UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA DE SÃO CARLOS

*Novas aplicações da precessão livre em onda contínua em Ressonância
Magnética Nuclear de baixa e alta resolução*

Tiago Venâncio

Tese apresentada ao Instituto de
Química de São Carlos, da
Universidade de São Paulo, como
um dos requisitos para a obtenção
do título de Doutor em Ciências
(Físico-Química)

Orientador: Dr. Luiz Alberto Colnago

São Carlos

2006

Este exemplar foi revisado e alterado em
relação à versão original, sob a exclusiva
responsabilidade do autor.

São Carlos, 20/11/2006

Tiago Venâncio

Aos meus pais, José e Conceição, por tudo

Agradecimentos

À Deus

Ao Dr. Luiz Alberto Colnago, pela amizade, orientação sempre muito dedicada e generosa, pelo incentivo e profissionalismo. Meu grande reconhecimento.

Ao Prof. Dr. Mario Engelsberg, do Depto. de Física da UFPE, pela colaboração também sempre muito dedicada, pelas inúmeras ajudas, sugestões e discussões no decorrer do trabalho.

Ao Prof. Dr. Rodrigo Bagueira Vasconcellos de Azeredo, pela amizade, presteza e todo o conhecimento e experiência transmitidos.

À Embrapa Instrumentação Agropecuária pela recepção, infra-estrutura e todas as facilidades oferecidas.

Ao pessoal do Instituto de Química de São Carlos - USP, por todo o suporte acadêmico.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP, pelo suporte financeiro, através do processo 02/05409-0.

À todo o grupo, pela amizade, convivência e ajuda mútua: Rodrigo, Lucimara, Denise, Tatiana, Milena, Rosilene, André, Neif, Lucinéia, Cíntia, Cátia, Fayene, Willian, Fabiana, Glauber, Lúcio.

À todo o pessoal da Embrapa Instrumentação Agropecuária, em especial ao René, Ana Maria Felicori, Marcelo, Godoy, Valentim, Ferrazini, Mattheo, pessoal da informática, secretárias, biblioteca.

Ao pessoal do grupo de RMN do Instituto de Física de São Carlos nas pessoas do Prof. Alberto Tannus e Edson, pelos auxílios prestados.

À Associação dos Usuários de Ressonância Magnética Nuclear, AUREMN, sempre amigos, por toda a troca de experiências, reconhecimento do nosso trabalho, e trabalho em prol da RMN no Brasil.

A todos os amigos da Embrapa, não vou citar nomes para não ser injusto, mas toda minha gratidão.

Aos amigos da USP-São Carlos pela convivência de 10 anos. Também não vou citar nomes.

A TODOS os amigos feitos ao longo dos 10 anos que vivi em São Carlos.

A São Carlos, que me recebeu, com toda a sua generosidade, pelo período mais importante da minha vida.

Ao pessoal da Unicamp, pela recepção calorosa, convivência, experiências transmitidas. À Sônia Fanelli, Paula Pilli, Prof. Fred Fujiwara, Prof. Ronaldo Pilli, e outros.

Ao povo brasileiro, em especial aos paulistas, pela manutenção, muitas vezes ignorada, de todo o sistema universitário e de pesquisa do país. Sem sua contribuição não seríamos nada.

À toda minha família, pela presença, sempre muito importante.

Resumo

Neste trabalho foi desenvolvido um estudo sobre a precessão livre de onda contínua (CWFP-continuous wave free precession), uma condição especial da precessão livre no estado estacionário (SSFP), e algumas aplicações. Os resultados experimentais, e de simulações, mostraram que este sinal é atingido após a passagem por dois estágios iniciais. O primeiro é dependente da heterogeneidade do campo magnético, relacionado a razão T_p/T_2^* . O segundo, o qual é chamado de estado quasi-estacionário, é dependente de ambos os tempos de relaxação do sistema em estudo, T_1 e T_2 . Este segundo estágio é responsável por levar a magnetização do estado de equilíbrio térmico a um estado verdadeiramente estacionário. Tendo como informação a amplitude da magnetização no estado de equilíbrio térmico e no estado verdadeiramente estacionário, e também do decaimento do sinal durante o estado quasi-estacionário, é possível determinar, rápida e simultaneamente, ambos os tempos de relaxação do sistema, fazendo um único experimento. Esse método oferece aplicações interessantes para o estudo de processos dinâmicos, propostas também neste trabalho. Foi possível verificar que o sinal de CWFP pode ser utilizado para acompanhar cinética de reações, e também variações de viscosidade do meio, por exemplo, em reações de polimerização, associadas à mobilidade molecular em função de mudanças estruturais. Um método para avaliar a condutividade térmica de elastômeros foi proposto, com o fornecimento de resultados quantitativos muito próximos daqueles encontrados na literatura, e que utilizam outros métodos. A dependência do sinal de CWFP com a frequência de offset também permitiu realizar um estudo, com aplicação em RMN de alta resolução, sobre a supressão de sinal de solvente. Os resultados demonstraram

que é necessário fazer alguns ajustes na largura de pulsos, juntamente com o ciclo de fases, para minimizar as anomalias de intensidade e de fase dos sinais no espectro transformado. Essa técnica foi aplicada em espectroscopia '*in vivo*', a qual permite resolver, por exemplo, problemas como a determinação de açúcares em frutas, onde o sinal é bastante próximo do intenso sinal da água.

Abstract

In this work a study of the continuous wave free precession (CWFP), a special condition of the steady-state free precession (SSFP), and some applications, was developed. The experimental results, together with simulated ones, have shown that the CWFP signal is attained after two previous stages. The first one is dependent on the non-homogeneity of the magnetic field, related to T_ρ/T_2^* ratio. The second, which is called quasi-stationary state, is dependent of both relaxation times, T_1 and T_2 . This second stage allows leading the magnetization in the thermal equilibrium to a truly stationary state. The information of the signal amplitude in the thermal equilibrium and in the steady state, and also the signal decaying during the quasi-stationary state, allows the fast and simultaneous determination of the relaxation times, performed in a single experiment. This method offers interesting applications for studying dynamical processes, also proposed in this work. It was possible to verify that the CWFP signal can be used to monitor kinetics of reactions, which variations of viscosity are involved, for example, in polymerization reactions, always associated to structural changes. A method for evaluating thermal conductivity in elastomers was proposed, with results in accordance to the literature, which uses other methods. The dependence of the CWFP signal with the offset frequency has permitted to study an application to the High-Resolution NMR, about the solvent suppression. The results demonstrated that it is necessary to perform some adjustments in the pulse width, together the phase cycle, to minimize some phase and intensity anomalies of the frequency-domain signal. This technique was applied in 'in vivo' spectroscopy, which can solve, for example, problems with the determination of the sugar content in fresh fruits, where the sugar signal is very close to the intense signal of the water.

Lista de Figuras

Figura 1. Modelo vetorial para o comportamento da magnetização durante o processo: (a) equilíbrio térmico; (b) durante o pulso; (c) após o pulso - durante T_p	7
Figura 2. Modelo vetorial proposto por Hahn para descrever o eco formado por dois pulsos de 90° . ¹³	10
Figura 3. Espectros de RMN 1H da água obtidos a partir de um trem de pulsos de 90° igualmente espaçados por um intervalo T_p ¹²	11
Figura 4. Simulação do sinal de RMN no estado estacionário para diversas condições de homogeneidade ¹²	12
Figura 5. Espectros de RMN- 1H no estado estacionário de óleo vegetal com $T_1=138$ ms, $T_2=53$ ms. Imã com $T_2^*=0,5$ ms; ângulo de precessão $\psi=\omega T_p=(2n+1)\pi$, onde n é um número inteiro. T_p varia de A a H por respectivamente: 500,1; 108,3; 56,1; 29,1; 15,5; 2,7; 0,9 e 0,3ms ⁸	13
Figura 6. Sinal CWFP resultante da combinação entre as componentes FID e eco, como uma dependência do ângulo de offset	15
Figura 7. Amplitude do sinal de CWFP normalizada como uma função do ângulo de defasagem, ψ , para vários ângulos de excitação α : ($\blacktriangledown$) 45° , ($\blacktriangle$) 80° , ($\blacksquare$) 90° e ($\bullet$) 100° . a) Experimental e b) sinais simulados para uma solução $0,02 \text{ mol.L}^{-1}$ $\text{CuSO}_4.5\text{H}_2\text{O}$ em água ⁸	16
Figura 8. Estabelecimento do regime quasi-estacionário em CWFP para uma amostra de água com $T_2 = 2,7$ s: (a) $\psi = 4\pi$; (b) $\psi = 5\pi$. Nos dois casos os espectros foram obtidos sem promediações e usando um $T_p=300 \mu\text{s}$, e janela de aquisição de 15 ms ⁹	17

Figura 9. Ecos no estado estacionário no FID de iodeto de metila enriquecido com ^{13}C . (a) Com tempo de repetição constante entre os pulsos; (b) Com tempo de repetição, com retardo aleatório entre os pulsos ¹²	19
Figura 10. Espectros de RMN- ^{13}C com transformada de Fourier de iodeto de metila observado no regime de estado estacionário com $T_p=0,4$ s: (a) Espectro com T_p constante, (b) T_p com incremento aleatório entre cada pulso e (c) com incremento aleatório em conjunto de 64 espectros ¹²	20
Figura 11. Sinais de RMN- ^1H de uma amostra de 2,2 mg de óleo de girassol: a) experimento FID adquirido com $T_p=5T_1=690$ ms, pulso de excitação $\alpha=\pi/2$, $N=2$; b) sinal de CWFP adquirido com um $T_p=0,3$ ms, $t_w=2,1$ ms, $\alpha=\pi/2$ e $N=657$. O tempo total de análise em ambos os casos foi de $1,38$ s ⁸	23
Figura 12. Amplitude do sinal de SSFP para núcleo de ^1H em sementes de ervilha da mesma espécie, mas com diferentes tamanhos. O conteúdo de óleo de cada semente foi posteriormente determinado por uma extração em Soxhlet por 24h com tetracloreto de carbono ⁸	24
Figura 13. Variação da amplitude do sinal CWFP em função do fluxo. Em (a) resultados simulados para vários ângulos de offset ψ ($\circ$) $(2n+1)\pi$; ($\triangle$) $2n\pi$; (∇) $(2n+1/4)\pi$. Em (b) resultados simulados (linhas cheias) confrontados com experimentais (símbolos) em dois ângulos de offset para fluxo de água: ($\bullet$) 5π ; ($\blacktriangledown$) $23/4\pi$ ¹⁰	26
Figura 14. Diagrama representativo da seqüência CWFP.	42
Figura 15. Janela de programação de seqüências de pulsos do software NTNMR, para um espectrômetro Apollo (Tecmag).	43
Figura 16. Diagrama mostrando o espectrômetro Apollo (Tecmag) operando num imã de 2T (freqüência para o ^1H de 85 MHz).	44

Figura 17. Circuito LC de uma sonda de rádio-freqüência utilizada em experimentos de RMN. ⁵⁵	46
Figura 18. Gráficos da variação da intensidade da magnetização em função de T_p : (a) comportamento logarítmico; (b) linearização. A amostra utilizada neste experimento foi de água deionizada. O tempo de relaxação determinado foi de 2,41 s e em (b) o coeficiente de correlação $R^2=1$. Os valores de $M(T_p)$ utilizados foram os de área do sinal do espectro transformado. As medidas foram feitas a uma temperatura de 23°C.	49
Figura 19. Seqüência de pulsos CPMG implementada no laboratório de RMN da Embrapa.....	50
Figura 20. Decaimento da magnetização no plano $x'y'$ em função do tempo. A constante de tempo foi extraída de um ajuste exponencial de primeira ordem, sendo que o valor determinado foi de 1,86 s, com $R^2=0,99$. Foram feitas quatro acumulações e as medidas foram feitas a uma temperatura de 23°C.	51
Figura 21. Seqüência SSFP utilizada nos estudos sobre o estabelecimento do estado estacionário e para a determinação de T_1 e T_2	53
Figura 22. Arranjo montado para fazer as medidas dos perfis de excitação.	58
Figura 23. Modificações propostas para a seqüência SSFP para corrigir anomalias de fase no espectro transformado: (a) a fase dos pulsos avança com passos de 90° ; (b) a fase dos pulsos avança de 180° a cada par de pulsos. Em ambos os casos a aquisição é feita em fase com o último pulso.	59
Figura 24. Sinal CWFP em magnitude para uma amostra de ácido fosfórico ($T_1=191$ ms, $T_2=140$ ms). Parâmetros CWFP: $T_p=0,3$ ms, $\alpha=90^\circ$, tempo de aquisição= 256μ s (64 pontos a uma taxa de 4μ s/ponto), $\Delta\nu=90$ Hz ($T_2^*=3,54$ ms), $\psi=\omega T_p=3\pi$	62

Figura 25. Sinal CWFP normalizado para uma amostra de ácido fosfórico ($T_1=191$ ms, $T_2=140$ ms). Parâmetros CWFP: $T_p=0,3$ ms, $\alpha=90^\circ$, tempo de aquisição= $256\ \mu\text{s}$ (64 pontos a uma taxa de $4\ \mu\text{s/ponto}$), $\Delta\nu=90\text{Hz}$ ($T_2^*=3,54$ ms), $\psi=\omega T_p=3\pi$ 63

Figura 26. Sinal CWFP normalizado para uma amostra de ácido fosfórico ($T_1=191$ ms, $T_2=140$ ms). Parâmetros CWFP: $T_p=0,3$ ms, $\alpha=90^\circ$, tempo de aquisição= $256\ \mu\text{s}$ (64 pontos a uma taxa de $4\ \mu\text{s/ponto}$), $\Delta\nu=90\text{ Hz}$ ($T_2^*=3,54$ ms), $\psi=\omega T_p=3\pi$ 67

Figura 27. Modelo de curva utilizada na simulação do sinal de CWFP para o caso não simétrico..... 68

Figura 28. Sinal de CWFP obtido para uma amostra de ácido fosfórico em função do número de pulsos. As linhas cheias (em vermelho) são resultados das simulações numéricas das equações 34 e 35. Os resultados experimentais são apresentados como símbolos ($\square$ pulsos ímpares e Δ pulsos pares). Parâmetros utilizados: $T_p=0,3$ ms; $\alpha=\pi/2$; $T_1=190$ ms, $T_2=140$ ms. **(a)** distribuição Lorentziana de isocromatas com largura a meia altura de 90 Hz. **(b)** distribuição assimétrica a partir de duas Lorentzianas com largura a meia altura de 90 Hz..... 69

Figura 29. Espectro RMN-CWFP- ^1H do ácido fosfórico: **(a)** regime de alternância de amplitude, **(b)** regime quasi-estacionário, **(c)** regime verdadeiramente estacionário. Parâmetros CWFP: $T_p=0,3$ ms, $\alpha=90^\circ$, tempo de aquisição= $256\ \mu\text{s}$ (64 pontos a uma taxa de $4\ \mu\text{s/ponto}$), $\Delta\nu=90\text{ Hz}$ ($T_2^*=3,54$ ms), $\psi=\omega T_p=3\pi$ 72

Figura 30. Gráfico semi-logarítmico de $|M_+(t)| / |M_{+,s}| - 1$ como uma função do tempo para o ácido fosfórico, cuja constante de decaimento é de $T^*_{(\alpha=\pi/2)}=125$ ms..... 74

Figura 31. Espectro RMN-CWFP- ^1H para: **(a)** borracha natural ($T_1/T_2\approx 14,75$; $|M_{+,s}|/M_0\approx 0,05$), **(b)** acetona ($T_1/T_2=1,06$; $|M_{+,s}|/M_0\approx 0,48$). Parâmetros CWFP: $T_p=0,3$ ms, $\alpha=90^\circ$, tempo de aquisição= $256\ \mu\text{s}$ (64 pontos a uma taxa de $4\ \mu\text{s/ponto}$),

$\psi = \omega T_p = 3\pi$. Os pontos considerados para a determinação da constante de decaimento encontram-se na região entre as linhas em vermelho.	78
Figura 32. Sinais CWFP simulados para diferentes ângulos de rotação α : (a) 90° , (b) $85,5^\circ$, (c) 81° , (d) $76,5^\circ$. Parâmetros utilizados: $T_1=300$ ms, $T_2=30$ ms ($T_1/T_2=10$), distribuição Lorentziana com largura a meia altura de 90 Hz, $n \geq 250$	79
Figura 33. Sinais CWFP obtidos para borracha (a) e água (b) em diferentes ângulos de rotação α : (—) 90° , (—) $85,5^\circ$, (—) 81° , (—) $76,5^\circ$. Para borracha ($T_1/T_2 \approx 30$) e água ($T_1/T_2 \approx 1$).	80
Figura 34. Variação da amplitude do sinal de CWFP da mistura resina epóxi+endurecedor, no tempo inicial (M_0) e no estado estacionário (M_z) em função do tempo de reação.	82
Figura 35. Gráfico de $\log(M_t - M_\infty)$ em função do tempo para um processo de primeira ordem para a reação de cura da resina epóxi.	84
Figura 36. Variação dos tempos de relaxação transversal (T_1) e longitudinal (T_2) em função do tempo de reação de cura da resina epóxi. Em (a) utilizando os métodos convencionais (estimativa por inversão-recuperação para T_1 e CPMG para T_2), e em (b) utilizando o método CWFP. Em CWFP os parâmetros utilizados foram: $T_p=0,3$ ms; $\alpha=\pi/2$; $\omega T_p=3\pi$	86
Figura 37: Amplitude do decaimento do sinal CWFP para amostras esféricas de borracha de várias massas, inicialmente a $\theta_0 = 295$ K , e após contato com o banho de nitrogênio líquido a $\theta_b = 77,8$ K	89
Figura 38. Decaimento do sinal de CWFP normalizado para amostras esféricas de borracha com quatro diferentes massas.	90

Figura 39. Decaimento universal do sinal CWFP para amostras esféricas de borracha natural, com quatro diferentes massas, obtido em função de uma variável escalada com o tempo $t/m^{2/3}$	91
Figura 40. Razão dos tempos de relaxação $\Gamma(\Theta)$ em função do inverso da temperatura $1/\Theta$ obtidos a partir da amplitude do sinal de CWFP no estado estacionário em equilíbrio térmico. A linha sólida é um ajuste empírico dos dados na região de interesse $\Theta < T_0$	93
Figura 41. Decaimento do sinal CWFP universal para amostras esféricas de borracha. Os círculos são valores calculados assumindo uma difusividade térmica média $\bar{\lambda} = 1,684 \times 10^{-3} \text{ cm}^2 / \text{s}$ e uma densidade de massa constante $\rho = 1,1 \text{ g/cm}^3$	94
Figura 42. Perfil de excitação teórico calculado para uma amostra de água deionizada com $T_1 = T_2 \cong 2 \text{ s}$. O intervalo entre os pulsos foi de $300 \mu\text{s}$ e a largura de pulsos de $\pi/2$. Os valores de amplitude estão em modo absoluto.	96
Figura 43. Perfis de excitação teóricos da seqüência CWFP calculados para uma amostra de água deionizada com $T_1 = T_2 \cong 2 \text{ s}$ para diferentes larguras de pulso ($p_w = \alpha$). O intervalo entre os pulsos foi de $300 \mu\text{s}$. A amplitude está em valores absolutos, α é o ângulo de rotação da magnetização em relação ao eixo z.	98
Figura 44. Perfis de excitação da seqüência CWFP teórico (a,c,e) e experimentais (b,d,f) obtidos para uma amostra de água deionizada com $T_1 = T_2 \cong 2,7 \text{ s}$; $T_p = 300 \mu\text{s}$: $\alpha = 90^\circ$ (a e b) , $\alpha = 45^\circ$ (c e d) ; $\alpha = 135^\circ$ (e e f)	100
Figura 45. Perfis de excitação da seqüência CWFP experimentais obtidos para uma amostra de água deionizada com $T_1 = T_2 \cong 2,7 \text{ s}$; $\alpha = 90^\circ$: (a) $T_p = 300 \mu\text{s}$; (b) $T_p = 500 \mu\text{s}$; (c) $T_p = 150 \mu\text{s}$	102

Figura 46. Perfis de excitação da seqüência CWFP experimentais obtidos para uma amostra de água deionizada com $T_1=T_2 \cong 2,7$ s; $\alpha=45^\circ$: (a) $T_p=300$ μ s; (b) $T_p=500$ μ s; (c) $T_p=150$ μ s.	103
Figura 47. Supressão do sinal da água pelo método CWFP como função do número de pulsos $p1$ (n) e os tempos de relaxação da amostra.	105
Figura 48. Eficiência da supressão do sinal de água através da técnica CWFP aplicada com diferentes números de pulsos: (a) 1 pulso - sem supressão; (b) 2 pulsos similar à "jump-return"; (c) 129 pulsos. $p1=pw=\pi/2$	106
Figura 49. Espectro transformado de RMN- 1H 85 MHz de uma mistura de clorofórmio e ácido acético.	107
Figura 50. (a) Espectro transformado de RMN-CWFP- 1H , em 85 MHz, da mistura clorofórmio e ácido acético. Seqüência: $(90^\circ_x-T_p)_n 90^\circ_x$. Parâmetros CWFP: $T_p=0,3$ ms, $\alpha=(90^\circ)_x$, tempo de aquisição=2, $\psi=\omega T_p=0$ para o sinal do clorofórmio. (b) Espectro RMN-jump-return, em 85 MHz, da mistura clorofórmio e ácido acético. Seqüência: $90^\circ_x-T_p-90^\circ_{-x}$, com $T_p=400$ μ s.	108
Figura 51. Espectro transformado de RMN-CWFP- 1H , em 85MHz, da mistura clorofórmio e ácido acético. Seqüência: (a) $(90^\circ_x-T_p-90^\circ_y-T_p-90^\circ_{-x}-T_p-90^\circ_{-y}-T_p)_n 90^\circ_{-y}$; (b) $(90^\circ_x-T_p-90^\circ_y-T_p-90^\circ_{-x}-T_p-90^\circ_{-y}-T_p)_n 90^\circ_y$. Parâmetros CWFP em ambas: $T_p=0,3$ ms, $\psi=\omega T_p=0$ para o sinal do clorofórmio.	109
Figura 52. Perfis de excitação da seqüência CWFP em fase: (a) seqüência sem mudança de fase, $(90^\circ_x-T_p)_n 90^\circ_x$, (b) seqüência com alteração de fase, $(90^\circ_x-T_p-90^\circ_y-T_p-90^\circ_{-x}-T_p-90^\circ_{-y}-T_p)_n 90^\circ_{-y}$. Em ambos $T_p=300\mu$ s, $\psi=\omega T_p=0$ para o sinal do clorofórmio;	111
Figura 53. Perfis de excitação da seqüência CWFP em fase: (a) seqüência sem mudança de fase, $(90^\circ_x-T_p)_n 90^\circ_x$; (b) seqüência com alteração de fase: $(90^\circ_x-T_p-$	

$90^\circ_y-T_p-90^\circ_{-x}-T_p-90^\circ_{-y}-T_p)_n90^\circ_{-y}$. $T_p=200\ \mu s$; $\psi=\omega T_p=0$ para o sinal do clorofórmio.

..... 112

Figura 54. Perfis de excitação da seqüência CWFP em fase: **(a)** seqüência sem mudança de fase, $(90^\circ_x-T_p)_n90^\circ_x$; **(b)** seqüência com alteração de fase: $(90^\circ_x-T_p-90^\circ_y-T_p-90^\circ_{-x}-T_p-90^\circ_{-y}-T_p)_n90^\circ_{-y}$. $T_p=500\ \mu s$, $\psi=\omega T_p=0$ para o sinal do clorofórmio.

..... 113

Figura 55. Perfis de excitação água para a seqüência $(p1_x-T_p-p1_y-T_p-p1_{-x}-T_p-p1_{-y}-T_p)_n pw_y$ nos modos: **(a)** magnitude; **(b)** fase. Parâmetros CWFP: $p1=45$, $pw=90$, $T_p=300\ \mu s$.

..... 115

Figura 56. Perfis de excitação água para a seqüência $(p1_x-T_p-p1_y-T_p-p1_{-x}-T_p-p1_{-y}-T_p)_n pw_y$ nos modos: **(a)** magnitude; **(b)** fase. Parâmetros CWFP: $p1=15$, $pw=90$, $T_p=300\ \mu s$.

..... 116

Figura 57. Perfis de excitação da água para a seqüência $(p1_x-T_p-p1_y-T_p-p1_{-x}-T_p-p1_{-y}-T_p)_n pw_y$ nos modos: **(a)** magnitude; **(b)** fase. Parâmetros CWFP: $p1=90$, $pw=90$, $T_p=300\ \mu s$.

..... 117

Figura 58. Perfis de excitação da água para a seqüência $(p1_x-T_p-p1_y-T_p-p1_{-x}-T_p-p1_{-y}-T_p)_n pw_y$ nos modos: **(a)** magnitude; **(b)** fase. Parâmetros CWFP: $p1=135$, $pw=90$, $T_p=300\ \mu s$.

..... 118

Figura 59. Espectros transformados de RMN-CWFP para uma mistura 1:1 ácido acético-clorofórmio. Seqüência utilizada: $(p1_x-T_p)_n pw_x$, onde $pw=90^\circ$ e $T_p=0,3\ ms$; offset zero no sinal do clorofórmio. As larguras de pulsos $p1$ utilizadas foram: **(a)** 15° , **(b)** 45° , **(d)** 90° , **(c)** 135° . O espectro representado pela linha preta se refere ao espectro normal, sem supressão.

