UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE FÍSICA E QUÍMICA DE SÃO CARLOS

**CONSTRUÇÃO DE UM ESPECTRÔMETRO DE RESSONÂNCIA
MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN) DE BANDA LARGA. DUAS
APLICAÇÕES TECNOLÓGICAS DESSA TÉCNICA**

CLOVIS ISBERTO BISCEGLI

DEPARTAMENTO DE FÍSICA E CIÊNCIA DOS MATERIAIS

1977

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

INSTITUTO DE FÍSICA E QUÍMICA DE SÃO CARLOS

CONSTRUÇÃO DE UM ESPECTRÔMETRO DE RESSONÂNCIA MAG
NÉTICA NUCLEAR (RMN) DE BANDA LARGA. DUAS APLICA
ÇÕES TECNOLÓGICAS DESSA TÉCNICA

CLOVIS ISBERTO BISCEGLI

Trabalho apresentado ao Instituto de Físi
ca e Química de São Carlos da USP, para
obtenção do título de Mestre em Física
Aplicada e Ciências dos Materiais

Orientador: Prof.Dr. Horácio C. Panepucci

DEPARTAMENTO DE FÍSICA E CIÊNCIA DOS MATERIAIS

1977

A

CARLOS A. TROMBELLA, estimado amigo

e a

RODOLPHO CANIATO, amigo e Professor

ÍNDICE

Agradecimentos	I
Resumo	III
Abstract	IV

CAPÍTULO 1

1.1 - Introdução	1
1.2 - Determinação do Teor de Óleo por RMN	2
1.3 - Programa de seleção	2

CAPÍTULO 2

2.1 - Teoria de RMN	4
2.2 - Métodos Experimentais para Detecção de RMN	8
2.3 - O Medidor de "Q"	9

CAPÍTULO 3

3.1 - Introdução	14
3.2 - Técnica de RMN usando R.F. Contínua	14
3.3 - Procedimento Experimental	25
3.3.1 - Estudo da Estabilidade do Equipamento	27
3.3.2 - Metodologia para Determinação do Teor de Óleo	32
3.3.3 - Metodologia para um Programa de Seleção	33

CAPÍTULO 4

4.1 - Amostras	37
----------------------	----

CAPÍTULO 5

5.1 - Decaimento da Amplitude do Sinal em Função da Perda de Água	40
5.2 - Determinação de Teor de Óleo	42

CAPÍTULO 6

6.1 - Discussão sobre os Resultados	50
---	----

CAPÍTULO 7

7.1 - Resultado do Decaimento do Sinal em Função do Tempo para Alguns Polí- meros	55
Conclusões	60
Referências	61

Este trabalho foi realizado com o apoio financeiro da FAPESP, CNPq-NSF, FINEP e UFSCAR

MEUS AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Horácio C. Panepucci, pela sugestão e orientação deste trabalho, pela confiança depositada e pela atitude científica transmitida.

Ao Prof. Dr. Horácio A. Farach, pelo apoio e estímulo a mim dirigidos, pelas valorosas discussões e pelo entusiasmo contagiante.

Aos Profs. Drs. Sergio Mascarenhas e Milton F. de Souza, pelo apoio, incentivo e pela acolhida no Departamento de Física e Ciência dos Materiais do IFQSC/USP.

Ao Prof. Dr. Robert L. Zimmerman, pelas sugestões na parte eletrônica do equipamento.

Ao Prof. Dr. Ernesto Patterniani, Chefe do Departamento de Genética e Diretor do Instituto de Genética - ESALQ, pelo apoio e pela colaboração.

Aos Profs. Drs. Renê Ayres Carvalho e Maria Cristina Terrile, pelas discussões e pelo incentivo.

Ao Prof. Dr. Anibal Omar Caride, pelo apoio e incentivo.

Ao Prof. Valentin O. Roda, pela colaboração nos projetos da eletrônica do equipamento.

Aos colegas do Departamento de Física da Universidade Federal de São Carlos, pelo incentivo e pelo ótimo ambiente de trabalho.

À minha esposa Leila, pelo incentivo e pela compreensão nos momentos difíceis.

A meus pais, pelo estímulo, pela confiança e por minha formação.

Ao Sr. José Roberto Ferro, pela confecção e montagem dos circuitos impressos.

Ao Sr. Ervino C. Ziemath, pela confecção dos desenhos.

Às Srtas. Loreni B. Pereira e Maria Teresa Franco de Camargo, pela datilografia.

A todas as pessoas que de alguma forma, contribuíram para a realiza
ção deste trabalho.

RESUMO

Neste trabalho apresentamos a construção de um Espectrômetro de Resonância Magnética Nuclear (RMN) de Banda Larga, operando à frequência fixa de 21MHz.

O resultado da determinação do teor de óleo em grãos de milho é apresentado.

É discutida uma metodologia que pode ser empregada num programa de seleção individual de grãos de milho, com o objetivo de aumentar ou diminuir seu teor de óleo.

É apresentado também os resultados do acompanhamento de reações de polimerização em função do tempo, usando a técnica de RMN.

ABSTRACT

This work presents a wide-line Nuclear Magnetic Resonance (NMR) spectrometer, operating at fixed frequency of 21MHz. This instrument was build at the Instituto de Física e Química de São Carlos, USP.

Results with the oil content of corn-seed is presented.

We presents also a discussion of a methodology suitable for a program of breeding corn for increased or reduced oil content.

The study of the decrease of signal amplitude as a function of time for some polymers is also presented.

CAPÍTULO 1

1.1 - INTRODUÇÃO

O presente trabalho descreve a construção de um espectrômetro para Ressonância Magnética Nuclear (RMN), de banda larga, operando a frequência fixa de 21,3MHz.

O objetivo deste trabalho é demonstrar a viabilidade de se construir equipamentos que possam ser utilizados em alguns processos tecnológicos.

A técnica de RMN tem larga aplicação industrial como método de análise rápido e não destrutivo e neste trabalho apresentamos duas aplicações dessa técnica: uma reside na possibilidade de uma aplicação na determinação do teor de óleo em grãos de milho como um método de rotina para seleção artificial num programa para aumentar ou diminuir seu teor de óleo.

Outra aplicação está na monitoração contínua de reações de polimerização.

Neste trabalho ainda vamos tentar demonstrar que a técnica da RMN tanto pode servir para a determinação do teor de óleo, como também para um programa de seleção, apesar de serem ambas aplicações com metodologias e objetivos diferentes.

Discute-se ainda uma metodologia adequada para cada caso e os resultados na determinação do teor de óleo é apresentado.

No Capítulo 7 são apresentados os resultados do decaimento da amplitude do sinal de ressonância do hidrogênio como função do tempo, para alguns polímeros.

É sabido que existem espectrômetros comerciais (1) para se fazer tais

pesquisas, mas é também nosso objetivo dar ênfase à viabilidade de se construir tais equipamentos, que resultam simples e baratos.

1.2 - DETERMINAÇÃO DO TEOR DE ÓLEO POR RMN

Conway (2) mostrou em 1963, a possibilidade de se determinar o teor de óleo em sementes que contêm óleo, usando a técnica da RMN, banda larga.

Neste trabalho, no Capítulo 2 fazemos uma breve revisão sobre a teoria da RMN, no Capítulo 3 descrevemos a metodologia usada para a determinação do teor de óleo e nos Capítulos 5 e 6 apresentamos os resultados e discussões.

1.3 - PROGRAMA DE SELEÇÃO (3)

A seleção genética para aumentar o teor de óleo em milho começou em 1896, na Universidade de Illinois (USA).

Desde então dezenas de geneticistas naquela Universidade e em outras, tem contribuído para um maior conhecimento nesta área.

Por exemplo, Dudley (4) (1969) publicou um trabalho sobre variação genética no óleo após 65 gerações na seleção de alguns tipos de óleos chamados de (IHO) Illinois High Oil, (LO) low oil, (HP) High protein e (LP) Low protein da família *Zea mays* L.

