Universidade de São Paulo
Instituto de Química de São Carlos

**PROGRAMA DE
PÓS-GRADUAÇÃO
EM QUÍMICA**

**Química Orgânica
e Biológica**

RODRIGO HENRIQUE DOS SANTOS GARCIA

**Desenvolvimento da sequência de pulso RK-ROSE e
aplicações em RMN-DT para análise
de componentes sólidos**

**Tese apresentada ao Instituto de Química de São
Carlos da Universidade de São Paulo para a
obtenção do título de doutor em ciências.**

Área de concentração: Química Orgânica e Biológica

Orientador: Dr. Luiz Alberto Colnago

São Carlos, 2019

‘Quem cultiva a semente do amor segue em frente não se apavora

Se na vida encontrar dissabor. Vai saber esperar sua hora’

(Xandê de Pílare)

*“Dedico este trabalho em especial aos meus pais Valdir Martins
García e Maria Filomena dos Santos García e irmãos Janaína
García e Vitor García que em todos os momentos de minha vida
têm me apoiado e incentivado com todo amor e razão. Dedico-lhes
esta conquista”*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus que tem me abençoado e protegido de todo mal e todo perigo, com seu amor e misericórdia;

Aos meus pais Valdir e Mena por estarem sempre presentes na minha vida fornecendo toda estrutura necessária através de confiança, amor e principalmente ter proporcionado a mim a oportunidade que eles não tiveram;

Aos familiares que forneceram apoio e alegrias em todas as conquistas, agradeço a todos em especial a dona Cida e Alalice, minha bisavó e vó, tia Cidinha, Clarice, Fernanda, Neide, Lucia, Jandira, Cleide; a meus tios João, Arlindo, Nelson, Lacerda, Dito; a meus primos Danilo, Paula, Murilo, Camila, Isabela, Raphael, Guilherme, Jhon Lennon. Enfim a todos meus familiares. Meus amigos de Naviraí: Ms. Zucca, Eng. Éder e Elessandro.

Ao professor Dr. Luiz Alberto Colnago por toda paciência, confiança, dedicação, orientação e ao humor diário de todos os dias durante. Ao professor Dr. Eduardo Azevedo e seu aluno Dr. Jeferson por toda a contribuição ao longo da tese;

A ONG Fênix campos São Carlos, onde me proporcionaram uma maneira de contribuir para o futuro de jovens e adultos, em especial a Coordenadora Dr. Wanda.

Aos amigos da UFGD: Dr. Puff, Dr. Carol, Ms. Bauru, Chupeta, Mse. Aline, Boto, Dr. Adalberto. Aos amigos de São Carlos e da Embrapa Instrumentação de forma geral, mas principalmente a Ms. Diane por toda contribuição pessoal e profissional, Ms. André pela contribuição e convívio durante 6 anos, Dr. Tati, Ms. Diego, Dr. Viçosa, Dr. Tiago, Dr. Marcos, Dr. Mario, Ms. Murilo, Ms. Gabriel, Ms. Vitor, Ms. Augusto, Ms. Rodrigo. Por fim, agradeço a todos que em algum momento contribuiu.

RESUMO

A ressonância magnética nuclear no domínio do tempo (RMN-DT) normalmente usa aparelho de bancada e de baixo custo. A RMN-DT é usada tanto na análise de materiais homogêneos e heterogêneos, no controle de qualidade de alimentos, petróleo e derivados, cosméticos e polímeros. Mesmo no caso de materiais heterogêneos, contendo substâncias sólidas e líquidas, as análises por RMN-DT são baseadas principalmente na parte líquida, que tem um decaimento lento, até segundos, devido à alta mobilidade molecular. A análise dos componentes sólidos em alimentos, polímeros e outros materiais orgânicos são bem menos estudados, pois o sinal decai em alguns microssegundos e são de difícil detecção. A proposta dessa tese de doutorado é avaliar a performance de uma nova sequência de pulso idealizada para refocalizar os sinais dos componentes rígidos de uma amostra. A principal vantagem dessas sequências é que para sua aplicação não precisa de acessórios extras e, portanto, pode ser aplicada em equipamentos de RMN-DT de bancada e de baixo custo. Foi proposta uma nova sequência de pulsos denominada Rhim-Kessemeier-Radiofrequency Optimized Solid-Echo (RK-ROSE) que apresenta eficiência superior às sequências mais utilizadas para caracterização de amostras no estado sólido e monitoramento de cinéticas de reação, por exemplo, a sequência *Solid-Echo* (ES) e “mixec - *Magic Sandwich Echo*” (mixed-MSE). A sequência RK-ROSE foi avaliada para algumas aplicações que incluem: a) determinação de componentes sólidos em diferentes amostras, por exemplo para o poliestireno (PS) a sequência proporcionou uma eficiência de aproximadamente 98%; b) para sanar os parâmetros de cinética de reação, como constante de velocidade (K_c) em diferentes temperaturas e determinar a energia de ativação ($E_a = 31,58 \pm 3,78$ KJ/mol) da polimerização da resina epóxi Araldite; c) como método de determinação do tempo de relaxação spin-rede (T_1) e spin-spin (T_2) em materiais sólidos, resultando em experimentos 2D para obter T_1 e T_2 ; d) como filtro de fase móvel em experimentos para estudar a dinâmica molecular de polímeros em diferentes temperaturas e e) como método alternativo para determinar o teor de gordura sólida (*Solid Fat Content* - SFC) em diferentes

amostras de manteiga e manteiga de cacau, este novo método teve resultados satisfatórios com a vantagem de não utilizar padrões para calibração.

