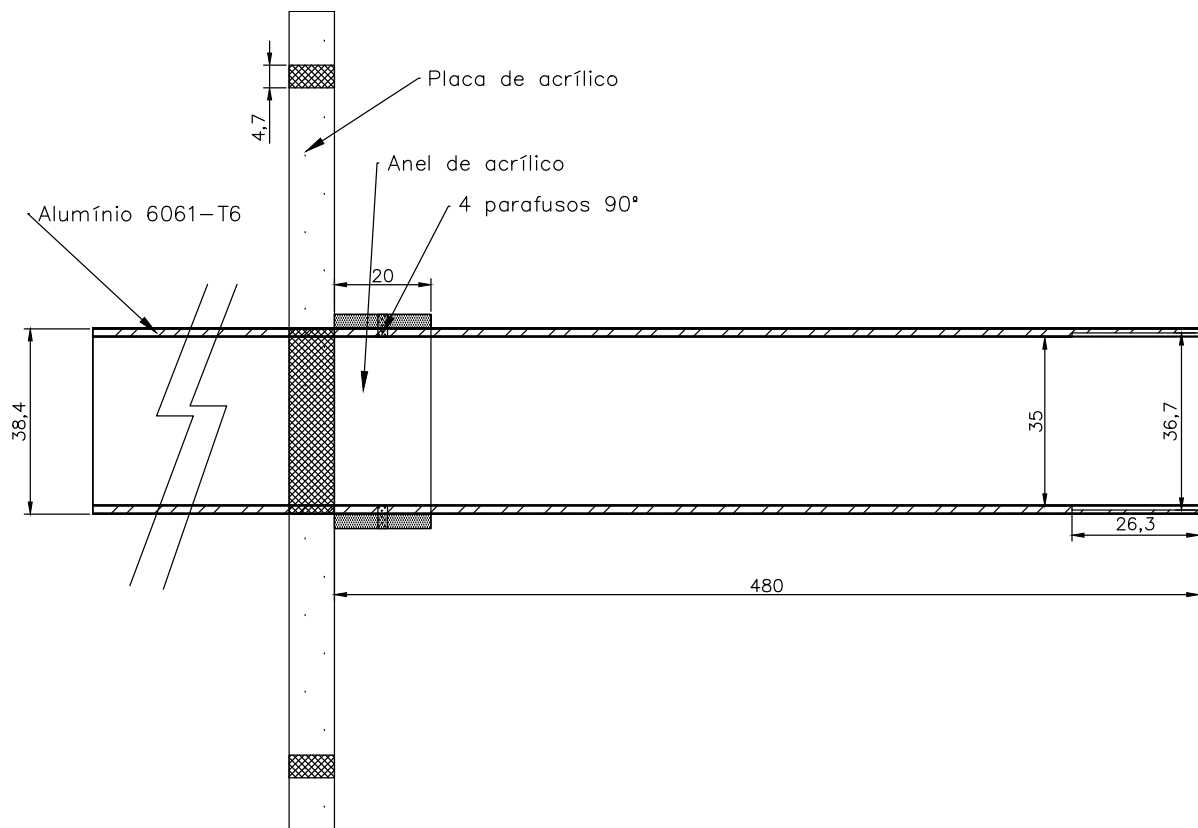


Figura 27 – Estrutura básica: tubo e suporte. Unidades em milímetros.

na posição onde é aplicado o campo magnético fixo B_0 , e também alojar o cabo coaxial que conduz o sinal de radiofrequência, além de hastes para ajuste dos capacitores variáveis. Esse tubo é constituído de material metálico para que funcione como uma Gaiola de Faraday, evitando interferências de sinal. Já o suporte fixa o tubo na parte inferior do espectômetro.

O material do tubo utilizado foi a liga de alumínio 6061-T6, que possui baixa susceptibilidade magnética. O diâmetro externo escolhido foi de 1,5 polegada (38,1 mm), para que fosse possível alojá-lo no espectômetro. A espessura de parede de 0,058 polegada (0,147 mm) foi escolhida para que fosse possível fazer roscas para a fixação do suporte ao tubo com parafusos. Ainda, para o perfeito encaixe no espectômetro foi necessário diminuir o diâmetro interno do tubo.

O suporte para fixação é constituído de uma placa retangular de acrílico, com um furo central no tamanho do diâmetro externo do tubo e com dois outros furos vazados para parafusos de fixação no espectômetro. O desenho técnico do suporte é mostrado na Fig. 28.

O interior do tubo é mostrado da Fig. 29. A placa de circuito contendo o microslot é encaixada em um tarugo de teflon, o qual é fixado no tubo por um parafuso lateral de material não-magnético.

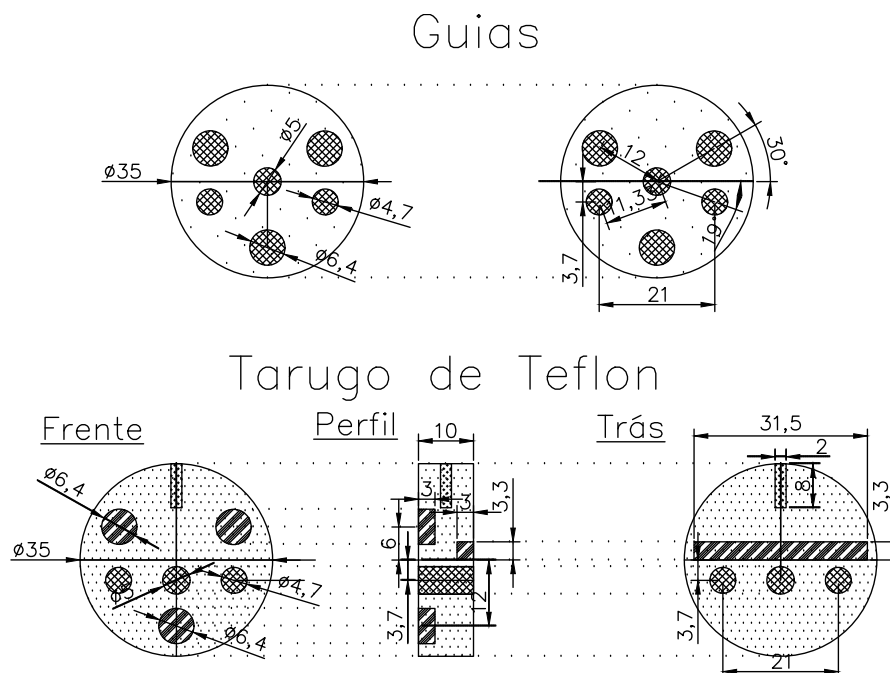


Figura 30 – Acima: Guias para hastes de acrílico: Os três furos maiores são para as hastes fixas com função de suporte, o furo central é destinado à passagem do cabo coaxial e os outros dois furos para a passagens das hastes de ajuste para os capacitores variáveis. Abaixo: Tarugo de teflon com três furos maiores para conexão com as hastes de suporte, um furo vazado central para passagem do cabo coaxial, dois furos para passagem livre das hastes de ajuste dos capacitores e um vinco para encaixe da placa de circuito. Unidades em milímetros.