Hereditariedade na variação do conteúdo de óleo em grãos individuais está mostrado num programa de seleção feito por Bauman e colaboradores (5) (1965).

Após 76 gerações, o grupo que trabalha em Illinois (6) conseguiu alterar o teor de óleo de 4,7% a 18,9%, ou seja, um aumento de 400%.

Watson e Freeman (7) apresentaram recentemente (1974) um trabalho sobre um programa de seleção para aumentar o teor de óleo, programa esse dos mais

ambiciosos até então realizados. Nesse trabalho os autores relatam que para esse programa foi especialmente projetado por um especialista em espectroscopia de RMN, Prof. Conway (8), um sistema automático para a seleção individual de grão de milho para futuro plantio.

O sistema automático está baseado no espectrômetro Varian PAT-20 e é controlado por um computador Varian 620/i.

Isto nos dá uma boa idéia a respeito da importância que se reveste tais programas e do alto grau de sofisticação que se lhes atribue.

Fica evidente neste trabalho que a seleção individual através da RMN é mais eficiente em termos de resposta do conteúdo de óleo, isto é, este proceso é 2,25 vezes mais rápido do que o esquema baseado na análise de amostras retiradas de uma população de grão de milho.

CAPÍTULO 2

2.1 - TEORIA DE RMN

A ressonância magnética nuclear (RMN) é um fenômeno que pode ser observado em núcleos que possuem momento magnético nuclear $\vec{\mu}$ diferente de zero.

Tal fenômeno é devido à absorção de energia pelo núcleo; energia esta fornecida por uma fonte externa e que no caso da RMN está na faixa da rádio frequência (R.F.).

Como no nosso trabalho tratamos exclusivamente com prótons de hidrogênio, e portanto spin 1/2, vamos então considerar o caso de um núcleo isolado de spin 1/2.

Seja um núcleo de momento magnético $\vec{\mu}$, se o núcleo está imerso num campo magnético constante $\vec{H}$ e o seu spin é $\vec{I}$, a interação núcleo-campo magnético é descrita pelo Hamiltoniano de Zeeman (10) (11)

$$H = -\gamma \hbar \vec{H} \cdot \vec{I} \quad , \quad (1)$$

onde

$$\gamma = \frac{ge}{2mc} - \text{razão giromagnética}$$

$$\hbar = \frac{h}{2\pi} - \text{constante de Planck dividida por } 2\pi$$

$$I - \text{spin}$$

$$H - \text{campo magnético constante}$$

c = velocidade da luz

Vamos supor um sistema de referência tal que a direção do campo magnético estático externo, coincida com a direção do eixo-z.

Então a eq. (1) pode ser escrita,

$$H = -\gamma \hbar H I_z \quad (2)$$

Os autovalores da eq. (2) são somente os múltiplos $(\gamma \hbar H)$ dos autovalores de I_z .

Portanto as energias permitidas, são

$$E = -\gamma \hbar H m, \quad m = I, I-1, \dots, -I \quad (3)$$

Para $I = 1/2$, $m = 1/2$, $m = -1/2$.

A figura 2.1 mostra esquematicamente os níveis de energia para o nosso caso.

Fig. 2.1

Para se observar tais níveis de energia, na forma de um espectro de

absorção, é necessário que se tenha uma interação que cause as transições en
tre os níveis.

Para satisfazer a conservação de energia, a interação deve ser depen
dente do tempo e com uma frequência angular, tal que

$$\hbar\omega = \Delta E \quad (4)$$

onde ΔE é a diferença em energia entre os estados inicial e final das energias nucleares de Zeeman. Por outro lado, a interação deve conter elementos de ma
triz diferentes de zero, unindo os estados inicial e final.

A interação normalmente usada para produzir ressonância magnética é um campo magnético alternado, aplicado perpendicularmente ao campo magnético estático externo.

Então o termo de perturbação no Hamiltoniano, pode ser escrito co
mo,

$$H_{\text{pert}} = -\gamma \hbar H_x^0 I_x \cos\omega t, \quad (5)$$

onde H_x^0 - amplitude da perturbação na direção x

I_x - projeção na direção x do spin I do núcleo

Os elementos de matriz do operador I_x , são dados por

$$\langle m' | I_x | m \rangle \quad (6)$$

onde $\langle m |$, são as funções de onda no estado com auto valor m os quais são nulos, a menos que $m' = m \pm 1$. Então as transições permitidas entre dois níveis adja
centes, são:

$$\hbar\omega = \Delta E = \gamma\hbar H \quad (7)$$

ou

$$\omega = \gamma H \quad (8)$$

A eq. (7) pode ser escrita como

$$h\nu = \gamma\hbar H \quad (9)$$

onde ν é a frequência do campo magnético alternado que irá provocar as transições.

Conhecidos os valores de h e γ , podemos fixar um valor para o campo magnético estático H e calcular o valor da frequência ν .

$$h = 6,6256 \times 10^{-27} \text{ erg.s}$$

$$\hbar = 1,0545 \times 10^{-27} \text{ erg.s}$$

$$\gamma = 2,6751 \times 10^4 \text{ rad S}^{-1}\text{G}^{-1}$$

|

$$H = 5000\text{G}$$

tiramos $\nu = 21,2 \text{ MHz}$, isto é, a frequência da radiação está na faixa da rádio frequência (R.F.).

Da eq. (9), vemos que para se obter absorção de energia numa experiência de RMN, podemos variar ν ou H .

Por razões eletrônicas, é mais conveniente manter a frequência ν do campo de R.F. fixa e variar o valor do campo magnético estático H .

A figura 2.2 mostra esquematicamente uma linha de absorção para o caso de spin $1/2$.

Evidentemente, numa experiência real de RMN, a linha de absorção não é tão estreita como o desenho pode sugerir, ocorrem outras interações que alargam a linha, como por exemplo interação dipolar, inhomogeneidade do campo estático, etc., mas tal discussão não faz parte do presente trabalho.

No Capítulo 3 mostra-se como é uma linha típica de absorção com to das as suas características.

2.2 - MÉTODOS EXPERIMENTAIS PARA DETECÇÃO DE RMN

A partir dos trabalhos pioneiros realizados em 1946 por Block (12) e Bloembergen (13) a respeito de RMN, muitos outros trabalhos surgiram com o objetivo de detetar a RMN.

Andrew (14) em 1969, publicou um livro onde apresenta um trabalho

completo sobre as diversas técnicas para a detecção de RMN até aquela data.

Quase todos os trabalhos são variações sobre a ponte de R.F. proposta por Bloembergen, e apresentam vantagens e desvantagens com respeito a sintonia, ajustes, estabilidade, sensibilidade, etc.

Na próxima seção apresentaremos sucintamente a teoria na qual está baseado o espectrômetro que construímos, cujos detalhes estão no Capítulo 3.

2.3 - O MEDIDOR "Q" (15)

Consideremos uma bobina com indutância L_0 , na ausência da amostra. Se uma substância com permeabilidade μ ocupa todo o espaço da bobina, então a indutância passa a,

$$L = \mu L_0 = (1 + 4\pi X) L_0, \quad (10)$$

onde $X = X' - iX''$ é a susceptibilidade complexa da amostra (16).

Substituindo na eq. (10),

$$L = [1 + 4\pi(X' - iX'')] L_0 \quad (11)$$

Se a amostra não preencher todo o espaço da bobina, a susceptibilidade deve ser multiplicada por um fator de preenchimento η e a eq. (10) passa a

$$L = (1 + 4\pi\eta X) L_0 \quad (12)$$

Admitamos $\eta = 1$, na eq. (12) e suponhamos que a resistência da bobina é R_0 .

A impedância da bobina: Z_{L_0} , sem amostra é

$$Z_{L_0} = R_0 + i\omega L_0 \quad (13)$$

Com amostra, a impedância passa a

$$Z_L = R_0 + i\omega L \quad (14)$$

Em (14) vemos que $i\omega L$ tem uma parte real, porque L é complexo.