ABSTRACT

Time domain nuclear magnetic resonance (TD-NMR) typically use low-cost benchtop equipment. TD-NMR is used for both homogeneous and heterogeneous material analyses, in quality control of food, petroleum and derivatives, cosmetics and polymers. Even in the case of heterogeneous materials containing solid and liquid substances, TD-NMR analyzes are mainly based on the liquid part, which has a slow decay, even seconds, due to the high molecular mobility. The analysis of solid components in foods, polymers and other organic materials are studied in less extensión, because the signal decays in some microseconds and are difficult to detect. The purpose of this doctoral thesis is to evaluate the performance of a new pulse sequence designed to refocus the signals of the rigid components of a sample. The main advantage of these sequences is that for its application it is not need extra accessories and therefore can be applied to bench-top TD-NMR equipment and cheap. A new pulse sequence called Rhim–Kessemeier–Radiofrequency Optimized Solid-Echo (RK-ROSE) has been proposed that has higher efficiency than the most commonly used sequences for solid state sample characterization and reaction kinetics monitoring, for example, the *Solid-Echo* (ES) sequence and “mixed - Magic Sandwich Echo” (mixed-MSE). The RK-ROSE sequence has been evaluated for some applications which include: a) determination of solid components in different samples, for example for polystyrene (PS) and the sequence provided approximately 98% efficiency; b) to solve the reaction kinetics parameters, such as velocity constant (K_c) at different temperatures and to determine the activation energy ($E_a = 31,58 \pm 3,78$ KJ/mol) of the Araldite epoxy resin polymerization; c) as a method for determining spin-lattice or spin-longitudinal (T_1) and spin-spin (T_2) relaxation time in solid materials, resulting in 2D experiments to obtain T_1 and T_2 ; d) as a mobile phase filter in experiments to study the molecular dynamics of polymers at different temperatures; and e) as an alternative method to determine solid fat content (SFC) in different samples of butter and cocoa butter, this new method had satisfactory results with the advantage of not using calibration standards.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: A) Espectro de RMN da amostra de etanol ^[14] obtido no equipamento de $B_0 = 14$ T e B) espectro obtido da mesma amostra ^[15] em um equipamento de $B_0 = 0,49$ T.	19
FIGURA 2: A) Precessão dos momentos magnéticos de cada núcleo de uma amostra em torno de B_0 com uma frequência angular $\omega = \gamma B_0$ para as orientações (α) e (β) , B) vetor magnetização resultante M_0 . ^[1]	20
FIGURA 3: A) Sequência de pulso Inversão-Recuperação e B) Variação da amplitude do sinal de RMN em função do tempo τ_{IR}	21
FIGURA 4: A) Esquema da sequência de pulso CPMG e B) Variação da amplitude do sinal de RMN em função do tempo.	23
FIGURA 5: Representação da molécula de água mostrando a distância r entre os spins nucleares I e S. ^[15]	25
FIGURA6: Esquema da interação entre dois spins nucleares (I e S) na presença de um campo magnético externo B_0 . ^[23]	25
FIGURA 7: Diagrama do sinal de RMN de uma amostra com decaimento gaussiano (sinal de RMN em estado sólido). O tempo morto (tm), delineado pelo retângulo após o pulso, é o tempo em que o sinal de RMN está distorcido devido aos fatores instrumentais. ^[15]	27
FIGURA 8: Sinal FID para semente de amendoim adquirido após um pulso de $\pi/2$ no espectrômetro Minispec NF Mq 20. ^[17]	28
FIGURA9: Esquema da sequência de pulso Eco-Sólido utilizada para a formação do eco. ^[15] .	29
FIGURA 10: Esquema da sequência de pulso mixed-Magic Sandwich Echo. ^[15]	30
FIGURA 11: A) Modelo de FID para um sistema que apresenta dois tempos de relaxação distintos e B) Sinal transformada de Fourier dos sinais de RMN da FIGURA 11A.	39
FIGURA 12: Esquema da sequência de pulso spin-lock, que é utilizada para determinar o tempo de relaxação $T1\rho$	41
FIGURA 13: Sinais de RMN da resina curada adquiridos após um pulso de $\pi/2 = 11 \mu s$ (FID-quadrado preto) e excitando com a sequência SL (linha vermelha) sendo o primeiro pulso de $\pi/2 = 11 \mu s$ e o segundo pulso com + 5dB de atenuação, com $\pi/2 = 18 \mu s$	42
FIGURA 14: Sinais de RMN da resina epóxi curada adquiridos após um pulso de $\pi/2 = 11 \mu s$ (FID-quadrado preto) e excitando com a sequência SL (linha vermelha) com os dois pulso de $\pi/2 = 11 \mu s$	43
FIGURA 15: Intensidade máxima do sinal de RMN para resina epóxi (araldite) curada em diferentes condições do ângulo $flip$ do segundo pulso da sequência, com $\tau = 0$ e o primeiro pulso $\pi/2$ (quadrado azul) e intensidade do sinal após um pulso de $\pi/2$ (o eixo x do gráfico não é valido para esta condição).	45
FIGURA 16: Intensidade máxima do sinal de RMN para resina epóxi (araldite) curada em diferentes condições do ângulo $flip$ do primeiro pulso e τ da sequência com dois pulsos. Intensidade do sinal adquirido por um pulso (quadrado preto), o eixo x do gráfico não é valido para esta condição. Em todos os experimentos o segundo pulso foi de $\pi/2 = 11 \mu s$	46