Para se realizar o ajuste dos capacitores variáveis foram conectadas hastes de acrílico livres para girar através de furos em placas guia, estendendo-se até a extremidade do tubo. Essas placas guia foram conectadas entre si e ao tarugo de teflon também por meio de hastes de acrílico, porém, estas foram fixadas com cola, formando uma estrutura rígida. O desenho técnico das guias e do tarugo de teflon é mostrado na Fig. 30.

A conexão entre os capacitores variáveis e as hastes de acrílico foi realizada com a adaptação de um parafuso e a utilização de conduites termoretráteis. Primeiramente, fez-se um furo na ponta da haste, após o que foi rosqueado um parafuso em cada haste, juntamente com um pouco de cola. A cabeça do parafuso foi cortada e desgastada com uso de uma lima até que se encaixasse na fenda presente no botão de ajuste do capacitor. O detalhe desse encaixe é mostrado na Fig. 31 Por fim, para que a haste de ajuste não se soltasse da fenda com o movimento foi adicionado na conexão conduites termoretráteis, que, aquecidos com ferro de solda, contraem-se mantendo a conexão firme.

A Fig. 32 mostra a visão geral da estrutura pronta e montada, de acordo com a descrição das peças apresentadas.

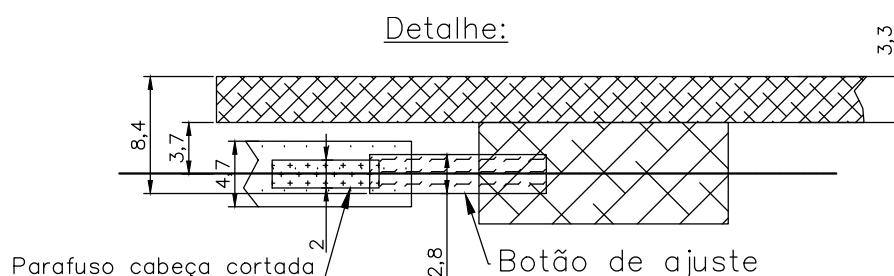


Figura 31 – Detalhe do encaixe de uma das hastes deacrílico no botão de ajuste do capacitor variável. Foi inserido um parafuso com a cabeça removida na haste deacrílico, para haver o encaixe no botão de ajuste do capacitor variável. Unidades em milímetros.



Figura 32 – Fotografias da estrutura da sonda montada. À esquerda, placa com o circuito ressonador encaixada no tarugo de teflon e hastes de suporte presas às guias. À direita, visão do suporte para encaixe no espectômetro.

4 Experimentos Realizados

Neste capítulo, descrevemos os testes realizados com a sonda construída. Inicialmente serão descritos o posicionamento e a preparação da amostra no *microslot*. Posteriormente, serão explicados os testes realizados através de vários experimentos. Os primeiros experimentos realizados foram de calibração do pulso e de nutação, com os quais foram estimados a intensidade e a distribuição do campo de radiofrequência, produzido pelo *microslot*. Posteriormente, foi realizado um teste de resolução, a fim de verificar a performance do *microslot* em distinguir frequências de ressonância muito próximas e também testes de sensibilidade com a concentração da amostra controlada. Os testes de sensibilidade foram repetidos para duas sondas comerciais, uma sonda de 5mm e outra de 10mm. Os resultados para as sondas comerciais e para o *microslot* são comparados entre si ao longo deste capítulo. Para exemplificar a utilidade da sonda construída, ao final do capítulo são mostrados os resultados para alguns experimentos padrões de RMN obtidos com o *microslot*, mais especificamente, resultados de experimentos para medidas de tempos de relaxação.

4.1 Preparação das amostras

Para os experimentos com o *microslot*, as amostras são acondicionadas em capilares (fabricante Polymicro). Primeiramente, um pedaço com cerca de 1cm do capilar é destacado com uma peça de cerâmica adequada para cortar tubos capilares. Em seguida, o revestimento de polimida é removido mediante a queima pela exposição ao fogo. O capilar é então lavado com acetona e submetido a jato de ar para limpeza de qualquer partícula ou líquido que tenha restado em seu interior.

A seguir, uma gotícula da amostra é colocada em uma lâmina de vidro e, inspecionando-se com o microscópio óptico, o capilar é colocado em contato com a amostra, a qual naturalmente entra no capilar. Em seguida, os dois lados do capilar são fechados colocando o capilar em contato com uma graxa comum. O capilar é então posicionado sobre o *microslot* de maneira que suas pontas fiquem em contato com um pedaço de lamínula de vidro coberta de graxa, que mantém o capilar colado à lamínula e também esta colada à placa de circuito, conforme Fig. 33.

A Fig. 34 mostra o capilar sendo posicionado com auxílio do microscópio óptico e também a sonda já instalada no espectômetro.

4.2 Sintonia

Para verificar o funcionamento do *microslot*, foi realizada a sintonia no circuito utilizando-se a ferramenta de sintonia do espectômetro, em que é exibida a curva de reflexão da potência de entrada no circuito, a qual possui uma inflexão com tendência a valor nulo na frequência de