Substituindo (11) em (14), temos:

$$Z_L = R_0 + 4\pi\omega L_0 X'' + i[1 + 4\pi X']\omega L_0 \quad (15)$$

Na eq. (15) vemos que agora a nova resistência passa a ser $R_0 + 4\pi\omega L_0 X''$, portanto o Q , cujo valor era $Q_0 = \omega L_0 / R_0$, passa a ser menor que Q_0 , porque a resistência passou de R_0 para $R_0 + 4\pi\omega L_0 X''$.

Então o efeito de se colocar uma amostra é baixar o Q da bobina, isto é, o efeito da amostra é equivalente a aumentar a resistência da bobina.

Nosso problema então é projetar um equipamento que detete X' e X'' , ou que seja sensível às pequenas variações da parte real ou imaginária de Z_L .

O circuito mais simples usado, emprega um capacitor C_0 , em paralelo com a bobina, tal que

$$\omega_0 = \frac{1}{(C_0 L_0)^{1/2}} \quad (16)$$

Seja a mesma frequência

$$\omega_0 = \omega = \gamma H,$$

que é a eq. (8).

Tal circuito é chamado de "Q" meter, ou medidor de Q, e seu diagrama em blocos está na figura 2.3.

Fig. 2.3

O oscilador com a resistência R (R muito grande) funciona como um gerador de corrente constante I_0 .

O circuito paralelo, sintonizado na ressonância, apresenta uma impedância que na ressonância é real e vale

$$Z_0 = Q \omega_0 L_0 \quad (17)$$

A voltagem através do circuito ressonante é dada por $V_0 = I_0 Z_0$, a qual é amplificada e sua amplitude é detetada por um voltímetro de pico.

Ao se passar pela ressonância, a parte real da equação (15) muda por um valor $4\pi X''Q$, porque a voltagem à entrada do amplificador muda por,

$$\Delta V = I_0 4\pi X''Q^2 \omega L_0 \quad (18)$$

Sabendo-se que V_0 é dado por

$$V_0 = I_0 Q \omega L_0 \quad (19)$$

então teremos finalmente

$$\frac{\Delta V}{V} = \frac{I_0 4\pi X'' Q^2 \omega L_0}{I_0 Q \omega L_0} = 4\pi X'' Q \quad (20)$$

O diagrama da figura 2,4 é um plano complexo e baseado nele vamos mostrar porque não se considera a variação na reatância do circuito, isto é, a parte imaginária da eq. (15).

Fig. 2.4

A fase e a magnitude da voltagem fora da ressonância, através da bobina é dada por V_0 , a voltagem do sinal por ΔV e a voltagem total por $V_0 + \Delta V$, a amplitude da qual é detectada pelo voltímetro de pico.

O sinal complexo é dado por:

$$\Delta V = -V_0 (4\pi X'' + i 4\pi X') Q \quad (21)$$

A figura 2.4 e a eq. (21) mostram que somente a componente de ΔV em fase com V_0 é efetiva na determinação do comprimento de $V_0 + \Delta V$.

Como V_0 é real, porque $Z_0 = Q \omega_0 L_0$ é real, o "Q" meter detecta somente X'' em primeira ordem. A componente $-i V_0 Q 4\pi X'$, está fora de fase e afeta o comprimento de V_0 somente em segunda ordem em X' .

Na discussão acima, o nome de medidor de "Q" surge porque a voltagem

gem detetada $\bar{e}$ proporcional $\bar{a}$ variação do Q do circuito, por sua vez proporcional $\bar{a}$ x'' .

A detecção da parte real da eq. (21) $\bar{e}$ chamada de absorção e a detecção da parte imaginária $\bar{e}$ chamada de dispersão.

A vantagem do medidor de " Q " $\bar{e}$ que o espectrômetro sempre detecta absorção e não $\bar{e}$ necessário fazer-se nenhum ajuste de fase.

Existem vários sistemas para a detecção da RMN. Na sua maioria são pontes de R.F. montadas em configurações diferentes. Tais pontes necessitam no mínimo dois ajustes para um perfeito funcionamento. Um ajuste de frequência (sintonia) e um ajuste de fase.

Quando comparados entre si, os métodos de detecção de RMN apresentam vantagens e desvantagens, em função dos ajustes necessários, da sensibilidade, reprodutibilidade, etc.

Nós optamos pelo medidor de " Q " porque necessita apenas um ajuste (sintonia), o que em termos de reprodutibilidade $\bar{e}$ mais conveniente.

CAPÍTULO 3

DESCRIÇÃO DOS EXPERIMENTOS

3.1 - INTRODUÇÃO

Para se realizar experiências usando a técnica de RMN com o objetivo de se determinar o teor de óleo em milho, usamos RMN com rádio frequência contínua.

Mais adiante neste capítulo vamos descrever detalhadamente esta técnica.

Um dos sérios problemas com que nos deparamos quando tratamos de medir o teor de óleo nos grãos de milho, foi o fato de os grãos estarem úmidos, isto é, conterem certa quantidade de água que também contribue para o sinal de ressonância.

Por outro lado, não podemos secar os grãos abaixo de um certo nível porque isto lhes tira a capacidade de germinação.

Assim sendo, tivemos que estudar rigorosamente a influência da porcentagem de umidade no sinal de ressonância. Para isso, fizemos uma experiência do decaimento do sinal de água+óleo, em função da perda de peso de água. Os resultados de tal experimento estão descritos no Capítulo 5. Desse estudo resultou uma metodologia que deve ser seguida não só para as medidas, como também para a preparação das amostras.

3.2 - TÉCNICA DE RMN USANDO RÁDIO FREQUÊNCIA CONTÍNUA

Nesta seção vamos descrever detalhadamente a técnica de RMN com RF

contínua, o espectrômetro de RMN que construímos e sua utilização.

Para esta técnica, a amostra é submetida a um campo magnético estático H_0 e perpendicularmente a este é aplicado um campo magnético variável produzido pela rádio frequência contínua, isto é, a amostra fica continuamente sujeita a um campo de R.F.

O campo magnético variável tem a mesma frequência da R.F. que é gerada por um oscilador e a interação desse campo magnético com a amostra é feita através de uma pequena bobina, em cujo interior é colocada a amostra.

Os valores da frequência e do campo estático H_0 devem satisfazer a uma relação de conservação de energia, conforme explicado no Capítulo 2, equação (9).

A bobina com a amostra é mantida no centro das peças polares de um eletroímã que produz o H_0 constante e o sinal é levado a bobina por uma guia para R.F.

No Capítulo 2, relativo à teoria, está explicado física e matematicamente o princípio da ressonância magnética nuclear, portanto o que se segue é a descrição experimental de como o equipamento pode detectar as transições dos prótons de hidrogênio contidos na água e no óleo.

Como a água e o óleo estão no grão de milho, no estado líquido, e tem portanto menos interações com a parte sólida do grão, estes são os responsáveis por um sinal muito estreito de ressonância, uma vez que os demais prótons estão muito fortemente ligados à matriz sólida.

Os prótons que estão ligados as moléculas que compõem a parte líquida "veem" um campo magnético efetivo praticamente constante, fornecendo assim apenas uma linha muito estreita de RMN. Dessa forma a contribuição dos átomos vizinhos para o campo magnético na forma de interação dipolar que atua sobre um determinado próton é na média zero devido a mobilidade da parte líquida, e por

tanto a linha de RMN é muito estreita.

Para a parte sólida, as moléculas não têm mobilidade e sofrem as influências das moléculas vizinhas através da interação dipolar, o que alarga consideravelmente a linha, trazendo como resultado um abaixamento da amplitude do sinal. Para se detetar a RMN da parte sólida, tem que se aumentar muito a sensibilidade e usar varredura de campos maiores, da ordem de alguns gauss. Então o que observamos é uma única linha de ressonância devido a transições dos prótons de spin $\pm 1/2$.