..... 120

Figura 60. Espectros transformados de RMN-CWFP para uma mistura 1:1 ácido acético-clorofórmio. Seqüência utilizada: $(p1_x-T_p-p1_y-T_p-p1_{-x}-T_p-p1_{-y}-T_p)_n pw_y$,

onde $pw=90^\circ$ e $T_p=0,3$ ms; offset zero no sinal do clorofórmio. As larguras de pulsos $p1$ utilizadas foram: **(a)** 15° , **(b)** 45° , **(c)** 90° , **(d)** 135° . O espectro representado pela linha preta se refere ao espectro normal, sem supressão..... 121

Figura 61. Espectro transformado de RMN-CWFP- 1H , em 85 MHz, da mistura clorofórmio e ácido acético. Seqüência: **(a)** $(90^\circ_x-T_p-90^\circ_x-T_p-90^\circ_{-x}-T_p-90^\circ_{-x}-T_p-)_n90^\circ_x$; **(b)** $(90^\circ_x-T_p-90^\circ_x-T_p-90^\circ_{-x}-T_p-90^\circ_{-x}-T_p-)_n90^\circ_{-x}$. Parâmetros CWFP em ambas: $T_p=0,3$ ms, $\psi=\omega T_p=0$ para o sinal do clorofórmio..... 123

Figura 62. Perfis de excitação da seqüência CWFP em fase: **(a)** seqüência sem mudança de fase, $(90^\circ_x-T_p-)_n90^\circ_x$; **(b)** seqüência com alteração de fase: $(90^\circ_x-T_p-90^\circ_{-x}-T_p-90^\circ_{-x}-T_p-)_n90^\circ_x$. $T_p=300$ μs , $\psi=\omega T_p=0$ para o sinal do clorofórmio. 124

Figura 63. Perfis de excitação da seqüência CWFP, em fase, com alteração de fase: $(90^\circ_x-T_p-90^\circ_{-x}-T_p-90^\circ_{-x}-T_p-)_n90^\circ_x$: **(a)** $T_p=200$ μs , **(b)** $T_p=500$ μs . $\psi=\omega T_p=0$ para o sinal do clorofórmio. 125

Figura 64. Perfis de excitação da água para a seqüência $(p1_x-T_p-p1_x-T_p-p1_{-x}-T_p-p1_{-x}-T_p-)_npw_{-x}$ nos modos: **(a)** magnitude; **(b)** fase. Parâmetros CWFP: $p1=90$, $pw=90$, $T_p=300$ μs 126

Figura 65. Perfis de excitação da água para a seqüência $(p1_x-T_p-p1_x-T_p-p1_{-x}-T_p-p1_{-x}-T_p-)_npw_{-x}$ nos modos: **(a)** magnitude; **(b)** fase. Parâmetros CWFP: $p1=135$, $pw=90$, $T_p=300$ μs 127

Figura 66. Perfis de excitação da água para a seqüência $(p1_x-T_p-p1_x-T_p-p1_{-x}-T_p-p1_{-x}-T_p-)_npw_{-x}$ nos modos: **(a)** magnitude; **(b)** fase. Parâmetros CWFP: $p1=15$, $pw=90$, $T_p=300$ μs 128

Figura 67. Perfis de excitação da água para a seqüência $(p1_x-T_p-p1_x-T_p-p1_x-T_p-p1_x-T_p)_n pw_x$ nos modos: **(a)** magnitude; **(b)** fase. Parâmetros CWFP: $p1=45$, $pw=90$, $T_p=300 \mu s$ 129

Figura 68. Espectros transformados de RMN-CWFP para uma mistura 1:1 ácido acético-clorofórmio. Seqüência utilizada: $(p1_x-T_p-p1_x-T_p-p1_x-T_p-p1_x-T_p)_n pw_x$, onde $pw=90^\circ$ e $T_p=0,3ms$; offset zero no sinal do clorofórmio. As larguras de pulsos $p1$ utilizadas foram: **(a)** 15° , **(b)** 45° , **(c)** 90° , **(d)** 135° . O espectro representado pela linha preta se refere ao espectro normal, sem supressão..... 130

Figura 69. Espectro de 1H -RMN, em valores absolutos, de uma amostra de caqui: **(a)** sem supressão do sinal da água; **(b)** com supressão do sinal da água utilizando as técnicas "jump-return" e CWFP. Na seqüência CWFP foram aplicados 1024 pulsos $p1$ separados por um $T_p=300 \mu s$; $p1=pw=\pi/2$ pulses. 131

Lista de tabelas

Tabela 1. Tempos de Relaxação Longitudinal, T_1 , determinados por: inversão-recuperação, RMN-SSFP $_{\alpha \text{ ótimo}}$, experimentos RMN-CWFP $_{\alpha=\pi/2}$	75
Tabela 2. Tempos de Relaxação Transversal, T_2 , determinados por: CPMG, RMN-SSFP $_{\alpha \text{ ótimo}}$, experimentos RMN-CWFP $_{\alpha=\pi/2}$	75
Tabela 3. Valores de T_1 e T_2 determinados em diferentes condições de homogeneidade do campo magnético.	77

Lista de Abreviaturas e Siglas

SSFP - Steady-state free precession

CWFP - Continuous Wave Free Precession

RMN - Ressonância Magnética Nuclear

CPMG - Carr-Purcell-Meiboom-Gill

IR - Inversão-Recuperação

FID - Free induction decay

TMS - Tetra-metil-silano

CLAE – Cromatografia líquida de alta eficiência

Lista de Símbolos

B_0 - Campo magnético externo

T_p - Intervalo de tempo entre os pulsos

τ - duração do pulso (pw)

T_1 - constante de tempo de relaxação longitudinal

T_2 - constante de tempo de relaxação transversal

T_2^* – constante de tempo de relaxação sob efeito heterogeneidade do campo magnético

α - ângulo de rotação

γ - razão magnetogírica

M_0 - magnetização líquida no equilíbrio térmico

M^+ - magnetização após aplicação do pulso

M^- - magnetização imediatamente antes da aplicação do pulso

M_{xy} – magnetização projetada no plano xy do sistema de coordenadas girantes

M_∞ - magnetização após completa relaxação dos spins

$M_{+,s}$ - magnetização no estado verdadeiramente estacionário

S – operador de relaxação

R - operador de rotação

S/R – razão sinal/ruído

$\Gamma(\Theta)$ - razão T_1/T_2 em função da temperatura

ψ - ângulo de offset ou precessão

ω - frequência de uma dada isocromata

ω_0 - frequência do referencial rotativo

ϕ - fase do sinal

θ, Θ - temperatura absoluta

κ - condutividade térmica

C_p - capacidade calorífica

ρ - densidade de massa

λ - difusividade térmica

γ - razão magnetogírica

B_1 - campo magnético oscilante

T^* - constante de tempo de decaimento do sinal SSFP/CWFP

$\Delta\nu$ - Largura de linha

t_w – janela de aquisição

G – gradiente de campo magnético

Índice

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	5
2.1. O regime de precessão livre no estado estacionário	5
2.2. Anomalias de fase e intensidade em SSFP (steady-state free precession)	18
2.3. Aplicações já desenvolvidas da SSFP e CWFP para espectroscopia	21
2.3.1. Análise quantitativa	22
2.3.2. Medidas em fluxo	25
2.3. Relaxometria aplicada ao estudo da cura de resinas e reações de polimerização	26
2.4. Difusividade térmica em materiais	27
2.5. O problema do sinal do solvente na RMN de alta resolução em solução	32
2.5.1. Interferência espectral	32
2.6. Métodos para supressão de sinal de solvente	34
3. OBJETIVO	40
4. EXPERIMENTAL	41
4.1. Programação da seqüência de pulsos	41
4.2. Instrumentação geral utilizada	44
4.3. Construção de sondas ("probes")	46
4.4. Detalhes experimentais	47
4.2. Determinação de T_1 por inversão-recuperação e T_2 via CPMG	48

4.3. Determinação simultânea de T_1 e T_2 utilizando técnicas de estado estacionário: SSFP	51
4.4. Determinação simultânea de T_1 e T_2 utilizando o método CWFP	53
4.5. Monitoramento da cura resina epóxi por relaxometria	54
4.6. Medida de difusividade térmica em borracha	55
4.6.1. Instrumentação	55
4.6.2. Determinação dos parâmetros A e B	56
4.7. Experimentos de congelamento das esferas de borracha por nitrogênio líquido: medida da difusividade térmica da borracha.	56
4.8. Construção dos perfis de excitação para a sequência de pulsos CWFP	57
4.9. Saturação em função do número de pulsos (p_1)	58
4.10. Modificações na sequência CWFP para corrigir anomalias de fase	58
4.11. Medidas 'in vivo' de açúcares em frutas.	59
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	61
5.1. Estabelecimento do estado quasi-estacionário em CWFP	61
5.2. Medidas dos tempos de relaxação longitudinal (T_1) e transversal (T_2) via CWFP⁶⁵	73
5.3. Estudo de processos dinâmicos utilizando por relaxometria, utilizando o método CWFP para a determinação de tempos de relaxação	81
5.4. Determinação de difusividade térmica em borracha natural	88
5.5. Supressão de Sinal de solvente	95
5.5.1. Perfil de excitação	95

5.5.1.a. Largura de pulsos	97
5.5.1.b. Variação do intervalo entre os pulsos (T_p)	101
5.5.1.c. Variação do número de pulsos	104
5.5.2. Modificações na seqüência de pulsos para correção de anomalias de fase e intensidade no espectro de RMN-CWFP transformado	106
5.7. Supressão de água in vivo: experimentos exploratórios	131
6. CONCLUSÕES	133
8. PROPOSTAS FUTURAS	139
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	141

1. INTRODUÇÃO

A ressonância magnética nuclear (RMN) é uma das técnicas mais utilizadas para o estudo e resolução de diversos problemas, nas mais diferentes áreas, devido à sua grande versatilidade. Esta técnica se divide em duas grandes modalidades, de acordo com sua aplicação, sendo elas a espectroscopia e a imagem por RMN. Em espectroscopia os estudos de elucidação estrutural são os mais difundidos, mas além destes, outros estudos de processos dinâmicos, por exemplo, empregam esta técnica de forma bastante eficiente^{1, 2}.

No entanto, a RMN é uma técnica de baixa sensibilidade quando comparada com outras espectroscopias, como por exemplo, as espectroscopias ópticas (UV-Visível) e vibracionais (FTIR). Isso é devido à pequena diferença de população entre os níveis de energia nuclear envolvidos nas transições, em razão da pequena diferença de energia entre esses níveis. No campo magnético terrestre os níveis de energia do núcleo se encontram praticamente degenerados, devido à baixa intensidade deste campo. Para que ocorra o desdobramento destes níveis é necessário introduzir a amostra num campo magnético externo (B_0) de maior intensidade e numa direção preferencial. Nessa condição os núcleos magnéticos se

orientam tanto a favor quanto contra ao campo aplicado, de acordo com seus spins. Os núcleos que se orientam a favor de B_0 preenchem um nível de menor energia, enquanto que os núcleos que se orientam contra B_0 ficam alocados num nível de maior energia. A diferença de população destes níveis segue a distribuição de Maxwell-Boltzman, sendo que a diferença de energia entre esses níveis será tanto maior quanto maior for o B_0 aplicado. Como consequência, o nível de menor energia será mais populado, e as transições serão observadas com maior sensibilidade.

Dentro da espectroscopia por RMN, duas subdivisões são amplamente empregadas, sendo elas a de baixa resolução ($B_0 < 1,5$ T) e a de alta resolução ($B_0 > 1,5$ T). A primeira delas envolve campos magnéticos externos de baixa intensidade e pouco homogêneos, e utiliza como principal informação para diferenciação entre compostos diversos, os tempos de relaxação longitudinal (T_1) e transversal (T_2).

Através da segunda, na qual são empregados imãs de campo magnético intenso e com boa homogeneidade, é possível realizar um estudo muito mais refinado, baseado em mínimas alterações de estrutura química, que resultam em diferenças de deslocamento químico e acoplamento escalar. O avanço da tecnologia tem permitido a obtenção de campos magnéticos cada vez mais intensos e homogêneos, através de imãs supercondutores, e que tornaram esta técnica muito mais sensível em relação aos primeiros experimentos realizados com uso da mesma. Com isso tornou-se possível a obtenção de espectros muito melhor resolvidos, e com um número de informações muito superior aos experimentos feitos em campos mais baixos. A partir daí um número enorme de aplicações desta técnica têm sido propostas, nas mais diversas áreas como química, bioquímica, materiais, entre tantas outras. Do ponto de vista de custo, esse avanço tecnológico nem

sempre pode ser acompanhado, pois requer um enorme investimento, tanto na aquisição (em torno de US\$ 1 mi), quanto na manutenção destes equipamentos, com recargas criogênicas (em torno de US\$ 5 mil ano/equipamento).

Obviamente, a escolha por qualquer uma dessas modalidades, em espectroscopia, leva em conta a natureza do problema a ser resolvido. Quando o problema é conhecido, como por exemplo, a determinação do teor de óleo em sementes, ou o de açúcar em frutas, ou ainda a monitoração de processos dinâmicos como mudanças de viscosidade, a RMN de baixa resolução é perfeitamente aplicável. No entanto, quando se deseja obter informações sobre mínimas alterações estruturais, é necessária a utilização da RMN de alta resolução, que se utiliza de informações como deslocamento químico e acoplamento escalar. Vale lembrar que em termos de custo, a RMN de baixa resolução é incomparavelmente mais acessível que a de alta resolução, e o seu uso tem sido cada vez mais e melhor explorado em análises de rotina. Um aparelho de baixo campo custa em média US\$ 50 mil, e quase não requer manutenção. Além disso, a sofisticação da eletrônica e o desenvolvimento de muitas técnicas dentro da RMN procuram minimizar os problemas com a sensibilidade da técnica, nos experimentos realizados por RMN de baixa resolução. Entre elas as mais comumente empregadas, devido à sua simplicidade, estão as técnicas de eco.

Dentre todas as técnicas de RMN, além das técnicas de eco de spin, existe a precessão livre no estado estacionário (SSFP, steady-state free precession), a qual foi desenvolvida por Carr, em 1958³. Ela foi inicialmente desenvolvida para melhorar a razão sinal/ruído (S/R) em espectroscopia, mas permaneceu pouco utilizada por um longo período, sendo encontradas apenas algumas aplicações para o estudo de fluxo⁴, e determinação de tempos de relaxação⁵. Paralelamente, a

principal aplicação da SSFP foi desenvolvida na aquisição rápida de imagens por RMN ^{6 7}. Mais recentemente, o uso desta técnica em espectroscopia foi redescoberto, com algumas modificações, e proposto para várias aplicações ^{8, 9, 10}. Neste trabalho a compreensão desta técnica modificada, bem como o desenvolvimento de algumas aplicações, tanto em RMN de baixa resolução, quanto em alta resolução, serão apresentados.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. O regime de precessão livre no estado estacionário

A descrição teórica do estado estacionário em precessão livre foi inicialmente proposta por Carr ³ e também, um pouco mais tarde, por Ernst e Anderson¹¹. Todo o desenvolvimento matemático tem base nas equações de Bloch.

O regime de estado estacionário pode ser estabelecido quando um sistema de spins é submetido a um trem de pulsos de mesma fase, duração e intensidade, e espaçados por um mesmo intervalo de tempo (T_p). Neste caso, as componentes da magnetização se comportam como funções periódicas do tempo com o período T_p .

Durante o tempo de duração do pulso (τ), o qual é muito menor que os tempos de relaxação (T_1 e T_2), pode se considerar que não ocorre qualquer tipo de relaxação.

Cada pulso da seqüência aplicado irá deslocar a magnetização resultante, fazendo-a girar ao redor de x' (do sistema de coordenadas girantes).

Esse deslocamento é descrito por um ângulo de rotação, α , formado entre o vetor magnetização e o eixo z; e é definido pela seguinte equação:

$$\alpha = \gamma B_1 \tau \quad (\text{Equação 1})$$

onde γ é a razão magnetogírica, B_1 é o campo oscilante, e τ é o tempo de duração do pulso. Associado à rotação da magnetização M ao redor do eixo x' existe um operador $R_x(\alpha)$, que aplicado à magnetização no equilíbrio térmico (M_0) resultará na magnetização imediatamente após o pulso (M):

$$M = R_x(\alpha)M_0 \quad (\text{Equação 2})$$

Com o término do pulso, a magnetização M^+ irá precessionar durante o intervalo de tempo T_p ao redor do eixo z. Um ângulo de precessão, ψ , está relacionado à frequência de precessão desta magnetização, e é formado entre a projeção da magnetização no plano $x'y'$ e o eixo y' . A equação que descreve esse movimento é dada por:

$$\psi = (\omega - \omega_0)T_p \quad (\text{Equação 3})$$

na qual, ω_0 é a frequência no referencial rotativo. A diferença entre essas duas frequências de precessão pode ser dada por $\Delta\omega = \omega - \omega_0$

A Figura 1 mostra o modelo vetorial de todo o processo descrito até o momento, para o comportamento da magnetização. O pulso é aplicado em x' .

Figura 1. Modelo vetorial para o comportamento da magnetização durante o processo: **(a)** equilíbrio térmico; **(b)** durante o pulso; **(c)** após o pulso - durante T_p .

Durante o intervalo de tempo entre os pulsos (T_p), ocorre, além da precessão da magnetização ao redor do eixo z , a relaxação do sistema de spins, como mostra a Figura 1c. A intensidade da componente transversal da magnetização irá decair com uma constante de tempo T_2 ; enquanto que a componente longitudinal crescerá com uma constante de tempo T_1 . Vale lembrar que o decaimento da componente transversal ignora qualquer efeito de não homogeneidade do campo magnético. Para descrever todo o processo de relaxação existe um operador S , que é uma função dos tempos de relaxação T_1 e T_2 , e ainda do intervalo de tempo T_p ; como mostra a sua definição^{3,11}:

$$S(T_p, T_1, T_2) = \begin{vmatrix} E_2(T_p) & 0 & 0 \\ 0 & E_2(T_p) & 0 \\ 0 & 0 & E_1(T_p) \end{vmatrix} \quad (\text{Equação 4})$$

$E_2(T_p)$ e $E_1(T_p)$ são parâmetros de relaxação, sendo $E_2(T_p) = e^{-\frac{T_p}{T_2}}$ e

$$E_1(T_p) = e^{-\frac{T_p}{T_1}}.$$

Para um tempo t qualquer, durante o intervalo de tempo T_p , a magnetização resultante pode ser obtida através da seguinte equação:

$$M(t) = M_0(1 - E_1(t)) + M^+ R_z(\psi) S(T_p, T_1, T_2) \quad (\text{Equação 5})$$

na qual $R_z(\psi)$ é um operador que descreve a rotação em torno do eixo z . Esse operador é descrito por uma matriz dada por:

$$R_z(\psi) = \begin{vmatrix} \cos \psi & \sin \psi & 0 \\ -\sin \psi & \cos \psi & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{vmatrix} \quad (\text{Equação 6})$$

Com a equação 5 é possível determinar a intensidade da magnetização em qualquer intervalo de tempo. Para atingir o regime de estado estacionário a magnetização antes do pulso deve ser igual a $M(t)$ no intervalo T_p .

De forma geral, as componentes da magnetização em cada uma das orientações do sistema de coordenadas girantes são dadas pelas equações a seguir:

$$M_{x'}^- = \frac{M_0(1 - E_1)[E_2 \sin \alpha \sin \psi]}{D} \quad (\text{Equação 7})$$

$$M_{y'}^- = \frac{M_0(1 - E_1)(E_2 \sin \alpha \cos \psi - E_2^2 \sin \alpha)}{D} \quad (\text{Equação 8})$$

$$M_z^- = \frac{M_0(1 - E_1)[1 - E_2 \cos \psi - E_2 \cos \alpha(\cos \psi - E_2)]}{D} \quad (\text{Equação 9})$$

$$M_{x'}^+ = M_{x'}^- \quad (\text{Equação 10})$$

$$M_{y'}^+ = \frac{M_0(1 - E_1)[(1 - E_2 \cos \psi) \sin \alpha]}{D} \quad (\text{Equação 11})$$

$$M_z^+ = \frac{M_0(1 - E_1)[E_2(E_2 - \cos \psi) + (1 - E_2 \cos \psi) \cos \alpha]}{D} \quad (\text{Equação 12})$$

$$D = [(1 - E_1 \cos \alpha)(1 - E_2 \cos \psi)] - [(E_1 - \cos \alpha)(E_2 - \cos \psi)E_2] \quad (\text{Equação 13})$$

No caso em que $T_p \ll T_1, T_2$ e $\psi = (2n+1)\pi$, onde n é um número inteiro, as componentes da magnetização no eixo y' , regidas pelas equações 7 e 10, atingem um valor máximo e são proporcionais à razão T_2/T_1 , de acordo com a seguinte equação:

$$|M_{y'}^-| = |M_y^+| = \frac{M_0 T_2}{(T_1 + T_2)} \quad (\text{Equação 14})$$

Entretanto, quando a magnetização transversal não decai a zero, durante o intervalo de tempo entre os pulsos, ou seja, $T_p < T_2, T_1$, o sistema de spins atinge não somente o regime de estado estacionário, como restabelece a intensidade da magnetização transversal antes de cada pulso sob a forma de eco, aqui representado pela magnetização M^- . Freeman e Hill¹² relacionaram esse fenômeno ao eco de dois pulsos de 90° proposto inicialmente por Hahn¹³.

A Figura 2 mostra um modelo tridimensional do eco descrito por Hahn¹³ para uma seqüência de pulsos $90^\circ - T_p - 90^\circ$. Notar que há inversão dos eixos no sistema de coordenadas girantes, para facilitar a visualização da trajetória descrita pelas isocromatas formando o eco “bola oito”. A Figura 2a mostra a magnetização resultante no equilíbrio térmico em $t=0$. Na Figura 2b observa-se que após o primeiro pulso a magnetização se desloca um ângulo de 90° formado com o eixo z , até atingir o plano $x'y'$. Durante o intervalo de tempo T_p , a magnetização se defasa $\Delta\omega T_p$ no plano $x'y'$, devido à heterogeneidade do campo magnético, conforme ilustra a Figura 2c. Ao final do intervalo de tempo T_p , um segundo pulso de 90° é aplicado deslocando os momentos magnéticos do plano $x'y'$ para o plano $x'z$, conforme mostra a Figura 2d. Ao longo do novo intervalo T_p , a magnetização dispersa, pela heterogeneidade do campo magnético, vai precessar $\Delta\omega T_p$ ao redor de z , sendo refocalizada em $2T_p$, conforme mostra a Figura 2e.

Figura 2. Modelo vetorial proposto por Hahn para descrever o eco formado por dois pulsos de 90° .¹³

Freeman e Hill¹² realizaram uma série de experimentos (Figura 3) em que foram introduzindo outros pulsos de 90° igualmente espaçados, até atingir a condição de estado estacionário.

Na Figura 3a observa-se que, para dois pulsos de 90° ocorre um eco negativo a $2T_p$. Com três pulsos (Figura 3b), o terceiro aplicado exatamente sobre o pico do eco, o sinal decai e ocorrem um eco em $3T_p$, mais intenso, e outro em $4T_p$. Quando se aplica uma sequência de quatro ou mais pulsos igualmente espaçados

(Figura 3c e Figura 3d) é possível observar o estabelecimento da condição de estado estacionário, onde cada pulso é precedido de uma metade de eco negativo e seguido de um FID positivo. Essa refocalização é consequência direta do estabelecimento do estado estacionário, quando são usados intervalos de pulsos comparáveis com T_2 .

Figura 3. Espectros de RMN ^1H da água obtidos a partir de um trem de pulsos de 90° igualmente espaçados por um intervalo T_p ¹².

Assumindo uma dispersão da magnetização transversal, causada pela não homogeneidade do campo magnético, pode-se simular também o comportamento do sinal de RMN no estado estacionário por M^+ e M^- , de acordo com parâmetros experimentais. A influência da heterogeneidade de B_0 pode ser representada por uma distribuição lorentziana, descrita pela seguinte equação ¹²:

$$f(\omega_0) = \frac{T_2^*}{\pi [1 + (\omega - \omega_0)^2 T_2^{*2}]} \quad (\text{Equação 15})$$

sendo que $f(\omega_0)$ é uma função de distribuição de freqüências, e o termo $\omega - \omega_0$ se refere à defasagem em relação à freqüência central.

Impondo uma distribuição lorentziana, dada pela equação 15, à magnetização no estado estacionário, descrita pelas equações 10 e 11, Freeman e Hill¹² simularam espectros de RMN no estado estacionário para diferentes condições de homogeneidade de campo. Os resultados são mostrados na Figura 4.

Figura 4. Simulação do sinal de RMN no estado estacionário para diversas condições de homogeneidade¹².

Nessa simulação, pode-se observar o efeito da refocalização das componentes transversais da magnetização. Para um campo magnético cuja homogeneidade é tal que $T_2^*/T_p=2$, a amplitude do sinal entre os pulsos permanece

constante, levando a um regime de onda contínua, que é uma condição especial da SSFP.

Esse mesmo efeito foi demonstrado por Azeredo e colaboradores⁸, onde se fixou uma determinada homogeneidade e os pulsos foram aproximados pela diminuição do intervalo de tempo T_p . Neste trabalho os autores descrevem uma aplicação onde a seqüência aplicada consiste de um trem de pulsos $\pi/2$, separados por um intervalo de tempo (T_p), muito mais curto que T_2^* .

Em seus experimentos e simulações teóricas foi observado um comportamento de onda contínua para a magnetização, quando um T_p muito mais curto que T_2^* era usado. Nessas condições, as componentes da magnetização correspondentes ao decaimento de indução livre (FID), e ao eco, têm a mesma amplitude, e se sobrepõe numa onda contínua. A Figura 5 mostra esse comportamento de forma bastante clara.

Figura 5. Espectros de RMN-¹H no estado estacionário de óleo vegetal com $T_1=138$ ms, $T_2=53$ ms. Imã com $T_2^*=0,5$ ms; ângulo de precessão $\psi=\omega T_p=(2n+1)\pi$, onde n é um número inteiro. T_p varia de A a H por respectivamente: 500,1; 108,3; 56,1; 29,1; 15,5; 2,7; 0,9 e 0,3ms⁸.

No instante zero, no eixo das abscissas, temos a aplicação do pulso, sendo que antes deste aparece a componente eco, e depois do pulso a componente FID. Nos casos em que T_p é maior ou da ordem dos tempos de relaxação do sistema em estudo, a componente FID predomina. Conforme o T_p fica mais curto, a componente eco passa a ter uma maior contribuição, até o caso em que as duas componentes se sobrepõem numa onda contínua, como mostra os espectros G e H.

Com essas condições é possível alcançar um regime especial de estado estacionário, e adquirir milhares de espectros em um tempo da ordem de T_1 , aumentando sensivelmente a razão sinal/ruído, com um ganho substancial na sensibilidade. Aproveitando um ganho de sensibilidade dessa natureza, foi proposta uma técnica bastante simples, e de baixo custo para medir o teor de óleo e água em sementes.

Os autores fazem ainda uma discussão com relação a uma outra propriedade importante da técnica de estado estacionário, que relaciona a independência da amplitude do sinal com os tempos de relaxação. A amplitude do sinal das espécies examinadas independe da mobilidade molecular dessas espécies, comparando resultados obtidos a partir de amostras de óleo e água.

Como mencionado anteriormente, o sinal CWFP é uma combinação de duas componentes, FID (M^+) e eco (M^-), sempre defasadas em 180° . Dependendo da forma como essas componentes se combinam entre si, pode haver uma interferência construtiva ou destrutiva, dependendo do ângulo de defasagem. Uma interferência construtiva leva ao máximo de sinal, o qual é obtido quando se trabalha em uma condição onde o ângulo de defasagem corresponde a um múltiplo ímpar de π , $\psi = (2n+1)\pi$, porque ambas as componentes M^- e M^+ estão em fase, neste caso. A interferência destrutiva resulta em um sinal nulo, porque a componente M^- ,

relacionada ao sinal de eco, que ocorre com uma defasagem de 180 graus em relação a componente M^+ , relacionada ao sinal do FID, a qual é obtida quando em um ângulo de offset com um múltiplo par de π , $\psi = 2n\pi$.

A interferência entre M^+ e M^- , a qual modula a amplitude do sinal CWFp, pode ser representada na Figura 6. Para um ângulo de defasagem de 5π , Figura 6 parte superior, o sinal é máximo; e para 4π , Figura 6 parte inferior, o sinal resultante da interação entre os dois sinais com mesma amplitude, mas com fases opostas, é mínimo. Dessa forma, o valor da frequência de defasagem e o intervalo de tempo T_p devem ser otimizados como uma função desse comportamento, o qual pode ser verificado pela determinação do perfil de excitação da sequência de pulsos.

Figura 6. Sinal CWFp resultante da combinação entre as componentes FID e eco, como uma dependência do ângulo de offset ¹⁴.

Figura 7. Amplitude do sinal de CWFP normalizada como uma função do ângulo de defasagem, ψ , para vários ângulos de excitação α : ($\blacktriangledown$) 45° , ($\blacktriangle$) 80° , ($\blacksquare$) 90° e ($\bullet$) 100° . a) Experimental e b) sinais simulados para uma solução $0,02 \text{ mol.L}^{-1} \text{ CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ em água⁸.

O perfil de excitação da seqüência de pulsos CWFP pode ser experimentalmente obtido pela variação da frequência de offset, e teoricamente pela resolução das equações de Bloch, ambos os resultados são perfeitamente correlacionados, como mostra a Figura 7. Analisando o gráfico mostrado na Figura 7, o qual representa o sinal de CWFP como uma função do ângulo de defasagem, ψ , pode-se observar que é possível estimar o sinal.

Em um trabalho mais recente ⁹, também publicado por Azeredo e colaboradores, foi demonstrado que um estado quase estacionário é alcançado após um tempo de aproximadamente 10 ms, o que significa a aplicação de um trem de pulsos com mais de 30 pulsos (p1) separados por um período de 300 μs , como mostra a Figura 8. Esses resultados foram obtidos com o uso de um campo não homogêneo, mas o mesmo comportamento foi observado para campos mais homogêneos.

Figura 8. Estabelecimento do regime quasi-estacionário em CWFP para uma amostra de água com $T_2 = 2,7$ s: **(a)** $\psi = 4\pi$; **(b)** $\psi = 5\pi$. Nos dois casos os espectros foram obtidos sem promediações e usando um $T_p = 300$ μ s, e janela de aquisição de 15 ms⁹.

Existem vários métodos descritos na literatura que corrigem essas flutuações e promovem um alcance mais rápido do regime de estado estacionário^{15,16,17}. Estes trabalhos se baseiam na variação linear do ângulo de rotação, ou mais precisamente da largura de pulsos, que é realizada em blocos, e com o objetivo de transferir, para cada frequência, a magnetização longitudinal inicial ao regime de estado estacionário. Os trabalhos encontrados na literatura não descrevem de forma clara como se estabelece este estado quasi-estacionário, e quais variáveis estão envolvidas neste processo. Um trabalho recente discute este regime de forma teórica e experimental, mas com aplicação em ressonância magnética quadrupolar¹⁸. Um estudo teórico foi feito neste trabalho e será discutido mais adiante.