FIGURA 17: Sinais de RMN adquiridos para a resina epóxi (araldite) curada nas condições A) $4\pi 2 - \tau - \pi 2$ (linha preta) e $5\pi 2 - \tau - \pi 2$ (linha vermelha) e B) comparação da condição ótima $5\pi 2 - \tau - \pi 2$ (linha azul) com o sinal adquirido com o FID, nestes experimentos foi utilizado $\tau = 0$ e $\pi 2 = 11 \mu s$	47
FIGURA 18: Intensidade máxima do sinal adquirido para a resina epóxi curada nas condições de sem atenuação (linha preta) e com atenuação (linha azul).	48
FIGURA 19: Intensidades máximas dos sinais de RMN para o azeite de oliva adquiridos com a sequência FID (■) (o eixo x do gráfico não é válido para esta condição) e em diferentes condições do ângulo θ no primeiro pulso da sequência, com $\tau = 0$ e $\pi 2 = 11 \mu s$	49
FIGURA 20: A) Intensidades máximas dos sinais de RMN para soja adquiridos com a sequência de pulso FID (■), o eixo x do gráfico não é válido para esta condição e a intensidade máxima com a sequência de ES em diferentes condições de θ , com $\tau=0$ e B) Comparação entre os sinais obtidos da soja com a sequência de pulso FID (linha preta) e a sequência ES modificada para a condição $5\pi 2 - \tau 1 - \pi 2$ com $\tau 1 = 0$. A duração do pulso $\pi 2$ é $11 \mu s$	50
FIGURA 21: Esquema da sequência de pulso utilizada desenvolvida por Rhim-Kessemeier... ..	52
FIGURA 22: Variação na intensidade do eco para a amostra de polietireno em diferentes condições da sequência de pulso RK.	53
FIGURA 23: A) Os pontos representam o sinal FID (■) adquiridos para amostra de poliestireno após a excitação de um pulso hard de $\pi 2 = 2.4 \mu s$ e metade do eco (■) obtido após a excitação com a sequência de pulso RK com $\tau_{aq} = 11.6 \mu s$. O sinal FID foi adquirido logo após o tempo morto de $t_m = 11.6 \mu s$ e o eixo tempo do sinal obtido com a sequência RK foi deslocado para zero a partir do máximo do eco. A linha sólida para a metade do eco da sequência RK representa o ajuste com a equação 21 fornecendo os valores de a e b . Os valores obtidos para a e b foram fixados na equação 21 e realizado o ajuste do sinal adquirido com a sequência FID, com a amplitude como um parâmetro livre. Isto proporcionou uma estimativa da amplitude do sinal FID extrapolada para $I(0)$ (linha preta). B) Eficiência da sequência de pulso RK para diferentes potências de RF e ângulos $flip$	58
FIGURA 24: Valores de tempo ao eco (τ_{aq}) obtidos com diferentes ângulos θ e seus ajustes lineares com a equação $\tau_{aq} = 14\pi\nu 1\theta$. B) Eficiência da sequência RK em diferentes condições de τ_{aq} . O ajuste da curva foi feito com uma função quadrática $1 - \alpha t^2$ com $\alpha = 5,8 \pm 0,1 \mu s - 2$. A linha tracejada horizontal representa uma eficiência de 99% de eficiência em aproximadamente $\tau_{aq} \sim 4 \mu s$	59
FIGURA 25: Metade do sinal de eco e eficiência para o PS obtidos com diversas sequências de pulso, nas condições de mínimo τ_{aq} . Os sinais foram adquiridos com os espectrômetros que possui a) tempo morto de $11,6 \mu s$, b) tempo morto de $8,5 \mu s$. C) comparação da dependência da eficiência em refocalizar a magnetização em diferentes τ_{aq} para a sequência RK-ROSE (●) e mixed-MSE (●).	63
FIGURA 26: Intensidade máxima do sinal de eco em diferentes tempos de reação de polimerização da resina epóxi, foram normalizadas. Sinais adquiridos com a sequência de pulso RK-ROSE nas condições de $3\pi 2$ (●) e 72π (●).	65

FIGURA 27: Intensidade máxima dos sinais adquiridos com as sequências de pulsos FID (■), eco solido (●), mixed-MSE (▲) e RK-ROSE (▼).	67
FIGURA 28: Esquema simplificado para a cura da resina epóxi. ^[73]	68
FIGURA 29: Parâmetros de f_m e f_r obtidos com o ajuste dos sinais de RMN em diferentes tempos de reação adquiridos com a sequência de pulso RK-ROSE à 293K.	69
FIGURA 30: A) Gráfico dos sinais utilizado para calcular a linha de base e B) sinal obtido com a sequência RK-ROSE normalizado pela linha de base.	70
FIGURA 31: A) Logaritmo natural da concentração do reagente, obtidos em diferentes temperaturas e B) gráfico de Arrhenius para a reação de polimerização da resina epóxi.	71
FIGURA 33: A) Sinais de RMN adquiridos com a sequência IR e B) com a sequência de pulso RK-ROSE em diferentes condições de τ para amostra de poliestireno.	72
FIGURA 32: Esquema da sequência de pulso IR-RK-ROSE.	72
FIGURA 34: Sinais de RMN adquiridos com as sequências de FID e RK-ROSE para as amostras e A) sacarose e B) celulose. Para estimar o sinal em $I(0)$ foi utilizado o mesmo procedimento da FIGURA 17.	74
FIGURA 35: Sinais de eco obtidos com a sequência IR-RK-ROSE para as amostras de A) sacarose, B) celulose e C) Intensidade máxima dos sinais obtidos na FIGURA 34 A e B.	75
FIGURA 36: Sinais de RMN adquiridos para amostra de celulose com a sequência de FID (■) e RK-ROSE (linha vermelha). Os sinais foram deslocados para a sobreposição dos sinais referente aos componentes moveis.	76
FIGURA 37: Sinais de RMN adquiridos com a sequência: A) RK-ROSE e B) IR-RK-ROSE para as amostras de acrílico (linha/quadrado preto), sacarose (linha/quadrado vermelho) e mistura de acrílico/sacarose (quadrado/linha azul). A mistura foi preparada colocando a amostra de sacarose em um tubo de 18 mm e dentro deste tudo outro tubo de 10 mm de acrílico.	77
FIGURA 38: Gráfico da transformada inversa de Laplace em 2D para amostra de acrílico e sacarose. O processamento dos sinais foi feito pela Dra. Corinne Rondeau-Mouro, usando um algoritmo de máxima entropia. ^[76]	78
FIGURA 39: Intensidade normalizada MF-RK-ROSE em função da temperatura para os polímeros a) MEH-PPV e b) MDMO-PPV.	83
FIGURA 40: Sinais de RMN adquiridos com as sequências: FID – linha preta ($T_m = 8.5 \mu s$), RK-ROSE – Linha vermelha ($T_m = 8.5 \mu s$), RK-ROSE – Linha azul $T_m = 14 \mu s$ e RK-ROSE – Linha magenta $T_m = 28 \mu s$ para a amostra de manteiga de cacau na temperatura de 27°C.	84
FIGURA 43: A) Sinais de RMN adquiridos para realizar o ajuste do sinal de IR e B) Sinais adquiridos com a sequencia IR e o ajuste com o (s) valor (es) de T_1	93
FIGURA 44: Esquema de simulação do sinal característico obtido com a sequência CPMG. ...	95
FIGURA 45: A) Representação dos resultados experimentais e B) da simulação do padrão de pó que correlaciona tempo ao eco versus o ângulo de excitação.	97