O aparelho que construímos baseia-se na variação do "Q" da bobina onde está a amostra, conforme explicado no Capítulo 2, e é comumente conhecido como medidor de "Q". Essencialmente o que ocorre, é que ao se passar pelas condições de ressonância, há uma pequena variação do "Q" da bobina, e o equipamento o que faz é detetar essa variação.

Por razões que passamos a descrever abaixo, o equipamento faz uso de um recurso chamado, detecção sensível à fase, e devido a isso, ao invés de obtermos a curva de absorção diretamente, o que se obtém é a derivada primeira do sinal.

A figura 3.1 é uma típica curva de absorção. Agora se modularmos o campo estático $\vec{H}_0$ em intensidade, com outro campo magnético variável, de amplitude pequena comparada com H_0 e de frequência baixa, e fizermos uma lenta variação do campo estático em torno de H_0 , isto é, $H_0 - H$ até $H_0 + H$, ou $H_0 \pm \Delta H$, $\Delta H \ll H_0$, observamos na figura (3.2) que a amplitude do sinal que modulou o campo depende da inclinação (derivada) da curva de absorção e também do sinal da derivada (fase).

A figura (3.3) nos dá uma boa idéia a respeito da curva que obtemos a saída do detector.

Fig. 3.1 - Curva de absorção em função do campo magnético $\vec{H}_z$

Fig. 3.2 - Efeito da modulação do sinal devido a um campo magnético variável superposto ao campo $\vec{H}_z$

Fig. 3.3 - O sinal observado à saída do detector é a 1ª. derivada da curva de absorção

As razões de se usar a detecção sensível à fase são o aumento da sensibilidade, o aumento da relação sinal ruído e a maior definição na determinação do H_0 e ΔH .

A figura (3.4) é o diagrama em bloco do equipamento construído.

A seguir vamos descrever cada bloco, com o seu circuito e seu funcionamento dentro do equipamento.

O bloco (1) é a fonte de potência que foi montada para alimentar os circuitos dos blocos (2), (3), (4), (5), (6). Seu circuito está mostrado esquematicamente na figura (3.5). O bloco (2) é o oscilador para a frequência de 21,3MHz, estabilizado a cristal. Seu circuito está mostrado esquematicamente na figura (3.6). Esta frequência foi escolhida porque assim para detectarmos prótons de hidrogênio, precisamos de um campo da ordem de 5000 gauss que é obtido facilmente com o eletroímã de que o laboratório dispõe.

Este campo de R.F., aplicado na amostra através da bobina é que vai induzir as transições entre os estados $\pm 1/2$.

O bloco (3) é o acoplador de impedâncias entre o circuito LC, onde está a amostra e o amplificador de R.F. Seu circuito está mostrado esquematicamente na figura (3.7). Sua função é acoplar a alta impedância do circuito LC na ressonância, com o amplificador de R.F.

O bloco (4) é composto de um amplificador de R.F. de baixo ruído e um amplificador de R.F. de banda larga acoplado em série com este. Sua função é amplificar a tensão de R.F. que aparece em cima do circuito LC e que varia quando passa pela ressonância. Não dispomos de seus circuitos, porque trata-se de um circuito comercial, marca ANZAC, mod. AM-107 e AM-105.

O bloco (5) é um amplificador sintonizado para A.F. Seu circuito está mostrado esquematicamente na figura (3.8). Sua função é amplificar o si

Fig. 3.4 - Diagrama em blocos do Espectrometro de RMN que foi montado

Fig. 3.5 - Fonte de alimentação para os circuitos eletrônicos

Fig. 3.6 - Oscilador estabilizado à cristal

Fig. 3.7 - Circuito acoplador de impedâncias

Fig. 3.8 - Amplificador sintonizado para áudio-frequência

nal de A.F. que modula a R.F. quando se passa pela ressonância. Para o nosso equipamento a frequência de audio foi escolhida 48Hz, e portanto o amplificador é sintonizado em 48Hz.

O bloco (6) é um amplificador de potência para A.F. Seu circuito está mostrado esquematicamente na figura (3.9). Sua função é fornecer corrente de A.F. para as bobinas de modulação que estão afixadas junto as peças polares do eletroímã.

O bloco (7) é um atenuador calibrado para R.F. Sua função é atenuar o nível de R.F. que vai para a amostra, permitindo assim um controle sobre a potência de R.F. que se deseja enviar à amostra.

O bloco (8) é o circuito detetor de R.F. Seu circuito está mostrado esquematicamente na figura (3.10).

O bloco (9) é o detetor sensível à fase. Sua função é fornecer o sinal de referência de audio, 48Hz, para as bobinas de modulação, amplificar, filtrar e detetar a fase do sinal de audio e fornecer o sinal proporcional à derivada primeira da linha de absorção para o registrador. É um dos mais importantes blocos de todo o equipamento, pois dele depende a relação sinal/ruído, a constante de tempo de filtragem que está relacionada com o tempo gasto para atravessar a largura da linha de absorção. É normalmente conhecido como "Lock-in-amplifier". No nosso espectrômetro usamos um "lock-in" comercial, Marca PAR, mod. 126.

O bloco (10) é um registrador x,t. Sua função é registrar graficamente o sinal de ressonância, isto é, a derivada primeira da linha de absorção. Em cima desses espectros é feita toda análise e interpretação dos resultados. No nosso espectrômetro usamos um registrador comercial, marca TOSHIN ELECTRON, mod. TO-2NI-A.

O bloco (11) é um atenuador para A.F. Seu circuito está mostrado

Fig. 3.9 - Amplificador de potência para as bobinas de modulação

Fig. 3.10 - Detector de rádio-freüência

esquemáticamente na figura (3.11).

Os blocos (12), (13) e (14) compõem o conjunto do eletroímã. No nosso espectrômetro usamos um eletroímã comercial, marca Varian, mod. V-7200, com peças polares de 9" e, uma fonte Varian, mod. V-7.700, e um Fieldial-Mark-I, marca Varian. Este eletroímã fornece o campo magnético, uniforme e constante H_0 , da ordem de 5000 gauss.

O bloco (15) é composto das bobinas de modulação. Sua função é modular o campo estático H_0 em intensidade, com uma variação senoidal de 48Hz e amplitude muito pequena, da ordem de alguns mili-gauss. Tais bobinas estão fixas junto as peças polares do eletroímã e fornecem o campo variável paralelo ao campo H_0 .

O bloco (16) é composto da bobina de amostra e do capacitor variável para ajuste preciso da frequência de ressonância. Tal ajuste será explicado na próxima seção.

3.3 - PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

O diagrama em blocos do espectrômetro que construímos sugere que o procedimento experimental necessário para colocar o aparelho em operação seja complicado e difícil.

Realmente a quantidade de equipamentos utilizados requer um ajuste cuidadoso, uma vez que alguns parâmetros estão inter-relacionados.

Num espectrômetro de RMN, uma vez que se coloca amostra na bobina, a amostra passa a fazer parte do equipamento, e algumas características do sinal que desejamos observar sofrem drasticamente a influência dos ajustes, como por exemplo amplitude do sinal e a largura da linha são sensíveis a constante de tempo e ao tempo de varredura do campo magnético estático.

Fig. 3.11 - Atenuador linear para a amplitude de modulação

Assim sendo é necessário que se faça uma otimização do sinal de RMN, alterando os parâmetros e ajustes que o equipamento permite.

Nas próximas seções deste capítulo vamos tratar de estudar a performance do espectrômetro e as metodologias necessárias para se trabalhar com grãos de milho.

Para isso vamos admitir que o equipamento está devidamente ajustado e operando em condições ótimas de nível de R.F., sensibilidade de Lock-in, constante de tempo, tempo de varredura, largura do campo, amplitude de modulação, etc..., necessárias para se detetar ressonância em grãos de milho.