Naquele mesmo trabalho, Azeredo e colaboradores⁸ exploram o uso da CWFP como ferramenta analítica em medidas por RMN de baixa resolução. Neste artigo é mostrado que um ganho de cerca de 40 vezes na razão sinal/ruído é alcançado em comparação a técnicas convencionais, como FID e eco, para

determinados tempos de aquisição. Essa vantagem é aplicada praticamente em qualquer análise por RMN de baixa resolução. Isso se aplica não somente a amostras líquidas de baixa viscosidade, mas também a sistemas multicomponentes onde a diferença nos tempos de relaxação de cada componente permite uma separação das contribuições individuais.

2.2. Anomalias de fase e intensidade em SSFP (steady-state free precession)

Ernst e Anderson¹¹ avaliaram as condições para se obter a máxima razão S/R em espectros de RMN de alta resolução. Empregaram a técnica de pulsos e transformada de Fourier, obedecendo ao compromisso entre resolução espectral e tempo de aquisição. Observaram que o sinal apresentava anomalias de intensidade e de fase do sinal no espectro transformado, para situações onde o tempo de repetição dos pulsos (T_p) é da ordem do tempo de relaxação transversal (T_2), condição esta para a formação do eco do estado estacionário. Sugeriram que, para a solução do problema, o tempo mínimo de T_p deveria ser de pelo menos três vezes o valor de T_2 .

Freemann e Hill¹² propuseram algumas modificações na seqüência de pulsos em que se estabelece o estado estacionário, para solucionar os problemas de anomalias de fase e intensidade, observadas anteriormente por Ernst e Anderson¹¹ nos casos em que se trabalhava em campos não homogêneos. O objetivo deste trabalho foi o de melhorar a razão S/R em espectros de alta resolução. Foi demonstrado que para dois pulsos de 90° , separados por um tempo T_p , a magnetização antes de cada pulso é refocalizada sob a forma de eco. Este eco seria um dos fatores responsáveis para o aparecimento das anomalias de intensidade e

de fase; e para suprimi-lo foi introduzido à sequência de pulsos um tempo de retardo aleatório.

Na Figura 9a está a formação do eco no sinal de RMN, e na Figura 9b quando foi incluído um tempo de retardo aleatório entre os pulsos para eliminar a componente eco do sinal.

Figura 9. Ecos no estado estacionário no FID de iodeto de metila enriquecido com ^{13}C . (a) Com tempo de repetição constante entre os pulsos; (b) Com tempo de repetição, com retardo aleatório entre os pulsos¹².

Na Figura 10a está o efeito de anomalia de fase e de amplitude, causada pela transformada de Fourier do sinal. Na Figura 10b, tem-se a introdução de retardo aleatório entre os pulsos, demonstrando a eliminação dos problemas de anomalia de fase. Já a Figura 10c, os retardos foram introduzidos em blocos de 64 varreduras, melhorando ainda mais a qualidade espectral.

Figura 10. Espectros de RMN- ^{13}C com transformada de Fourier de iodeto de metila observado no regime de estado estacionário com $T_p=0,4$ s: **(a)** Espectro com T_p constante, **(b)** T_p com incremento aleatório entre cada pulso e **(c)** com incremento aleatório em conjunto de 64 espectros¹².

Com esta técnica esses pesquisadores conseguiram obter espectros com ótima qualidade.

Schwenk¹⁹ publicou no mesmo ano um trabalho que seria complementar aqueles publicados por Ernst & Anderson e também Freeman & Hill. Para solucionar as anomalias de fase e intensidade é proposta uma técnica de estado estacionário combinada, onde T_p é mudado randomicamente após um bloco de pulsos, mas mantido fixo em cada bloco. Com tal mudança de T_p um deslocamento de freqüências de irradiação do espectro é combinado, mas esse deslocamento não é constante em toda a região de freqüências. Para cobrir essa região igualmente com linhas de irradiação, um grande número de blocos com T_p randomicamente mudado é necessário; no começo de cada bloco um novo estado estacionário é atingido. Como o sinal de RMN é sempre combinado com a mesma freqüência de irradiação, o resultado de todos os blocos pode ser "filtrado" antes de calcular a transformada de Fourier. Uma mudança da freqüência de irradiação, como

usada na técnica proposta por Schwenk, desloca todas as linhas de irradiação do espectro pela mesma magnitude; portanto somente quatro (ou três) medidas devem ser realizadas, e somente quatro (ou três) vezes o tempo morto para estabelecer o estado estacionário é perdido.

Métodos mais recentes propõem algumas modificações na sequência de pulsos SSFP, baseadas na ciclagem de fases dos pulsos, como uma alternativa para corrigir as anomalias de intensidade e outros artefatos em imagens^{20, 21}. Essas modificações vêm sendo propostas principalmente por Rudakov e vários outros colaboradores^{22, 23, 24, 25, 26, 27} com aplicação na detecção de entorpecentes e explosivos usando NQR (*nuclear quadrupole resonance*). Os trabalhos de Rudakov tratam apenas da correção das anomalias de intensidade com base na observação dos sinais relativos às componentes FID e eco em SSFP, principalmente no domínio do tempo. Isto porque o objetivo das técnicas é o de combinar as componentes FID e eco, de forma a se obter um ganho na amplitude do sinal de SSFP para medidas quantitativas. No entanto, foi observado em alguns experimentos, que serão apresentados mais tarde, que é possível corrigir os problemas de fase gerados pela sequência de pulsos convencional por meio da ciclagem de fases.

2.3. Aplicações já desenvolvidas da SSFP e CWFP para espectroscopia

Foram desenvolvidas algumas aplicações para a SSFP e sua variante CWFP, sendo que elas foram direcionadas principalmente para a RMN de baixa resolução. As técnicas são utilizadas principalmente para a análise quantitativa, por serem rápidas, apresentarem uma alta razão sinal/ruído, e também uma fácil implementação. A sensibilidade ao fluxo também levou a aplicações interessantes

no estudo de processos dinâmicos. Os trabalhos envolvendo SSFP desenvolvidos para RMN de alta resolução são raramente encontrados na literatura. No entanto, é possível, como será demonstrado posteriormente, que a variante da técnica (CWFP) seja utilizada para a supressão de sinais intensos de solvente, com algumas possíveis vantagens em relação técnicas às mais comuns.

2.3.1. Análise quantitativa

Azeredo e colaboradores ^{8, 9} exploram o uso da CWFP como ferramenta analítica em medidas por RMN de baixa resolução. Nestes trabalhos é mostrado que um ganho de cerca de 40 vezes na razão sinal/ruído é alcançado em comparação a técnicas convencionais, como FID e eco, para determinados tempos de aquisição. Essa vantagem é aplicada praticamente em qualquer análise por RMN de baixa resolução. Isso se aplica não somente a amostras líquidas de baixa viscosidade, mas também a sistemas multicomponentes, onde a diferença nos tempos de relaxação de cada componente permite uma separação das contribuições individuais.

Comparada à técnica de FID, promediada em uma taxa determinada por $5T_1$, a qual permite capturar a magnetização total, o ganho na razão S/R em CWFP para o mesmo tempo total de aquisição pode ser da ordem de $(5T_1/t_w)^{1/2}T_2/(T_1+T_2)$. Para pulsos de $\pi/2$ seria mais eficiente a promediação do FID à uma taxa próxima de $1/T_1$, o que nem sempre é possível em determinações quantitativas. Uma vez que T_1 é usualmente não conhecido, e pode nem sempre ter um único valor para um sistema multicomponente, o procedimento padrão para

capturar a magnetização total é usualmente adotado, e foi usado em suas comparações⁸.

A Figura 11a apresenta o sinal de FID de ^1H de uma amostra de óleo vegetal adquirido com um tempo total de aquisição de 1,38 s. Foram feitas apenas duas aquisições, com um tempo de repetição de $T_p=5T_1=690$ ms. O sinal de FID apresenta uma baixa intensidade, e praticamente não é possível distingui-lo do ruído. Na Figura 11b, o sinal de CWFP foi adquirido 657 vezes durante o mesmo período de 1,38 s, a razão S/R aumenta significativamente. No entanto, o óleo vegetal não é o melhor exemplo para testar a capacidade da CWFP em aumentar a razão S/R em análise quantitativa, já que $S/R \propto \sqrt{T_1}$.

Figura 11. Sinais de RMN- ^1H de uma amostra de 2,2 mg de óleo de girassol: a) experimento FID adquirido com $T_p=5T_1=690$ ms, pulso de excitação $\alpha=\pi/2$, $N=2$; b) sinal de CWFP adquirido com um $T_p=0,3$ ms, $t_w=2,1$ ms, $\alpha=\pi/2$ e $N=657$. O tempo total de análise em ambos os casos foi de 1,38 s⁸.

Para um dado tempo de aquisição, o ganho na razão S/R em CWFP comparado com sinal promediado do FID à uma taxa determinada por $5T_1$, é mais dramático para amostras com T_1 mais longos. Usando uma janela de aquisição de $t_w=6T_p$ e $T_p=0,3$ ms em uma amostra de água pura, por exemplo, onde $T_1=2,85$ s e

$T_2=2,76$ s, um ganho típico da ordem de $(5T_1/t_w)^{1/2}T_2/(T_1+T_2)\approx 40$ foi possível. Em amostras com T_1 mais curtos, tais como óleos vegetais, o ganho não foi tão grande, mas substancial.

Um aspecto importante da SSFP, especialmente levando em conta a sua aplicação em análise quantitativa, é que a amplitude do sinal das espécies examinadas pode ser amplamente independente da mobilidade molecular sobre uma considerável faixa. Na maioria dos casos de interesse pode-se assumir que a condição $T_p \ll T_1, T_2$ pode ser satisfeita para as espécies de interesse. Foi demonstrado, através de curvas de calibração, que a amplitude do sinal de CWFP é proporcional à concentração do analito. A Figura 12 apresenta a variação da amplitude do sinal em função da massa de óleo contida em sementes de ervilha, na qual se pode observar um comportamento bastante linear.

Figura 12. Amplitude do sinal de SSFP para núcleo de ^1H em sementes de ervilha da mesma espécie, mas com diferentes tamanhos. O conteúdo de óleo de cada semente foi posteriormente determinado por uma extração em Soxhlet por 24h com tetracloreto de carbono⁸.

2.3.2. Medidas em fluxo

Ressonância Magnética Nuclear é uma poderosa ferramenta para estudar fluxo e difusão²⁸. Um dos principais objetivos destes estudos é monitorar o transporte de fluídos, tanto em escala microscópica²⁹ quanto em escala macroscópica, em que gradientes externos de concentração ou pressão estão presentes³⁰. Em particular, steady-state free precession (SSFP) tem mostrado ser muito eficiente em casos específicos de imagens médicas por ressonância magnética^{4, 6}. Uma das características mais marcantes da SSFP é sua sensibilidade ao fluxo na presença de um gradiente de campo magnético, G , aplicado ao longo da direção do fluxo. Infelizmente, o problema se torna difícil de tratar analiticamente e têm sido feitas aproximações usando métodos como Monte Carlo (MC) e outros^{6, 31}. Para uma dada isocromata com velocidade, v , o ângulo de precessão durante o intervalo T_P não é sempre constante, mas cresce de acordo com $\phi = \gamma G v T_P^2$ na qual a cada novo intervalo a fase, ϕ , varia. Como uma consequência a invariância no intervalo de tempo translacional é perdida, e um estado estacionário, mais simples, prevalece na ausência de fluxo, nem sempre existindo.

A sensibilidade da CWFP ao fluxo foi estudada por Azeredo e colaboradores¹⁰, e foi verificado que a curva que determina a amplitude do sinal de CWFP em função da velocidade do fluxo é dependente do offset, como pode ser verificado na Figura 13. Com isso é necessário um ajuste adequado deste parâmetro, para que a sensibilidade ao fluxo seja ótima.

Figura 13. Variação da amplitude do sinal CWFP em função do fluxo. Em (a) resultados simulados para vários ângulos de offset ψ ($\circ$) $(2n+1)\pi$; ($\triangle$) $2n\pi$; (∇) $(2n+1/4)\pi$. Em (b) resultados simulados (linhas cheias) confrontados com experimentais (símbolos) em dois ângulos de offset para fluxo de água: ($\bullet$) 5π ; ($\blacktriangledown$) $23/4\pi$ ¹⁰.

2.3. Relaxometria aplicada ao estudo da cura de resinas e reações de polimerização

Em RMN relaxometria é o termo utilizado para as técnicas que avaliam processos dinâmicos através do monitoramento das taxas de relaxação, ou tempos de relaxação (T_1 e T_2). Incluem-se nestes processos dinâmicos a maturação de alimentos³² (carnes e frutas, principalmente), variações de viscosidade do meio, solidificação de materiais, etc. Um exemplo da potencialidade do uso desta técnica é

o acompanhamento do tempo cura de resinas, inclusive com aplicações em odontologia^{33, 34}. Várias técnicas têm sido utilizadas para o estudo deste processo³⁵ e a RMN têm se mostrado como uma importante e mais versátil ferramenta^{36, 37, 38, 39, 40}.

Através da RMN é possível acompanhar a reação de polimerização, tanto do ponto de vista cinético, quanto no que diz respeito a variações na mobilidade das cadeias, e interações entre elas^{38, 40}. A cinética da reação pode ser acompanhada pelo monitoramento do sinal de RMN com o tempo, em geral o sinal de FID, que tende a diminuir com o consumo dos reagentes e solidificação do material. Já a mobilidade das cadeias, a formação de ligações inter cruzadas, e uma conseqüente alteração nas interações intra e intermoleculares, podem ser acompanhadas pelo monitoramento dos tempos de relaxação T_1 e T_2 , principalmente T_2 , que está diretamente relacionado à mobilidade dos núcleos.

Este monitoramento pode ser feito tratando o decaimento do sinal de RMN, gerado na medida dos tempos de relaxação, como sendo mono-exponencial. No entanto, alguns trabalhos sobre o processo de cura de resinas epóxi tratam o decaimento do sinal a partir de duas componentes, ou seja, um decaimento bi-exponencial^{36, 37}. Uma das componentes é mais lenta, e está relacionada à parte dos reagentes que ainda não foi consumida. A outra componente, mais rápida, se refere ao produto da reação já solidificado.

2.4. Difusividade térmica em materiais

A relação entre a mudança de temperatura (θ) com o tempo, em um campo tridimensional de temperatura não estacionário, é derivada da Primeira Lei da

Termodinâmica e da lei de Biot-Fourier, e é expressa por uma equação diferencial de condução de calor a qual, na ausência de fontes internas de calor, na forma:

$$\frac{\partial \theta}{\partial t} = \frac{1}{\rho C_p} \text{div}(\kappa \text{grad} \theta) \quad (\text{Equação 16})$$

Para $\kappa=f(\theta)$ em que κ é a condutividade térmica (W/m.K), C_p é a capacidade calorífica (ou J/(kg K)) e ρ é a densidade de massa, ou ainda:

$$\frac{\partial \theta}{\partial t} = \lambda \nabla^2 \theta \quad (\text{Equação 17})$$

Para $\kappa=\text{constante}$ e $\lambda=\kappa/\rho C_p$, onde λ é a difusividade térmica (m²/s) e ∇^2 é o operador Laplaciano.

Neste caso particular, o campo de temperatura é entendido como a distribuição média de temperatura do material no espaço em função do tempo, e é expressa na forma $\theta = f(x, y, z, t)$. A propagação do calor pode ser representada por uma função de onda espaço-temporal ψ , como:

$$\frac{1}{u_t^2} \frac{\partial^2 \psi}{\partial t^2} = \nabla^2 \psi \quad (\text{Equação 18})$$

onde u_t é a velocidade de propagação de um processo de onda térmica (m/s). E a dependência da função de onda com a temperatura se torna:

$$\psi(x, y, z, t) = \nu_0 \theta(x, y, z, t) \quad (\text{Equação 19})$$

onde $\nu_0=\text{constante}$ é a frequência da onda térmica (s).

As seguintes relações apresentadas pela equação 19:

$$\begin{aligned} \nabla \psi(x, y, z, t) &= \nu_0 \nabla \theta(x, y, z, t) \\ \nabla^2 \psi(x, y, z, t) &= \nu_0 \nabla^2 \theta(x, y, z, t) \end{aligned} \quad (\text{Equação 20})$$

a qual irá denotar o significado físico da função de onda, como implicado pela equação 19, como sendo a velocidade da mudança de temperatura. A combinação das equações 17,18 e 19 resulta em:

$$\frac{1}{u_t^2} \frac{\partial^2 \theta}{\partial t^2} - \frac{\partial \theta}{\partial t} = 0 \quad (\text{Equação 21})$$

Esta equação contém apenas derivadas da temperatura com relação ao tempo, e sua solução representa, na forma de uma função exponencial:

$$\theta = \theta_0 e^{\pm \nu_0 t} \quad (\text{Equação 22})$$

Onde o sinal $\pm$ indica, ora o aumento (+), ora a diminuição (-) da temperatura do material (θ_0). Diferenciando a última equação com relação às diferenciais da equação 20, obtém-se a expressão:

$$\frac{1}{u_t^2} \nu_0 - \frac{1}{\lambda} = 0 \quad (\text{Equação 23})$$

A qual resulta na velocidade da onda térmica.

$$u_t = \pm \sqrt{\lambda \nu_0} = \pm \sqrt{\lambda / \tau_0} \quad (\text{Equação 24})$$

Onde τ_0 é o período da onda térmica (s), e o sinal indica a direção da onda térmica, no aumento ou na diminuição da temperatura do material.

Em vários elastômeros, tais como borracha natural, em frequências de Larmor na faixa $\omega_0 / 2\pi \sim 5$ MHz, a condição $\omega_0 \tau_c > 1$ é satisfeita para T_1 abaixo da temperatura ambiente. Aqui τ_c representa o tempo de correlação do movimento, o qual no presente caso, corresponde à reorientação dos segmentos elementares do polímero.

Se uma amostra de polímero uniforme de forma esférica, inicialmente em equilíbrio a uma temperatura θ_0 , é colocada em contato com um banho térmico a

uma temperatura mais baixa θ_b , o tempo de evolução da temperatura local, $\Theta(r,t)$ resultante de fluxo de calor no banho pode ser descrito por uma equação de difusão. Para simetria esférica, a temperatura local $\Theta(r,t)$ obedece à equação:

$$\frac{\partial \Theta}{\partial t} = \frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left(\lambda(\Theta) r^2 \frac{\partial \Theta}{\partial r} \right) \quad (\text{Equação 25})$$

Na qual a difusividade térmica, $\lambda(\Theta)$, é em geral, uma função da temperatura e está relacionada a condutividade calorífica, κ , o calor específico a pressão constante, C_p , e a densidade de massa, ρ , através de ⁴¹:

$$\lambda = \frac{\kappa}{C_p \rho} \quad (\text{Equação 26})$$

Em particular, se a difusividade de calor pode ser assumida como sendo independente da temperatura, no intervalo de interesse, a equação de difusão se transforma numa forma mais simples:

$$\frac{\partial \Theta}{\partial t} = \frac{\lambda}{r} \frac{\partial^2}{\partial r^2} (r\Theta) \quad (\text{Equação 27})$$

Denotando, através do raio de uma esfera, a equação 26 permite uma solução analítica ⁴¹, satisfazendo as condições de fronteira do nosso problema, o qual é dado de forma aproximada por:

$$\frac{\Theta(r,t) - \theta_0}{\theta_b - \theta_0} = 1 + 2 \sum_{n=1}^{\infty} (-1)^n e(-n^2 \lambda \pi^2 t / a^2) \frac{\text{sen}(\pi n r / a)}{\pi n r / a} \quad (\text{Equação 28})$$

na região $t > 0$ e $r < a$.

Em outras palavras, quando a difusividade térmica varia apreciavelmente no intervalo de temperatura de interesse, a equação 25 pode ser resolvida numericamente usando, por exemplo, o método das diferenças finitas de Crank-Nicholson ^{41, 42} com uma dependência com a temperatura $\lambda(\Theta)$.

Como a temperatura local da esfera decresce a partir de um valor uniforme de temperatura, θ_0 , em direção a um valor final de equilíbrio θ_b , a razão dos tempos de relaxação $\Gamma = T_1/T_2$, cresce rapidamente e a amplitude do sinal de CWFP decai a zero. Falando estritamente, não somente a razão dos tempos de relaxação aumenta, como também a magnetização no equilíbrio térmico aumenta com uma taxa limitada por $1/T_1$. No entanto, dado que as variações em M_0 são pequenas no problema presente, o efeito é praticamente negligível.

Se a variação da razão T_1/T_2 é pequena comparada com $1/T_s$, a amplitude do sinal CWFP, em função do tempo, pode ser determinado pelo tempo de evolução de uma sucessão de regimes de estado estacionário. Denotando por $\Gamma(\Theta) = T_1(\Theta)/T_2(\Theta)$ a razão de relaxação dependente do tempo, a amplitude do sinal CWFP normalizada $S(t)$ seria dada simplesmente por uma integral sobre todas as cascas esféricas na forma:

$$S(t) = \frac{(1 + \Gamma(\theta_0))}{(4/3)\pi a^3} \int_0^a \frac{4\pi r^2 dr}{1 + \Gamma(\Theta(r, t))} \quad (\text{Equação 29})$$

A correção da variação de M_0 com a temperatura, como predita pela lei de Curie, pode ser levada em conta pela multiplicação do integrando da equação 28 por $\theta_0/\Theta(r, t)$. No entanto, dado a pequena variação da temperatura com a razão dos tempos de relaxação $\Gamma(\Theta)$, a correção resultante é bem pequena.

A equação 28 pode ser usada para determinar a difusividade térmica média de materiais poliméricos. Primeiro a forma funcional de $\Gamma(\Theta)$ deve ser determinada experimentalmente pela medida da razão dos tempos de relaxação, Γ , em várias temperaturas. Uma forma simples de fazer isso é medir a razão $|M_{s+}|/M_0$ para o polímero em equilíbrio em várias temperaturas diretamente a partir da

amplitude do sinal. Além disso, desde que a dependência funcional $\Theta(r,t)$ seja fornecida pela solução da equação de difusão, é possível, usando a equação 28, calcular a dependência com o tempo do decaimento do sinal de CWFV em condições de não equilíbrio.

2.5. O problema do sinal do solvente na RMN de alta resolução em solução

Devido a sua enorme abundância natural (em torno de 99%) e uma alta razão magnetogírica (γ), o hidrogênio (^1H) é um dos núcleos mais estudados em RMN. Mas a presença deste núcleo pode se tornar problemática quando o experimento é realizado em solução, visto que a maioria dos solventes orgânicos e principalmente a água, apresentam hidrogênio na sua composição. Esses problemas podem ser tratados como a interferência no espectro do soluto, o problema da faixa dinâmica do receptor, ("dynamic range"), e ainda um outro, não tão drástico, que se refere ao amortecimento da radiação ("radiation damping"). A seguir é apresentada uma discussão destes problemas.

2.5.1. Interferência espectral

Como, em geral, a concentração de solvente é muito maior que a do soluto o sinal do primeiro domina praticamente todo o espectro, e em muitos casos não é possível observar os sinais referentes aos prótons do soluto.

Inicialmente a utilização de solventes compostos de deutério (^2H), foi altamente difundida, e é uma solução bastante eficiente para o problema em

questão. No entanto, o custo destes solventes é extremamente alto, e em alguns casos o seu uso é praticamente inviável ou impossível.

Um exemplo bastante atual, onde o uso de solventes deuterados sequer é aplicado, é a espectroscopia de RMN aplicada a sistemas 'in vivo', que tem seu uso cada vez maior. Isso porque não há necessidade de destruir a amostra para extrair o objeto de estudo, tornando a análise muito mais rápida que com o uso das técnicas mais convencionais.

Outro exemplo atual, e que atinge um grande número de pesquisas nas áreas de produtos naturais e farmacêutica, é a técnica obtida pelo acoplamento da cromatografia líquida de alta eficiência e da RMN como sistema de detecção (CLAE-RMN). O uso de solventes deuterados para a eluição é praticamente inviável do ponto de vista de custo da análise. Lembrando ainda que numa análise típica de CLAE a eluição é feita com uma mistura de solventes, o que a torna ainda mais complicada.

A determinação de estruturas de proteínas por RMN em solução, cujas pesquisas têm ganhado uma enorme projeção mundial na atualidade⁴³, apresenta também uma grande limitação quanto ao uso de solventes deuterados. Os hidrogênios pertencentes a grupos NH das ligações peptídicas trocam, rápida e facilmente, com os núcleos de deutério, e informações importantes quanto ao sequenciamento das unidades de aminoácidos, na cadeia polipeptídica, são perdidas por conta desse processo. O estudo dessas macromoléculas em solução tem uma grande importância, pois é possível estudá-las num ambiente que se aproxima muito do seu ambiente natural, avaliando sua dinâmica nesses meios, e ainda as conformações assumidas pelas estruturas terciárias e quaternárias.

2.6. Métodos para supressão de sinal de solvente

Recentemente Price⁴⁴ publicou uma extensa revisão, onde são apresentadas dezenas de métodos para a supressão de sinal da água. Neste artigo ele discute cada uma das técnicas desenvolvidas para tal fim, expondo suas vantagens e desvantagens. Em um formato interessante, este autor apresenta separadamente os métodos de supressão segundo suas bases físicas, sendo esses métodos baseados na saturação dos spins do solvente, na destruição da magnetização, métodos que evitam a saturação do solvente, e por fim aqueles métodos baseados no pós-processamento e na detecção seletiva.

Uma das técnicas discutidas neste artigo é a pré-saturação, que é bastante aplicada ainda hoje devido a sua grande simplicidade. Ela consiste na aplicação de um pulso longo, em torno de 1,5 s, e de baixa potência, centrado na frequência do sinal que se deseja suprimir. Este pulso satura os níveis de população dos spins, e como resultado as transições de estado de spin não são observadas. Após este pulso é aplicado um outro, de maior intensidade e mais curto, para fazer a aquisição.

Este método, embora simples, apresenta algumas limitações: além de ocorrer a saturação dos spins de interesse, ocorre também a saturação dos spins devido à troca química, envolvendo os prótons dissociáveis do solvente. Este caso é bastante observado na obtenção de espectros de proteínas, no qual os prótons dos grupos NH trocam com os prótons da água, e todas as informações obtidas a partir deste sinal são perdidas, devido à sua saturação. Além disso, os prótons que absorvem numa frequência muito próxima dos prótons da água também têm seu sinal suprimido. Foram propostas algumas modificações para essa seqüência a fim

de contornar esses problemas. Modificações como a introdução do primeiro incremento de um experimento 2D-NOESY com tempo de mistura bastante curto, aproximadamente zero, foram propostas.

Outra técnica que tem um amplo uso é a chamada “*jump-return*”^{44, 45}. Nesta técnica são aplicados dois pulsos de 90° com diferentes fases (x e $-x$) e separados por um tempo T_p . No primeiro pulso todos os spins são levados à direção $+y$. Durante o tempo T_p os prótons da água permanecem dirigidos ao longo de $+y$ enquanto que os outros spins precessam ao redor de z com uma frequência dada por ωT_p , onde ω é a frequência de offset do solvente. O tempo T_p é escolhido de tal forma que $\omega_{\max} = \pi/2 T_p$, sendo que $\omega_{\max}$ é a frequência dos spins cujo sinal se deseja suprimir. Um segundo pulso traz todos os spins ao plano $x'z$, e o sinal medido é uma senóide dada por $\sin(\omega T_p)$, sendo que a magnetização referente a água deve estar em z . A principal vantagem desta técnica é que, devido à sua simplicidade, ela pode ser inserida em outras seqüências, para que aquisição e a saturação ocorram simultaneamente na mesma seqüência. No entanto, ela produz deslocamentos de fase e introduz artefatos no espectro, piorando a resposta da amplitude e diminuindo a razão sinal/ruído.

O efeito da “*radiation damping*” em experimentos que usam a supressão de água através do método ‘*jump-return*’ foi estudado por Louis-Joseph et al⁴⁶ recentemente. É proposta uma técnica para melhorar a supressão de água via manipulação do sinal residual da água. Através da amplificação eletrônica da “*radiation damping*” a magnetização residual da água é alinhada na direção z , após cada aquisição seguinte ao pulso de leitura da seqüência “*jump-return*”. Este processo permite melhorar a supressão da água, mantendo-a próxima da direção de equilíbrio (z), e ainda reduzir o tempo de espera entre os transientes consecutivos. A

idéia geral é forçar a magnetização da água a se alinhar paralelamente à uma direção bem definida, em geral direção z, para assegurar grande eficiência de um dado pulso de leitura de uma seqüência de supressão de água.