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: Parâmetros experimentais para aquisição do sinal de RMN para a amostra de poliestireno.	38
TABELA 2: Parâmetros determinado com o ajuste da FIGURA 20B com a equação 16, onde f_r e f_m é a fração rígida e móvel, respectivamente.	51
TABELA 3: Condições experimentais da sequência de pulso RK.	53
TABELA 4: Valores da intensidade do sinal de RMN adquiridos com diferentes sequências para amostra resultante do processo de cura da resina epóxi e os valores de duração total de cada sequência.	66
TABELA 5: Valores de tempos de relaxação T_1 e T_2 obtidos para as amostras de sacarose e celulose.	75
TABELA 6: Valores de tempos de relaxação T_1 e T_2 obtidos para diferentes amostras.	77
TABELA 7: Valores dos parâmetros obtidos com o ajuste dos sinais da FIGURA 39 com a equação 21.	81
TABELA 8: Valores de SFC para manteiga de cacau obtida por diferentes métodos e em diferente tempo morto.	85
TABELA 9: Valores de SFC obtidos por diferentes métodos para a amostra de manteiga comercial.	88

SIMBOLOS E APREVIACÖES

RMN-DT: Ressonância magnética nuclear no domínio do tempo

RK-ROSE: Rhim–Kessemeier–Radiofrequency Optimized Solid-Echo

Mixed-MSE: mixed - Magic Sandwich Echo

FT-NMR: Fourier Transform - Nuclear Magnetic Resonance

PS: Poliestireno

FID: Free Induction Decay

ppm: Parte por milhão

m/m: massa/massa

KHz: Kilohertz

I: Numero Quântico de spin

B_0 : Campo magnético externo

E_a : Energia de ativação

K_c : Constante de velocidade

ΔE : Variação de energia

J : Constante de acoplamento spin-spin

δ : Deslocamento químico

h : Constante de Planck

ν : Frequência de precessão do núcleo

γ : Constante magnetogirica

μ : Momento magnético

ω : Frequência angular

M_0 : Magnetização resultante

SFC: Solid State Content

B_1 : Campo magnético oscilante

T_p : Tempo do pulso de radiofrequência

FID: Free Induction Decay

T_2 : Relaxação transversal

T_1 : Relaxação longitudinal

τ : Tempo tau entre os pulsos de radiofrequência

CPMG: Carr-Purcell-Meiboom Gill

$Tp1$: Tempo do pulso de radiofrequência no eixo x

SL: Pulso Spin-lock

T: Tesla

dB: Decibel

t_e : Tempo ao eco

t_m : tempo morto

F_r : Fração rígida

F_m : Fração móvel

Acq: Tempo de aquisição da sequência CPMG

n : Número de loop da sequência CPMG

Sumário

1.0 INTRODUÇÃO	17
1.1 FUNDAMENTOS DA RMN	19
1.2 INTERAÇÕES DA RMN NO ESTADO SÓLIDO	24
1.3 RMN-DT EM ESTADO SÓLIDO.....	26
1.5 APLICAÇÕES DA RMN-DT NA CARACTERIZAÇÃO DE MATERIAIS ORGÂNICOS SÓLIDOS.....	31
2.0 OBJETIVOS GERAIS E ESPECÍFICOS.....	35
3.0 MATERIAIS E MÉTODOS.....	36
3.1 AMOSTRAS UTILIZADAS.....	36
3.2 EQUIPAMENTOS UTILIZADOS	37
3.3 AJUSTE DE SINAIS DE RMN-DT DE MATERIAIS SÓLIDO E LÍQUIDOS	38
4.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	41
4.1 ASPECTOS GERAIS DOS EXPERIMENTOS RHIM E KESSEMEIER	52
4.2 RHIMKESSEMEIER - RADIOFREQUENCY OPTIMIZED SOLID-ECHO (RK- ROSE)	56
4.3 APLICAÇÃO DA SEQUÊNCIA DE PULSO RK-ROSE: MONITORAMENTO DE REAÇÕES POLIMÉRICAS.....	63
4.4 APLICAÇÃO DA SEQUÊNCIA DE PULSO RK-ROSE: DETERMINAÇÃO DO TEMPO DE RELAXAÇÃO T_1 E T_2 EM MATERIAIS SÓLIDOS	71
4.5 APLICAÇÃO DA SEQUÊNCIA DE PULSO RK-ROSE COMO FILTRO DE FASE MÓVEL.....	78
4.6 APLICAÇÃO DA SEQUÊNCIA RK-ROSE COMO MÉTODO ALTERNATIVO PARA DETERMINAR TEOR DE GORDURA SOLIDA POR RMN-DT	83
5.0 CONCLUSÕES	90
6.0 APÊNDICE.....	92
6.1 SEQUÊNCIA DE PULSO INVERSÃO RECUPERAÇÃO (IR):.....	92
6.1.1 DETERMINAÇÃO DO VALOR DE T_1 ATRAVÉS DO AJUSTE NO SOFTWARE ORIGINPRO.	93
6.2 SEQUÊNCIA DE PULSO CPMG:	94
6.3 SIMULAÇÃO DOS SINAIS DE RMN UTILIZANDO A EQUAÇÃO D E ABRAGAM.	95
6.4 PROGRAMA DO MATLAB PARA CONVERTER OS SINAIS ADQUIRIDOS EM FUNÇÃO DA COORDENADA DE REAÇÃO.....	96
6.5 RESULTADOS OBTIDOS POR SIMULAÇÃO EM PADRÃO DE PÓ PARA A SEQUÊNCIA RK-ROSE	97