Uma vez estando o aparelho funcionando o único ajuste necessário, é uma sintonia no circuito LC, onde está a amostra.

Para isso o equipamento dispõe de um capacitor variável em paralelo com a bobina, acoplado a um eixo de um pequeno redutor, para permitir um preciso ajuste da sintonia.

Este ajuste tem que ser feito cada vez que se troca amostra e o procedimento consta de olhar com um osciloscópio, o nível de R.F. à saída do amplificador de R.F., bloco (4), e sintonizar o capacitor variável para máximo sinal.

3.3.1 - ESTABILIDADE DO ESPECTRÔMETRO

Num espectrômetro comercial, o fabricante fornece todas as características do equipamento, tais como estabilidade em função das variações térmicas do ambiente, das flutuações eletrônicas, etc...

No nosso caso como não se trata de um espectrômetro comercial, tivemos que estudar a estabilidade do equipamento em função de uma certa amostra padrão, isto é, as variações na amplitude do sinal em função do tempo, ora estando o equipamento ligado e ora ligando e desligando após 24 horas.

Para tanto, fizemos um padrão, que consta essencialmente de algumas miligramas de óleo de milho colocadas num tubo de vidro capilar e fixado num suporte, para que ficasse sempre na mesma posição dentro da bobina.

A figura (3.12) mostra a amostra padrão e seu suporte.

Fig. 3.12 - Diagrama esquemático da amostra padrão com óleo de milho

Obs: medidos em mm;
desenho sem escala

A figura (3.13) mostra o espectro de RMN do padrão e a tabela 3.1 expressa as condições em que tal espectro foi obtido. A amplitude do sinal é de 11,5cm e o ruído 0,7cm, ou seja, uma relação sinal/ruído de 16 vezes.

Fig. 3.13 - Espectro de RMN do padrão

A figura (3.14) mostra o espectro de RMN do mesmo padrão tirada 24 horas após, com todas as condições idênticas ao anterior. A amplitude passou a 12,8cm e o ruído a 0,8cm, a relação sinal/ruído permaneceu em 16 vezes. Houve uma flutuação de cerca de 11% na amplitude do sinal o que corresponde a 1,3cm em 11,5cm.

Fig. 3.14 - Espectro de RMN do padrão 24h depois

Evidentemente podemos melhorar a relação sinal/ruído, e a figura (3.15) mostra o espectro de RMN do mesmo padrão, com as condições iguais às anteriores exceto que usamos uma constante de tempo igual a 3s e tempo de varredura igual a 10 min.

A amplitude é de 11,1cm, o ruído é 0,4cm, a relação sinal/ruído da ordem de 28 vezes.

A variação na amplitude em relação a primeira medida foi de 9%.

Fica claro que melhoramos o sinal porém, gastamos mais tempo e fica

mos dentro da flutuação do equipamento.

Fig. 3.15 - Espectro de RMN do padrão com constante de tempo de 3s e tempo de varredura igual a 10min

Esses resultados mostram que o uso do padrão como controle de estabilidade é indispensável.

Queremos chamar a atenção para o fato de ser o padrão um simulado de 1 grão de milho, isto é, o espectro de RMN do padrão é aproximadamente igual ao de um grão de milho seco.

Desta forma podemos observar o funcionamento do espectrômetro, muito próximo da situação real, com a vantagem que o padrão contém sempre a mesma forma, a mesma massa e portanto um número constante de spins, e fica sempre colocado na mesma posição dentro da bobina.

3.3.2 - METODOLOGIA PARA DETERMINAÇÃO DO TEOR DE ÓLEO

No primeiro ensaio com o objetivo de determinar o teor de óleo em milho, o que fizemos foi construir uma bobina com aproximadamente 5cm^3 de volume útil, dentro da qual coubesse um tubo de ensaio com 8 grãos de milho dentro.

Dentro de uma população de milho DENTADO III escolhemos ao acaso 8 grãos, tomamos sua massa, tiramos um espectro e pusemos a seguir numa estufa a 75°C .

Colocamos também na estufa uma pequena amostra de óleo de milho a essa temperatura e não observamos perda apreciável de massa devido a substâncias mais voláteis que poderia conter o óleo.

A seguir, começamos a retirar os 8 grãos periodicamente da estufa, pesamos e tiramos espectros e repetimos tal procedimento até que os 8 grãos apresentassem massa constante, isto é, não perdessem mais água.

Nesse instante surgiu um problema que passamos a observar e a estudar. Cada vez que colocávamos os grãos dentro do tubo eles ficavam em posições diferentes, portanto contribuíam de maneira diferente para o fator de preenchimento e o tamanho do sinal mudava não por alteração na quantidade de óleo ou água, mas devido a posição dos grãos na bobina.

Conway (17) para evitar esse problema usou uma bobina ainda maior e colocava cerca de 25g de grão de milho, mantendo assim uma média no fator de preenchimento, mais ou menos independente da posição dos grãos, devido ao grande número destes, cerca de 80 grãos.

Esse processo, conduz a uma precisa correlação entre o teor de óleo medido por análise química e a amplitude do sinal. Todavia, não é útil para um programa de seleção individual, uma vez que se deseja medir um grão isoladamente e comparar seu conteúdo de óleo com outros grãos.

Assim sendo partimos para a determinação do teor de óleo, usando uma bobina para um grão de cada vez.

3.3.3 - METODOLOGIA PARA UM PROGRAMA DE SELEÇÃO INDIVIDUAL

Evidentemente que para se comparar o teor de óleo entre grãos de milho, é necessário primeiro mostrar que o equipamento consegue detectar a RMN de um grão de milho seco.

Então esse procedimento, o qual achamos ser a parte importante do trabalho, constou do seguinte. Tratamos de construir uma bobina com capacidade para apenas um grão e com um formato próximo ao do grão, para minimizar com isso os efeitos do fator de preenchimento η .

Foi confeccionado também um suporte para um grão que se acomodava perfeitamente na bobina e cujo interior tenha o perfil de um grão, quando colocado em pê, isto é, o formato é o de um paralelepípedo com os cantos e arestas arredondados.

Com isso os grãos ficavam sempre na mesma posição na bobina.

As figuras (3.16) e (3.17) mostram a bobina e seu suporte respectivamente. Foram tomados 24 grãos de milho do tipo DENTADO 0 e 24 grãos do tipo FLINT III.

Foram tomadas suas massas iniciais e tirado um espectro de cada grão, mantendo todas condições idênticas. A partir disso esses grãos foram para a estufa a -75°C para secarem até não perderem mais massa. Após estarem secos suas massas foram novamente tomadas e de cada grão tratou-se de obter novamente um espectro de RMN. A amplitude em centímetros de cada espectro foi medida e seu valor dividido pela massa e assim ficamos com o sinal normalizado.

Dos 24 grãos do tipo DENTADO 0, escolhemos 10 que tinham a relação

Fig. 3.17 - Corte lateral do suporte com o grão de milho dentro

Fig. 3.16 - Bobina e suporte de lucite para um grão de milho

amplitude/massa menores e 10 maiores e os encerramos hermeticamente num tubo de ensaio. Com os 24 do tipo FLINT III foi feita a mesma coisa.

Esses 4 tubos foram levados para a análise química do conteúdo de óleo. Os resultados desse procedimento estão no Capítulo 5.

Observações:

- 1) Foram tomados os cuidados indispensáveis no manuseio dos grãos durante as pesagens e as medidas para que os mesmos não absorvessem água. Por exemplo: foi feito um suporte de papel alumínio onde os grãos ficavam durante as operações de pesagem. Tal suporte também ficava na estufa e era pesado regularmente.
- 2) Selecionamos 10 grãos para análise porque tal análise só fornece resultados precisos se for tomada uma massa mínima para analisar e 1 grão é extremamente difícil de se analisar com precisão.