As seqüências binomiais também têm um efeito similar à “*jump-return*”. Nestes tipos de seqüências a amplitude dos pulsos é proporcional aos coeficientes binomiais de $n+1$ pulsos quadrados, separados por mesmos intervalos de tempo entre os pulsos (T_p). Além disso, essas seqüências fornecem largas regiões de excitação próximas de zero na freqüência do solvente, enquanto que os spins do soluto giram por $\pi/2$. Segundo Price existem duas possíveis séries binomiais usando esses coeficientes, cada uma com seus perfis característicos. Séries de pulsos fortes com fase constante (por exemplo, 1-1, 1-2-1, etc.) tem um comportamento do tipo $\cos^n(\pi\nu T_p)$, enquanto que as séries com um deslocamento de fase π para pulsos sucessivos (1- $\bar{1}$, 1- $\bar{2}$ -1, etc) resultam num perfil senoidal do tipo $\sin^n(\pi\nu T_p)$ ⁴⁴. Segundo Claridge², a excitação nestas seqüências não é uniforme, o que limita a aplicação delas à medidas quantitativas; além de ocorrer inversão de fase depois da freqüência de offset do solvente.

Existem ainda métodos baseados em gradientes de campo e pulsos formatados. Esses métodos fornecem as bases das técnicas mais eficientes de supressão de água através da seleção de coerência, difusão diferencial entre o solvente e o soluto, e pela destruição da magnetização. Todos os métodos baseados em gradientes podem ser entendidos a partir da equação de Larmor, e assim para um spin em uma posição $\mathbf{r}$ após a aplicação de um pulso de gradiente $\mathbf{g}$ de duração δ , a fase ϕ será dado por ⁴⁴:

$$\phi(\mathbf{r}) = n\gamma\delta\mathbf{g} \cdot \mathbf{r} \quad (17)$$

onde n é a ordem de coerência. Assim o pulso de gradiente resulta num deslocamento de fase dependente da posição, e a magnitude desse deslocamento é maior para mais altas ordens de coerência.

Um exemplo de aplicação bastante eficiente das técnicas que envolvem gradientes pode ser verificado em um trabalho recente ⁴⁷. Esta técnica, chamada MEGA⁴⁸, com gradientes de campo pulsado fornece melhor seletividade e supressão do sinal da água, mesmo quando as linhas de interesse estão muito próximas do sinal da água (em torno de 1ppm), sem distorção de fase. Para melhorar a qualidade do espectro os autores sugerem um bom ajuste da homogeneidade de B_0 . Neste trabalho o método é aplicado em uma amostra de mamão-papaia, sendo que a medida é feita 'in vivo'.

Um outro exemplo mais antigo usa uma técnica baseada em gradientes para supressão de água em espectroscopia localizada 'in vivo'⁴⁹. Para aplicações 'in vivo', T_1 e homogeneidade de B_1 , dentro de uma amostra podem causar supressão espacialmente não homogênea. A técnica WET, desenvolvida através da análise das equações de Bloch para a magnetização longitudinal sobre os efeitos de uma faixa de T_1 e B_1 , alcança a supressão independentemente de T_1 e da homogeneidade de B_1 , com quatro pulsos de rf, cada um tendo um ângulo de rotação otimizado. O método foi avaliado na análise de tumores cerebrais utilizando um campo de 1,5 T. Já mais recentemente um novo trabalho⁵⁰ propõe uma melhora na técnica WET, a partir de uma modificação na seqüência de pulsos, para promover a supressão de um sinal residual de água.

Inserido nessa classe de métodos está a chamada randomização, onde um pulso de rádio-freqüência é usado para excitar o sinal do solvente, e tornar uma coerência transversal. Essa coerência transversal é então defasada por um pulso de

gradiente. Para a randomização da magnetização do solvente, um forte pulso de $\pi/2$ pode então ser usado como pulso de excitação final, assim resultando numa excitação uniforme com mínima distorção de fase. A técnica de randomização é independente tanto da frequência quanto da forma do sinal; ou seja, esses parâmetros não são pré-requisitos para se obter a supressão do solvente.

Como exemplo destes métodos, Price⁴⁴ apresenta uma série de seqüências de pulso, como por exemplo, a seqüência WATERGATE e suas variantes, que são bastante conhecidas. Novamente discute sobre a seqüência WET, já mencionada anteriormente. Na seqüência WATERGATE a magnetização referente aos spins do soluto são refocalizadas, enquanto que a magnetização da água é destruída por dois pulsos de gradiente. No entanto, a magnetização, alinhada ao longo de $+z$ ou $-z$, não são afetadas pela seqüência, e novas seqüências são propostas para solucionar esse problema ⁴⁴.

Existem ainda os métodos de pós-processamento do sinal, que utilizam pacotes de programas computacionais que fazem um tratamento matemático do espectro obtido. Em geral esses cálculos requerem tempo computacional bastante longo e para tanto, máquinas bastante rápidas devem estar disponíveis. É necessário ainda algum conhecimento prévio do sinal do solvente, como frequência e largura de linha. A maior dificuldade com pós-processamento é que o pico residual da água não pode ser descrito como uma função analítica, principalmente porque sua forma reflete o método usado para supressão; e também por causa da heterogeneidade do campo magnético. Além disso, esses tipos de correções podem introduzir diferentes formas de artefatos, como por exemplo, mudanças na área e na fase do sinal, tornando difícil o assinalamento dos sinais. Nos últimos anos alguns

trabalhos relacionados a estes métodos têm sido publicados explorando as mais diversas aplicações^{51 52 53, 54}.

3. OBJETIVO

O objetivo deste trabalho é o de estudar o estabelecimento do regime de precessão livre de onda contínua (CWFP), visando o desenvolvimento de novas aplicações em RMN de baixa e alta resolução; explorando a potencialidade da técnica na avaliação de processos dinâmicos de grande rapidez; e também na supressão de sinal de solvente em espectros de RMN de alta resolução.

4. EXPERIMENTAL

4.1. Programação da seqüência de pulsos

Nos aparelhos Varian a seqüência CWFP foi inicialmente escrita sob a forma de texto, em linguagem C. Como ponto de partida foi tomada uma seqüência já existente - seqüência de dois pulsos padrão (s2pul), devido a grande semelhança existente entre elas. Essa seqüência foi então adaptada de acordo com as modificações requeridas pela nova seqüência (CWFP), segundo as linhas apresentadas abaixo:

```
#ifndef LINT
static char SCCSid[] = "@(#)s2pul.c 13.1 10/10/97 copyright (c) 1991-1996
Varian Assoc.,Inc. All Rights Reserved";
#endif

/* s2pul - standard two-pulse sequence */

#include <standard.h>

DECLARAÇÃO DAS VARIÁVEIS

pulsesequence()
{
    int n;
    n=getval("n"); (NÚMERO DE PULSOS p1 APLICADOS)
    initval(n,v3);
    loadtable("ssfp"); (TABELA DE FASES)

    ESTÁGIO A: ESTABELECIMENTO DO EQUILÍBRIO DA MAGNETIZAÇÃO (RECYCLE DELAY)

    /* equilibrium period */
```

```

status(A);
delay(d1);

ESTÁGIO B: TREM DE PULSOS (p1) SEPARADOS POR UM TEMPO DE REPETIÇÃO (d2)

/* --- tau delay --- */

status(B);
starthardloop(v3); (INÍCIO DE LOOP, v3 - VARIÁVEL QUE CALCULA O LOOP)
  obsoffset(satfrq); (FREQÜÊNCIA DE OFFSET DO SOLVENTE AJUSTADA
                     PREVIAMENTE COM A OBTENÇÃO DE UM ESPETRO DE 1H-
                     RMN DE UM PULSO)
  obspower(tpwr); (POTÊNCIA APLICADA PARA B1)
  rgpulse(p1,t1,rof1,rof2); (PULSO p1 COM FASE DEFINIDA PELA TABELA
                             t1, rof1 É O TEMPO ESTABELECIDO PARA QUE
                             B1 SEJA MÁXIMO E rof2 É O TEMPO PARA QUE
                             B1 SEJA COMPLETAMENTE DESLIGADO)
  delay(d2); (TEMPO DE REPETIÇÃO - d2)
endhardloop(); (FINAL DO LOOP)

ESTÁGIO C: AQUISIÇÃO DO SINAL

/* --- observe period --- */
status(C);
obsoffset(tof); (FREQÜÊNCIA DE OBSERVAÇÃO)
rgpulse(pw,t1,rof1,rof2); (PULSO DE LEITURA pw COM FASE DEFINIDA POR t1)
/*obsoffset(tof);*/
setreceiver(t1); (LIGA RECEPTOR COM FASE DEFINIDA POR t1)
}

```

Tabela de Fases t1

t1 = 0 1 2 3

Após a implementação é feita a compilação da seqüência já na estação de trabalho, que opera em ambiente UNIX. Caso não haja erros, o próprio software (VNMR) converte a seqüência num modo gráfico, como mostra a Figura 14, a qual se encontra pronta para ser aplicada.

Figura 14. Diagrama representativo da seqüência CWFP.

Esta seqüência consiste de um trem de n pulsos, $p1$, separados por um tempo, T_p , seguidos por um pulso de leitura (pw) e aquisição. No esquema $d1$ é o tempo para o sistema de spins entrar em equilíbrio.

A programação da seqüência de pulsos no espectrômetro Apollo é bem mais simples que no equipamento da Varian. Ela é feita através de um modo gráfico, utilizando um programa chamado NTNMR, da Tecmag, que trabalha em ambiente Windows. A figura a seguir mostra a janela de programação da seqüência de pulsos.

Figura 15. Janela de programação de seqüências de pulsos do software NTNMR, para um espectrômetro Apollo (Tecmag).

4.2. Instrumentação geral utilizada

Parte dos resultados foi obtida com o uso de um espectrômetro Apollo (Tecmag) operando num imã de 2 tesla, o qual resulta numa frequência de ressonância de 85 MHz para o hidrogênio. Este espectrômetro opera eletronicamente da seguinte forma (Figura 16):

Figura 16. Diagrama mostrando o espectrômetro Apollo (Tecmag) operando num ímã de 2T (frequência para o ^1H de 85 MHz).

O sintetizador de frequências fornece uma frequência contínua (FS), igual à frequência de ressonância (FR), mais uma frequência intermediária (FI). A frequência de ressonância (FR) é produzida pela mixagem da frequência do sintetizador (FS) com a frequência intermediária (FI). A frequência de ressonância é então modulada pela sequência de pulsos, produzida pelo programador de pulsos. O pulso de rádio frequência segue para o amplificador de potência, com uma potência de alguns milliwatts, onde ocorre a amplificação até uma potência de aproximadamente 10 watts.

Após a amplificação o pulso passa por pares de diodos cruzados para eliminar ruídos de baixo nível, e por um filtro passa baixa de 21 MHz, no caso o imã de 0,17T, e 85 MHz no caso do imã de 2 T, que suprime os harmônicos superiores. Seguindo pelo divisor de potência, o pulso de r.f. é direcionado à sonda ('probe'), onde é convertido na bobina em um campo magnético oscilante B_1 , que é o responsável pelas transições dos spins nucleares da amostra envolvida pela bobina.

Ao término do pulso, a componente transversal da magnetização da amostra induz, na bobina da sonda, o sinal de RMN pouco intenso (da ordem de μV). Esse sinal, com frequência $FR+FA$ (FA é a frequência de áudio), será amplificado por um pré-amplificador de banda larga MITEQ, de 30 dB de ganho e filtro de ruído de 1,5 dB. O pré-amplificador é protegido do pulso de r.f. por um sistema formado de um cabo com um quarto do comprimento de onda da frequência de ressonância, e pares de diodos cruzados ligado ao terra³². Após ser amplificado o sinal retorna ao espectrômetro, onde é misturado à frequência do sintetizador (FS) para gerar um sinal com a frequência intermediária ($FI+FA$). O sinal é amplificado, e ao ser misturado com FI , gera o sinal de RMN na frequência de áudio (FA), que será digitalizado no conversor analógico-digital, e depois ser transferido ao computador para ser processado.

O magneto utilizado possui uma abertura ("bore") de 30 cm, sendo possível inserir pequenos animais (ratos, pequenas aves), e frutas médias, como manga, mamão.

4.3. Construção de sondas ("probes")

Alguns experimentos cuja aplicação é mais específica requerem sondas especialmente construídas, principalmente em baixo campo. A construção destas sondas é relativamente simples, exigindo apenas alguns conhecimentos de eletrônica e materiais não magnéticos.

A sonda consiste de um circuito do tipo LC (indutor-capacitor), composto de dois capacitores variáveis e uma bobina indutora. A bobina foi construída num formato solenoidal a partir de um fio de cobre. As espiras da bobina indutora foram moldadas em uma resina epoxi de forma a conferir rigidez à mesma, evitando oscilações mecânicas e deformações.

Num circuito LC um dos capacitores é ligado em série (C_s) com a bobina indutora (L), enquanto que o outro é ligado em paralelo (C_p), como mostra a Figura 17⁵⁵. Nesta configuração o circuito LC opera tanto como transmissor, quanto como receptor.

Figura 17. Circuito LC de uma sonda de rádio-freqüência utilizada em experimentos de RMN.⁵⁵

Estes componentes foram acomodados em uma caixa de alumínio, a qual funciona como um agente de blindagem, diminuindo possíveis efeitos de

interferências externas, tais como ondas eletromagnéticas presentes no ar. A escolha dos capacitores utilizados na construção da sonda é feita de tal forma que haja um 'casamento' entre esses componentes e o indutor. O circuito LC é então sintonizado, através da manipulação das capacitâncias de C_s e C_p , de forma a minimizar a reflexão pela sonda de rf transmitida à amostra, obtendo assim uma absorção satisfatória (em torno de 70%). Além disso, o processo de sintonia evita que aquela radiação refletida, ou seja, não absorvida pela amostra, seja suficientemente grande para que algum componente eletrônico constituinte do espectrômetro seja danificado.

4.4. Detalhes experimentais

Nos estudos sobre o estabelecimento do regime de estado estacionário, e no desenvolvimento da metodologia para a determinação simultânea de T_1 e T_2 , foram analisadas várias amostras com diferentes núcleos (^1H , ^{19}F , ^{31}P), sendo elas: água deionizada, água com um agente de relaxação (10 mM de FeSO_4NH_4), ácido fosfórico, borracha natural (látex), acetona, óleo vegetal, 2,2,2-trifluoretanol, trifluoralina. Os experimentos foram realizados em um magneto Oxford de 2 T e 30cm de “bore”, cuja frequência para o hidrogênio é de 85 MHz. A eletrônica utilizada foi baseada num sistema Apollo-Tecmag (transmissor), um amplificador de potência AMT 2035 e um pré-amplificador Miteq 1054. A bobina utilizada nos experimentos foi construída, a partir de um fio de cobre, no laboratório de ressonância magnética da Embrapa, e trata-se de uma configuração solenoidal de 1 cm de diâmetro por 1 cm de altura. Para manter a rigidez da bobina a mesma foi envolvida por uma resina epóxi. Com exceção da amostra de látex, todas as

outras foram inseridas num tubo esférico de 8 mm de diâmetro para que fossem irradiadas de forma homogênea. A amostra de látex foi inserida na bobina em um formato cilíndrico.

4.2. Determinação de T_1 por inversão-recuperação e T_2 via CPMG

O método mais utilizado para medir o tempo de relaxação longitudinal, ou T_1 , é chamado inversão recuperação^{2,56}. Esta técnica consiste em inverter a população de spins através de um pulso de 180° , esperar um tempo para que o sistema de spins relaxe, e através de um pulso de 90° fazer a leitura. A forma como essa seqüência é aplicada permite observar como o processo de relaxação evolui desde $-M_0$, onde o sistema praticamente não relaxou, até $+M_0$ ou M_∞ , onde a relaxação foi completa, pela variação do intervalo de tempo entre os pulsos (T_p). Este comportamento é muito bem observado na Figura 18a. O processo de relaxação segue um comportamento exponencial de primeira ordem como mostra a equação 29:

$$M(T_p) = M_0 (1 - 2e^{-T_p/T_1}) \quad (\text{Equação 30})$$

na qual M_0 corresponde a magnetização na condição de equilíbrio térmico, e tem a mesma magnitude que M_∞ , quando o sistema de spins está completamente relaxado; T_1 é a constante de tempo que governa a relaxação, e é chamada de tempo de relaxação longitudinal, pois descreve a relaxação ao longo do eixo z, do sistema de coordenadas girantes. Nestes experimentos optou-se por trabalhar com a equação 29 de forma linearizada, onde o gráfico semi-logarítmico de $\ln(M_\infty - M(T_p))$

em função de T_p resulta numa reta decrescente com coeficiente angular igual a $-1/T_1$, como mostra a Figura 18 b.

Figura 18. Gráficos da variação da intensidade da magnetização em função de T_p : **(a)** comportamento logarítmico; **(b)** linearização. A amostra utilizada neste experimento foi de água deionizada. O tempo de relaxação determinado foi de 2,41 s e em (b) o coeficiente de correlação $R^2 = -1$. Os valores de $M(T_p)$ utilizados foram os de área do sinal do espectro transformado. As medidas foram feitas a uma temperatura de 23°C.

O método mais utilizado para determinar o tempo de relaxação transversal (T_2) foi desenvolvido por Carr, Purcell, Meiboom e Gill, sendo que o nome do método leva as iniciais destes quatro pesquisadores (CPMG)⁵⁷. Este método é baseado no experimento de eco de spin, mas algumas correções são feitas para eliminar erros de calibração de pulsos, e evitar que processos de difusão também sejam fontes de erro. Neste experimento é aplicado um pulso de 90° , sendo que é esperado um intervalo de tempo T_p para que as isocromatas defasem no plano $x'y'$; e um pulso de 180° é aplicado levando a magnetização aos quadrantes

opostos, sendo que um tempo T_p é novamente esperado para que ocorra a refocalização, sob a forma de eco. Quando a calibração de pulsos não é muito precisa, e a homogeneidade do campo magnético B_0 não é perfeita, ocorrem erros na medida da intensidade do eco para os chamados ecos ímpares. Para que esta fonte de erro seja eliminada os autores do método sugerem que sejam medidos apenas os ecos pares. Na seqüência implementada no laboratório de RMN da Embrapa a medida de T_2 é feita num único experimento, sendo que ela é composta de um pulso de 90° , um intervalo T_p , um trem de n pulsos de 180° separados entre si por um intervalo de $2T_p$, e a aquisição é feita somente nos ecos pares, como mostra a Figura 19.

Figura 19. Seqüência de pulsos CPMG implementada no laboratório de RMN da Embrapa.

A relaxação transversal apresenta um comportamento exponencial, sendo governado pela seguinte equação:

$$I_{eco}(2T_p) \propto e^{-2T_p/T_2} \quad (\text{Equação 31})$$

A Figura 20 mostra o decaimento da intensidade do sinal no plano $x'y'$ em função do tempo para uma amostra de água deionizada. Neste caso a amplitude do sinal é medida a partir do espectro no domínio do tempo, usando o modo magnitude.

Figura 20. Decaimento da magnetização no plano $x'y'$ em função do tempo. A constante de tempo foi extraída de um ajuste exponencial de primeira ordem, sendo que o valor determinado foi de 1,86 s, com $R^2=0,99$. Foram feitas quatro acumulações e as medidas foram feitas a uma temperatura de 23°C.

4.3. Determinação simultânea de T_1 e T_2 utilizando técnicas de estado estacionário: SSFP

A SSFP já foi apresentada com um dos primeiros métodos para a determinação simultânea de T_1 e T_2 , em um trabalho desenvolvido por Kronenbitter e Schwenk⁵⁸. A medida se baseia na realização de dois experimentos, sendo o primeiro para determinar a razão T_1/T_2 e o segundo para obter $T_1 + T_2$. No primeiro experimento são realizadas várias medidas da razão M_z/M_0 , onde M_z corresponde a amplitude do sinal quando o estado estacionário é realmente atingido, e M_0 a

amplitude da magnetização no equilíbrio térmico. Esta razão está relacionada à razão T_1/T_2 , que pode ser obtida através da equação 13, que por sua vez, tem uma dependência com a largura de pulsos que obedece a seguinte equação^{58,59}:

$$\alpha_{\text{ótimo}} = \arccos\left(\frac{T_1/T_2 - 1}{T_1/T_2 + 1}\right) \quad (\text{Equação 32})$$

Portanto, existe um ângulo ótimo para que a razão M_z/M_0 seja máxima. Alguns trabalhos discutem a necessidade de se trabalhar na condição de ângulo ótimo para experimentos feitos com gradientes, e aplicação em imagens por RMN^{60,61}. A partir da determinação deste ângulo ótimo é feito um novo experimento com o uso deste ângulo, com a finalidade de se obter a constante de decaimento do sinal de SSFP, até que o regime de estado estacionário seja verdadeiramente estabelecido. Na condição de ângulo ótimo a constante de decaimento do sinal é dada por:

$$T_{\alpha_{\text{ótimo}}}^* = \frac{T_1 + T_2}{2} \quad (\text{Equação 33})$$

a partir da qual obtêm-se $T_1 + T_2$.

Nos experimentos aqui realizados foi utilizada a razão T_1/T_2 , a partir dos valores de T_1 e T_2 , medidos por inversão-recuperação e CPMG, respectivamente; e a partir da equação 31 foi determinado o ângulo ótimo teoricamente. E assim outro experimento SSFP foi feito utilizando o ângulo ótimo, para então determinar a constante T^* e a soma $T_1 + T_2$. A partir da razão T_1/T_2 e da soma $T_1 + T_2$, determinou-se T_1 e T_2 . No experimento SSFP foi utilizada uma sequência SSFP com largura de pulso ótima, $T_p = 0,3$ ms, tempo de aquisição de $256\mu\text{s}$ (64 pontos acumulado a uma taxa de $4\mu\text{s}$ /por ponto), sendo esses pontos

adquiridos a cada 3 pulsos aplicados. A figura a seguir mostra o diagrama representativo da seqüência utilizada:

Figura 21. Seqüência SSFP utilizada nos estudos sobre o estabelecimento do estado estacionário e para a determinação de T_1 e T_2 .

4.4. Determinação simultânea de T_1 e T_2 utilizando o método CWFP

A técnica CWFP⁶² é uma alternativa mais rápida para a determinação simultânea de T_1 e T_2 , em comparação aos métodos tradicionais e também a um outro método baseado em SSFP desenvolvido anteriormente por Kronenbitter e Schwenk⁶³ e ainda utilizado⁶⁴. Nesta nova metodologia um único experimento é realizado, onde se aplica uma seqüência constituída apenas de pulsos de 90° , e um tempo de repetição entre os pulsos de 0,3 ms; sendo a aquisição feita da mesma forma que no caso anterior, como mostra a figura 21.

O sinal gerado resulta em um decaimento da magnetização dividido em três estágios: regime de alternância de intensidade, estado quase estacionário e estado verdadeiramente estacionário. O primeiro estágio depende principalmente de

T_2^* , já o segundo e o terceiro são ocorrem com uma dependência com T_1 e T_2 . O sinal CWFP gerado pela seqüência com pulsos de 90° decai com uma constante de tempo dada por $T^*=2T_1T_2/(T_1+T_2)$, até que a amplitude do sinal, normalizada com relação à amplitude M_0 , não mais varie e atinja um valor dado por $M_{+s}/M_0=T_2/(T_1+T_2)$. O resultado final oferece a determinação de T_1 e T_2 , à partir de $T_1=(T^*/2)/M_{+s}/M_0$ e $T_2=(T^*/2)/1-M_{+s}/M_0$ ⁶².

4.5. Monitoramento da cura resina epóxi por relaxometria

A resina epóxi utilizada foi obtida do comércio local, e consiste de uma resina acompanhada de um endurecedor (Araldite[®]). O tempo total de cura indicado pelo fabricante é de 10 minutos. A mistura foi feita tomando uma massa de 0,5 g da resina e 0,5 g do endurecedor, ou seja, uma mistura 1:1. A mistura foi feita em uma folha fina de plástico, a qual foi embrulhada e inserida em um pequeno tubo de ensaio plástico, com aproximadamente 1 cm de diâmetro. Tomou-se o cuidado de que, nem o tubo e nem a folha de plástico, onde foi feita a mistura, apresentassem sinal de RMN. O cronômetro foi disparado no início da mistura, marcando o tempo inicial da reação. A mistura foi homogeneizada por aproximadamente 2 minutos e logo após foram iniciadas as medidas. A reação foi acompanhada pelos três métodos de determinação de tempos de relaxação, inversão-recuperação para T_1 , CPMG para T_2 , e CWFP, em diferentes experimentos.

No caso do experimento de inversão-recuperação foram tomados apenas alguns pontos, para que o valor de T_1 fosse rapidamente obtido pelo ponto onde o sinal se anula. Embora pouco preciso, este método dá uma estimativa do

valor de T_1 ; já que não há tempo suficiente para que os valores de T_1 sejam obtidos de forma mais adequada, pelo ajuste dos pontos a uma equação.

Os experimentos de CPMG foram feitos a cada 10 s, após ser obtida uma mistura mais homogênea. As medidas foram feitas até que fosse possível obter um decaimento exponencial do sinal com um bom ajuste dos pontos. O mesmo procedimento foi feito para os experimentos CWFP, e para esses experimentos foi aplicada uma seqüência de pulsos de 90° intercalados por um período de 300 μ s. A seguir são descritas mais detalhadamente essas técnicas mencionadas.

A instrumentação utilizada nestes experimentos foi a mesma utilizada no estudo sobre o estabelecimento do estado estacionário e determinação simultânea de T_1 e T_2 .

4.6. Medida de difusividade térmica em borracha

4.6.1. Instrumentação

Todas as medidas de CWFP foram feitas em uma freqüência de 7,24MHz usando um magneto permanente de Alnico V com um campo 0,17T. A defasagem das isocromatas causada pela falta de homogeneidade do campo magnético pode ser caracterizada por um tempo característico $T_2^* = 1,0$ ms e o período da seqüência de pulsos de 90° foi de $T_p = 0,3$ ms. A freqüência de offset, ω_0 , foi escolhida tal que $\omega_0 T_p = 3\pi$ e a largura de pulsos de 90° foi de 9 μ s.

A sonda utilizada consistiu de uma bobina solenoidal, transmissora/receptora, de 25 mm de diâmetro e 25 mm de altura; e a eletrônica foi

baseada num sistema Apollo (transmissor-receptor do fabricante Tecmag) usado em conjunto com um amplificador de potência AMT 2035 e um pré-amplificador Miteq AU1448.

4.6.2. Determinação dos parâmetros pré-exponenciais A e B

As amostras de borracha, em formato esférico, foram imersas em banho termostático por um período de 2 horas em diferentes temperaturas entre 0 e 50°C. Após este período as medidas da razão $M_{+,s}/M_0$ no estado verdadeiramente estacionário foram realizadas rapidamente. O regime de CWFP no estado estacionário foi primeiro estabelecido pela aplicação de um trem de pulsos de 90° por aproximadamente 30 segundos.

4.7. Experimentos de congelamento das esferas de borracha por nitrogênio líquido: medida da difusividade térmica da borracha.

As amostras de borracha, em formato esférico e com diferentes massas, foram colocadas num tubo de vidro de 23 mm de diâmetro por 20 cm de altura e estabilizadas à temperatura ambiente ($\theta_0=295$ K). Neste ponto uma condição inicial de não equilíbrio foi criada pelo estabelecimento de um contato entre as esferas de borracha e um banho de nitrogênio líquido a uma temperatura de $\theta_b=77,8$ K. Este contato foi feito pela adição direta do nitrogênio líquido às amostras, numa quantidade suficiente para manter as esferas completamente imersas. Banhos em temperatura próximos de θ_0 poderiam fornecer dados de difusividade térmica

mais precisos, mas como decaimentos mais longos prevaleceriam, a resposta com o tempo do método CWFP não seria adequadamente medida.

As medidas do sinal de CWFP durante o processo de congelamento foram iniciadas simultaneamente à adição do nitrogênio líquido. A sequência aplicada consistiu de um trem de 9×10^5 pulsos de 90° , sendo que foi adquirido o sinal após o primeiro pulso e subsequentemente a cada 9 pulsos.