6.6 PROCEDIMENTO PARA OTIMIZAÇÃO DA SEQUÊNCIA RK-ROSE	97

7.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS	100
--------------------------------------	-----

1.0 INTRODUÇÃO

Em 1946 foram publicados dois artigos relatando a observação do fenômeno de ressonância magnética nuclear (RMN) em matéria condensada. As observações foram realizadas por dois grupos de pesquisa independentes, um da Universidade de Harvard pelos físicos Purcell, Torrey e Pound e o outro pelos físicos Bloch, Hansen e Packard da Universidade de Stanford.^[1-3]

No ano de 1950 a RMN em onda contínua já estava sendo utilizada para a solução de problemas químicos. A primeira grande aplicação da RMN em química foi na elucidação da estrutura de moléculas orgânica, graças ao fenômeno do deslocamento químico (δ), da constante de acoplamentos spin-spin (J) e de outros parâmetros espectrais.^[1,4-5]

A RMN atingiu outro patamar no final da década de 1960 com a introdução dos espectrômetros pulsados com transformada de Fourier (*Fourier transform-nuclear magnetic resonance* – FT-NMR) e dos ímãs supercondutores.^[1,4-5] Essas melhorias reduziram drasticamente o tempo de determinação de estruturas em várias ordens de grandeza.

Por conta do grande impacto que as técnicas de RMN tiveram tanto na ciência básica quanto nas aplicadas, vários cientistas foram premiados pela Fundação Nobel por suas descobertas. Em 1952, Felix Bloch e Edward Mills Purcell foram reconhecidos com o prêmio Nobel de Física pela descoberta do fenômeno de RMN;^[6] em 1991, Richard Ernst recebeu o prêmio Nobel de Química pelo desenvolvimento da RMN pulsada com transformada de Fourier e RMN multidimensional;^[7] em 2002, Kurt Wüthrich recebeu o prêmio Nobel de Química pelo uso da RMN multidimensional para determinar a estrutura tridimensional de proteína;^[8] e, em 2003, Paul Lauterbur e Peter Mansfield receberam o prêmio Nobel de Medicina pela introdução da imagem por ressonância magnética.^[9]

A RMN pode ser subdividida em três grandes áreas, a tomografia por RMN ou Imagem por Ressonância Magnética, espectroscopias de RMN em

alta resolução e de RMN em baixa resolução. A RMN em alta resolução é realizada utilizando altos campos magnéticos, baseada principalmente em ímãs supercondutores, é uma das principais espectroscopia usada em química orgânica, química dos produtos naturais, química inorgânica, físico-química, bioquímica, estudos de metabolômica, análises químicas *in vivo*, análise de alimentos, petróleo, entre muitas outras áreas.^[4, 10-11]

A RMN em baixo campo ($B_0 < 0,7\text{ T}$) com baixa resolução ($\Delta B_0 > 100\text{ ppm}$), que é baseada em ímãs permanentes e espectrômetros de bancada vêm sendo usada há mais de 50 anos, principalmente no controle e certificação da qualidade de produtos e processos industriais.^[12-13] A resolução espectral desses experimentos é muito baixa e a análise do espectro após a TF não traz nenhum benefício. Por isso as análises são geralmente realizadas no domínio do tempo, esse tipo de RMN vem sendo denominada de RMN no domínio do tempo (RMN-DT), a partir daqui utilizaremos a nomenclatura RMN-DT para nos referirmos à técnica.

Para exemplificar as diferenças entre as espectroscopias de alta resolução e a RMN-DT tem-se na FIGURA 1 os espectros de uma amostra de etanol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$) obtido em um espectrômetro de RMN de $B_0 = 14\text{ T}$ ($\nu = 600\text{ MHz}$ para o núcleo de ^1H) e homogeneidade da ordem de $0,01\text{ ppm}$ (FIGURA 1A) e em um aparelho de $B_0 = 0,49\text{ T}$ ($\nu = 19,9\text{ MHz}$ para o núcleo de ^1H) e homogeneidade de aproximadamente 50 ppm (FIGURA 1B).