Para um programa de seleção individual com o objetivo de plantar os grãos, não se pode secar abaixo de 5% de água (18), devido ao poder de germinação. Esse teor de água já influi na amplitude do sinal e para resolver esse problema, desenvolvemos uma explicação simples que fornece a variação em porcentagem da amplitude do sinal como função da porcentagem de óleo mais porcentagem de água, contidos no grão de milho seco.

Essa explicação está mostrada no Capítulo 6.

Finalmente para um programa de seleção, com o objetivo de aumentar ou diminuir o teor de óleo, uma pré-seleção deve ser feita numa população de grão de milho de um tipo, antes da medida com RMN.

Nesta pré-seleção, os grãos devem conter certas características genéticas conforme sugerido no trabalho de Watson (19), e do nosso ponto de vista

devem ter aproximadamente o mesmo tamanho e a mesma forma para minimizar os efeitos do fator de preenchimento.

A partir disso devem ser submetidos ao mesmo tratamento térmico, isto é, colocados para secar até que a mistura fique próximo dos 5%.

Somente então a técnica da RMN pode ajudar de maneira rápida, eficiente e de forma não destrutiva na seleção individual dos grãos, apontando numa população os grãos com maior conteúdo de óleo que os outros.

Deve estar bem claro que nesse procedimento a RMN não fornece o valor numérico do teor de óleo, mas sim o valor relativo entre os grãos, que é o que realmente interessa.

Agora se se deseja saber, por outras razões o valor numérico do conteúdo de óleo, aconselhamos usar a técnica descrita no item 3.3.2 ou submeter um certo número de grãos selecionados à análise química.

TABELA 3.1

amostra - padrão - óleo de milho	data 26/07/1977	
condições do eletroimã	condições do Lock:in	condições do espectrômetro
H ₀ = 5.003,15 gauss ΔH = 250m gauss Tempo varrido = 2,5min	sensibilidade = 10mV filtro LF = 10Hz HF = 300Hz const.tempo = 1s f = 48Hz nível ref. = 100mV função = x 10 fase = 90 + 22°	aten. RF = 1dB ampl.mod. = x3 sens.reg. = 2V/div vel. = 2cm/min

CAPÍTULO 4

4.1 - AMOSTRAS

As amostras utilizadas para esse trabalho nos foram gentilmente fornecidas pelo Departamento de Genética da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiróz de Piracicaba-USP.

As variedades de milho foram:

DENTADO 0

DENTADO III

FLINT 0

FLINT III

As variedades acima representam variações no teor de óleo entre 4 e 6% aproximadamente.

Tais variedades fazem parte de programas de seleção e plantio para aumentar teor de óleo que vem sendo realizadas naquela Escola, porém sem a utilização da técnica de RMN.

A figura (4.1) mostra um desenho de um grão de milho e as regiões do endosperma e do germe, onde está a maior parte do óleo do grão.

Segundo Watson (20), algumas características do grão devem ser levadas em conta quando se pretende fazer um programa de seleção individual para aumentar o teor de óleo.

A porcentagem de óleo pode ser aumentada por:

- 1) maior tamanho do germe;
- 2) maior porcentagem de óleo no germe;

3) menor endosperma.

Fig. 4.1 - Desenho esquemático de um grão de milho

Para um programa de seleção, o procedimento sugerido é o seguinte: uma espiga de milho, tem entre 450 - 500 grãos de milho, deve-se tomar somente os grãos do centro da espiga, e os da ponta e do pé devem ser excluídos para evitar efeitos posicionais na espiga.

Os grãos do centro devem ser levados num forno de ar forçado a 60°C , por 5 dias, para reduzir a umidade a 5%, e depois disso devem ser armazenados num dessecador para evitar que apanhem umidade, até o momento de análise.

Uma porção desses grãos devem ser levados para análise química ou análise por RMN do teor de óleo, para futura comparação.

Após isso, análise individual pode ser feita por RMN.

Típicamente, de 100 ou 200 grãos analisados, 30 com maior teor de óleo devem ser plantados.

Após uma geração, isto é, logo após a colheita, o procedimento descrito deve ser repetido e os resultados da análise do teor de óleo podem então ser comparados com a análise anterior e o crescimento do teor de óleo pode então ser calculado.

Com esse método consegue-se 2.25 mais rapidez do que quando se planta amostras tiradas de uma população

O aumento no teor de óleo é de cerca de 0,6% em cada ciclo.

CAPÍTULO 5

5.1 - DECAIMENTO DA AMPLITUDE DO SINAL EM FUNÇÃO DA PERDA DE ÁGUA

O sinal de RMN que obtemos numa experiência com grãos de milho, é devido a duas fontes: óleo e água. Como estamos diretamente interessados no conteúdo de óleo, devemos tratar de eliminar a influência da água. Para isso fizemos uma experiência muito simples, que foi analisar a variação da amplitude de do sinal em função da perda de água contida no grão de milho.

Tomamos um grão de milho, de uma população que se encontrava exposta ao ambiente, tomamos sua massa e tiramos um espectro de RMN.

A seguir o grão de milho foi colocado na estufa a 75°C .

Após 24 horas, retiramos o milho da estufa, tomamos novamente sua massa e tiramos novo espectro de RMN.

Após isso o grão de milho voltou para a estufa.

Passados 5 dias, repetimos o procedimento acima e a Tabela 5.1 mostra como foram as variações da massa do grão de milho.

Para cada medida, foi sempre medido o padrão para podermos acompanhar a estabilidade do equipamento.

Podemos notar que houve uma perda total de água de 35,86mg, ou 8,7%.

A amplitude do sinal diminuiu 1,7cm, ou 12,8% em relação ao valor inicial.

Esses resultados mostram que apesar do grão de milho perder bastante massa nas primeiras 24 horas, ver Tabela 5.1, o sinal não decai muito em relação ao sinal inicial.

TABELA 5.1

	MILHO
massa inicial	410.78mg
após 24 horas	383.36mg
após 5 dias	374.92mg
amplitude* inicial	132mm
amplitude* após 24 horas	123mm
amplitude* após 5 dias	115mm
perda de massa após 5 dias	35.86mg ou 8,7%
decaimento da amplitude após 5 dias	17mm ou 12.8%

* amplitudes normalizadas pelo padrão

Após 5 dias, a perda de massa foi muito menor e a variação na amplitude do sinal, aproximadamente igual a anterior.

Esse comportamento do decaimento do sinal em função da perda de água nos levou a procurar uma explicação para tal fato.

Inicialmente, o grão de milho está úmido, e a maior parte dessa água está fracamente ligada às demais moléculas, quase no estado livre.

Essa água contribue com um sinal muito estreito de RMN e que nas condições de tempo de varredura, amplitude de modulação, nível de R.F., etc. em que estamos trabalhando, não se deteta tal contribuição. Acreditamos que nessas condições, as transições devido às moléculas dessa água livre estão saturadas. Por isso a amplitude do sinal não varia muito ao se perder essa água.

Outro tipo de água que contém o grão, é a água ligada que está mais

no interior do grão e cujo comportamento é próximo ao do óleo.

Ao se perder um pouco dessa água, a amplitude do sinal varia e tais variações são semelhantes às observadas nos grãos de milho com teores de óleo diferentes.

A figura (5.1) mostra as variações da massa e da amplitude do sinal como função do tempo de secagem.

Após 5 dias não observamos perda de massa apreciável, estando por tanto o grão a massa constante.

Da mesma forma a amplitude do sinal permaneceu constante em medidas realizadas após 5 dias.

5.2 - DETERMINAÇÃO DO TEOR DE ÓLEO

Nesta seção apresentamos os resultados sobre a determinação do teor de óleo, exposta na seção 3.3.2 do Capítulo 3.

A Tabela 5.2 mostra a massa de cada grão, a amplitude do sinal de RMN, e a razão sinal/massa, para os grãos do tipo DENTADO e FLINT III.

Para essa experiência os grãos foram secos até massa constante, por tanto os valores das massas na Tabela 5.2, são os valores finais.