4.8. Construção dos perfis de excitação para a sequência de pulsos CWFP

Os perfis de excitação foram calculados inicialmente a partir das equações derivadas por Ernest e Anderson¹¹, através de um programa escrito no software Mathcad, sendo que o programa foi elaborado com o auxílio do Professor Mario Engelsberg, do Departamento de Física da Universidade Federal de Pernambuco.

Foram obtidos perfis experimentais sendo que a sequência foi aplicada a amostras de água com diferentes tempos de relaxação: água deionizada, água da torneira e água com sulfato ferroso amoniacal (agente relaxante).

Para a obtenção destes perfis foram obtidos espectros em diferentes frequências de offset, numa região entre -2π e $+2\pi$ para o ângulo de offset (ψ). Os parâmetros avaliados inicialmente foram a largura de pulso (pw), tempo de repetição entre os pulsos (T_p), tempos de relaxação.

As amostras de água foram inseridas num recipiente esférico para garantir que a irradiação ocorresse de maneira homogênea em toda a amostra. A irradiação foi feita com o uso de uma bobina de superfície. A figura a seguir mostra como o sistema foi arranjado para fazer as medidas.

Figura 22. Arranjo montado para fazer as medidas dos perfis de excitação.

Para garantir uma supressão mais eficiente a homogeneidade de B_0 foi ajustada para que a largura da linha do sinal da água fosse a menor possível

4.9. Saturação em função do número de pulsos ($p1$)

Nestes experimentos a seqüência foi aplicada com diferentes números de pulsos ($p1$), variados entre 1 e 4096. Novamente foram utilizadas amostras de água com diferentes tempos de relaxação, e usando uma bobina de superfície. A homogeneidade de B_0 também foi ajustada nestes experimentos.

4.10. Modificações na seqüência CWFP para corrigir anomalias de fase

As modificações propostas nesta etapa do trabalho são baseadas principalmente na alteração das fases dos pulsos da seqüência CWFP, como sugeridas em trabalhos anteriores^{20,23}. Foram avaliadas duas modificações nas fases como mostra a Figura 23.

Nestes experimentos foi utilizada uma amostra constituída de uma mistura de dois solventes muito utilizados em RMN, o ácido acético e o clorofórmio,

numa proporção 1:1. A escolha desta mistura foi baseada na diferença de deslocamento químico dos sinais dos hidrogênios presentes na amostra. O espectro de RMN- ^1H do ácido acético apresenta sinais não acoplados em aproximadamente 2 e 11,6 ppm (em relação ao TMS), e o do clorofórmio apresenta um único sinal, também não acoplado, em 7,3 ppm (em relação ao TMS).

Figura 23. Modificações propostas para a sequência SSFP para corrigir anomalias de fase no espectro transformado: **(a)** a fase dos pulsos avança com passos de 90° ; **(b)** a fase dos pulsos avança de 180° a cada par de pulsos. Em ambos os casos a aquisição é feita em fase com o último pulso.

4.11. Medidas 'in vivo' de açúcares em frutas.

Para essas medidas foram utilizadas frutas adquiridas do comércio local. As frutas foram inseridas no "bore" do imã e as medidas foram realizadas com

o uso de uma bobina de superfície. A homogeneidade de B_0 foi ajustada nestes experimentos, pois como os sinais relativos ao açúcar aparecem em frequências muito próximas do solvente (água) seria interessante trabalhar com a menor largura de linha possível para a água. Talvez o ajuste na homogeneidade do campo externo não se aplicaria para medidas em fluxo, já que não haveria tempo hábil para que este parâmetro fosse ajustado para cada uma das frutas que estivessem passando pelo "bore" através de uma esteira rolante.

Foram obtidos inicialmente espectros de ^1H sem supressão. A frequência do solvente foi selecionada e utilizada como offset nos experimentos de supressão. Foram utilizados dois métodos para fazer a supressão: CWFP; Jump-Return. Os resultados foram comparados entre si.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta seção serão apresentados os estudos sobre o estabelecimento do estado quasi-estacionário e estacionário em CWFP, os resultados de uma nova metodologia para a determinação de T_1 e T_2 , e também algumas propostas de aplicação desta metodologia. Serão apresentados ainda os resultados dos esforços realizados no desenvolvimento de uma nova metodologia para supressão de sinais de solventes em RMN de alta resolução.

5.1. Estabelecimento do estado quasi-estacionário em CWFP ⁶²

Para entender como o sinal de CWFP se comporta, realizamos um estudo sobre o estabelecimento do estado quasi-estacionário e estacionário, avaliando os parâmetros que os governam, principalmente os tempos de relaxação.

De acordo com a descrição teórica, já apresentada no capítulo introdutório deste trabalho, o estado estacionário pode ser estabelecido pela aplicação de um trem de pulsos de mesma fase, duração e intensidade, e separados por um intervalo de tempo T_p que seja menor que o T_2 . Dentre as variáveis que

governam este processo devem ser considerados os tempos de relaxação, T_1 e T_2 , o intervalo entre os pulsos (T_p) e também efeitos de homogeneidade (T_2^*). Este estudo é bastante importante neste trabalho, pois a partir dele pode-se estabelecer condições para que o regime de CWFP seja atingido mais rapidamente, e com isso ganhar agilidade na realização das medidas, principalmente em fluxo.

Foi observado que a amplitude do sinal de CWFP gerado nos primeiros pulsos da seqüência, neste caso em torno de 60 pulsos, se alterna entre os valores pares e ímpares de n (número de pulsos), conforme é mostrado na Figura 24. Esse regime de alternância da amplitude do sinal nos pulsos iniciais também foi observado por Scheffler e colaboradores^{16,62}.

Figura 24. Sinal CWFP em magnitude para uma amostra de ácido fosfórico ($T_1=191$ ms, $T_2=140$ ms). Parâmetros CWFP: $T_p=0,3$ ms, $\alpha=90^\circ$, tempo de aquisição= $256 \mu\text{s}$ (64 pontos a uma taxa de $4 \mu\text{s/ponto}$), $\Delta\nu=90\text{Hz}$ ($T_2^*=3,54$ ms), $\psi=\omega T_p=3\pi$.

O efeito da heterogeneidade do campo, também pode ser observado na Figura 24, na qual ocorre decaimento do sinal mesmo durante o tempo de aquisição. O efeito da heterogeneidade do campo pode ser mais crítico para

análises realizadas em espectrômetros de baixo campo, que é bastante comum em determinações analíticas rotineiras^{8,9}. Mas quando se trabalha com campos mais homogêneos, e com um tempo de repetição adequado, a dependência com heterogeneidade pode não ter um efeito prático muito sério, como também fora observado em trabalho recente⁶².

Na Figura 25 é apresentada a variação da amplitude normalizada dos sinais da Figura 24, após os pulsos ímpares, em preto, e após pulsos pares, em vermelho.

Figura 25. Sinal CWFP normalizado para uma amostra de ácido fosfórico ($T_1=191$ ms, $T_2=140$ ms). Parâmetros CWFP: $T_p=0,3$ ms, $\alpha=90^\circ$, tempo de aquisição= $256 \mu\text{s}$ (64 pontos a uma taxa de $4 \mu\text{s/ponto}$), $\Delta\nu=90\text{Hz}$ ($T_2^*=3,54$ ms), $\psi=\omega T_p=3\pi$.

Para explicar o fenômeno, desenvolveu-se uma solução numérica para avaliar a entrada no sinal quasi-estacionário e estacionário. Essas simulações teóricas foram feitas com o auxílio do Prof. Dr. Mario Engelsberg, do Departamento

de Física da Universidade Federal de Pernambuco, que tem contribuído ativamente nos trabalhos desenvolvidos pelo grupo.

Considere, inicialmente, que a magnetização relaxa durante o intervalo de tempo T_p , e que durante este período as isocromatas precessam com uma frequência média, cujo ângulo de precessão é dado por $\psi = \omega T_p = (2m+1)\pi$, sendo m inteiro. Para uma isocromata particular, o ângulo de precessão pode ser dado então por $\psi = \omega T_p = (2m+1)\pi + \phi$, onde a distribuição de ângulos de defasagem, ϕ , é influenciada pela heterogeneidade do campo magnético. Como mencionado há pouco, e também considerado por Freeman e Hill, para simplificar o problema é assumida uma distribuição Lorentziana de frequências, $\Omega = \phi/T_p = \omega - \omega$, na forma $g(\Omega) = (T_2^*/\pi)[1/(1+(\Omega T_2^*)^2)]$, sendo que as condições $T_p < T_2^* \ll T_1, T_2$ devem ser satisfeitas.

A evolução temporal das componentes transversais da magnetização para uma isocromata geral é denotada por $m_x(\phi)$ e $m_y(\phi)$, e podem ser obtidas das equações de Bloch na forma matricial; e para obedecerem as relações de recursão são mostradas como as equações a seguir:

$$m_{x,n+1}(\phi) = -m_{x,n}(\phi)E_2\cos\phi + m_{y,n-1}(\phi)E_2E_1\sin\phi - E_2(1-E_1)\sin\phi \quad (\text{Equação 34})$$

$$m_{y,n+1}(\phi) = m_{x,n}(\phi)E_2\sin\phi + m_{y,n-1}(\phi)E_2E_1\cos\phi - E_2(1-E_1)\cos\phi \quad (\text{Equação 35})$$

nas quais $E_1 = \exp(-T_p/T_1)$ e $E_2 = \exp(-T_p/T_2)$, $m_{x(y),n}$ representa a amplitude das componentes transversais da magnetização. Os valores inteiros $n=0,1,2,3\dots$ em $m_{x(y),n}$ determina a amplitude da magnetização que esta precessando antes de um novo pulso n -ésimo seja aplicado. Assim, as condições iniciais necessárias para a solução das equações diferenciais (33 e 34), podem ser consideradas como: $m_{x,0}=0$, $m_{x,1}=-E_2\sin\phi$, e $m_{y,1}=E_2\cos\phi$.

Considerando que em um magneto perfeitamente homogêneo praticamente não ocorre defasagem das isocromatas, pode-se assumir que $\phi=0$ nas equações 34 e 35. Além disso, nas condições em que os experimentos aqui apresentados são realizados, as equações diferenciais podem ser resolvidas analiticamente como Kronenbitter e Schwenk apresentaram em seu trabalho⁵⁸. De acordo com a resolução destas equações, a constante que governa o decaimento do sinal, durante o regime quasi-estacionário, é dada pela equação 36:

$$T^* = \frac{2T_1T_2}{[T_1(1 - \cos \alpha) + T_2(1 + \cos \alpha)]} \quad (\text{Equação 36})$$

onde α é o ângulo de rotação, já definido no capítulo introdutório (equação 1). Considerando que nos experimentos aqui apresentados $\alpha=90^\circ$, a equação 36 se torna:

$$T_{(\alpha=\pi/2)}^* = \frac{2T_1T_2}{[T_1 + T_2]} \quad (\text{Equação 37})$$

a qual leva ao estado verdadeiramente estacionário, onde a amplitude da magnetização não mais varia, e pode ser determinada por $|m_{ys}| = M_0T_2/(T_1+T_2)$ e $|m_x| = 0$. Nestas equações M_0 é a componente em z da magnetização no equilíbrio térmico. Esses resultados serão utilizados mais tarde para as medidas simultâneas de T_1 e T_2 .

Na presença de uma distribuição de valores de $\phi=T_p$, o decaimento exponencial da magnetização até atingir um valor constante, como mencionado acima, pode ser garantido somente sobre condições especiais, e para um determinado grau de precisão. A amplitude do sinal medida neste caso, é uma soma de contribuições de todas as isocromatas, e pode ser resolvido através de uma integração de todas essas contribuições, sobre todos os valores de Ω :

$$M_{x(y),n} = \overline{m}_{x(y),n} = \int m_{x(y),n} \left(\frac{\Omega}{T_p} \right) g(\Omega) d\Omega \quad (\text{Equação 38})$$

Para cada valor de n foi feita uma integração sobre Ω , utilizando a equação 38, considerando cada uma das componentes da magnetização. O valor absoluto da magnetização transversal normalizada e integrada foi calculado, e pode ser denotado matematicamente por:

$$\frac{|M_{x,n}|}{M_0} = \frac{|M_{x,n} + iM_{y,n}|}{M_0} \quad (\text{Equação 39})$$

As simulações teóricas foram confrontadas com resultados experimentais obtidos a partir de uma amostra de ácido fosfórico, observando o sinal de ^1H . Os tempos de relaxação do ácido fosfórico foram $T_1=191$ ms e $T_2=140$ ms. A não homogeneidade do campo magnético gerou uma linha aproximadamente Lorentziana, com uma largura à meia altura de 90 Hz. O valor de T_2^* correspondente a essa largura de linha é de $T_2^*=3,54$ ms. A Figura 26 mostra o resultado das simulações teóricas, como linhas cheias, comparadas com os resultados experimentais, como símbolos; os quais são bastante concordantes. Algumas pequenas flutuações se devem principalmente ao fato de que as simulações teóricas consideram o sinal como uma Lorentziana perfeita, o que não foi obtido experimentalmente, devido a heterogeneidade do campo.

Em ambos os casos, teórico e experimental, é observado inicialmente, um regime onde ocorre a alternância da amplitude do sinal entre os pulsos pares e ímpares, o qual decai com uma constante relacionada a T_2^* , como já discutido anteriormente.

Verifica-se ainda que após o período de oscilação da amplitude do sinal, a magnetização entra num estado quasi-estacionário, pois a amplitude do sinal

continua a diminuir com o passar do tempo, ou seja, mais pulsos vão sendo aplicados. Este decaimento do sinal apresenta uma constante controlada por T_1 e T_2 .

Figura 26. Sinal CWFP normalizado para uma amostra de ácido fosfórico ($T_1=191$ ms, $T_2=140$ ms). Parâmetros CWFP: $T_p=0,3$ ms, $\alpha=90^\circ$, tempo de aquisição= $256 \mu\text{s}$ (64 pontos a uma taxa de $4 \mu\text{s/ponto}$), $\Delta\nu=90$ Hz ($T_2^*=3,54$ ms), $\psi=\omega T_p=3\pi$.

Em casos em que a não homogeneidade de B_0 é maior, este problema pode afetar seriamente a determinação da constante de decaimento do sinal até atingir o estado estacionário. Muitos trabalhos têm demonstrado que a não homogeneidade, tanto de B_0 quanto de B_1 , pode afetar a resposta de um sinal de RMN considerando um trem de pulsos^{62, 65}. O efeito da não homogeneidade de B_1 será apresentado adiante.

Para demonstrar como este problema pode ser importante no tratamento dos resultados, foram feitas simulações do sinal com respeito a uma linha

não simétrica. Estas simulações foram feitas, novamente, com o auxílio do Prof. Mario Engelsberg, do Departamento de Física da Universidade Federal de Pernambuco, que tem uma larga experiência com o estudo teórico das técnicas de estado estacionário. As simulações foram feitas com o uso de uma função de distribuição normalizada, consistindo de uma combinação linear de duas Lorentzianas deslocadas. Uma das curvas foi centrada em $\nu=0$ com uma largura de linha à meia altura de 77,6 Hz, enquanto que a outra curva foi centrada em 92,7 Hz com a metade da altura da primeira, com uma largura a meia altura de 155,3 Hz. A largura total do dubleto não resolvido (linha em vermelho) foi mantida em 90 Hz, como mostra a Figura 27.

Figura 27. Modelo de curva utilizada na simulação do sinal de CWFP para o caso não simétrico.

Os resultados da simulação foram confrontados com os resultados experimentais, e são apresentados na Figura 28. O sinal de CWFP pode ser dividido em três períodos, sendo que o primeiro está relacionado a um regime de alternância de sinal; o segundo ao estado quasi-estacionário, onde o sinal não mais se alterna,

mas continua a decair com o tempo; e um terceiro chamado estado verdadeiramente estacionário, onde a amplitude do sinal não mais varia.

Figura 28. Sinal de CWFP obtido para uma amostra de ácido fosfórico em função do número de pulsos. As linhas cheias (em vermelho) são resultados das simulações numéricas das equações 34 e 35. Os resultados experimentais são apresentados como símbolos ($\square$ pulsos ímpares e Δ pulsos pares). Parâmetros utilizados: $T_p=0,3$ ms; $\alpha=\pi/2$; $T_1=190$ ms, $T_2=140$ ms. **(a)** distribuição Lorentziana de isocromatas com largura a meia altura de 90 Hz. **(b)** distribuição assimétrica a partir de duas Lorentzianas com largura a meia altura de 90 Hz.

Na Figura 28 (a) temos o caso em que o sinal é considerado como uma curva Lorentziana, e em (b) para o caso de um sinal assimétrico. Comparando as figuras pode-se observar que a principal mudança no sinal ocorre durante o regime de alternância de amplitude, sendo que este regime está relacionado com a não homogeneidade do campo magnético. O sinal assimétrico (Figura 28 (b)) apresentou um decaimento mais acentuado que o caso em que o sinal se comporta próximo de uma curva Lorentziana perfeita. Em ambos os casos não houve alteração no

decaimento a partir da entrada no regime quasi-estacionário. Considerando que este regime é o que realmente define a dependência com os tempos de relaxação (T_1 e T_2), a constante de tempo pode ser determinada a partir da entrada no estado quasi-estacionário. Assim, pode-se excluir toda a região relativa ao regime de alternância do sinal, que depende de T_2^* , ou seja, da não homogeneidade do campo magnético.

Mas, em ambos os casos, para que a constante de decaimento do sinal de CWFP, durante o regime quasi-estacionário, seja precisamente representada por uma dependência com T_1 e T_2 , na forma $T^*=2T_1T_2/(T_1+T_2)$, e ainda a amplitude do sinal no estado verdadeiramente estacionário seja dada por $|M_{+,s}|/M_0 = T_2(T_1+T_2)$, algumas condições devem ser satisfeitas.

Após a integração de ambos os lados da equação 35 com a função de distribuição de frequências, $g(\Omega)$, a razão:

$$\rho_n = \frac{|m_{x,n}(\phi)E_2 \sin \phi|}{|m_{y,n-1}(\phi)E_2E_1 \cos \phi|} \quad \text{Equação 40}$$

deve se tornar suficientemente pequena para todos os valores de n acima de um valor limite, n -ésimo.

Esta razão é calculada a partir da solução numérica das relações de recursão dadas pelas equações 34 e 35, e foi observada apenas uma dependência com T_p/T_2^* , sendo $T_2^* \ll T_1, T_2$. Para $n > n$ -ésimo $\approx 5T_2^*/T_p \approx 60$ e $T_p/T_2^*=0,085$, condição esta que corresponde à linha Lorentziana com $\Delta\nu=90\text{Hz}$, o valor de ρ_n obtido foi de 0,05.

Para o caso de uma distribuição assimétrica de frequências (Figura 28 (b)), foram observadas mudanças apenas na região $n < n$ -ésimo. O valor de ρ_n também foi calculado para a distribuição assimétrica, sendo obtido um valor de $\rho_n=0,06$, o qual não difere significativamente do valor obtido para o caso assimétrico.

Assim, com uma precisão de aproximadamente 5%, podemos negligenciar o termo $\overline{m_{x,n}(\phi)} \sin \phi$ na equação 35.

Além disso, para o caso da distribuição Lorentziana, o valor da razão

$$\sigma_n = \frac{|\overline{m_{y,n}(\phi)} \cos \phi|}{|\overline{m_{y,n}(\phi)}| |\overline{\cos \phi}|}$$

determinado foi de 1,03, para $n > n$ -ésimo, sendo $|\overline{\cos \phi}| = 0,92$. Já

para a distribuição assimétrica o valor de σ_n foi de 1,05, enquanto que $|\overline{\cos \phi}| = 0,90$.

Assim, em ambos os casos, os valores dos tempos de relaxação, obtidos de um decaimento exponencial razoavelmente preciso, apresentarão uma variação de aproximadamente 8% em relação aos valores obtidos com o ajuste de $\phi=0$ na equação 35. É importante lembrar que para $n > n$ -ésimo $(M_{x,n})^2 / (M_{y,n})^2 \approx 0,2$ e portanto, $|M_{x,n}| \approx |M_{y,n}|$. Portanto, trabalhando em uma condição, em que $T_p / T_2^* < 0,085$, os erros provenientes da não homogeneidade do campo magnético são bastante minimizados, e assim podemos determinar os tempos de relaxação com maior precisão.

O estado verdadeiramente estacionário é atingido quando a amplitude do sinal permanece constante, e este regime é melhor observado pela Figura 29, na região marcada como (c).

Figura 29. Espectro RMN-CWFP- ^1H do ácido fosfórico: **(a)** regime de alternância de amplitude, **(b)** regime quasi-estacionário, **(c)** regime verdadeiramente estacionário. Parâmetros CWFP: $T_p=0,3$ ms, $\alpha=90^\circ$, tempo de aquisição= $256\ \mu\text{s}$ (64 pontos a uma taxa de $4\ \mu\text{s}/\text{ponto}$), $\Delta\nu=90$ Hz ($T_2^*=3,54$ ms), $\psi=\omega T_p=3\pi$.

A etapa mais importante de todo o experimento é o regime quasi-estacionário, pois é a manipulação deste estágio que irá permitir o estabelecimento, mais rápido ou mais lento, do estado verdadeiramente estacionário. Até o momento descrevemos o regime quasi-estacionário para uma situação perfeita, mas nos casos reais, algumas condições devem ser satisfeitas para adquirir resultados mais confiáveis, tanto na determinação da constante de tempo, que o controla (equação 22), quando na amplitude da magnetização no estado estacionário

$$|M_{+s}| = M_0 T_2 / (T_1 + T_2)$$

5.2. Medidas dos tempos de relaxação longitudinal (T_1) e transversal (T_2) via CWF

Erro! Indicador não definido.

Como discutido anteriormente, os valores de T_1 e T_2 podem ser determinadas a partir da constante de tempo que governa o estabelecimento do estado estacionário, para um trem de pulsos de $\alpha=90^\circ$, $T^*_{(\alpha=\pi/2)}$; e também da amplitude da magnetização no regime de estado estacionário, ou mais precisamente, de onda contínua (CWF), $|M_{+,s}|/M_0=T_2/(T_1+T_2)$. O resultado da combinação destes parâmetros fornece as equações que determinam T_1 e T_2 da seguinte maneira:

$$T_1 = \frac{\frac{T^*_{(\alpha=\pi/2)}}{2}}{\left(\frac{|M_{+,s}|}{M_0} \right)} \quad \text{Equação 41}$$

$$T_2 = \frac{\frac{T^*_{(\alpha=\pi/2)}}{2}}{\left[1 - \left(\frac{|M_{+,s}|}{M_0} \right) \right]} \quad \text{Equação 42}$$

As variáveis $T^*_{(\alpha=\pi/2)}$ e $|M_{+,s}|/M_0$ são obtidas a partir de um único experimento CWF, como mostrado na Figura 29. As amplitudes são normalizadas com respeito a amplitude do sinal inicial, obtido logo após a aplicação do primeiro pulso de $\alpha=\pi/2$. A determinação de $T^*_{(\alpha=\pi/2)}$ pode ser feita diretamente a partir de um ajuste exponencial dos pontos apresentados na Figura 29, lembrando que os pontos iniciais, que se referem àquela região de alternância da amplitude do sinal, não devem ser considerados no cálculo. Ou ainda através de um gráfico semi-logarítmico de $|M_+(t)| / |M_{+,s}| - 1$ em função do tempo, para o regime o regime quasi-estacionário

dos dados da Figura 29. O resultado desta operação é apresentado na Figura 30, a qual exibe um bom decaimento exponencial, cujo ajuste permite determinar $T^*_{(\alpha=\pi/2)}$. O valor de $T^*_{(\alpha=\pi/2)}$ foi de 125 ms.

Figura 30. Gráfico semi-logarítmico de $|M_+(t)| / |M_{+s}| - 1$ como uma função do tempo para o ácido fosfórico, cuja constante de decaimento é de $T^*_{(\alpha=\pi/2)} = 125$ ms.

Da mesma forma que para o ácido fosfórico, foram determinados T_1 e T_2 de várias amostras e diferentes núcleos. Os resultados destas determinações são apresentados nas tabelas 1 e 2. Esses resultados foram comparados aos métodos tradicionais de determinação de T_1 e T_2 , inversão-recuperação e CPMG, respectivamente; e também comparados com o método proposto por Kronenbitter e Schwenk⁵⁸.

Tabela 1. Tempos de Relaxação Longitudinal, T_1 , determinados por: inversão-recuperação, RMN-SSFP $_{\alpha \text{ ótimo}}^{58}$, experimentos RMN-CWFP $_{\alpha=\pi/2}$.

Amostra	T_1 (IR) (ms)	T_1 (CWFP- $\pi/2$) (ms)	T_1 (SSFP- α_{ot}) (ms)
Água deionizada (^1H)	2430 ± 10	2460 ± 15	2450 ± 6
Água com relaxante FeSO_4NH_4 (^1H)	$24,31 \pm 0,01$	$22,65 \pm 0,01$	$22,45 \pm 0,02$
Acetona (^1H)	4520 ± 30	4260 ± 30	4452 ± 10
Óleo Vegetal (^1H)	$199,60 \pm 0,01$	$214,60 \pm 0,02$	$209,70 \pm 0,01$
Borracha natural látex (^1H)	$118,00 \pm 0,03$	$112,50 \pm 0,05$	$136,70 \pm 0,05$
Ácido fosfórico (^1H)	$191,00 \pm 0,03$	$190,00 \pm 0,05$	$203,00 \pm 0,05$
Ácido fosfórico (^{31}P)	746 ± 44	741 ± 44	655 ± 40
2,2,2-Trifluoretanol (^{19}F)	2008 ± 13	2120 ± 20	2030 ± 20
Trifluoralina (^{19}F)	$272,00 \pm 0,02$	$272,00 \pm 0,02$	$249,00 \pm 0,02$

Tabela 2. Tempos de Relaxação Transversal, T_2 , determinados por: CPMG, RMN-SSFP $_{\alpha \text{ ótimo}}^{58}$, experimentos RMN-CWFP $_{\alpha=\pi/2}$.

Sample	T_2 (CPMG) (ms)	T_2 (CWFP- $\pi/2$) (ms)	T_2 (SSFP- α_{opt}) (ms)
Água deionizada (^1H)	2120 ± 4	2400 ± 20	2180 ± 8
Água com relaxante FeSO_4NH_4 (^1H)	$15,40 \pm 0,01$	$15,20 \pm 0,03$	$17,75 \pm 0,02$
Acetona (^1H)	4260 ± 2	4030 ± 10	4408 ± 6
Óleo vegetal (^1H)	$127,00 \pm 0,01$	$119,70 \pm 0,04$	$117,20 \pm 0,01$
Borracha natural látex (^1H)	$8,0 \pm 0,03$	$8,0 \pm 0,1$	$7,8 \pm 0,1$
Ácido Fosfórico (^1H)	$140,0 \pm 0,3$	$160,0 \pm 0,3$	$170,0 \pm 0,3$
Ácido Fosfórico (^{31}P)	$178,00 \pm 0,30$	$145,73 \pm 0,03$	$128,0 \pm 0,3$
2,2,2-Trifluoretanol (^{19}F)	1832 ± 0	2080 ± 7	1990 ± 5
Trifluoralina (^{19}F)	$127,00 \pm 0,01$	$127,00 \pm 0,02$	$115,00 \pm 0,01$

Os resultados mostram que o presente método é capaz de fornecer os valores de T_1 e T_2 , os quais são favoravelmente comparáveis aqueles obtidos pelo método de Kronenbitter e Schwenk. A maior discrepância entre o método proposto e aqueles obtidos pelos métodos padrão (inversão-recuperação para T_1 , e CPMG para T_2), foi de aproximadamente 10%. Os valores apresentados nas tabelas 1 e 2 são médias de 3 determinações, e os erros listados são correspondentes às flutuações estatísticas desta média. As discrepâncias encontradas entre as colunas 1, e colunas 2 e 3, devem ser atribuídas a esses erros, adicionada aos erros inerentes a essas técnicas.

Das discussões anteriores sobre a influência da heterogeneidade do campo magnético, foi observado que os tempos de relaxação podem ser determinados com razoável precisão para $T_p/T_2^* < 0,085$. Para uma mesma amostra, continuando, por exemplo, com o ácido fosfórico foram feitas determinações de T_1 e T_2 para várias condições de homogeneidade, e os resultados concordam com os previstos no estudo teórico, como pode ser observado na Tabela 3; no entanto, a diferença permanece dentro da faixa esperado de erro do método, não implicando em erros graves na determinação. A homogeneidade foi ajustada manualmente, explorando de várias regiões do magneto.