Na FIGURA 1A pode-se ver o espectro de RMN de ^1H do etanol obtido pela TF do decaimento livre da indução (*FID- Free Induction Decay*), no aparelho de alta resolução. Neste espectro pode-se ver três grupos de sinais em $\delta\ 1,15; 3,63\text{ e }4,8$ devidos aos deslocamentos químicos dos hidrogênio dos grupos $\text{CH}_3, \text{CH}_2\text{ e OH}$, respectivamente da molécula de etanol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$). Também é possível observar o desdobramento em um tripleto e um quarteto dos sinais em $\delta\ 1,15; 3,63$, respectivamente, que é devido ao acoplamento spin-spin. O sinal do ^1H da hidroxila aparece como um singleto, sem acoplamento spin-spin, por estar em processos de troca rápida intermolecular.

Na FIGURA 1B está o espectro obtido com a TF do *FID* da amostra de etanol no equipamento de RMN-DT. Diferentemente do espectro obtido no

espectrômetro de alta resolução, se observa apenas um único sinal, com mais de 50 ppm de largura e sem qualquer informação sobre deslocamento químico, acoplamento spin-spin ou outros parâmetros espectrais.^[10-11] Esse mesmo tipo de sinal se observa para qualquer amostras líquida ou solução uma vez que no aparelho de RMN-DT a largura de linha é devido quase que exclusivamente a não-homogeneidade de B_0 , como será discutido a seguir.

FIGURA 1: A) Espectro de RMN da amostra de etanol^[14] obtido no equipamento de $B_0 = 14$ T e B) espectro obtido da mesma amostra^[15] em um equipamento de $B_0 = 0,49$ T.

1.1 FUNDAMENTOS DA RMN

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear baseia-se na absorção de energia na região de radiofrequência (rf), por núcleos com spin nuclear l diferente de zero ($l \neq 0$) e quando submetidos à presença de um campo magnético externo (B_0). A transição da RMN ocorre com a absorção de energia com frequência dada pela equação de Bohr^[1] (equação 1).

$$\Delta E = h \cdot \nu \quad (1)$$

Classicamente, os momentos magnéticos de núcleos com spin ($l > 0$) precessionam em torno de B_0 com uma frequência angular $\omega = \gamma B_0 = 2\pi\nu$, pode-se representar esse efeito na forma de vetores, que se orientam paralelo (*estado α*) e anti-paralelo (*estado β*) ao campo B_0 . Devido ao

fato de se ter um excesso populacional no estado α , existe um momento magnético total ou magnetização resultante (M_0), esta representado na FIGURA 2.^[1,4]

FIGURA 2: A) Precessão dos momentos magnéticos de cada núcleo de uma amostra em torno de B_0 com uma frequência angular $\omega = \gamma B_0$ para as orientações (α) e (β), B) vetor magnetização resultante M_0 .^[1]

Para que se observe o sinal de RMN é necessário deslocar o vetor M_0 da direção z (situação de equilíbrio térmico), aplicando pulsos de radiofrequência com a mesma frequência de precessão do núcleo e perpendicular a B_0 , gerando assim um campo magnético oscilante (B_1).^[1,4] O pulso de radiofrequência gera um campo magnético oscilante que rotaciona a magnetização por um determinado ângulo θ , de acordo com a equação 2.

$$\theta = \gamma B_1 T_p \quad (2)$$

onde T_p é a duração do pulso e γ é a constante ou razão magnetogírica.

Após um pulso o sinal de RMN decai por dois processos de relaxação conhecidos como relaxação spin-rede e relaxação spin-spin. A relaxação spin-rede ocorre com a troca de energia dos spins para restabelecer o equilíbrio térmico. Esse processo equivale ao retorno da magnetização a direção de B_0 (eixo z) e por isso também é conhecida como relaxação longitudinal.^[1-3] A constante de tempo dessa relaxação é dada por T_1 , que pode ser determinada através do experimento de Inversão Recuperação (IR), os sinais adquiridos podem ser ajustados de acordo com a equação 3.

$$M_z = M_0 [1 - \exp(-\frac{t}{T_1})] \quad (3)$$

O tempo de relaxação T_1 influencia o tempo que se deve esperar entre as medições de RMN, para promediar os sinais e aumentar a razão sinal/ruído. Como o processo de retorno da magnetização ao equilíbrio térmico é exponencial, é necessário esperar $5 \cdot T_1$ para que aproximadamente 99.3 % da magnetização retornem ao equilíbrio térmico.^[1,4,16-17]

Na FIGURA 3A está o esquema da sequência de pulso mais utilizada para determinar o valor de T_1 , a sequência de inversão-recuperação (IR). Essa sequência de pulso foi desenvolvida por R. L Vold e colaboradores^[18] no ano de 1967, ela consiste em um pulso de 180° e um pulso de 90° , separadas por um tempo τ_{IR} . Experimentalmente, para determinação de T_1 , são realizadas diversas aquisições com diferentes valores de τ_{IR} , variando de microssegundos a segundos.^[17]

Na FIGURA 3B está a variação da intensidade do sinal de RMN adquirido em função dos diferentes valores de τ_{IR} . Nesta figura é possível visualizar que com valores de $\tau_{IR} \ll T_1$ a magnetização é máxima, porém negativa e em elevados valores $\tau_{IR} \sim 5T_1$ é máxima positiva. Experimentalmente é aconselhável utilizar diversos valores de τ_{IR} para obter um bom ajuste, com a equação 3. Mais detalhes sobre a sequência é apresentado no APÊNDICE 6.1.