A figura (5.2) mostra, por exemplo, o espectro de RMN, tomando 3 ve zes consecutivas do grão de milho nº 1 do tipo DENTADO 0.

A figura (5.3) mostra, por exemplo, o espectro de RMN; também toma do 3 vezes, do grão nº 1 do tipo FLINT III.

A seguir foram selecionados os 10 grãos de cada tipo com menor relação sinal/massa e 10 grãos de cada tipo com maior relação sinal/massa.

Fig. 5.1 - Curva da variação da massa e do sinal de RMN em função do tempo de secagem

TABELA 5.2

DENTADO 0

FLINT III

nº	massa (mg)	sinal (mm)	S/m($\times 10^{-2}$) (mm/mg)	nº	massa (mm)	sinal (mm)	S/m($\times 10^{-2}$) (mm/mg)
1	335,33	125	37,3	1	332,05	184	55,4
2	366,90	145	39,5	2	293,20	152	51,8
3	358,96	126	35,1	3	313,49	126	40,2
4	339,43	130	38,3	4	349,28	191	54,7
5	377,19	148	49,2	5	340,32	184	54,1
6	322,53	144	44,6	6	351,92	180	51,1
7	352,68	129	36,6	7	375,24	203	54,1
8	343,95	154	44,8	8	336,57	141	41,9
9	330,64	159	48,1	9	373,27	194	52,0
10	329,61	163	49,5	10	331,21	148	44,7
11	300,45	110	36,6	11*	-	-	-
12*	-	-	-	12	315,48	168	53,3
13	308,14	116	37,6	13*	-	-	-
14	396,12	143	36,1	14	335,36	158	47,1
15	273,19	115	42,1	15	316,39	162	51,2
16	263,22	102	38,7	16	327,09	180	55,0
17*	-	-	-	17	324,07	149	46,0
18	275,82	110	39,9	18	323,03	158	48,9
19	295,39	150	50,8	19*	-	-	-
20	343,22	122	35,5	20	330,84	165	49,9
21	366,99	154	42,0	21	290,20	173	59,6
22	302,34	113	37,4	22	331,31	206	62,2
23	326,07	133	40,8	23*	-	-	-
24	306,30	156	50,9	24	328,56	159	48,4

* descartados por apresentarem massa muito pequena

Fig. 5.2 - Espectro típico de RMN para o milho do tipo Dentado O

Fig. 5.3 - Espectro típico
de RMN para o
milho do tipo
Flint III

Esses 4 conjuntos foram encapsulados e levados para análise química de conteúdo de óleo, e foram chamados de A, B, C e D.

A Tabela 5.3 mostra os números de ordem dos grãos eleitos de acordo com a Tabela 5.2 e o valor da média aritmética de $s = S/m$ para os 10 grãos escolhidos.

TABELA 5.3

A	B	C	D
3	6	3	1
20	8	6	2
14	9	8	4
7	10	10	5
11	15	14	7
1	18	15	9
22	19	17	12
13	24	18	16
4	21	20	21
16	23	24	22
36,92	45,35	46,94	55,22

A Tabela 5.4 apresenta o resultado da análise química realizada no Departamento de Genética da ESALQ - USP.

Finalmente foi então feita a correlação entre os valores de $s = S/m$ da tabela 5.3 e o teor de óleo da tabela 5.4.

Este gráfico é a figura (5.4).

Efetivamente o espectrômetro apresenta uma resposta linear entre a amplitude do sinal normalizada pela massa do grão de milho e o teor de óleo.

TABELA 5.4

	% óleo
A	4.09
B	5.52
C	5.52
D	6.16

É importante ressaltar que essa calibração é válida estando o aparelho nas mesmas condições em que foram tomadas as medidas, com a mesma bobina e estando os grãos de milho secos.

Portanto o equipamento detecta facilmente variações do teor de óleo em grãos de milho seco.

Mas, para um programa de seleção para plantio, os grãos de milho não podem estar secos, devem conter 5% de água, o que torna um pouco mais difícil a separação entre grãos que tenham quase a mesma porcentagem de óleo.

No próximo capítulo explicamos qual a resolução em porcentagem de óleo e mostramos um exemplo prático desse cálculo.

CAPÍTULO 6

6.1 - DISCUSSÃO SOBRE OS RESULTADOS

Como vimos no capítulo anterior é possível detetar-se variações no teor de óleo em grãos de milho seco.

Entretanto se temos que manter os grãos de milho com uma umidade em torno dos 5% (21) para que ele possa ser plantado e germine, temos então que levar em conta a influência da água sobre o sinal.

Para isso pensamos numa explicação simples para tal efeito e que está aproximadamente de acordo com nossos resultados.

Vamos supor que a massa total de um grão de milho seja M .

$$M = m + a + o, \quad (1)$$

onde m = massa da parte que não contribui para o sinal

a = massa da água

o = massa do óleo

Como a e o são frações da massa total, podemos escrever

$$a = xM \quad (2)$$

$$o = yM \quad (3)$$

Sabemos que o sinal é proporcional à quantidade de água e à quantidade de óleo.

Vamos supor que a água e o óleo dão a mesma contribuição para o si

nal, isto é, tem a mesma constante de proporcionalidade. Então podemos escrever

$$S = \alpha(a + o) \quad (4)$$

onde S = sinal

α = constante de proporcionalidade

a e o já definidos

Usando as eqs. (2) e (3) na eq. (4) temos

$$S = (xM + yM) \quad (5)$$

dividindo por M ,

$$s = \frac{S}{M} \quad (6)$$

$$= \alpha(x + y) \quad (7)$$

Agora sabemos que uma variação na concentração do óleo, causa uma variação no sinal, ou

$$ds = \alpha dy \quad (8)$$

ou

$$\frac{ds}{s} = \frac{\alpha dy}{\alpha(x+y)} = \frac{dy}{x+y} \quad (9)$$

A eq. (9) nos dá a variação no sinal para uma variação percentual

na concentração de óleo, mantida a concentração porcentual de água fixa.

Exemplo:

Vamos supor que

$$s = 56$$

$$x = 5\%$$

(10)

$$y = 5\%$$

$$dy = 1\%$$

isto é, para uma variação de 1% na concentração de óleo, qual a variação no si
nal ?

Usando a eq. (9), e os valores da eq. (10)

$$\frac{ds}{56} = \frac{1}{10}$$

$$ds = 5,6$$

aproximadamente 10% da amplitude inicial do sinal.

Se o sinal tinha por exemplo 140mm, passará a 154mm que é perfeita
mente detetável pelo espectrômetro.

Durante medidas consecutivas, num mesmo dia, o espectrômetro apre
senta uma estabilidade de aproximadamente 1,4%, isto é, ocorre variação de atê
2mm em 140mm de amplitude do sinal.

Assim podemos estimar a resolução do espectrômetro em termos de por
centagem de óleo, ou seja, qual é a mínima variação na porcentagem de óleo en

tre grãos de milho que o equipamento consegue detetar.

Voltando à eq. (9), vamos supor que ocorra uma variação de 5% para 5,2% na concentração de óleo, e vamos calcular qual a variação no sinal, ds , com os seguintes valores

$$s = 56$$

$$x = 5\%$$

$$y = 5\%$$

$$dy = 0,2\%$$

Usando a eq. (9) temos

$$\frac{ds}{s} = \frac{0,2}{5+5} ,$$

$$ds = 1,12$$

aproximadamente 2% da amplitude do sinal.

Se o sinal tinha 140mm, passará a 142,8mm que é maior que a flutuação do equipamento conforme mencionado antes.

Então podemos assumir que o espectrômetro tem uma resolução em porcentagem de óleo melhor que 0,2%.

Evidentemente que os resultados acima são perfeitamente válidos se mantivermos a concentração de água fixa em 5%.