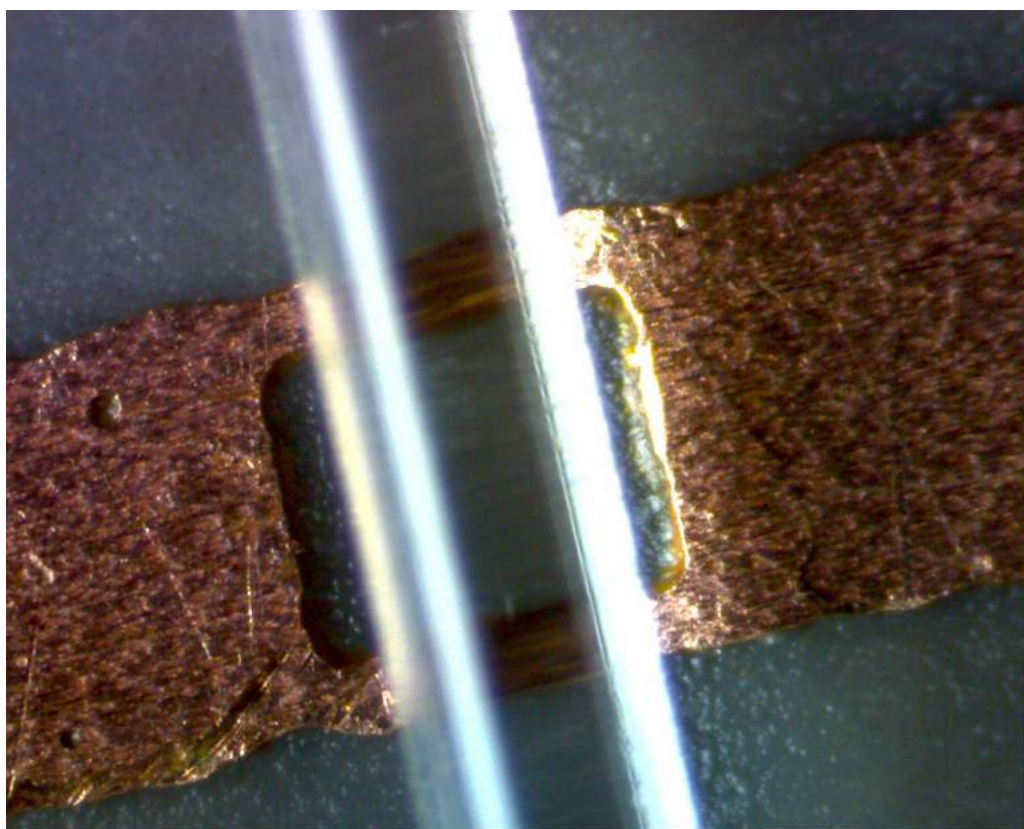


Figura 33 – Capilar com $250\mu m$ de diâmetro interno posicionado sobre *Microslot*.



Figura 34 – À esquerda, capilar sendo posicionado sobre o *microslot* com auxílio do microscópio ótico; À direita: Sonda instalada no espectômetro

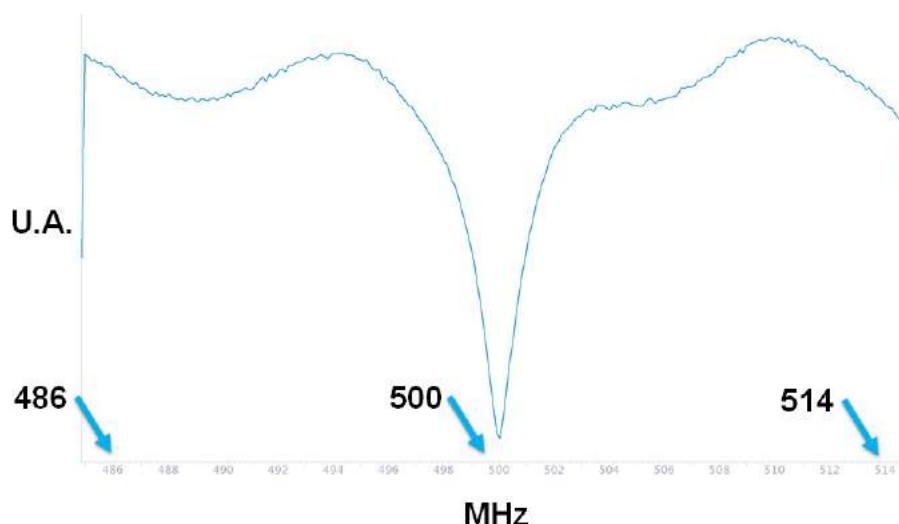


Figura 35 – Sintonia do *microslot* no espectômetro. A frequência em que a curva possui o mínimo valor é a frequência de ressonância, ajustada em 500MHz .

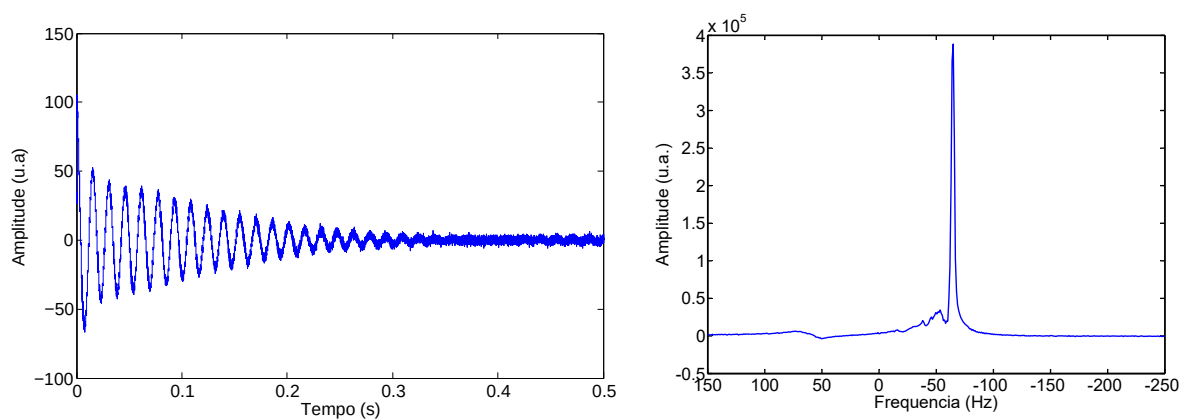


Figura 36 – Aquisição com 16 *scans* de uma amostra contendo 3% de H_2O em D_2O . À esquerda: Sinal FID; à direita: espectro em frequência.

ressonância. Ajustando-se por tentativa e erro as capacitâncias dos dois capacitores variáveis do *microslot*, é possível ajustar a curva para a melhor ressonância em 500MHz , como mostrado na Fig. 35. O procedimento de sintonia deve ser realizado sempre que uma nova amostra é inserida na sonda.

Foi realizada a aquisição do sinal de decaimento de indução livre (FID), e do espectro em frequência de uma amostra contendo 3% de água (H_2O) em água deuterada (D_2O). Os sinais são mostrados na Fig. 36.

4.3 Testes de Intensidade e Homogeneidade do Campo Transversal B_1

Com a finalidade de se realizar comparações de desempenho, foi realizada a calibração com o *microslot* e com as sondas de 5mm, 10mm. Para a sonda *microslot* foi utilizada uma amostra de 1% de H_2O em D_2O em um capilar de diâmetro interno de 250 microns. Quantidades significativas de água, em geral, causam distorções no espectro de RMN, dificultando a calibração. Isso porque a precessão da magnetização da amostra induz uma corrente na bobina de captação da sonda. Porém, o sinal elétrico induzido cria um campo magnético que interage de volta com a amostra. Esse efeito é chamado de "radiation damping"[20]. Como porta-amostras de 5mm ou 10mm com água possuem quantidade de suficiente de amostra para provocar uma distorção significativa no espectro, a calibração das sondas de 5mm e 10mm foi realizada com amostra de Clorofórmio a 0,2% $CHCl_3$ em 99,8% $CDCl_3$.

A calibração foi realizada controlando-se a duração do pulso de radiofrequência e procedendo-se à aquisição, em seguida deixando-se a amostra voltar ao equilíbrio. Os resultados da calibração são resumidos na Fig. 37.

Os valores do campo magnético B_1 determinado pela Eq. 2.15 e da eficiência de conversão E_C para as três sondas são mostrados na Tabela 1. Verifica-se que o campo gerado pelo *microslot* é menor do que aquele da sonda de 5mm e comparável ao da sonda de 10mm, porém o *microslot* possui uma maior E_C , pois requer potência menor.

Tabela 1 – Comparação de eficiência entre o *microslot* e as sondas de 5mm, 10mm.