FIGURA 3: A) Sequência de pulso Inversão-Recuperação e B) Variação da amplitude do sinal de RMN em função do tempo τ_{IR} .

Outro processo de relaxação^[1,4] característico da RMN que ocorre após a excitação da amostra é o desaparecimento da magnetização no plano transversal (xy), através da relaxação spin-spin. Após o pulso, as componentes da magnetização no plano xy, começam a perder coerência de fase e passam a precessionar ao redor de B_0 . A perda de coerência de fase é atribuída a interações entre os momentos magnéticos individuais, causando um processo de relaxação conhecido como spin-spin ou relaxação transversal com constante de tempo T_2 .

A relaxação spin-spin é caracterizada por um decaimento exponencial em líquidos (equação 4).^[17] A função que pode descrever este decaimento em líquidos é representada na equação 4.

$$M_y(t) = M_{xy} \cdot (\cos \omega_0 \cdot t) \cdot \exp\left(-\frac{t}{T_2}\right) \quad (4)$$

Como $T_2 \leq T_1$ esperava-se que o decaimento do sinal de *FID* seria governado por T_2 em amostras líquidas. No entanto, após um pulso, o sinal de RMN decai com uma constante de tempo efetivo (T_2^*) que depende não só de T_2 da amostra, mas também da não-homogeneidade do campo magnético ΔB_0 , conforme descrito na equação 5.

$$\frac{1}{T_2^*} = \frac{1}{T_2} + \gamma \Delta B_0 \quad (5)$$

onde γ é a razão (ou constante) magnetogírica do núcleo.

Como ΔB_0 é muito grande nos espectrômetros de RMN-DT (FIGURA 1B) a largura de linha é governada quase que totalmente pela não-homogeneidade do campo, que faz com que qualquer amostra líquida tenha apenas um único sinal. A equação 6 descreve a largura de linha de um sinal de RMN ($\Delta \nu_{1/2}$), é possível observar que $\Delta \nu_{1/2}$ é inversamente proporcional a T_2^* .

$$\Delta \nu_{1/2} = \frac{1}{\pi \cdot T_2^*} \quad (6)$$

Para resolver esse problema foram desenvolvidas sequências de eco de spin, que refocalizam um sinal na forma de um eco cuja intensidade é independente da não-homogeneidade do ímã. A sequência de pulso mais utilizada para a determinação do valor de T_2 é a sequência CPMG que foi desenvolvida pelos pesquisadores Carr-Purcell-Meiboom-Gill.^[18-19]

Na FIGURA 4A está o esquema da sequência de pulso CPMG, ela consiste de um pulso de 90_ϕ , seguido por um tempo τ_{CPMG} , um pulso de $180_{\phi+90^\circ}$ e um tempo igual a $\tau_2 - acq - \tau_2$. Considerando o pulso como sendo delta, o eco é formado no tempo $t_e = \tau_{CPMG} + \tau_2 + Acq/2$. Repete-se n vezes o pulso de $180_{\phi+90^\circ}$ e o tempo $\tau_2 - acq - \tau_2$ até que o sinal decaia para valores próximos de zero (FIGURA 4B). Em cada repetição a intensidade dos ecos é coletada após o tempo τ_2 entre os pulsos de $180_{\phi+90^\circ}$. Com o sinal adquirido pode-se determinar o(s) valor(es) de tempo relaxação utilizando a equação 4, mais detalhes experimentais são apresentados no APÊNDICE 6.2.

FIGURA 4: A) Esquema da sequência de pulso CPMG e B) Variação da amplitude do sinal de RMN em função do tempo.

Uma das principais aplicações da RMN-DT é o uso do sinal de núcleos de ^1H para determinação de frações líquidas em alimentos, polímeros e outros materiais orgânicos. Os sinais de RMN (T_2) para amostras líquidas apresentam um comportamento exponencial, com decaimento na ordem de algumas centenas de milissegundos. Este comportamento se dá devido principalmente a alta mobilidade molecular destas substâncias, que faz com que o processo de relação seja lento. Sendo esta característica uma das principais utilizadas para diferenciar as amostras em cada conjunto de experimentos. Em amostras

sólidas, há dificuldades inerentes na detecção de sinais de ^1H por causa da forte interação dipolar magnética presente nestes sistemas, discutiremos algumas destas dificuldades.

1.2 INTERAÇÕES DA RMN NO ESTADO SÓLIDO

O hamiltoniano que descreve as interações presentes num sistema de spins submetido a campos magnéticos B_0 , pode ser escrito na forma:

$$H = H_Z + H_{RF} + H_{DQ} + H_D + H_Q + H_J \quad (7)$$

onde H_Z representa a interação Zeeman, H_{RF} a interação com o campo magnético oscilante B_1 . Esses termos são chamados de 'hamiltonianos externos', pois são campos magnéticos aplicados externamente para realização do experimento de RMN.^[20-22]

Os demais termos da equação 7 são chamados de 'hamiltonianos internos', que são provenientes de campos locais interno à amostra e carregam interações importantes sobre o material H_{DQ} representa a interação de deslocamento químico; H_D a interação dipolar homonuclear ou heteronuclear; H_Q a interação quadrupolar e H_J interação spin-spin.

Existem na literatura diversos trabalhos com o estudo detalhado de cada tipo de interação do spin nuclear.^[20,23] Aqui abordaremos apenas a interação dipolar, representada pelo Hamiltoniano H_D por ser o hamiltoniano interno com maior influência nos sinal de materiais sólidos obtido com a RMN-DT de ^1H em um espectrômetro de $B_0 \sim 0,5 \text{ T}$. O deslocamento químico anisotrópico do ^1H é menor do que 20 ppm, e a interação spin-spin não causam alargamento observáveis da linha dos espectros de RMN-DT pois são interações com até 400 Hz e 20 Hz, respectivamente. O ^1H , por ter spin=1/2 não tem interação quadrupolar.