Tabela 3. Valores de T_1 e T_2 determinados em diferentes condições de homogeneidade do campo magnético.

$\Delta\nu$ (Hz)	T_2^* (ms)	T_p/T_2^*	T_1 (ms)	T_2 (ms)
24	13,26	0,022	191	161
55	5,78	0,052	190	159
90	3,54	0,085	190	160
170	1,77	0,170	196	158
290	1,27	0,240	194	159
500	0,64	0,47	201	156

Uma segunda possível fonte de erro, inerente às técnicas de estado estacionário, pode ser relativa à razão T_1/T_2 . Conforme esta razão se aproxima de 1 a amplitude da magnetização no estado estacionário, $|M_{+,s}|/M_0$, se aproxima de 0,5. O decaimento no estado quasi-estacionário pode envolver uma pequena faixa de dados, que torna a determinação da constante de tempo do decaimento, $T_{(\alpha=\pi/2)}^*$, menos precisa; especialmente se a razão sinal/ruído for muito baixa. Um exemplo desta fonte de erro pode ser verificado na Figura 31.

Um outro efeito que também pode ser uma fonte de erro, em medidas de T_1 ⁶⁶, e principalmente T_2 , é o da difusão, que no caso de sistemas muito voláteis e baixa viscosidade, como por exemplo, gases, mesmo acetona ou metanol, requerem condições especiais para se fazer as medidas. A sensibilidade de experimentos SSFP/CWFP à difusão é bem conhecida⁶⁷, e segundo Freed e colaboradores⁶⁸ existem regimes onde esta sensibilidade é maior. E estes regimes são controlados principalmente pelo tempo de repetição entre os pulsos (T_p), de forma que existe uma faixa de T_p onde a difusão é muito sensível. Nos experimentos aqui apresentados, foi utilizado um T_p de 300 μ s, que é bastante curto, e de acordo

com Freed, durante este período a sensibilidade à difusão não apresenta grandes problemas, o que pode ser uma vantagem deste método, em relação aos outros aqui mencionados.

Figura 31. Espectro RMN-CWFP- ^1H para: **(a)** borracha natural ($T_1/T_2 \approx 14,75$; $|M_{+,s}|/M_0 \approx 0,05$), **(b)** acetona ($T_1/T_2 = 1,06$; $|M_{+,s}|/M_0 \approx 0,48$). Parâmetros CWFP: $T_p = 0,3$ ms, $\alpha = 90^\circ$, tempo de aquisição = $256 \mu\text{s}$ (64 pontos a uma taxa de $4 \mu\text{s}/\text{ponto}$), $\psi = \omega T_p = 3\pi$. Os pontos considerados para a determinação da constante de decaimento encontram-se na região entre as linhas em vermelho.

Um outro cuidado que deve ser levando em conta é com relação a influência do acoplamento escalar homonuclear no experimento. A modulação do eco, que certamente ocorre na técnica proposta, pode fazer com que o acoplamento escalar homonuclear invalide o experimento. Nos casos apresentados no artigo publicado, com exceção do óleo vegetal, que tratam de um espectro de apenas um sinal simples, o que se observa é apenas um decaimento monotônico, de forma que a influência do acoplamento J é muito pequena. Portanto, um cuidado adicional na interpretação dos dados deve ser tomado quando existe a presença de acoplamento J .

Um outro problema, é com relação a não homogeneidade de B_1 , ou mesmo a erros proveniente de uma inadequada calibração dos pulsos. Isto porque a constante de decaimento do sinal de CWFP depende de α^{69} , ou seja, da largura de pulso, e por sua vez, da não homogeneidade de B_1 . A dependência da constante de decaimento do sinal com α é dada por:

$$T^* = \frac{2T_1T_2}{[T_1(1 - \cos \alpha) + T_2(1 + \cos \alpha)]} \quad \text{Equação 43}$$

Figura 32. Sinais CWFP simulados para diferentes ângulos de rotação α : (a) 90°, (b) 85,5°, (c) 81°, (d) 76,5°. Parâmetros utilizados: $T_1=300$ ms, $T_2=30$ ms ($T_1/T_2=10$), distribuição Lorentziana com largura a meia altura de 90 Hz, $n \geq 250$.

Este efeito é mais pronunciado quando a razão $T_1/T_2 \gg 1$ ⁶² haja visto que esta razão varia com α , sendo que a máxima amplitude normalizada no estado estacionário, $|M_{+,s}|/M_0$, está relacionada com o ângulo ótimo ($\alpha_{\text{ótimo}}$), o qual pode

diferir muito de $\alpha=\pi/2$. Ou seja, quanto maior a razão T_1/T_2 , maior será o desvio em relação a $\alpha=\pi/2$. Para verificar este efeito foram feitas simulações para quatro ângulos de rotação (α) diferentes, mantendo a razão $T_1/T_2=10$, cujo $\alpha_{\text{ótimo}}=35,12^\circ$. A Figura 32 apresenta os resultados destas simulações.

O que se observa na Figura 32, e que é confirmado, é que a amplitude do sinal, durante o estado quasi-estacionário aumenta, e conseqüentemente a amplitude normalizada no estado estacionário também será maior, conforme ocorrem desvios em α . Para um caso em que $T_1 \cong T_2$, a variação na amplitude do sinal é pouco significativa. Portanto, este tipo de experimento requer uma boa homogeneidade de B_1 e também uma calibração de pulso bastante criteriosa. Este efeito pode ser confirmado na figura abaixo que mostra o sinal real de uma amostra de borracha ($T_1/T_2 \cong 30$) e água ($T_1/T_2 \cong 1$).

Figura 33. Sinais CWFP obtidos para borracha **(a)** e água **(b)** em diferentes ângulos de rotação α : (—) 90° , (—) $85,5^\circ$, (—) 81° , (—) $76,5^\circ$. Para borracha ($T_1/T_2 \cong 30$) e água ($T_1/T_2 \cong 1$).

Confirmando os dados obtidos pela simulação pode-se observar, na Figura 33, que a amplitude do sinal pode variar bastante para o caso em que a razão

T_1/T_2 é bastante diferente de 1, mesmo com pequenas alterações no ângulo de rotação, ou em outras palavras, na largura de pulso e também com a falta de homogeneidade de B_1 .

Considerando as fontes de erro, uma avaliação geral deste método o aponta para uma excelente alternativa para a análise de processos dinâmicos, que utilizam tempos de relaxação como fonte de informação, e que são bastante difíceis via análise pelos métodos convencionais, devido ao tempo que demandam para a análise. Como exemplo destes processos pode-se mencionar estudos de transição de fase⁷⁰, cura de resinas⁷¹, viscosidade⁷², dinâmica molecular⁷³, imagens⁷⁴, etc. Além disso, o método de determinação simultânea de T_1 e T_2 , já é utilizado com bastante sucesso em amostras que apresentam tempos de relaxação muito longos, como gases (^{129}Xe)⁵⁹, e outros núcleos como ^{109}Ag ⁵⁸.

5.3. Estudo de processos dinâmicos utilizando por relaxometria, utilizando o método CWFP para a determinação de tempos de relaxação

A partir da nova metodologia de determinação rápida e simultânea de tempos de relaxação T_1 e T_2 ⁶², baseado na técnica CWFP, sugerindo inclusive algumas aplicações, dentre elas o monitoramento de processos dinâmicos como reações de polimerização, propusemos aqui uma aplicação. Como uma sugestão para avaliar o uso desta técnica no monitoramento de processos dinâmicos, foi feito um estudo utilizando uma amostra de resina epóxi – endurecedor, de origem comercial e de secagem rápida (~10 min). Tal estudo foi feito comparativamente, utilizando as técnicas convencionais de determinação de T_1 e T_2 , inversão-recuperação e CPMG, respectivamente; valendo lembrar que a medida de T_1 , por

inversão recuperação, foi feita em caráter estimativo, pela detecção do ponto onde o sinal se anula.

Inicialmente foi monitorada a amplitude do sinal da mistura resina/endurecedor em função do tempo, utilizando a técnica CWFP. O resultado é apresentado na Figura 34.

Figura 34. Variação da amplitude do sinal de CWFP da mistura resina epóxi+endurecedor, no tempo inicial (M_0) e no estado estacionário (M_z) em função do tempo de reação.

Nos primeiros 7 minutos a amplitude do sinal no tempo inicial (M_0) decai suavemente, e a partir de 7 minutos a queda do sinal é bastante acentuada, até atingir um patamar onde a amplitude não varia mais; indicando a solidificação do material. Um comportamento semelhante parece ocorrer com a amplitude do sinal no estado estacionário (M_z), que passa por um período de amplitude constante e depois começa a cair rapidamente até atingir um patamar mínimo, mas com uma velocidade maior. Segundo as instruções do fabricante da resina, o processo de

solidificação do material deve começar a ocorrer a partir dos 5 minutos após o início da mistura, sendo que durante estes 5 minutos iniciais a mistura permanece na forma líquida. É claro que a reação depende da temperatura, mas no nosso caso a temperatura ambiente foi mantida constante em 22°C.

A reação geral para uma resina epóxi com uma diamina primária (endurecedor) é uma reação de adição como mostra a reação abaixo ³⁶:

Equação 44

No entanto, quando uma amina primária reage com um grupo epóxi, a reação inicial produz uma hidroxila alcoólica, pela abertura do anel epóxido, e também uma amina secundária, como mostrado a seguir ³⁶:

Equação 45

Esta primeira etapa parece ser mais lenta, em comparação com a etapa subsequente, pois o decaimento do sinal é bastante suave. As diaminas, geradas nesta primeira etapa, promovem então a formação de ligações cruzadas formando a cadeia polimérica, num processo de cura^{36, 37}. A reação desta etapa é mostrada a seguir:

Equação 46

Um estudo cinético dos dados apresentados permitiu observar que as velocidades de reação de cura das resinas diferem, como mencionado anteriormente, e podem ser observadas na figura a seguir.

Figura 35. Gráfico de $\log(M_t - M_{\infty})$ em função do tempo para um processo de primeira ordem para a reação de cura da resina epóxi.

O tratamento cinético utilizado foi feito considerando uma reação de primeira ordem, como proposto pela literatura⁷⁵. O resultado permitiu observar que a reação ocorre em duas etapas, como fora observado anteriormente, sendo que a primeira etapa ocorre com uma constante de velocidade de $3,43 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$, e a segunda etapa ocorre com $k = 2,24 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$. E observada uma etapa intermediária, pouco definida, mas que pode ser atribuída a uma interface entre as duas etapas.

Para acompanhar o processo de cura foi feito um estudo através do monitoramento dos tempos de relaxação (T_1 e T_2), o qual é apresentado na Figura 36. Trabalhos anteriores^{36, 37} tratam o sistema com duas componentes, sendo uma mais lenta, relativa a parte líquida, que ainda não reagiu; e uma outra mais rápida referente a parte que já solidificou pelo processo de cura. Mas o sistema pode ser tratado como uma única componente, avaliando uma mobilidade média dos núcleos que estão sendo observados.

Nos primeiros 6 minutos da reação pode-se verificar que a magnitude dos tempos de relaxação varia muito pouco, indicando que a mobilidade dos núcleos de hidrogênio também varia pouco. Baseado no mecanismo da reação de cura da resina, seria esperado que realmente não houvesse muita variação na mobilidade; e em consequência, nos tempos de relaxação da mistura. Visualmente também não foi observada mudança na viscosidade do meio. Como na primeira etapa não ocorre a formação das ligações cruzadas entre as moléculas, é de se esperar que a mobilidade dos núcleos realmente não seja muito alterada.

Figura 36. Variação dos tempos de relaxação transversal (T_1) e longitudinal (T_2) em função do tempo de reação de cura da resina epóxi. Em **(a)** utilizando os métodos convencionais (estimativa por inversão-recuperação para T_1 e CPMG para T_2), e em **(b)** utilizando o método CWFP. Em CWFP os parâmetros utilizados foram: $T_p=0,3$ ms; $\alpha=\pi/2$; $\omega T_p=3\pi$.

Já na segunda etapa os tempos de relaxação decaem por um período de aproximadamente 5 minutos, até atingir um ponto de mínimo. Neste período, ocorre a formação de ligações entre as cadeias, aumentando a viscosidade do meio, e diminuindo bastante a mobilidade dos núcleos, e conseqüentemente nos tempos de relaxação, principalmente T_2 . O mesmo comportamento foi observado para ambos os métodos de determinação de tempos de relaxação.

Comparando ambas as técnicas para a determinação de T_1 , CWFP e inversão-recuperação, são observadas discrepâncias nos valores de T_1 obtidos. Além do erro estimado para a técnica de CWFP, que está em cerca de 10%, devemos considerar que a medida de T_1 por inversão recuperação é apenas uma estimativa, o que aumenta ainda mais a discrepância entre ambos os métodos.

Podemos destacar algumas vantagens da técnica CWFP em relação aos métodos tradicionais de determinação de T_1 e T_2 , no estudo de um processo dinâmico como este que apresentamos aqui. A primeira delas está no fato de ser possível realizar a medida de ambos os tempos de relaxação, T_1 e T_2 , simultaneamente e de forma rápida, em um único experimento, ou seja, utilizando a mesma mistura.

Se o monitoramento da reação for feito pela variação de T_1 , a medida convencional, por inversão-recuperação, é praticamente impossível em uma reação relativamente rápida, como a que tratamos aqui, sendo possível apenas fazer uma estimativa, qual a que fizemos em nossos experimentos. No entanto, este procedimento induz a erros maiores. A medida de T_2 deve ser feita em um segundo experimento CPMG, utilizando uma nova mistura, tomando sempre o cuidado de realizar a reação nas mesmas condições. É bem verdade que a reprodução da

reação, exatamente nas mesmas condições, é sempre complicada e requer habilidade do operador.

Outra vantagem da técnica CWFP está na possibilidade, tanto de avaliar a mobilidade dos núcleos, como também avaliar a cinética da reação, através do monitoramento do sinal com o tempo, sempre em um único experimento.

5.4. Determinação de difusividade térmica em borracha natural⁷⁶

A Figura 37 mostra o decaimento do sinal CWFP para amostras esféricas de borracha, com várias massas. Cada um dos pontos, acumulados em todos os decaimentos, foram adquiridos em intervalos de 2,7 ms (9Tp) e corresponde a uma média de 64 pontos acumulados com uma taxa de digitalização de 4 μ s. Nesta figura são apresentados vários decaimentos em esferas de diferentes massas, indicando que a conforme a massa da esfera aumenta, um tempo maior é necessário para que o sinal decaia totalmente até próximo de zero. Isso pode ser observado mais claramente na Figura 38, na qual os decaimentos normalizados foram colocados em um gráfico. O decaimento correspondente à massa de 0,47 g, na Figura 37, foi removido na Figura 38 para melhorar a clareza.

Figura 37: Amplitude do decaimento do sinal CWFP para amostras esféricas de borracha de várias massas, inicialmente a $\theta_0 = 295\text{ K}$, e após contato com o banho de nitrogênio líquido a $\theta_b = 77,8\text{ K}$.

De acordo com a equação 27, e também a partir da equação 24, mais geral, a dependência com o tempo dos decaimentos da Figura 38 deveria ser governada pela variável t/a^2 . Assim, negligenciando as variações na densidade de massa ρ , e os dados da Figura 38 são confrontados como uma função da variável t/a^2 seria obtida uma curva de decaimento universal. Equivalentemente, todos os decaimentos deveriam também colapsar em apenas um decaimento universal se um gráfico em função de $t/m^{2/3}$, onde m denota a massa de uma esfera e $m^{2/3} = a^2(4\pi\rho)^{2/3}$.

Figura 38. Decaimento do sinal de CWFP normalizado para amostras esféricas de borracha com quatro diferentes massas.

A Figura 39 mostra o decaimento universal obtido pelo gráfico de cada um dos quatro decaimentos da Figura 38 em função de $1/m^{2/3}$, o qual confirma a previsão da equação de difusão. Para o decaimento correspondente a esfera de massa $m = 0,47\text{ g}$, não apresentado na Figura 39, a razão sinal/ruído muito pobre permite determinar somente o valor do expoente de massa de $0,66 \pm 0,05$.

Figura 39. Decaimento universal do sinal CWFP para amostras esféricas de borracha natural, com quatro diferentes massas, obtido em função de uma variável escalada com o tempo $t/m^{2/3}$.

Dado que a escala dos decaimentos da Figura 38 com o tempo, de acordo com a previsão da equação de difusão, poderíamos agora empregar a equação 28 para ajustar a curva universal da Figura 39, primeiro assumindo a constante de difusividade. Para aquela finalidade, é necessário primeiro determinar a dependência da razão dos tempos de relaxação com a temperatura $\Gamma(\Theta)$. Como os movimentos relevantes para T_1 e T_2 são termicamente ativados, pode-se esperar, na região $\omega_0 \tau_c > 1$, uma dependência funcional na forma $\Gamma(\Theta) = A + B e(E_T / k_B \Theta)$, onde o expoente E_T contém as contribuições dos movimentos relevantes para T_1 à uma dada frequência bem como a de T_2 . Assim a dependência com a temperatura de $\Gamma(\Theta)$ é esperada ser, em geral, muito maior que T_1 ou T_2 .

Os parâmetros A , B , e E_r poderiam ser determinados a partir de medidas da razão $|M_{s+}|/M_0$ dos sinais de CWFP no estado estacionário, a partir da amplitude do sinal no equilíbrio térmico. Em uma temperatura de $\theta_0 = 295\text{ K}$, os valores de $T_1 = 13\text{ ms}$ e $T_2 = 5,5\text{ ms}$ foram medidos independentemente pelos métodos de inversão recuperação⁵⁶ e Carr-Purcell-Meiboom-Gill⁵⁷, respectivamente, fornecendo uma razão $\Gamma(\theta_0) = 2,36$ para $\omega_0/2\pi = 7,24\text{ MHz}$.

A Figura 40 apresenta as medidas da razão dos tempos de relaxação em função de $1/\Theta$, obtidos a partir das medidas de CWFP das amostras de borracha em várias temperaturas sobre condições de equilíbrio térmico.

Para temperaturas abaixo do valor mínimo de T_1 em $\Theta \approx 298\text{ K}$, a razão $\Gamma(\Theta)$ aumenta bastante e a amplitude do sinal de CWFP no estado estacionário $|M_{s+}|/M_0 = 1/(1 + \Gamma(\Theta))$ alcança o nível de ruído a 268 K . Dessa forma, somente spins em uma faixa relativamente estreita de temperatura abaixo de T_0 estão efetivamente envolvidos no decaimento das figuras 38-40. A partir do melhor ajuste dos dados da Figura 40 foi obtido $A = 1,846$, $E_r/k_B = 5600\text{ K}$, e $B = 0,607 \times 10^{-8}$. É importante apontar que para $\omega_0/2\pi = 5\text{ MHz}$ a relaxação spin-rede em poliisopreno⁷⁷ exibe, na região $\omega_0 T_p > 1$, um aumento exponencial do parâmetro $E_1/k_B \approx 3775\text{ K}$, consideravelmente menor que E_r/k_B .

Figura 40. Razão dos tempos de relaxação $\Gamma(\Theta)$ em função do inverso da temperatura $1/\Theta$ obtidos a partir da amplitude do sinal de CWFP no estado estacionário em equilíbrio térmico. A linha sólida é um ajuste empírico dos dados na região de interesse $\Theta < T_0$.

Agora é possível empregar as equações 27-28 para calcular a curva de decaimento universal e obter um valor médio de $\bar{\lambda}$ da difusividade térmica no intervalo θ_0 a θ_b de um ajuste dos dados da Figura 39. A Figura 41 mostra o decaimento teórico correspondendo a $\bar{\lambda} = 1,684 \times 10^{-3} \text{ cm}^2/\text{s}$ obtidos das equações 27-28, incluindo a pequena correção da lei de Curie.

Figura 41. Decaimento do sinal CWFP universal para amostras esféricas de borracha. Os círculos são valores calculados assumindo uma difusividade térmica média $\bar{\lambda} = 1,684 \times 10^{-3} \text{ cm}^2 / \text{s}$ e uma densidade de massa constante $\rho = 1,1 \text{ g} / \text{cm}^3$.

Dado a teoria, relativamente simples, empregada e as aproximações envolvidas, a total concordância é bastante compensadora. Desvios da forma esférica em nossas amostras, bem como as variações de densidade com a temperatura, podem explicar alguns, mas pequenos erros sistemáticos na Figura 41. É válido comparar o valor de $\bar{\lambda}$ obtidos da Figura 41 com valores encontrados na literatura para materiais relativos. Para borracha vulcanizada, por exemplo, a condutividade⁷⁸, κ , e o calor específico à pressão constante⁷⁹, C_p , foram medidas separadamente em uma faixa de temperatura entre 100 e 290K, fornecendo um valor de $\kappa(290 \text{ K}) = 1,36 \times 10^{-3} \text{ watt} / \text{cm} \cdot \text{K}$ e $c_p(290 \text{ K}) \approx 1,8 \text{ joule} / \text{g} \cdot \text{K}$. Assumindo $\rho \approx 1,1 \text{ g} / \text{cm}^3$ obteve-se a partir da equação 25 $\lambda(290 \text{ K}) = 0,69 \times 10^{-3} \text{ cm}^2 / \text{s}$. Esse

valor parece permanecer aproximadamente constante a partir de 290 K até aproximadamente 200 K e decai muito rapidamente abaixo de 200 K.

A taxa de decaimento da curva teórica da Figura 41 é bastante sensível ao valor da difusividade térmica média $\bar{\lambda}$, e sua forma sozinha não é muito usada para determinar a dependência da difusividade com a temperatura. Para provar este ponto a equação 24 foi resolvida numericamente pelo método de Crank-Nicholson das diferenciais finitas implícitas^{41, 42} assumindo, por exemplo, uma variação linear de $\lambda(\Theta)$ com a temperatura. Os cálculos indicaram que, após a integração sobre a esfera implicou pela equação 28, é possível, para parâmetros realistas, encontrar um valor médio da constante $\bar{\lambda}$, que fornece essencialmente a mesma curva, com a $\lambda(\Theta)$ linearmente dependente da temperatura. Outra dependência monotônica com a temperatura forneceu conclusões similares. Assim, se é desejado extrair alguma informação com relação a dependência com a temperatura de $\lambda(\Theta)$ a partir da Figura 41 seria necessário determinar os valores de difusividade térmica em alguns intervalos pequenos de temperaturas.

5.5. Supressão de Sinal de solvente

5.5.1. Perfil de excitação

Inicialmente foram obtidos os perfis de excitação teóricos da técnica CWFP para uma amostra de água deionizada com $T_1=T_2 \approx 2$ s. Os cálculos foram feitos com base nas equações derivadas por Ernest e Anderson¹¹. A Figura 42

mostra o resultado obtido para um trem de pulsos de 90° separados por um T_p de $300\mu\text{s}$.

Figura 42. Perfil de excitação teórico calculado para uma amostra de água deionizada com $T_1 = T_2 \cong 2$ s. O intervalo entre os pulsos foi de $300\mu\text{s}$ e a largura de pulsos de $\pi/2$. Os valores de amplitude estão em modo absoluto.

Se tomarmos a frequência de offset do solvente como sendo o zero, a primeira observação que se pode fazer no perfil apresentado na Figura 42 é que o sinal se anula na frequência de offset do solvente e em valores de frequência dados por $1/T_p$, e é detectável na faixa de frequências compreendida entre o zero e $1/T_p$. Os pontos de nulo estão relacionados a uma precessão cujos ângulos ψ são harmônicos pares de π . Nessa situação as componentes FID (M^+) e eco (M^-) interferem entre si de maneira destrutiva, já que as mesmas estão defasadas por 180° , e o sinal se anula. Já no caso em que a precessão é resultante de um harmônico ímpar de π , as componentes estão em fase, e interferem entre si de maneira construtiva, o que resulta num sinal máximo.

Essa faixa de frequências detectáveis, e também a amplitude do sinal medida nesta região dependem de uma série de fatores, como a duração do intervalo entre os pulsos (T_p), a largura de pulsos (pw) e os tempos de relaxação (T_1 e T_2) da amostra.

5.5.1.a. Largura de pulsos

Um estudo anterior²⁰ mostrou que o sinal de CWFP é sensível a mudanças da largura de pulso, e depende da razão dos tempos de relaxação longitudinal e transversal (T_1/T_2). Equivalentemente, a intensidade de B_1 também é um fator que interfere na sensibilidade do sinal de CWFP. No caso da água, onde $T_1 \approx T_2$, uma mudança de 10% em B_1 , na condição $\alpha = \pi/2$, leva a um decréscimo de 2% na amplitude do sinal.

Na Figura 43 são apresentados os perfis de excitação teóricos da sequência CWFP, obtidos pela variação da largura de pulsos para uma amostra de água deionizada, com $T_1 = T_2 \cong 2$ s (razão $T_1/T_2 \cong 1$), e com um intervalo entre os pulsos de 300 μ s.

Figura 43. Perfis de excitação teóricos da seqüência CWFP calculados para uma amostra de água deionizada com $T_1 = T_2 \cong 2$ s para diferentes larguras de pulso ($pw=\alpha$). O intervalo entre os pulsos foi de 300 μ s. A amplitude está em valores absolutos, α é o ângulo de rotação da magnetização em relação ao eixo z.

Para uma largura de pulso referente a um α de 15° , a amplitude máxima do sinal de CWFP é obtida em freqüências próximas do zero, sendo que há um decréscimo bastante acentuado em freqüências próximas dos harmônicos ímpares de π . O mesmo comportamento é sempre observado para α menores que 90° . No caso em que a largura de pulsos resulta num α de 15° ou 45° , a medida de sinais em freqüências próximas dos harmônicos ímpares de π se torna mais complicada. Comparada a um ângulo de 90° a amplitude do sinal diminui em aproximadamente 30%, para o caso de um α de 45° , e essa diminuição é ainda maior para valores de α menores.

No entanto, algumas aplicações interessantes podem surgir desse comportamento, como por exemplo, quando se deseja observar o sinal de núcleos que absorvem em freqüências muito próximas da do solvente, já que o sinal é rapidamente recuperado em freqüências muito próximas de zero. Como o sinal

nessa pequena faixa de frequências é máximo, isso pode ser tomado como uma vantagem para fazer medidas quantitativas com maior confiabilidade. Para os pulsos mais longos, como por exemplo, 80° e 100° , ou próximos de 90° , o decréscimo na amplitude do sinal, que é muito menos acentuado, pode não ser tão problemático para medidas quantitativas.

No caso de pulsos mais longos, como por exemplo, 135° , o sinal máximo é obtido em frequências relativas aos harmônicos ímpares de π . Entretanto a amplitude do sinal nesse ponto diminui em aproximadamente 30% em comparação ao pulso de $\pi/2$, e é ainda menor nas frequências próximas da do solvente.

Para a comprovação dos dados teóricos foram obtidos perfis experimentais pela variação da frequência de offset, e fixando o zero na frequência do solvente. Em geral os perfis obtidos experimentalmente são bastante similares aos obtidos por simulação teórica, como pode ser observado pela Figura 44.

Figura 44. Perfis de excitação da sequência CWFP teórico (a,c,e) e experimentais (b,d,f) obtidos para uma amostra de água deionizada com $T_1=T_2 \cong 2,7s$; $T_p=300 \mu s$: $\alpha=90^\circ$ (a e b), $\alpha=45^\circ$ (c e d); $\alpha=135^\circ$ (e e f).

5.5.1.b. Variação do intervalo entre os pulsos (T_p)

Considerando o perfil de excitação da seqüência CWFP, o intervalo de tempo entre os pulsos irá influenciar diretamente na faixa de freqüências detectáveis entre os pontos de nulo, que será variável. O inverso de T_p coincide com um ângulo de precessão par ($\psi=(2n)\pi$).

Os resultados apresentados na Figura 45 mostram que pela variação do intervalo entre os pulsos (T_p) é possível selecionar uma faixa de freqüências adequada para detectar somente os núcleos de interesse. Além disso, é possível promover a supressão de vários sinais em um mesmo espectro, fixando a freqüência de offset no solvente e escolhendo um T_p cujo valor inverso coincida justamente a freqüência do outro sinal que se deseja suprimir.

Resultados similares foram obtidos para diferentes larguras de pulso, como mostrado, por exemplo, na Figura 46, para uma largura de pulso resultando num ângulo de rotação de 45° .