	Microslot	Sonda de 5mm	Sonda de 10mm
$Pw_{\pi/2}$	17,74 μs	7,4 μs	16,15 μs
Potência aplicada P	6W	40W	40W
Campo transversal B_1	369 μT	790 μT	360 μT
Eficiência de conversão $B_1/\sqrt{P}$	150 $\mu TW^{-1/2}$	126 $\mu TW^{-1/2}$	58 $\mu TW^{-1/2}$

Nas imagens ao lado esquerdo da Fig. 38, é mostrado o fenômeno de nutação para cada sonda testada. Os pontos foram obtidos pela integral do espectro de RMN, variando-se o tempo de pulso em valores sucessivamente maiores. Assim, é possível observar que, para as três sondas comparadas, a intensidade de sinal observada para o pulso $Pw_{\pi/2}$ (90°) é maior do que aquela obtida para um pulso de duração $Pw_{5\pi/2}$ (450°). Já a intensidade deste último é maior do que a obtida para o pulso com duração $Pw_{9\pi/2}$ (810°). Assim, a intensidade diminui a cada rotação adicionada, devido à não uniformidade do campo B_1 .

Verificou-se que para o pulso $Pw_{13\pi/2}$ (1170°) a amplitude do sinal, em relação ao pulso $Pw_{\pi/2}$ (90°), cai a 28% para o *microslot*, 37% para a sonda de 5mm e 42% para a sonda de 10mm. Dessa forma, conclui-se que o campo de radiofrequência B_1 mais uniforme dentre as sondas comparadas é o da sonda de 10mm.

Já nas imagens ao lado direito da Fig. 38, para cada sonda é mostrado um gráfico que ilustra o efeito da inomogeneidade do campo de radiofrequência B_1 aplicado. A partir do

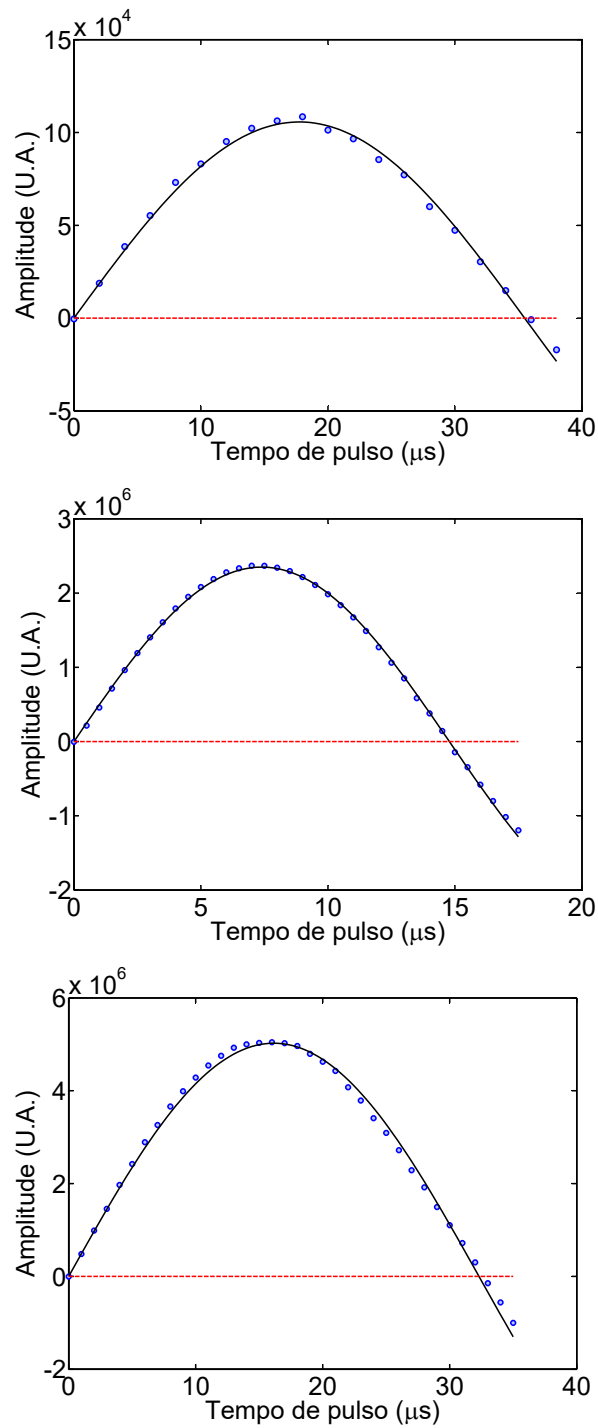


Figura 37 – Calibração realizada com as diferentes sondas. Os pontos são calculados pela integral numérica do espectro em frequências e a curva cheia é um ajuste com a função seno. Acima: calibração com o *microslot*; Ao centro: calibração com a sonda de $5mm$; Abaixo: calibração com a sonda de $10mm$.