Numa experiência real para seleção individual de grãos de milho, após o tratamento térmico que os grãos foram submetidos, é muito difícil que

todos os grãos estejam com uma concentração de 5% de água.

Assim sendo, variações na concentração de água influem decisivamente no sinal de RMN, porque o equipamento é sensível a contribuição de água+óleo.

Dessa maneira, necessita-se de um estudo rigoroso a respeito do processo de secagem dos grãos de milho, para sabermos como ficam as variações na concentração de água após a desidratação.

Baseados nesse estudo, poderíamos então estimar a resolução do espectrômetro na concentração de óleo, levando em conta flutuações na concentração de água.

Com esse estudo está mais ligado a outra especialidade, isto é, a área de Agronomia, nós não o fizemos.

Portanto podemos concluir que é indispensável saber quais as flutuações da concentração de água após o processo de secagem, antes de se iniciar a seleção individual usando a técnica de RMN.

Baseados na literatura citada na bibliografia, há fortes evidências que após a secagem o grão fica com concentração de água muito próxima de 5%.

CAPÍTULO 7

7.1 - RESULTADO DO DECAIMENTO DO SINAL EM FUNÇÃO DO TEMPO PARA ALGUNS POLÍMEROS

Neste capítulo apresentamos uma outra aplicação da técnica de RMN.

Trata-se do estudo do decaimento da amplitude do sinal como função do tempo, para alguns polímeros.

Os polímeros são substâncias formadas com larga quantidade de radicais que contêm hidrogênio e se apresentam geralmente em duas fases, isto é, uma fase amorfa, similar a um líquido de alta viscosidade, e uma fase cristalina, ou seja, após a reação de polimerização, o material caracteriza-se por uma fase sólida.

Quando está na fase amorfa, os prótons do hidrogênio contribuem para um estreito sinal de RMN, sinal este que é proporcional ao número de hidrogênio daquela fase.

À medida que a reação se processa, o número de hidrogênios com mobilidade da fase amorfa diminui e portanto diminui a amplitude do sinal.

Segundo Hyndman (22) (1962) é possível de se estudar com RMN algumas características dos polímeros, como por exemplo determinação de estrutura com RMN de alta resolução, defeitos nos polímeros cristalinos, mecanismos de reorientação da cadeia e altas temperaturas, etc...

No nosso trabalho o que fizemos foi tomar 3 tipos diferentes de polímeros e estudar o decaimento do sinal de RMN como função do tempo.

O gráfico das amplitudes contra o tempo permite, por exemplo, determinar o tempo de polimerização, isto é, o instante em que a amostra passou da fase amorfa para a fase sólida.

Fig. 7.1 - Decaimento do sinal de RMN para o polímero simplex como função do tempo

Fig. 7.2 - Variação da amplitude do sinal como função do tempo

Fig. 7.3 - Variação da amplitude do sinal como função do tempo

Trata-se de uma aplicação simples, mas que pode ser de grande ajuda para a indústria na pesquisa de polímeros e também na monitoração de reações de polimerização, tendo em vista que esta técnica permite um acompanhamento contínuo do processo, bem como é não destrutiva e rápida.

A figura (7.1) mostra os espectros de RMN para um polímero denominado SIMPLEX que é muito usado nos laboratórios de protese.

O intervalo de tempo entre um espectro e o seguinte é de 1 minuto.

As amplitudes em centímetros de cada espectro foram lançadas num gráfico contra o tempo de cada medida.

A figura (7.2) mostra tal gráfico, onde está também o decaimento para uma amostra de ARALDITE-ULTRA-RÁPIDO.

A figura (7.3) mostra os decaimentos para duas amostras de POLYLITE -T-208.

Nota-se o comportamento diferente em função do tempo, dependência esta influenciada pelas diferentes concentrações dos reagentes da reação.

Na curva (1) foi colocado 2 gotas de monomero de estireno e uma gota de peróxido de metil etil cetona e na curva (2) estas quantidades foram dobradas.

Assim sendo alterando-se as concentrações, é possível mudar-se a velocidade de polimerização.

A técnica de RMN permite acompanhar continuamente tais processos, de maneira rápida e não destrutiva, o que é impossível de fazer com análise química.

CONCLUSÕES

Neste trabalho pudemos mostrar que é perfeitamente possível a construção de um espectrômetro de RMN de banda larga, utilizando componentes simples e baratos.

É evidente que não se pode construir certas partes do equipamento com componentes simples; uma delas é o eletro-ímã e outra é o "lock-in".

Mas pode-se usar um imã permanente com um custo de aproximadamente 20 vezes mais barato que um eletro-ímã comercial e o lock-in, custa cerca de 10 vezes o preço do eletro-ímã, e é um equipamento mais ou menos comum hoje em dia em qualquer laboratório.

O espectrômetro é bastante fácil de se operar e apresenta uma resolução muito boa tendo em vista o fim a que se destina, seu desempenho mostra ser perfeitamente aceitável.

Outro aspecto do trabalho é a viabilidade de se usar tal espectrômetro num programa de seleção individual de grãos de milho, com o objetivo de seleção genética.

Nesse ponto o trabalho discute os problemas envolvidos com a seleção e apresenta uma sugestão de uma metodologia que pode ser seguida para um programa de seleção individual.

É apresentado ainda a viabilidade da utilização desse espectrômetro em algumas aplicações industriais, como por exemplo, na monitoração de reações de polimerização.

Nesse sentido o trabalho mostra os resultados na determinação de tempo de polimerização para três substâncias diferentes.

REFERÊNCIAS

- 1) BRUKER-REPORT, 3, Nr 2-1973 e Symposium: Wide Line Nuclear Magnetic Resonance - The Journal of the American Oil Chemists Society, vol. 48, nº 2 (1971)
- 2) T.F. CONWAY, F.R. EARLE - "Nuclear Magnetic Resonance for Determining Oil Content of Seeds"- The Journal of the American Oil Chemists Society, vol. XL, nº 7 (1963)
- 3) S.A. WATSON E J.E. FREEMAN - "30TH Annual Corn & Sorghum Research Conference"(1974)
- 4) J.W. DUDLEY E R.J. LAMBERT - "Genetic Variability After 65 Generations of Selection in Illinois High Oil, Low Oil, High Protein and Low Protein Strains of ZEA Mays L."- CROP SCIENCE, 9 (1969)
- 5) L.F. BAUMAN, T.F. CONWAY E S.A. WATSON - "Inheritance of Variations in Oil Content of Individual Corn Kernels" - CROP SCIENCE 5 (1965)
- 6) Referência 3
- 7) Referência 3
- 8) T.F. CONWAY, C.J. HICKMAN, F.A. KURTZ E G.A. WINKLER - "Computer Controlled Wide-Line Nuclear Magnetic Resonance System for Automatically Determining Oil Content of Individual Kernels" - Proc. 18th Ampere Congress, Nottingham, England (1974)
- 9) Referência 3
- 10) C.P. SLICHETER - "Principles of Magnetic Resonance" - Harper and Row, Cap. 1 (1963)
- 11) C.P. POOLE E H.A. FARACH - "Teoria de la Resonancia Magnetica" - Editorial

Revertê, S.A., cap. 1, 3 e 4 (1976)

12) F. BLOCK, - Phys. Rev., 70, 460 (1946)

13) N. BLOEMBERGEN - "Nuclear Magnetic Relaxation" - W.A. Benjamin, Inc., Publ.,
cap. 3 (1961)

14) E.K. ANDREW - "Nuclear Magnetic Resonance" - Cambridge at the Univ. Press,
cap. 3 (1969)

15) R.T. SCHUMACHER - "Introduction to Magnetic Resonance" - W.A. Benjamin, Inc.,
cap. 2 (1970)

16) Referência 14

17) Referência 2

18) Referência 3

19) Referência 3

20) Referência 3

21) Referência 3

22) D. HYNDMAN - "The Study of Polymers by Wide-Line NMR"(1962) - Report from
Near Siegler, Inc.