Figura 45. Perfis de excitação da sequência CWFP experimentais obtidos para uma amostra de água deionizada com $T_1=T_2 \cong 2,7$ s; $\alpha=90^\circ$: **(a)** $T_p=300$ μ s; **(b)** $T_p=500$ μ s; **(c)** $T_p=150$ μ s.

Figura 46. Perfis de excitação da sequência CWFP experimentais obtidos para uma amostra de água deionizada com $T_1 = T_2 \cong 2,7$ s; $\alpha = 45^\circ$: **(a)** $T_p = 300 \mu s$; **(b)** $T_p = 500 \mu s$; **(c)** $T_p = 150 \mu s$.

5.5.1.c. Variação do número de pulsos

O efeito da entrada no estado estacionário na supressão de sinais de solvente pode ser verificado na Figura 47. Para a água deionizada pode-se observar que para $n=1$ (dois pulsos) o resultado obtido para a seqüência CWFP é bastante similar à seqüência "jump-return", mesmo considerando que não há inversão de fase dos pulsos consecutivos, como ocorre no método "jump-return". Com a aplicação de 2 pulsos a supressão do sinal da água é melhor, por exemplo, que a aplicação de 16 pulsos, e não depende dos tempos de relaxação.

Conforme mais pulsos são aplicados a magnetização começa a entrar no regime quasi-estacionário, onde o sinal decai e com uma dependência com os tempos de relaxação, T_1 e T_2 da amostra, governado por T_1 e T_2 pela equação $T^*_{(\alpha=\pi/2)}=2T_1T_2/(T_1+T_2)$. Este comportamento é verificado muito claramente na Figura 47a. A supressão atinge um máximo para um trem de pulsos com n da ordem de 500 pulsos, como pode ser observado na Figura 47b. Na condição em que o offset é zero ou múltiplo par de π , o estado verdadeiramente estacionário, em que a amplitude do sinal nula, é atingido pela aplicação de um número de pulsos que é dependente dos tempos de relaxação do sistema.

Figura 47. Supressão do sinal da água pelo método CWFP como função do número de pulsos p1 (n) e os tempos de relaxação da amostra.

A Figura 48 mostra a supressão de água através da técnica CWFP em duas diferentes condições. Na primeira condição a seqüência é aplicada com apenas um pulso p1 e um outro pulso pw de aquisição, o que resulta numa seqüência muito similar à "jump-return", com 2 pulsos; não levando em conta a fase dos pulsos. Numa outra condição a mesma seqüência é aplicada com um trem de 128 pulsos p1, mais um pulso pw de aquisição. Comparando com o sinal da água sem supressão (Figura 48 (a)), pode-se observar que no caso (b) onde a técnica é aplicada com 2 pulsos o sinal da água foi suprimido 5 vezes, enquanto que quando a seqüência é aplicada com 129 pulsos o sinal da água é suprimido em 140 vezes. Portanto é possível observar fazendo uma boa aproximação, o método CWFP é mais eficiente que a técnica "jump-return".

Figura 48. Eficiência da supressão do sinal de água através da técnica CWFP aplicada com diferentes números de pulsos: **(a)** 1 pulso - sem supressão; **(b)** 2 pulsos similar à "jump-return"; **(c)** 129 pulsos. $p1=pw=\pi/2$.

5.5.2. Modificações na sequência de pulsos para correção de anomalias de fase e intensidade no espectro de RMN-CWFP transformado

Neste estudo optou-se por utilizar uma amostra que apresentasse sinais com grande diferença de deslocamento químico, a fim de tornar a análise mais fácil. Para isso, foi utilizada uma mistura de solventes, muito utilizados em RMN, clorofórmio e ácido acético, cujo espectro é apresentado na Figura 49. Todos os sinais são singletos, já que não ocorre acoplamento entre eles. O sinal em 2,03 ppm é relativo aos prótons do grupo metila do ácido acético, em 7,27 ppm aparece o sinal do clorofórmio, e o sinal em 11,72 ppm é atribuído ao hidrogênio do grupo OH da carboxila do ácido acético.

Figura 49. Espectro transformado de RMN- ^1H 85 MHz de uma mistura de clorofórmio e ácido acético.

Para o experimento de supressão foi utilizada inicialmente a sequência que vinha sendo utilizada até o momento. Esta sequência consiste de um trem de pulsos de mesma fase, intensidade e duração, separados por um $T_p < T_2^* \ll T_1, T_2$.

A Figura 50 mostra o espectro da mistura onde foi suprimido o sinal do clorofórmio, preservando apenas os sinais do ácido acético. O ajuste foi feito mecanicamente, pela variação da posição da amostra no interior do magneto, explorando a região onde o sinal de FID fosse o mais longo possível, mas ainda assim as linhas são bastante largas. Nesta figura é bastante claro o problema de fase, que mesmo com o ajuste, as distorções são preservadas. Além disso, os sinais do clorofórmio também aparecem invertidos com relação ao sinal do clorofórmio, que foi suprimido, mas não totalmente, provavelmente em razão das anomalias de fase e

falta de homogeneidade do campo magnético. Um resultado semelhante ocorre com a técnica jump-return^{80,81}, como mostrado na Figura 50b.

Figura 50. (a) Espectro transformado de RMN-CWFP- ^1H , em 85 MHz, da mistura clorofórmio e ácido acético. Seqüência: $(90^\circ_x - T_p)_n 90^\circ_x$. Parâmetros CWFP: $T_p = 0,3$ ms, $\alpha = (90^\circ)_x$, tempo de aquisição=2, $\psi = \omega T_p = 0$ para o sinal do clorofórmio. **(b)** Espectro RMN-jump-return, em 85 MHz, da mistura clorofórmio e ácido acético. Seqüência: $90^\circ_x - T_p - 90^\circ_{-x}$, com $T_p = 400$ μs .

Na tentativa de corrigir esses problemas foram buscados na literatura métodos que pudessem fazê-lo. Num método mais antigo, proposto por Freeman e Hill¹², é feito um incremento de tempo aleatório, onde foi observado que a componente eco do sinal de SSFP é eliminada. Mais recentemente, Rudakov et al.^{23,24} desenvolveram algumas modificações na seqüência de pulsos, baseados na ciclagem de fases dos pulsos. Em seus experimentos foram obtidos resultados semelhantes aos de Freeman e Hill. Foram utilizadas duas propostas de ciclos de fase, apresentadas por Rudakov. As seqüências utilizadas foram $(p1_x - T_p - p1_y - T_p - p1_{-x} - T_p - p1_{-y} - T_p)_n pw_y$ e $(p1_x - T_p - p1_y - T_x - p1_{-x} - T_p - p1_{-y} - T_p)_n pw_{-x}$.

5.5.2.a. Seqüência $(p1_x-T_p-p1_y-T_p-p1_{-x}-T_p-p1_{-y}-T_p)_{n}pw_{-y}$

Numa primeira proposta foi decidido variar a fase dos pulsos sempre avançando de 90° , como fora proposto por Rudakov²³. A seqüência utilizada nestes experimentos já foi apresentada na Figura 23a. Naquela figura foi proposto que a aquisição fosse feita em fase com o último pulso do trem, mas um resultado semelhante é obtido com o sinal adquirido com defasagem de 180° . Estes resultados são mostrados na Figura 51.

Figura 51. Espectro transformado de RMN-CWFP- 1H , em 85MHz, da mistura clorofórmio e ácido acético. Seqüência: **(a)** $(90^\circ_x-T_p-90^\circ_y-T_p-90^\circ_{-x}-T_p-90^\circ_{-y}-T_p)_{n}90^\circ_{-y}$; **(b)** $(90^\circ_x-T_p-90^\circ_y-T_p-90^\circ_{-x}-T_p-90^\circ_{-y}-T_p)_{n}90^\circ_y$. Parâmetros CWFP em ambas: $T_p=0,3$ ms, $\psi=\omega T_p=0$ para o sinal do clorofórmio.

Na Figura 51 é claramente observado que praticamente não há distorções no espectro, relativas à anomalias de fase. O sinal do clorofórmio é totalmente suprimido e os sinais do ácido acético aparecem com mesma fase em relação ao offset, ou seja, não invertidos. A variação na fase do pulso de aquisição

parece interferir apenas na intensidade do sinal. Mesmo com essas vantagens, foi observado que a frequência de offset do sinal a ser suprimido é deslocado para uma frequência da ordem de 0,8 kHz, o que resulta em um deslocamento de $-\pi/2$, ou $3\pi/2$, no ângulo de offset.

Foram traçados os perfis de excitação desta seqüência, para o qual foi utilizada uma amostra de água, para facilitar a análise, já que o espectro consiste de apenas um sinal. A Figura 52 apresenta o perfil de excitação tanto para a seqüência normal quanto para a seqüência modificada, o que foi obtido com um T_p de 300 μ s, e variando o offset de 250 Hz.

Nesta figura pode ser verificado que o sinal é suprimido em diferentes valores de frequência de offset, comparando as seqüências, e essa diferença é da ordem de 0,8 KHz, o que corresponde a uma defasagem no ângulo de offset de $-\pi/2$ ou $+3\pi/2$. Esta defasagem na frequência de supressão já era esperada, pois ela também foi observada quando se utilizava ciclagem de fases nos pulsos^{20,21,27}. Rudakov apresenta resultados de uma seqüência SSFP normal, com a introdução de pulso preparatório, onde os máximos e mínimos ocorrem com períodos diferentes²⁷. No entanto não é feita nenhuma discussão sobre esse efeito, e eles indicam que um estudo teórico ou então da ciclagem de fases dos pulsos seria necessário. O mesmo comportamento é observado quando a seqüência é aplicada com diferentes valores de T_p , como mostram as Figura 53 e 55.

Figura 52. Perfis de excitação da sequência CWFp em fase: **(a)** sequência sem mudança de fase, $(90^\circ_x - T_p)_n 90^\circ_x$, **(b)** sequência com alteração de fase, $(90^\circ_x - T_p - 90^\circ_y - T_p - 90^\circ_x - T_p - 90^\circ_y - T_p)_n 90^\circ_y$. Em ambos $T_p = 300 \mu s$, $\psi = \omega T_p = 0$ para o sinal do clorofórmio;

Uma possível explicação para essa defasagem pode ser devida ao fato de que como a fase dos pulsos avança de 90° a partir de x, e a aquisição é feita em fase com o último pulso do trem, ou seja, -y, então o offset para que o sinal fosse suprimido teria um ângulo de $3\pi/2$, e como essa variação é uma função periódica de

T_p , o outro ponto de nulo correspondente seria de $-\pi/2$, como é observado na Figura 52.

Figura 53. Perfis de excitação da seqüência CWFP em fase: **(a)** seqüência sem mudança de fase, $(90^\circ_x - T_p -)_n 90^\circ_x$; **(b)** seqüência com alteração de fase: $(90^\circ_x - T_p - 90^\circ_y - T_p - 90^\circ_x - T_p - 90^\circ_y - T_p -)_n 90^\circ_y$. $T_p = 200 \mu s$; $\psi = \omega T_p = 0$ para o sinal do clorofórmio.

Figura 54. Perfis de excitação da seqüência CWFp em fase: **(a)** seqüência sem mudança de fase, $(90^\circ_x - T_p)_n 90^\circ_x$; **(b)** seqüência com alteração de fase: $(90^\circ_x - T_p - 90^\circ_y - T_p - 90^\circ_x - T_p - 90^\circ_y - T_p)_n 90^\circ_y$. $T_p = 500 \mu s$, $\psi = \omega T_p = 0$ para o sinal do clorofórmio.

As figuras 57 a 60 mostram os perfis de excitação da seqüência $(p1_x - T_p - p1_y - T_p - p1_x - T_p - p1_y - T_p)_n pw_y$ para diferentes larguras de pulso ($p1$), fixando o intervalo entre os pulsos, T_p , em $300 \mu s$ e o pulso de leitura (pw) em 90° . Em todas elas estão apresentados os perfis nos modos magnitude e fase. E pode-se verificar que em todos eles não são observadas alterações na fase dos sinais, como já foi demonstrado anteriormente, indicando a possível resolução dos problemas de anomalias de fase do sinal.

Foi demonstrado até o momento que a anomalia de fase pode ser corrigida pela ciclagem de fase dos pulsos. Patz já indicara que o sinal máximo de SSFP ocorre com uma dependência com a ciclagem de fase dos pulsos e também com o ângulo de offset, ψ^{82} . No entanto, aquelas modificações, da forma como foram feitas, não permitiram solucionar um outro problema verificado, a anomalia de intensidade. Isto pode ser problema quanto ao uso da técnica para análise quantitativa, ou mesmo na atribuição de sinais através de áreas.

Na tentativa de resolver esse problema foi feito um estudo dos perfis de excitação das seqüências modificadas, variando principalmente a largura de pulsos inseridos no trem de pulsos, mas mantendo a largura do pulso de leitura fixa.

Os perfis de excitação obtidos a partir destas modificações são apresentados nas figuras 56 a 59.

Nas figuras que seguem (figuras 56 a 59) pode-se observar que quando a seqüência aplicada consiste de um trem de pulsos com largura cujo ângulo de rotação é maior que 90° (figuras 57 e 58), os perfis exibem sinais menos intensos para freqüências que estão próximas àquela referente ao sinal suprimido.

Figura 55. Perfis de excitação água para a seqüência $(p1_x-T_p-p1_y-T_p-p1_x-T_p-p1_y-T_p)_n pw_y$ nos modos: **(a)** magnitude; **(b)** fase. Parâmetros CWFP: $p1=45$, $pw=90$, $T_p=300 \mu s$.

Figura 56. Perfis de excitação água para a seqüência $(p1_x-T_p-p1_y-T_p-p1_x-T_p-p1_y-T_p)_n pw_y$ nos modos: **(a)** magnitude; **(b)** fase. Parâmetros CWFP: $p1=15$, $pw=90$, $T_p=300 \mu s$.

Figura 57. Perfis de excitação da água para a seqüência $(p1_x-T_p-p1_y-T_p-p1_x-T_p-p1_y-T_p)_n pw_y$ nos modos: **(a)** magnitude; **(b)** fase. Parâmetros CWFP: $p1=90$, $pw=90$, $T_p=300\mu s$.

Figura 58. Perfis de excitação da água para a seqüência $(p1_x-T_p-p1_y-T_p-p1_x-T_p-p1_y-T_p-pw_y)_n$ nos modos: **(a)** magnitude; **(b)** fase. Parâmetros CWFP: $p1=135$, $pw=90$, $T_p=300 \mu s$.

Nos casos em que as larguras de pulsos são menores (45° e 15° - figuras 58 e 59) foram observados perfis onde a freqüência, a qual o sinal é suprimido, é bem definida, e não se observa grande diminuição na intensidade dos sinais que aparecem próximos desta freqüência; e o sinal é tanto mais intenso quanto menor a largura de pulso. Tem-se aqui um comportamento diferente da seqüência original, onde não é feita a ciclagem de fase dos pulsos. Os perfis da seqüência original apresentam uma diminuição bastante grande do sinal nas freqüências centrais, próximas de π ; e naquelas próximas do sinal suprimido (0), os sinais apresentam intensidade maior; comportamento este observado para pulsos menos largos.

Para avaliar o efeito da largura de pulso na intensidade do sinal, no espectro CWFP transformado, foram feitos alguns experimentos de supressão utilizando como amostra uma mistura 1:1 de ácido acético/clorofórmio.

Na Figura 59 estão apresentados os espectros da seqüência CWFP, sem ciclagem de fases dos pulsos, para diferentes larguras de pulsos p1. Estes espectros foram normalizados com relação ao espectro original, sem supressão, e utilizando o sinal do grupo metila do ácido acético, em 2,04 ppm.

Figura 59. Espectros transformados de RMN-CWFP para uma mistura 1:1 ácido acético-clorofórmio. Seqüência utilizada: $(p1_x - T_p -)_n pw_x$, onde $pw=90^\circ$ e $T_p=0,3$ ms; offset zero no sinal do clorofórmio. As larguras de pulsos $p1$ utilizadas foram: **(a)** 15° , **(b)** 45° , **(d)** 90° , **(c)** 135° . O espectro representado pela linha preta se refere ao espectro normal, sem supressão.

Analizando o sinal da carboxila do ácido acético, em aproximadamente 11 ppm, podemos verificar que a intensidade do sinal pode ser aumentada quando se trabalha com pulsos menos largos. Apesar disso, como já demonstrado anteriormente, os problemas de fase permanecem.

Figura 60. Espectros transformados de RMN-CWFP para uma mistura 1:1 ácido acético-clorofórmio. Seqüência utilizada: $(p1_x-T_p-p1_y-T_p-p1_x-T_p-p1_y-T_p)_n pw_y$, onde $pw=90^\circ$ e $T_p=0,3$ ms; offset zero no sinal do clorofórmio. As larguras de pulsos $p1$ utilizadas foram: **(a)** 15° , **(b)** 45° , **(c)** 90° , **(d)** 135° . O espectro representado pela linha preta se refere ao espectro normal, sem supressão.

A seqüência modificada, $(p1_x-T_p-p1_y-T_p-p1_x-T_p-p1_y-T_p)_n pw_y$, apresenta um comportamento similar a seqüência sem ciclagem de fases. A intensidade do sinal da hidroxila do ácido acético é maior quando a seqüência aplicada consiste de pulsos mais estreitos. Os problemas com fase também são bem

resolvidos; como demonstrado anteriormente, e confirmado nos espectros apresentados na Figura 60.

5.5.2.b. Seqüência $(p1_x-T_p-p1_x-T_p-p1_{-x}-T_p-p1_{-x}-T_p-)_n pw_{-x}$

Uma outra modificação proposta foi alterar a fase de 180° para cada par de pulsos, da mesma forma que Rudakov propôs, e mostrado na Figura 23b²³. A fase da aquisição também foi variada, mas sem alteração no resultado final, como apresentado na Figura 61. Nesta figura pode-se observar que o sinal do clorofórmio é suprimido, e que os sinais do ácido acético se mantêm em fase em relação ao offset. No entanto, são introduzidos alguns artefatos que pioram a qualidade do espectro em comparação com a modificação da seqüência proposta anteriormente. A mudança na fase do pulso de aquisição não provoca alteração no resultado final, a não ser variações na intensidade dos sinais.

Figura 61. Espectro transformado de RMN-CWFP- ^1H , em 85 MHz, da mistura clorofórmio e ácido acético. Sequência: **(a)** $(90^\circ_x\text{-}T_p\text{-}90^\circ_x\text{-}T_p\text{-}90^\circ_{-x}\text{-}T_p\text{-}90^\circ_{-x}\text{-}T_p)_n 90^\circ_x$; **(b)** $(90^\circ_x\text{-}T_p\text{-}90^\circ_{-x}\text{-}T_p\text{-}90^\circ_{-x}\text{-}T_p\text{-}90^\circ_{-x}\text{-}T_p)_n 90^\circ_{-x}$. Parâmetros CWFP em ambas: $T_p=0,3$ ms, $\psi=\omega T_p=0$ para o sinal do clorofórmio.

A Figura 62 apresenta os perfis de excitação da sequência não modificada e a sequência agora proposta.

Analisando a Figura 62 pode-se observar que os perfis de excitação são bastante distintos. O perfil da sequência normal tem uma frequência na qual o sinal é suprimido bem definido. Já na sequência modificada existe uma faixa de frequências onde sinal é mínimo, embora coincida com a região de saturação do sinal na sequência normal, já que não ocorre mudança na fase do pulso de aquisição. O mesmo comportamento é observado quando se trabalha com diferentes valores de T_p , como pode ser verificado na Figura 63.

Figura 62. Perfis de excitação da seqüência CWFP em fase: **(a)** seqüência sem mudança de fase, $(90^\circ_x - T_p)_n 90^\circ_x$; **(b)** seqüência com alteração de fase: $(90^\circ_x - T_p - 90^\circ_x - T_p - 90^\circ_x - T_p - 90^\circ_x - T_p)_n 90^\circ_x$. $T_p = 300 \mu s$, $\psi = \omega T_p = 0$ para o sinal do clorofórmio.

Figura 63. Perfis de excitação da seqüência CWFP, em fase, com alteração de fase: $(90^\circ_x - T_p - 90^\circ_x - T_p - 90^\circ_x - T_p - 90^\circ_x - T_p)_n 90^\circ_x$: **(a)** $T_p = 200 \mu s$, **(b)** $T_p = 500 \mu s$. $\psi = \omega T_p = 0$ para o sinal do clorofórmio.

Anteriormente apresentamos a seqüência modificada, $(p1_x - T_p - p1_x - T_p - p1_x - T_p - p1_x - T_p)_n pw_x$, como uma alternativa para a solução de anomalias de fase. Os resultados apresentaram uma possível solução deste problema, no entanto com alguns artefatos e problemas residuais. Ainda assim decidimos utilizar esta seqüência modificada para tentar solucionar agora as anomalias de intensidade. As figuras 63 a 66 mostram os perfis da seqüência $(p1_x - T_p - p1_x - T_p - p1_x - T_p - p1_x - T_p)_n pw_x$ para diferentes larguras de pulso ($p1$), fixando o intervalo entre os pulsos, T_p , em $300 \mu s$ e o pulso de leitura (pw) em 90° . Em todas elas estão apresentados os perfis nos modos magnitude e fase. Esta seqüência, aqui proposta, parece ser mais

sensível a variações na largura de pulsos, pois seu perfil de excitação é bastante modificado em função deste parâmetro.

Na Figura 64 observa-se uma faixa de freqüências, de aproximadamente 1kHz, próximas da freqüência de offset, onde o sinal tem uma intensidade muito mais baixa que na região ao redor do sinal máximo, em π . Este comportamento indica que a supressão do sinal de interesse pode afetar todos aqueles que aparecem próximos a ele; um exemplo deste tipo de caso é o do açúcar em água, cujos sinais são bem próximos. Em zero o sinal não é totalmente suprimido.

Figura 64. Perfis de excitação da água para a seqüência $(p1_x-T_p-p1_x-T_p-p1_x-T_p-p1_x-T_p-)_n pw_x$ nos modos: **(a)** magnitude; **(b)** fase. Parâmetros CWFP: $p1=90$, $pw=90$, $T_p=300 \mu s$.

Na Figura 65, o perfil de excitação para a seqüência com pulsos de 135° mostra que o sinal não foi completamente suprimido em nenhuma freqüência definida, embora não haja alterações na intensidade dos sinais.

Figura 65. Perfis de excitação da água para a seqüência ($p_{1,x}-T_p-p_{1,x}-T_p-p_{1,x}-T_p-p_{1,x}-T_p-$) $_n pw_x$ nos modos: **(a)** magnitude; **(b)** fase. Parâmetros CWFP: $p_1=135$, $pw=90$, $T_p=300 \mu s$.

O perfil de excitação apresentado na Figura 66 se refere à sequência CWFp com pulsos de 15°. Neste perfil pode-se verificar que o sinal pode ser suprimido em frequências bem definidas e que não ocorre variação drástica na intensidade do sinal, fora de zero. Aparentemente também não são observadas alterações na fase do sinal.

Figura 68. Espectros transformados de RMN-CWFP para uma mistura 1:1 ácido acético-clorofórmio. Seqüência utilizada: $(p1_x-T_p-p1_x-T_p-p1_x-T_p-p1_x-T_p)_n pw_x$, onde $pw=90^\circ$ e $T_p=0,3\text{ms}$; offset zero no sinal do clorofórmio. As larguras de pulsos $p1$ utilizadas foram: (a) 15° , (b) 45° , (c) 90° , (d) 135° . O espectro representado pela linha preta se refere ao espectro normal, sem supressão.

5.7. Supressão de água in vivo: experimentos exploratórios

De maneira a testar a técnica CWFP para a supressão de água em frutas intactas para a medida do teor de açúcar nestas frutas, foram feitos experimentos utilizando algumas frutas. Na Figura 69 é apresentado o espectro de ^1H NMR em valores absolutos de uma amostra de caqui cuja supressão de água foi feita com o uso da técnica "jump-return" e CWFP.

Figura 69. Espectro de ^1H -RMN, em valores absolutos, de uma amostra de caqui: **(a)** sem supressão do sinal da água; **(b)** com supressão do sinal da água utilizando as técnicas "jump-return" e CWFP. Na sequência CWFP foram aplicados 1024 pulsos p_1 separados por um $T_p=300\ \mu\text{s}$; $p_1=pw=\pi/2$ pulses.

O sinal do açúcar aparece em um δ de 3,5 ppm, enquanto que o da água aparece em 4,7 ppm. Como o imã utilizado não apresenta uma grande homogeneidade, a resolução do espectro é pobre e não é possível observar o desdobramento das linhas do açúcar. Sem supressão (Figura 69 (a)), o sinal do açúcar aparece como um ombro no sinal da água, sendo praticamente impossível fazer um tratamento quantitativo do espectro, com o intuito de se obter o teor de

açúcar na fruta. Os resultados apresentados na Figura 69(b) mostram que com a supressão do sinal da água, o sinal referente ao açúcar aparece com maior resolução. Pode-se observar ainda que a seqüência CWFP reduziu o sinal da água com maior eficiência que o método "jump-return", o qual introduz artefatos indesejáveis no espectro, piorando a sua qualidade.

6. CONCLUSÕES

Através dos estudos sobre o estabelecimento do estado estacionário foi possível observar que de uma maneira geral, o sinal de CWFP é composto de três estágios, sendo o primeiro de alternância da amplitude do sinal, o segundo chamado quasi-estacionário, e o terceiro que se refere ao estado verdadeiramente estacionário.

O primeiro estágio é influenciado pela não homogeneidade do campo, mas que não apresenta problemas práticos, quando o experimento é realizado em campos mais altos e homogêneos. Após o período de oscilação da amplitude do sinal, a magnetização entra num segundo estágio, chamado estado quasi-estacionário, pois a amplitude do sinal continua a diminuir com o passar do tempo, ou seja, mais pulsos vão sendo aplicados.

Durante este período a magnetização decai exponencialmente como uma função de T_1 e T_2 , de acordo com a equação $T^*_{(\alpha=\pi/2)}=2T_1T_2/(T_1+T_2)$. Após esse período a magnetização entra num estado verdadeiramente estacionário, e não varia mais. A amplitude desta magnetização está relacionada com o decaimento da magnetização, desde a condição de equilíbrio térmico, M_0 , através de T_1 e T_2 , até o

estado estacionário ser completamente atingido, através da relação $|M_{+s}|=M_0T_2/(T_1+T_2)$.

Conhecido todo esse processo, foi possível verificar que, com a amplitude da magnetização no estado estacionário ($|M_{+s}|$), atingido através do decaimento de M_0 , segundo uma constante $T^*_{(\alpha=\pi/2)}$, os tempos de relaxação, T_1 e T_2 , poderiam ser extraídos através de um único experimento. A vantagem desta metodologia está em não realizar etapas desnecessárias, como proposto em trabalho anterior, e já citado anteriormente, e com isso ganhar rapidez na determinação destes tempos.

As simulações mostraram que para o caso em que o sinal não é perfeitamente simétrico, devido à não homogeneidade do campo magnético B_0 , o efeito na determinação da constante de decaimento do sinal de CWFP tem maior contribuição na região compreendida entre o estágio de alternância da amplitude do sinal, como já era previsto. Trabalhando numa condição em que $T_p/T_2^*<0,085$, a determinação da constante de decaimento, e conseqüentemente dos tempos de relaxação (T_1 e T_2), pode ser feita com boa precisão. Portanto pode-se compensar a falta de homogeneidade com um ajuste adequado de T_p , ou seja, quanto maior a não homogeneidade (T_2^* mais curto), menor deve ser o intervalo de tempo entre os pulsos, T_p .

A modulação do eco, que certamente ocorre na técnica proposta, pode fazer com que o acoplamento escalar homonuclear invalide o experimento. Nos casos em que não existe acoplamento homonuclear, como naqueles apresentados anteriormente, a influência deste efeito é pequena. Portanto, um cuidado adicional na interpretação dos dados, deve ser tomado quando existe a presença de acoplamento J.

Um outro cuidado que deve ser tomado, no experimento e no tratamento dos dados, é com relação a não homogeneidade de B_1 , ou ainda a largura de pulsos. Foi mostrado, através das simulações, que quando a razão T_1/T_2 é muito maior que 1, a constante de decaimento do sinal de CWFP, e também a amplitude da magnetização no estado estacionário, podem variar significativamente, mesmo para pequenas diferenças de ângulo de rotação. Esse comportamento do sinal de CWFP requer que o campo magnético oscilante, B_1 , apresente uma boa homogeneidade, e também que a calibração de pulsos seja feita com o máximo rigor possível. Para os casos em que T_1/T_2 é próximo de 1 estes problemas são minimizados.