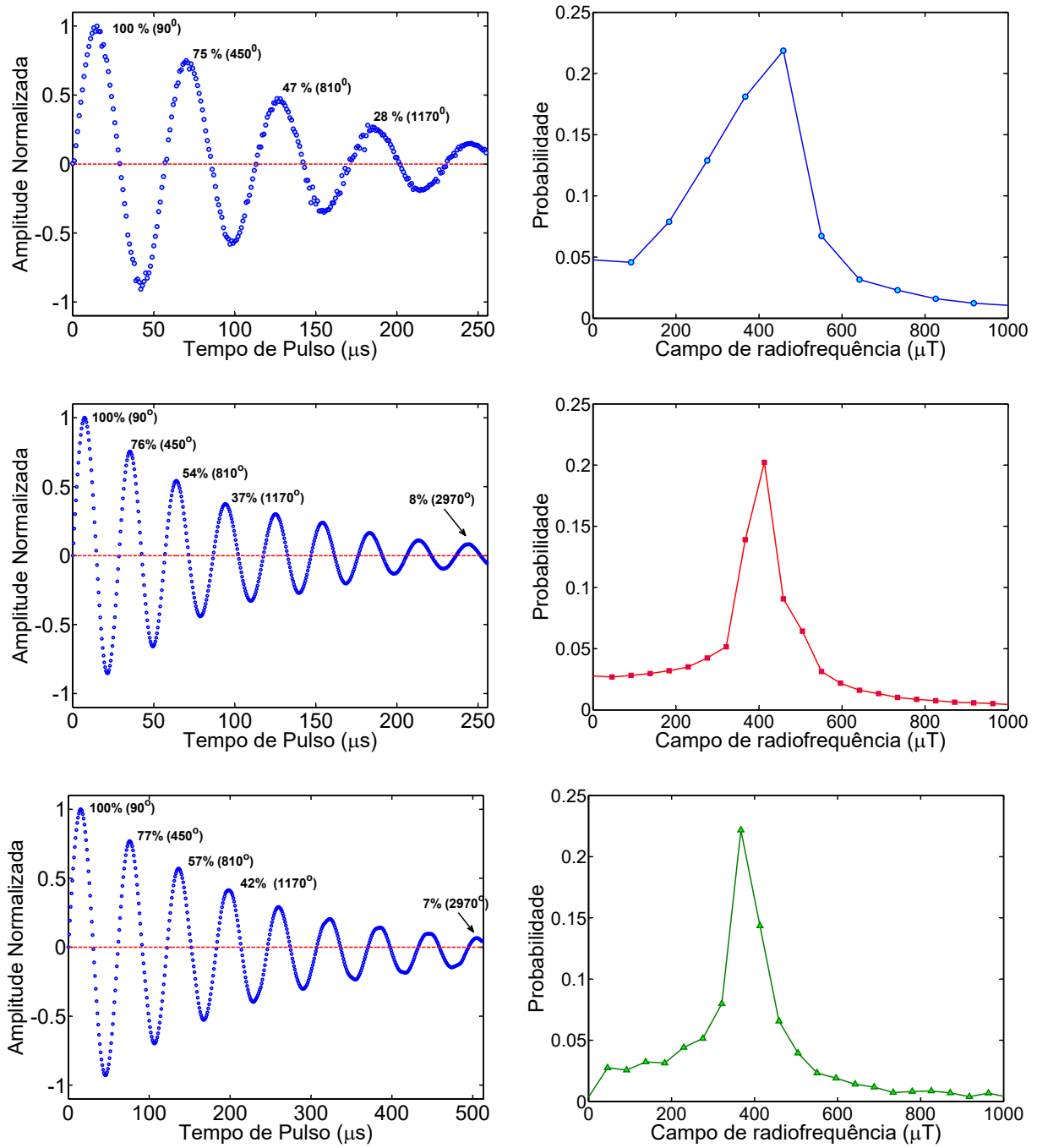


Figura 38 – As imagens ao lado esquerdo exibem o experimento de nutação, que mostra o decaimento da amplitude da magnetização total da amostra em função do tempo de pulso. As imagens ao lado direito mostram a probabilidade de que um *spin* esteja sob a influência de um determinado valor de campo B_1 . Acima: resultado obtido com *microslot*; Ao centro: resultado para sonda de 5mm; Abaixo: resultado para sonda de 10mm.

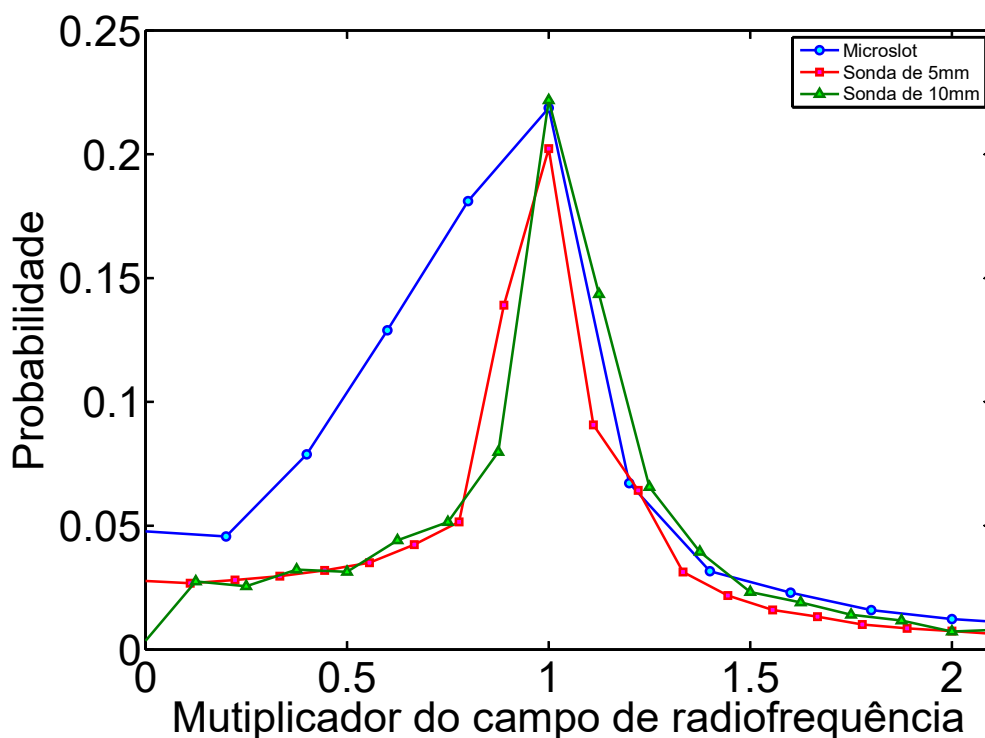


Figura 39 – Gráfico mostrando a probabilidade de que um *spin* esteja sob a influência de um determinado valor de campo de radiofrequência B_1 . Quanto mais aberta a forma da curva, menos homogêneo é o campo.

experimento de nutação, foi realizada a Transformada de Fourier da sequência de amplitudes observadas em função do tempo de pulso aplicado e dividiu-se pela integral de toda a curva obtida, tendo como resultado a probabilidade de que um *spin* esteja sob a influência de um determinado valor de campo B_1 .

Para melhor comparação visual dos resultados, os gráficos da probabilidade em função da intensidade do campo de radiofrequência para as três sondas foram superpostos na Fig. 39. Os valores foram normalizados em relação ao campo de radiofrequência de máxima probabilidade para cada sonda. Conclui-se que o *microslot*, por possuir uma curva de forma mais aberta, possui campo menos homogêneo.

4.4 Teste de Resolução

Em RMN, a resolução consiste na capacidade de se distinguir dois picos que se encontram em posições próximas no espectro de frequências.

Para se testar a resolução, foi realizado um experimento com amostra de 100% etanol, em que é possível distinguir os 3 grupos químicos que compõem a molécula de etanol, como mostrado na Fig. 40. Pelo experimento, foi possível verificar que o grupo químico OH sofreu um deslocamento de aproximadamente $2.180Hz$, o grupo químico CH_2 sofreu um deslocamento

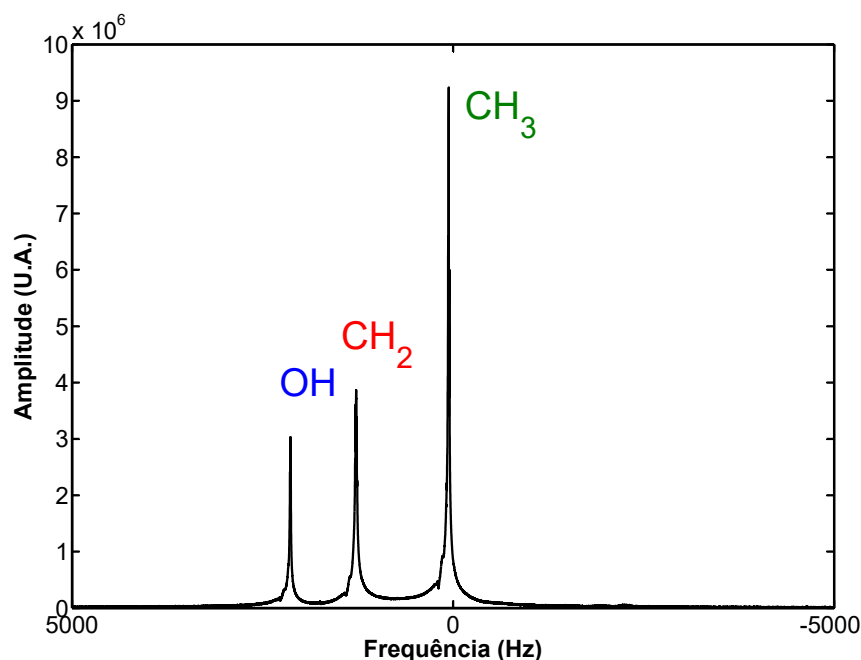


Figura 40 – Teste de resolução realizado com uma amostra contendo 100% etanol, com a indicação de cada grupo químico identificado no espectro.

de aproximadamente 1.270Hz e já o grupo químico CH_3 sofreu um deslocamento químico de aproximadamente 50Hz em relação à frequência do campo B_1 aplicado.

Ampliando-se o espectro na região de cada grupo químico do etanol, pode-se ver uma estrutura interna, correspondente ao acoplamento entre os *spins*, conforme a Fig. 41.

4.5 Testes de Sensibilidade

Como já mencionado, a sensibilidade é um importante parâmetro na qualificação de uma sonda de RMN, que consiste na habilidade de se distinguir sinal de ruído. Citou-se ainda que um dos principais métodos para se quantificar a sensibilidade e se realizar a comparação de desempenho entre sondas de RMN é pela medição da relação sinal ruído (SNR).

Por isso, foram realizados experimentos comparando-se a SNR para a sonda construída com o *microslot* e para as sondas comerciais de 5mm , 10mm , conforme Eq. 2.23. O experimento com o *microslot* foi realizado com uma amostra de 1% de H_2O em D_2O , enquanto para as sondas de 5mm e 10mm foi utilizada amostra de 10% de H_2O em D_2O . Os parâmetros como largura de banda, tempo de aquisição, número de pontos adquiridos e *scans* foram mantidos idênticos para as três sondas.

A seguir foram calculados os valores para a relação sinal ruído normalizada SNR_n em relação à quantidade de moléculas de H_2O contidas na amostra, segundo a Eq. 2.24.

O volume para o *microslot* foi determinado a partir do diâmetro interno do capilar de 250 microns e considerando-se todo o comprimento do capilar posicionado sobre o *microslot*, com 13mm de comprimento (medido com paquímetro). Já para as sondas comerciais, foi considerada

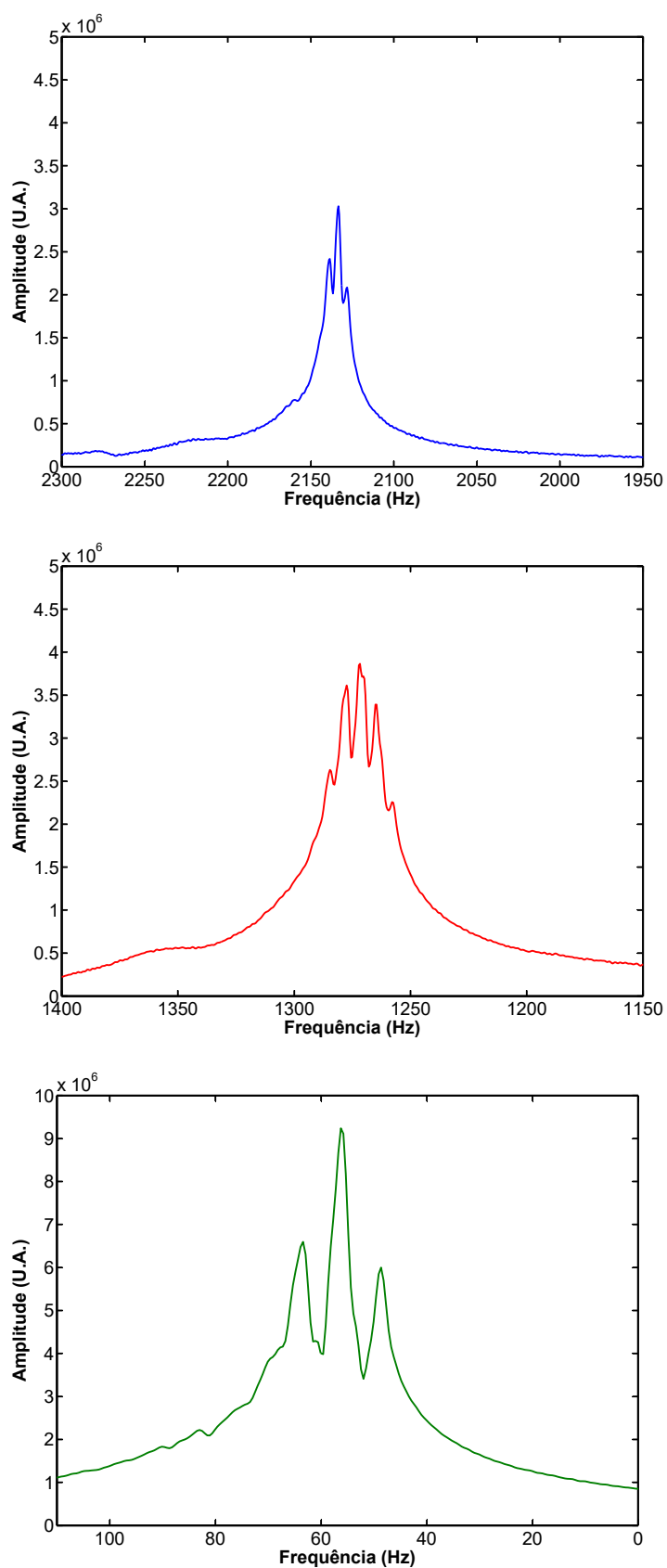


Figura 41 – Teste de resolução realizado com uma amostra contendo 100% etanol. São mostrados em escala ampliada os grupos químicos separadamente. Acima: grupo OH; Ao centro: grupo CH₂ Abaixo: grupo CH₃.

a seção cilíndrica dos tubos e a altura efetiva indicada pelo fabricante no porta-amostras, de 16mm. A Tabela 2 resume os valores obtidos.

Tabela 2 – Comparação de sensibilidade entre as sondas *microslot*, 5mm e 10mm.

	<i>Microslot</i>	Sonda de 5mm	Sonda de 10mm
$V \text{ (ml)}$	638×10^{-6}	314×10^{-3}	1,26
$C \text{ (mol/l)}$	$5,5 \times 10^{-7}$	$5,5 \times 10^{-6}$	$5,5 \times 10^{-6}$
SNR	$1,017 \times 10^3$	$5,83 \times 10^8$	$6,8 \times 10^8$
$SNR_n \text{ (mol}^{-1}\text{)}$	$2,87 \times 10^{15}$	$1,05 \times 10^{14}$	$1,28 \times 10^{14}$

Verifica-se que a sonda de 10mm obteve a maior SNR , enquanto o *microslot* obteve a menor SNR . Porém, quando se calcula a relação sinal ruído normalizada SNR_n , levando-se em conta a quantidade de moléculas, o *microslot* se demonstra mais sensível em uma ordem de grandeza, enquanto as sondas de 5mm e 10mm apresentam desempenhos próximos entre si.