Mesmo considerando as principais fontes de erro já discutidas, como a não homogeneidade do campo magnético, a faixa de dados utilizados na determinação de $T^*_{(\alpha=\pi/2)}$, e efeitos de difusão, foi verificado que a maior diferença encontrada entre os valores de T_1 e T_2 , determinados por CWFP e aqueles obtidos pelas técnicas convencionais (inversão-recuperação e CPMG), foi de 10%; a qual é bastante aceitável, considerando a vantagem do método.

Comprovada a eficiência da técnica CWFP para a determinação de T_1 e T_2 , decidimos propor uma aplicação desta técnica no monitoramento de reações de polimerização. Para isso monitoramos a cura de uma resina epóxi comercial, tanto pelo decaimento do sinal de CWFP, quanto pela variação dos tempos de relaxação. Foi possível observar que a técnica de CWFP pode ser utilizada para avaliar a cinética da reação, através do monitoramento do sinal, que decai com o tempo. E pode ainda monitorar o processo de cura, ou a solidificação do material, analisando como os tempos de relaxação variam com o tempo de reação, já que a mobilidade cai sensivelmente durante o processo de reticulação da resina. A técnica

CWFP apresenta algumas vantagens em relação às técnicas convencionais. Em apenas uma reação é possível monitorar a cinética e também a variação da mobilidade, através da determinação de T_1 e T_2 .

Se o monitoramento da reação for feito pela variação de T_1 , a medida convencional, por inversão-recuperação, é praticamente impossível em uma reação relativamente rápida, como a que tratamos aqui, sendo possível apenas fazer uma estimativa, qual a que fizemos em nossos experimentos, onde foi tomado o tempo em que a amplitude do sinal se anula e dividido por $\ln 2$. No entanto, este procedimento induz a erros maiores. A medida de T_2 deve ser feita em um segundo experimento CPMG, utilizando uma nova mistura, tomando sempre o cuidado de realizar a reação nas mesmas condições. É bem verdade que a reprodução da reação, exatamente nas mesmas condições, é sempre complicada e requer habilidade do operador.

Por fim, foi demonstrado ainda que a técnica de CWFP é capaz de fornecer informações quantitativas e facilmente determinadas acerca de processos que avaliam a taxa de relaxação de spins nucleares através da ação de um agente externo, como por exemplo, a temperatura. Em particular foi proposta uma aplicação quanto ao fluxo de calor, causada por uma grande diferença de temperatura, que leva a variações locais nas taxas de relaxação, as quais podem ser monitoradas pelo decaimento do sinal de CWFP. A partir destes decaimentos é possível certificar que existe o predomínio de um processo de difusão, e obter um valor médio para a difusividade térmica.

Com relação à metodologia de supressão de sinais de solvente em espectros de RMN de alta resolução pode-se concluir que a seqüência CWFP constitui numa eficiente ferramenta para supressão de água, quando a largura de

pulsos ou a intensidade de B_1 são ajustadas adequadamente. É possível selecionar uma região de frequências de interesse através da escolha de um trem de pulsos p_1 com um tempo de repetição, T_p , apropriado.

A entrada no estado estacionário, a qual depende do regime quasi-estacionário, através da constante de decaimento, tem um efeito marcante na supressão de sinais de solvente. Foi observada uma dependência da eficiência da supressão com o número de pulsos aplicados. Esse efeito foi atribuído à contribuição de T_1 e T_2 na constante de decaimento do sinal de CWFP, até que o estado estacionário seja completamente atingido. Conhecendo este processo é possível desenvolver mecanismos, ou modificações na seqüência, para o que estado estacionário seja atingido mais rápido, e assim ganhar agilidade obtenção do espectro, como foi mencionado anteriormente.

Foi possível observar ainda que a ciclagem de fases dos pulsos da seqüência CWFP permite, além de corrigir as anomalias de fase do espectro CWFP transformado, corrigir também as anomalias de intensidade. Um estudo dos perfis de excitação das seqüências estudadas mostrou que o uso adequado de variáveis, como a largura de pulsos pode, pode corrigir significativamente a intensidade dos sinais. Foi possível observar que o uso de uma seqüência com pulsos mais estreitos permite selecionar melhor o sinal a ser suprimido, ou seja, torna a técnica mais seletiva. Além disso, os sinais detectáveis sofrem um menor efeito na intensidade. Dentre as seqüências estudadas os resultados mais expressivos foram obtidos com a seqüência onde a fase dos pulsos avança de 90° ($p_{1x}-T_p-p_{1y}-T_p-p_{1x}-T_p-p_{1y}-T_p$) $_n$ pw $_y$. Vale ressaltar que a discriminação da largura dos pulsos inseridos no trem de pulsos e do pulso de leitura deve ser feita, pois modifica os perfis de excitação da seqüência. Os perfis mais adequados, para o caso analisado, foram obtidos pela

variação da largura dos pulsos inseridos no trem de pulsos (p_1) e mantendo fixo o pulso de leitura (p_w), sempre em 90° .

Alguns resultados preliminares mostraram que é possível aplicar a seqüência de pulsos CWFP para a supressão de água em amostras 'in vivo', com eficiência similar a pressaturação e ainda melhor quando comparada com a técnica de jump-return.

8. PROPOSTAS FUTURAS

Uma perspectiva muito boa para o uso da metodologia aqui desenvolvida para determinação das taxas de relaxação, é inseri-la em estudos que requerem maior rapidez na determinação de T_1 e T_2 , nem sempre possível com os métodos tradicionais. Além das aplicações desenvolvidas neste trabalho, poderíamos citar ainda estudos de transição de fase, cura de resinas, mudanças de viscosidade, dinâmica molecular, processos em fluxo, etc. Além disso, o método de determinação simultânea de T_1 e T_2 , já é utilizado com bastante sucesso em amostras que apresentam tempos de relaxação muito longos, como gases (^{129}Xe), e outros núcleos como ^{109}Ag .

A análise multiexponencial do sinal de CWFP, e ainda CPMG, pode permitir o estudo de sistemas mais complicados, onde coexistem várias contribuições para um mesmo sinal, e ainda quantificar essas contribuições. Este tipo de procedimento é bastante útil para avaliar qualidade de alimentos, sendo possível a determinação de quantidade de óleo em sementes, açúcar em frutas, entre outros substratos. A combinação destes experimentos ainda permite avaliar a magnitude de T_1 , sem a necessidade de determiná-lo em um outro experimento,

oferecendo assim informações adicionais sobre os sistemas em estudo. A introdução de métodos estatísticos, como a quimiometria, a essas medidas, também possibilita fazer, ainda dentro de métodos de controle de qualidade de alimentos, todo o processo de separação destes produtos, qualificando-os dentro do seu melhor aproveitamento.

O refinamento da metodologia de supressão de sinal de solvente pode inserir uma técnica bastante simples, e que pode trazer vantagens como a fácil implementação, realização de medidas em fluxo, economia de sistemas de amplificação de potência, entre outras.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

-
- ¹ GIL, V.M.S.; GERALDES, C.F.G.C. **Ressonância Magnética Nuclear - Fundamentos, Métodos e Aplicações** 1 Ed. Calouste Gulbenkian Lisboa. 1987.
- ² CLARIDGE, T.D.W. **High-Resolution NMR Techniques in Organic Chemistry** 1. Ed. Pergamon Oxford. 1999.
- ³ CARR, H.Y. *Steady-State Free Precession in Nuclear Magnetic Resonance*. Physical Review, **112(5)**, 1693-1701 (1958).
- ⁴ PATZ, S.; HAWKES, R.C. *The Application of Steady-State Free Precession to the Study of Very Slow Fluid Flow* Magnetic Resonance in Medicine, **3**, 140-145 (1986).
- ⁵ MATSUI, S.; KURODA M.; KOHNO, H. *A New Method of Measuring T_2 using Steady-State Free Precession* Journal of Magnetic Resonance, **62 (1)**, 12-18 (1985).
- ⁶ GUDBJARTSSON, H.; PATZ, S. *Simultaneous Calculation of Flow and Diffusion Sensitivity in Steady-State Free Precession Imaging* Magnetic Resonance in Medicine, **34 (4)**, 567-579, (1995).

-
- ⁷ BUXTON, R.B. *The Diffusion Sensitivity Of Fast Steady-State Free Precession Imaging Magnetic Resonance In Medicine*, **29 (2)**, 235-243 (1993).
- ⁸ AZEREDO, R.B.V.; COLNAGO, L.A.; ENGELSBERG, M. *Quantitative Analysis Using Steady-State Free Precession Nuclear Magnetic Resonance*. Analytical Chemistry, **72(11)**, 2401-2405 (2000).
- ⁹ AZEREDO, R.B.V.; COLNAGO, L.A.; SOUZA, A.A.; ENGELSBERG, M. *Continuous Wave Free Precession - Practical Analytical Tool for Low-Resolution Nuclear Magnetic Resonance Measurements*. Analytica Chimica Acta, **478**, 313-320 (2003).
- ¹⁰ AZEREDO, R.B.V.; ENGELSBERG, M.; COLNAGO, L.A. *Flow Sensitivity and Coherence in Steady-State Free Spin Precession*. Physical Review E, **6401(1)**, 6309-6313 (2001).
- ¹¹ ERNST, R.R.; ANDERSON, W. *Application of Fourier Transform Spectroscopy to Magnetic Resonance*. The Review of Scientific Instrumentation; **37(1)**, 93-102 (1966).
- ¹² FREEMAN, R.; HILL, H.D.W. *Phase and Intensity Anomalies in Fourier Transform*. NMR Journal of Magnetic Resonance, **4**, 366-383 (1971).
- ¹³ HAHN, E. L. *Spin echoes*. Physical Review, **80(5)**, 580-594 (1950).
- ¹⁴ AZEREDO, R.B.V. **Espectroscopia de RMN CWFP**. 2004. 85f. Tese (Doutorado em Físico-Química) Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2004.
- ¹⁵ MUGLER III, J.P.; EPSTEIN, F.H.; BROOKEMAN, J.R. *Shaping the Signal Response during the Approach to Steady-State in Three-Dimensional Magnetization-Prepared Rapid Gradient-Echo Imaging Using Variable Flip Angles*. Magnetic Resonance in Medicine, **28**, 165-185 (1992).

-
- ¹⁶ HENNIG, J.; SPECK, O., SCHEFFLER, K. *Optimization of Signal Behavior in the Transition to Driven Equilibrium in Steady-State Free Precession*. Magnetic Resonance in Medicine, **48**, 801-809 (2002).
- ¹⁷ LE ROUX, P. *Simplified Model and Stabilization of SSFP Sequences*. Journal of Magnetic Resonance, **163**, 23-37 (2003).
- ¹⁸ MIKHALTSEVICH, V.T.; RUDAKOV, T.N. *Study of Quasistationary and Stationary States in the Short-repetition-time Sequences in the NQR of Nitrogen*. Solid State Nuclear Magnetic Resonance, **25**, 99-111 (2004).
- ¹⁹ SCHWENK, A. *NMR Pulse Technique with High Sensitivity for Slowly Relaxing Systems*. Journal of Magnetic Resonance, **5**, 376-389 (1971).
- ²⁰ BANGERTER, N.K.; HARGREAVES, B.A.; VASANAWALA, S.S.; PAULY, J.P.; GOLD, G.E.; NISHIMURA, D.G. *Analysis of Multiple-Acquisition SSFP*. Magnetic Resonance in Medicine, **51**, 1038-1047 (2004).
- ²¹ DEONI, S.C.L.; WARD, H.A.; PETERS, T.M.; RUTT, B.K. *Rapid T_2 Estimation with Phase-Cycled Variable Nutation Steady-State Free Precession*. Magnetic Resonance in Medicine, **52**, 435-439 (2004).
- ²² RUDAKOV, T.N., MIKHALTSEVICH, V.T., SELCHIKHIN, O.P. *The Use of Multi-Pulse Nuclear Quadrupole Resonance Techniques for the Detection of Explosives Containing RDX*. Journal of Physics D: Applied Physics, **30(9)**, 1377-1382 (1997).
- ²³ RUDAKOV, T.N.; BELIAKOV, A.V. *Modifications of the Steady-State Free-Precession, Sequence for the Detection of Pure Nuclear Quadrupole Resonance*. Journal of Physics D: Applied Physics, **31**, 1251-1256 (1998).

-
- ²⁴ RUDAKOV, T.N.; MIKHALTSEVICH, V.T. *Steady-State Free-Precession in Nitrogen-14 Quadrupolar Spin-System with Axially Symmetric Electric Field Gradient Tensor*. Chemical Physics Letters, **324**, 69-74 (2000).
- ²⁵ RUDAKOV, T.N.; MIKHALTSEVICH, V.T. *Multiple NQR Spin Echoes in Phase Cycled Pulse Experiments*. Physics Letters A, **309**, 465-469 (2003).
- ²⁶ RUDAKOV, T.N.; MIKHALTSEVICH, V.T.; FLEXMAN, J.H. *Modified Steady-State Free Precession Pulse Sequences for the Detection of Pure Nuclear Quadrupole Resonance*. Solid State Nuclear Magnetic Resonance, **25**, 94-98 (2004).
- ²⁷ RUDAKOV, T.N.; MIKHALTSEVICH, V.T.; FLEXMAN, J.H.; HAYES, P.A.; CHISHOLM, W.P. *Modified Multipulse Technique for the Effective Detection of Pure Nuclear Quadrupole Resonance*. Applied Magnetic Resonance, **25**, 467-474 (2004).
- ²⁸ PRICE, W.S. *Pulsed-Field Gradient Nuclear Magnetic Resonance as a Tool for Studying Translational Diffusion: Part II. Experimental Aspects* Concepts in Magnetic Resonance, **10 (4)**, 197-237 (1998).
- ²⁹ MITRA, P.P.; SEN, P.N.; SCHWARTZ, L.M.; LEDOUSSAL, P. *Diffusion Propagator as a Probe of the Structure of Porous-Media* Physical Review Letters, **68 (24)**, 3555-3558 (1992).
- ³⁰ SOUSA, P.L.; ENGELSBERG, M.; MOREIRA, F.G.B. *Tensile Water Transport in a Porous Gel* Physical Review E, **60 (2)**, R1174-R1177 Part A (1999).
- ³¹ TYSZKA, M.; HAWKES, R.C.; HALL, L.D. *Moving-Reference-Frame Imaging under Steady-State Free Precession* Journal of Magnetic Resonance Series B, **101 (2)**, 158-164 (1993).

-
- ³² BERTRAM, H.C.; ANDERSEN, H.J. *Application of NMR in Meat Science*. Annual Reports on NMR Spectroscopy, **53**, 157-202 (2004).
- ³³ GUILLOT, G.; NUNES, T. G.; RUAUDA, J. P.; POLIDO, M. *Aspects of the Photopolymerization of a Commercial Dental Resin Studied by ^1H Magnetic Resonance Imaging*. Polymer, **45**, 5525-5532 (2004).
- ³⁴ AZEREDO, R.B.V.; COELHO, I.; TAVARES, M.I.B.; ENGELSBERG, M.; COLNAGO, L.A. *Analysis of the Photopolymerization Rate of Methacrylate Blends by Continuous Wave Free Precession NMR*. In: IX Encontro de Usuários de RMN-Livro de Resumos, Angra dos Reis, 2003. p.56.
- ³⁵ HERGETH, W.-D.; KRELL, M. *Industrial Polymerization Monitoring*. Analytical and Bioanalytical Chemistry, available on line, in press (2005).
- ³⁶ DARE, D.J.; CHADWICK, D.L. *A Low Resolution Pulsed Nuclear Magnetic Resonance Study of Epoxy Resin During Cure*. International Journal of Adhesion and Adhesives, **16**, 155-163 (1996).
- ³⁷ COCKER, R.P.; CHADWICK, D.L.; DARE, D.J.; CHALLIS, R.E. *A Low Resolution and Ultrasonic Study to Monitor the Cure of an Epoxy Resin Adhesive*. International Journal of Adhesion and Adhesives, **18**, 319-331 (1998).
- ³⁸ CHALLIS, R.E.; FREEMANTLE, R.J.; COCKER, R.P.; CHADWICK, D.L.; DARE, D.J.; MARTIN, C.; MAHENDRASINGAM, A.; FULLER, W. *Ultrasonic Measurements Related to Evolution of Structure in Curing Epoxy Resins*. Plastics Rubber and Composites, **29(3)**, 109-118 (2000).
- ³⁹ LIPATOV, Y.S.; FABULYAK, F.G. *Spin-Lattice Relaxation in the System Epoxy-Resin-Thermoplastic Polymer*. Polymer Science USSR, **15(6)**, 1430-1433 (1973). Versão traduzida em 2003 por J.A. HENDRY.

-
- ⁴⁰ CHALLIS, R.E.; UNWIN, M.E.; CHADWICK, D.L.; FREEMANTLE, R.J.; PARTRIDGE, I.K.; DARE, D.J.; KARKANAS, P.I. *Following Network Formation in an Epoxy/Amine System by Ultrasound, Dielectric and Nuclear Magnetic Resonance Measurements: A Comparative Study*. Journal of Applied Polymer Science, **88(7)**, 1665-1675 (2003).
- ⁴¹ CRANK, J. **The Mathematics of Diffusion**, 2 ed., Clarendon Press, Oxford. 1986.
- ⁴² MIKKELSEN, A.; ELGSAETER, A. *Density Distribution of Calcium-Induced Alginate Gels. A Numerical Study* Biopolymers, **36**, 17-41 (1995).
- ⁴³ COLNAGO, L.A., ALMEIDA, F.C.L., VALENTE, A.P.; *Espectrometria de Massa e RMN no Estudo de Macromoléculas Biológicas* Química Nova, **18**, 9-14 (2002).
- ⁴⁴ PRICE, W.S. *Water suppression in NMR Spectroscopy* Annual Reports on NMR Spectroscopy, **38**, 289-354 (1999).
- ⁴⁵ PLATEAU, P.; GUÉRON, M. *Exchangeable Proton NMR without Base-Line Distortion, Using New Strong-Pulse Sequence* Journal of American Chemical Society, **104**, 7310-7311 (1982).
- ⁴⁶ LOUIS-JOSEPH, A.; ABERGEL, D.; LEBARS, I.; LALLEMAND, J-Y *Enhancement of Water Suppression by Radiation Damping-based Manipulation of Residual Water in Jump and Return NMR Experiments* Chemical Physics Letters, **337**, 92-96 (2001).
- ⁴⁷ BISCEGLI, C.I.; FRANCI, R.W.A.; TANNUS, A.; COLNAGO, L.A. *Use of Magnetic Resonance Imaging and Spectroscopy in Tropical Fruits: Challenges and Opportunities* Advances in Agricultural Tomography, Embrapa Agricultural Instrumentation, 77-82 (2002).

-
- ⁴⁸ TANNUS, A.; FRANCO, R.W.A.; BISCEGLI, C.I.; COLNAGO, L.A. *Solvent Suppression for Near Sugar Spectroscopy of Intact Fruits* Advances in Agricultural Tomography, Embrapa Agricultural Instrumentation, 83-87 (2002).
- ⁴⁹ OGG, R.J.; KINGSLEY, P.B.; TAYLOR, J.S. *WET, a T_1 - and B_1 -Insensitive Water-Suppression Method for In Vivo Localized ^1H NMR Spectroscopy*. Journal of Magnetic Resonance Series B, **104**, 1-10 (1994).
- ⁵⁰ ZHANG, S.; YANG, X; GORENSTEIN, D.G. *Enhanced Suppression of Residual Water in a "270" WET Sequence*. Journal of Magnetic Resonance, 382-386 (2000).
- ⁵¹ GÜNTHER, U.L.; LUDWIG, C.; RÜTERJANS, H. *WAVEWAT-Improved Solvent Suppression in NMR Spectra Employing Wavelet Transforms* Journal of Magnetic Resonance **156**, 19–25 (2002).
- ⁵² ANTOINE, J-P; CORON, A.; DEREPEPE, J-M. *Water Peak Suppression: Time-Frequency vs Time-Scale Approach* Journal of Magnetic Resonance **144**, 189–194 (2000).
- ⁵³ SERRAI, H.; SENHADJI, L; CLAYTON, D.B.; ZUO, C; LENKINSKI, R.E. *Water Modeled Signal Removal and Data Quantification in Localized MR Spectroscopy Using a Time-Scale Postacquisition Method* Journal of Magnetic Resonance **149**, 45–51 (2001).
- ⁵⁴ SUNDIN, T.; VANHAMME, L.; VAN HECKE, P.; DOLOGLOU, I.; VAN HUFFEL, S. *Accurate Quantification of ^1H Spectra: From Finite Impulse Response Filter Design for Solvent Suppression to Parameter Estimation* Journal of Magnetic Resonance **139**, 189–204 (1999).
- ⁵⁵ FUKUSHIMA, E.; ROEDER, S.B.W. **Experimental pulse NMR: a nuts and bolts approach**. Massachusetts: Addison-Wesley, 1981.

-
- ⁵⁶ (a) VOLD, R.L.; WAUGH, J. S.; KLEIN, M. P., PHELPS, D. E. *Measurement of spin relaxation in complex systems*, J. Chem. Phys. **48** 3831-3832. (1968) (b) FREEMAN, R.; HILL, H. D. W. *High-resolution studies of nuclear spin-lattice relaxation*, J. Chem. Phys. **51** 3140-3141 (1969).
- ⁵⁷ (a) CARR, H. Y.; PURCELL, E. M. *Effects of diffusion on free precession in nuclear magnetic resonance experiments*, Phys. Rev. **94** 630-638 (1954). (b) MEIBOOM, S.; GILL, D. *Modified spin-echo method for measuring relaxation times*, Rev. Sci. Instrum., **29** 688-691 (1958).
- ⁵⁸ KRONENBITTER, J.; SCHWENK, A. *New Technique for Measuring Relaxation-Times T_1 And T_2 and Equilibrium Magnetization M_0 Of Slowly Relaxing Systems with Weak NMR Signals*. Journal of Magnetic Resonance, **25**, 147-165 (1977).
- ⁵⁹ OREGIONI, A.; PARIZEL, N.; de SOUSA, P.L.; GRUCKER, D. *Fast Measurement of Relaxation Times bu Steady-State Free Precession of ^{129}Xe in Carrier Agents for Hyperpolarized Noble Gases*. Magnetic Resonance in Medicine, **49**, 1028-1032 (2003).
- ⁶⁰ DEONI, S.C.L.; RUTT, B.K.; PETERS, T.M. *Rapid Combined T_1 and T_2 Mapping Using Gradient Recalled Acquisition in the Steady-State*. Magnetic Resonance in Medicine, **49**, 515-526 (2003).
- ⁶¹ DEONI, S.C.L.; PETERS, T.M.; RUTT, B.K. *Determination of Optimal Angles for Variable Nutation Próton Magnetic Spin-Lattice, T_1 , and Spin-Spin, T_2 , Relaxation Times Measurement*. Magnetic Resonance in Medicine, **51**, 194-199 (2004).
- ⁶² VENÂNCIO, T.; ENGELSBERG, M.; AZEREDO, R.B.V.; ALEM, N.E.R.; COLNAGO, L.A. *Fast and Simultaneous Measurement of Longitudinal and*

-
- Transverse NMR Relaxation Times an a Single Continuous Wave Free Precession Experiment.* Journal of Magnetic Resonance, **173**, 34-39 (2005).
- ⁶³ KRONENBITTER, J.; SCHWENK, A. *New Technique for Measuring Relaxation-Times T_1 And T_2 and Equilibrium Magnetization M_0 Of Slowly Relaxing Systems with Weak NMR Signals.* Journal of Magnetic Resonance, **25**, 147-165 (1977).
- ⁶⁴ OREGIONI, A.; PARIZEL, N.; de SOUSA, P.L.; GRUCKER, D. *Fast Measurement of Relaxation Times bu Steady-State Free Precession of ^{129}Xe in Carrier Agents for Hyperpolarized Noble Gases.* Magnetic Resonance in Medicine, **49**, 1028-1032 (2003).
- ⁶⁵ TODICA, M.; FECHETE, R. BLÜMICH, B. *Selective NMR Excitation in Strongly Inhomogeneous Magnetic Fields.* Journal of Magnetic Resonance, **164** , 220-227 (2003).
- ⁶⁶ LEVY, G.C.; PEAT, I.R. *The Experimental Approach to Accurate Carbon-13 Spin-Lattice Relaxation Measurements* Journal of Magnetic Resonance, **18**, 500-521 (1975).
- ⁶⁷ CARNEY, C.E.; WONG, S.T.S.; PATZ, S. *Analytical Solution and Verification of Diffusion Effect in SSFP* Magnetic Resonance in Medicine, **19**, 240-246 (1991).
- ⁶⁸ FREED, D.E.; SCHEVEN, U.M.; ZIELINSKI, L.J.; SEN, P.N.; HÜRLIMANN, M.B. *Steady-state Free Precession Experiments and Exact treatment of Diffusion in a Uniform Gradient* Journal of Chemical Physics, **115(9)**, 4249-4258 (2001).
- ⁶⁹ DHARMAKUMAR, R.; WRIGHT, G.A. *Understanding Steady-State Free Precession: A Geometric Perspective.* Concepts in Magnetic Resonance Part A, **26A(1)**, 1-10 (2005).
- ⁷⁰ BOROMPICHAICHARTKUL, C.; MORAN, G.; SRZEDNICKI, G. S.; DRISCOLL, R. H. *Studies of Physical State of Water in Maize From Northeast China (Cv.*

-
- Huangmo 417) during Drying at Subzero Temperatures. Drying Technol., **22(1-2)**, 295-305 (2004).*
- ⁷¹ AZEREDO, R.B.V.; COELHO, I.; TAVARES, M.I.B.; ENGELSBERG, M.; COLNAGO, L.A. *Analysis of the Photopolymerization Rate of Methacrylate Blends by Continuous Wave Free Precession NMR. In: IX Encontro de Usuários de RMN-Livro de Resumos*, Angra dos Reis, 2003. p.56.
- ⁷² FREEDMAN, R.; HEATON, N.; FLAUM, M.; HIRASAKI, G.J.; FLAUM, C.; HURLIMANN, C. *Wettability, Saturation, and Viscosity from NMR Measurements. SPE Journal, **8(4)**, 317-327 (2003).*
- ⁷³ CHARLESBY, A. *Analysis of Macromolecular Structures by Pulsed NMR. Radiation Physics and Chemistry, **39 (1)**, 45-51 (1992).*
- ⁷⁴ DEONI, C.L.; PETERS, T.M.; RUTT, B.K. *Quantitative Diffusion Imaging with Steady-state Free Precession. Magnetic Resonance in Medicine, **49** 515-526 (2003).*
- ⁷⁵ CATALANI, A.; BONICELLI, M.G. *Kinetics of the curing reaction of a diglycidylether of bisphenol A with a modified polyamine. Thermochimica Acta **438** 126–129 (2005).*
- ⁷⁶ VENÂNCIO, T.; ENGELSBERG, M.; AZEREDO, R. B. V.; COLNAGO, L. A. *Thermal diffusivity and nuclear spin relaxation. A continuous wave free precession NMR study. Journal of Magnetic Resonance, **181**, 29-34, (2006).*
- ⁷⁷ WEBER, H. W.; KIMMICH, R. *Anomalous segment diffusion in polymers and nmr relaxation spectroscopy, Macromolecules, **26** 2597-2606 (1993).*
- ⁷⁸ SCHALLAMACH, A. *The heat conductivity of rubber at low temperatures, Proc. Phys. Soc. **53** 214-218 (1941).*

-
- ⁷⁹ BEKKEDAHL, N.; MATHESON, H. *Heat capacity, entropy and free-energy of rubber hydrocarbon*, J. Res. Nation. Bur. Stand., **15** 503 (1935).
- ⁸⁰ PLATEAU, P.; GUÉRON, M. *Exchangeable Proton without Base-line Distortion, Using New Strong-Pulse Sequences* Journal of American Chemical Society, **104**, 7310-7311 (1982).
- ⁸¹ PRICE, W.S. *Water suppression in NMR Spectroscopy* Annual Reports on NMR Spectroscopy, **38**, 289-354 (1999).
- ⁸² PATZ, S. *Some Factors that Influence the Steady State in Steady-State Free Precession*. Magnetic Resonance Imaging, **6**, 405-413 (1988).