4.6 Medidas de Tempo de Relaxação

Foram realizadas medidas dos tempos de relaxação utilizando-se a sonda construída. Pelo método de recuperação de inversão, para uma amostra de 1% de H_2O dissolvido em 99% de D_2O , contida em um capilar de 320 microns, foi construída a Fig. 42, que mostra a amplitude do espectro em função do tempo de pulso retangular τ , progressivamente maior. Os dados experimentais foram ajustados pela função $M(t) = M_0(1 - 2e^{-t/T_1})$ e o valor obtido para T_1 foi 6,02s.

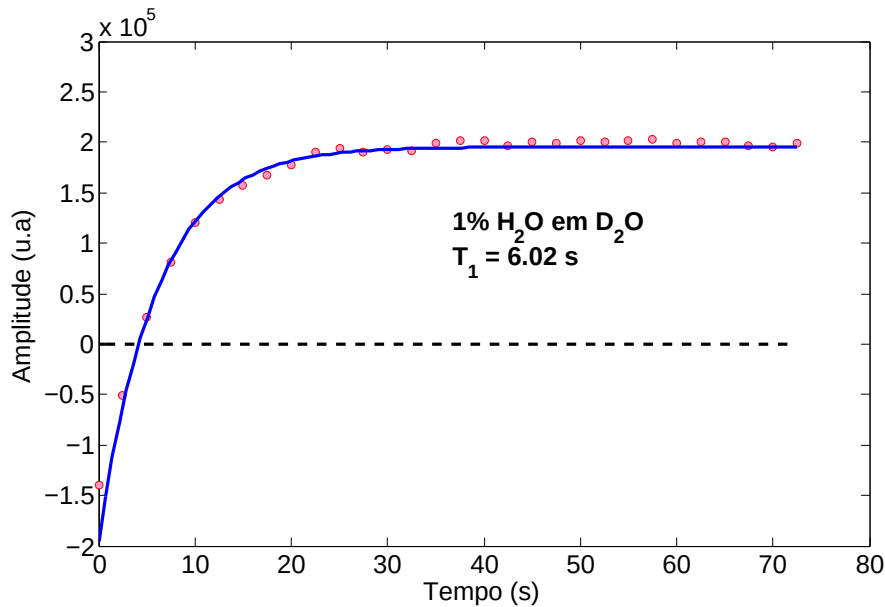


Figura 42 – Método da recuperação de inversão, para medição do tempo de relaxação *spin*-rede T_1 , para uma amostra de 1% de H_2O em 99% de D_2O , utilizando a sonda *microslot*.

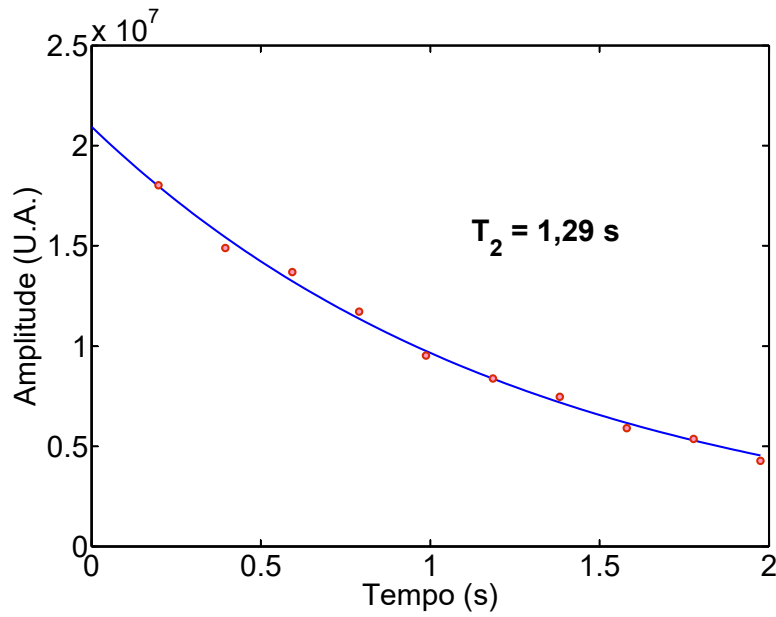


Figura 43 – Método CPMG, para medição do tempo de relaxação *spin-spin* T_2 , para uma amostra de 1% de H_2O em 99% de D_2O utilizando a sonda *microslot*.

O processo de relaxação transversal, ou relaxação *spin-spin*, é responsável pelo desaparecimento da magnetização no plano $x - y$. Para se medir o tempo de relaxação transversal T_2 , foi utilizado o método CPMG (Carr-Purcell-Meiboom-Gill), pelo qual se obteve o gráfico mostrado na Fig. 43. Ele mostra a amplitude do eco em escala logarítmica como função do tempo, obtido pela integral do espectro na faixa próxima ao pico observado para cada eco. O decaimento foi ajustado com uma exponencial e^{-t/T_2} e o tempo de relaxação foi determinado como $T_2 = 1,29s$.

5 Conclusão

Neste trabalho, foi realizado um estudo sobre os conceitos básicos de RMN, sensibilidade e o funcionamento de microrressonadores na aplicação em sondas de RMN.

Foi visto que a sensibilidade consiste na habilidade de se distinguir sinal de ruído e é um dos parâmetros importantes na escolha de uma sonda de RMN.

Dada essa importância, uma das abordagens para aumentar a sensibilidade do experimento é a miniaturização do circuito ressonador contido na sonda. Isso motivou a elaboração do presente trabalho, com o estudo e desenvolvimento de uma sonda do tipo *microslot*.

Foi apresentado o desenvolvimento, construção e montagem de uma sonda do tipo *microslot*, desde a fabricação do circuito contendo o *microslot* mediante o emprego da técnica de litografia com *LASER*, passando pela seleção dos materiais, confecção dos desenhos técnicos e montagem da estrutura da sonda.

Foram realizados experimentos para testar o funcionamento da sonda construída e comparar o desempenho do *microslot* com duas outras sondas comerciais do tipo sela, de 5mm e 10mm. Foi demonstrada a preparação da amostra, o procedimento de sintonia e calibração.

A partir da calibração, foi possível verificar que o *microslot* possui uma eficiência de conversão (E_C) de $150\mu TW^{-1/2}$, enquanto para as ondas de 5mm e 10mm a E_C encontrada foi de $126\mu TW^{-1/2}$ e $58\mu TW^{-1/2}$, respectivamente. Isso mostra que o *microslot* gera um campo magnético mais intenso requerendo uma potência elétrica menor.

Para os experimentos de nutação foi verificado que a amplitude do sinal diminui mais rapidamente para o *microslot* do que para as sondas de 5mm e 10mm. Por exemplo, verificou-se que para o pulso $Pw_{13\pi/2}$ (1170°) a amplitude do sinal, em relação ao pulso $Pw_{\pi/2}$ (90°), cai a 28% para o *microslot*, 37% para a sonda de 5mm e 42% para a sonda de 10mm. Assim, conclui-se que o campo de radiofrequência B_1 encontrado para o *microslot* é menos uniforme do que o campo das sondas de 5mm e 10mm.

A resolução é uma característica importante para as sondas de RMN. Com a resolução obtida com a sonda *microslot*, foi possível analisar o sinal de uma amostra com 100% etanol e observar a presença de três grupos químicos na molécula, devido ao fenômeno do desvio químico. Ainda, dentro de cada grupo químico, foi obtida resolução suficiente para verificar o acoplamento existente entre os *spins* dos núcleos próximos.

No que diz respeito à sensibilidade, foi verificada uma relação sinal ruído normalizada (SNR_n) em relação à quantidade de núcleos presentes na amostra de $2,87 \times 10^{15} mol^{-1}$ para a sonda *microslot*, em comparação com as sondas comerciais, cuja SNR_n obtida foi de $1,05 \times 10^{14} mol^{-1}$ para a sonda de 5mm e $1,28 \times 10^{14} mol^{-1}$ para a sonda de 10mm. Esse resultado mostra que a sonda *microslot* requer uma quantidade menor de amostra para obter qualidade de sinal.

Por fim, com relação às medidas de tempo de relaxação, utilizando-se a sonda *microslot*, foi empregado o método de inversão e recuperação para medição de T_1 . Para se medir o tempo de relaxação transversal T_2 , foi utilizado o método CPMG (Carr-Purcell-Meiboom-Gill). Essas medidas ilustram a aplicação da sonda *microslot* em importantes experimentos utilizados em RMN.

Os resultados obtidos neste trabalho demonstram o bom funcionamento da sonda construída. No entanto, o principal problema é o posicionamento da amostra, que deve ser feito manualmente, com auxílio de um microscópio. Uma possível solução para este problema poderá ser alcançada acoplando o *microslot* a um sistema de microfluído [11]. Outras extensões para este trabalho consistem em construir e comparar diferentes microrressonadores e também construir ressonadores para experimentos de dupla ressonância, ou seja, experimentos de RMN que manipulam duas espécies de *spins* nucleares ao mesmo tempo.

Referências

- 1 FUKUSHIMA, E. *Experimental Pulse NMR - A Nuts and Bolts Approach*. [S.l.]: Addison-Wesley, 1981. Citado 5 vezes nas páginas 12, 14, 16, 20 e 27.
- 2 FARRAR, T. C.; D.BECKER, E. *Pulse and Fourier Transform NMR - Introduction to Theory and Methods*. [S.l.]: Academic Press, 1971. Citado 2 vezes nas páginas 12 e 30.
- 3 EISBERG, R. *Quantum Physics os Atoms, Molecules, Solids, Nuclei and Particles*. [S.l.]: John Wiley & Sons, 1974. Citado 3 vezes nas páginas 12, 14 e 27.
- 4 FRATILA, R. M.; VELDERS, A. H. Small-volume nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Annual Review of Analytical Chemistry*, n. 4, p. 227–249, 2011. Citado 4 vezes nas páginas 12, 21, 22 e 29.
- 5 WU, N. et al. 1h-nmr spectroscopy on the nanoliter scale for static and online measurements. *Anal. Chem.*, v. 66, n. 33, p. 3849–3857, Novembro 1994. Citado 2 vezes nas páginas 12 e 21.
- 6 WEBB, A. G. Microcoil nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 38, n. 5, p. 892–903, Agosto 2005. Citado na página 12.
- 7 LACEY, M. E. et al. High-resolution nmr spectroscopy of sample volumes from 1nl to 10μl. *Chemical Reviews*, v. 99, n. 10, p. 3133–3152, Setembro 1999. Citado na página 12.
- 8 MAGUIRE, Y. Ultra-small-sample molecular structure detection using microslot waveguide nuclear spin resonance. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 104, n. 22, p. 8668–8672, 2007. Citado 4 vezes nas páginas 12, 21, 23 e 26.
- 9 KROJANSKI, H. G. Microslot nmr probe for metabolomics studies. *Analytical Chemistry*, n. 80, p. 8668–8672, 2008. Citado 4 vezes nas páginas 12, 26, 28 e 29.
- 10 BART, J. Stripline-based microfluidic devices for high-resolution nmr spectroscopy. *Wöhrmann Print Service*, 2009. Citado 3 vezes nas páginas 12, 20 e 23.
- 11 KALFE, A. *Looking into living cell systems: Planar waveguide NMR detector hyphenated with a microfluidic device for the in vitro metabolomics of tumor spheroids*. Tese (Doutorado) — Leibniz-Institut für Analytische Wissenschaften, setembro 2015. Citado 2 vezes nas páginas 12 e 58.
- 12 NARKOWICZ, R.; SUTER, D.; STONIES, R. Planar microresonators for epr experiments. *Journal of Magnetic Resonance*, v. 175, n. 2, p. 275–284, Agosto 2005. Citado 2 vezes nas páginas 12 e 21.
- 13 BANHOLZER, A. et al. Visualization of spin dynamics in single nanosized magnetic elements. *Nanotechnology*, v. 22, n. 29, p. 295713, Julho 2011. Citado na página 12.
- 14 NARCOWICZ, R.; OGATA, H.; SUTER, E. R. e D. A cryogenic receiver for epr. *Journal of Magnetic Resonance*, n. 237, p. 79–84, 2013. Citado 3 vezes nas páginas 12, 21 e 23.
- 15 MAGUIRE, Y. G. E. *Microslots: Scalable Electromagnetic Instrumentation*. Tese (Doutorado) — Massachusetts Institute of Technology, setembro 2004. Citado 5 vezes nas páginas 12, 24, 25, 33 e 41.
- 16 GRIFFITHS, D. J. *Eletrodinâmica*. [S.l.]: Pearson Addison Wesley, 2011. Citado na página 14.

-
- 17 NYQUIST, H. Thermal agitation of electric charges in conductors. *Physical Review*, v. 32, 1928. Citado na página 28.
- 18 YUE, C. P. Physical modeling of spiral inductors on silicon. *IEEE Transactions on Electron Devices*, v. 47, n. 3, Março 2000. Citado 2 vezes nas páginas 21 e 23.
- 19 MISPELTER, J.; LUPU, M.; BRIGUET, A. *NMR Probeheads for Biophysical and Biomedical Experiments*. [S.l.]: Imperial College Press, 2015. Citado na página 24.
- 20 MAO, X.-A.; YE, C.-H. Understanding radiation damping in a simple way. *Concepts in Magnetic Resonance*, A, n. 9, p. 173–187, 1997. Citado na página 49.