A interação dipolar descreve a interação entre os dipolos magnéticos dos núcleos presentes na amostra. Na FIGURA 5 está um esquema da estrutura química da molécula de água, onde r é a distância internuclear entre eles.

FIGURA 5: Representação da molécula de água mostrando a distância r entre os spins nucleares I e S .^[15]

Entende-se por acoplamento dipolar magnético a interação do spin nuclear com o campo magnético gerado pelos demais spins da amostra. Na FIGURA 6 está uma representação da interação entre dois spins I e S na presença de um campo magnético externo (B_0). θ é o ângulo entre r e B_0 (eixo z), e Φ o ângulo de r no plano xy . $B_{S \rightarrow I}$ é o campo magnético gerado pelo momento magnético μ_s na posição μ_i .

FIGURA6: Esquema da interação entre dois spins nucleares (I e S) na presença de um campo magnético externo B_0 .^[23]

Considerando a interação entre um par de núcleos, com $S = 1/2$ e escrevendo os momentos magnéticos como proporcionais ao spin nuclear temos, em unidades de ω :

$$\hat{H}_D = -\frac{\mu_0}{4\pi} \hbar \gamma_I \gamma_S \left(\frac{\hat{I} \cdot \hat{S}}{r^3} - 3 \frac{(\hat{I} \cdot \hat{r})(\hat{S} \cdot \hat{r})}{r^5} \right) \quad (8)$$

podemos obter uma forma mais comum utilizando coordenadas esféricas r, θ e φ :

$$\hat{H}_D = -\frac{\mu_0}{4\pi} \hbar \gamma_I \gamma_S (A + B + C + D + E + F) \quad (9)$$

com:

$$A = \hat{I}_z \hat{S}_z (3 \cos^2(\theta) - 1), \quad (10)$$

$$B = \left(-\frac{1}{4}\right) (\hat{I}_+ \hat{S}_- + \hat{I}_- \hat{S}_+) (3 \cos^2(\theta) - 1), \quad (11)$$

$$C = \left(-\frac{3}{2}\right) (\hat{I}_z \hat{S}_+ + \hat{I}_+ \hat{S}_z) (\sin(\theta) \cos(\theta) e^{-i\varphi}), \quad (12)$$

$$D = \left(-\frac{3}{2}\right) (\hat{I}_z \hat{S}_- + \hat{I}_- \hat{S}_z) (\sin(\theta) \cos(\theta) e^{-i\varphi}), \quad (13)$$

$$E = \left(-\frac{3}{4}\right) (\hat{I}_+ \hat{S}_+) (\sin^2(\theta) e^{-2i\varphi}), \quad (14)$$

$$F = \left(-\frac{3}{4}\right) (\hat{I}_- \hat{S}_-) (\sin^2(\theta) e^{-2i\varphi}), \quad (15)$$

Tais equações são conhecidas como o alfabeto da interação dipolar, apenas os termos que comutam com o hamiltoniano Zeeman, exercerão influência sobre o espectro. Temos, portanto, duas situações: apenas $\hat{A}$ comutará com $\hat{H}_z$ em núcleos diferentes ($\hat{I} \neq \hat{S}$) e para núcleos iguais ($\hat{I} = \hat{S}$) $\hat{A}$ e $\hat{B}$ comutarão. Em cada um dos termos A-F contém um fator geométrico e de spin, o fator geométrico se anula para todos os seis termos num líquido, devido ao movimento isotrópico das moléculas, assim a interação dipolar tem efeito nulo sobre os espectros de RMN de amostras líquidas.^[23]

Em amostras sólidas, contendo hidrogênio, o efeito da interação dipolar homonuclear $^1\text{H}-^1\text{H}$ é da ordem de dezenas de quilohertz. Com isso o sinal de RMN de amostras sólidas decai de maneira gaussiana, com uma constante de tempo da ordem de algumas dezenas de microssegundos.

1.3 RMN-DT EM ESTADO SÓLIDO

Um dos principais problemas do uso da RMN-DT de ^1H para análise de materiais sólidos, com baixa mobilidade molecular, é que a forte interação dipolar $^1\text{H}-^1\text{H}$ faz com que a maior parte do sinal decaia em alguns

microssegundos (até $\sim 50 \mu\text{s}$), que é um tempo muito curto para a maioria dos espectrômetros de RMN que tem tempo morto $t_m \geq 20 \mu\text{s}$.^[17] Na FIGURA 7 está um diagrama mostrando o t_m , que é o tempo em que a sonda e o receptor ainda estão sob a interferência do pulso de rf de alta potência e não permite a detecção do sinal de RMN.^[24]

FIGURA 7: Diagrama do sinal de RMN de uma amostra com decaimento gaussiano (sinal de RMN em estado sólido). O tempo morto (t_m), delineado pelo retângulo após o pulso, é o tempo em que o sinal de RMN está distorcido devido aos fatores instrumentais.^[15]

O t_m varia de sonda para sonda e pode variar de alguns μs até dezenas μs . O t_m em aparelhos comerciais normalmente está entre 10 e 30 μs , que não é um tempo suficientemente curto para que se observe, sem distorção, o sinal dos componentes rígidos, com forte interação dipolar. Por exemplo, em um espectrômetro com tempo morto de 12 μs o FID só poderá começar a ser adquirido depois deste tempo o que acarreta na perda de cerca de 30 % do sinal para amostras sólidas.^[17,25]

Na FIGURA 8 está mostrando um *FID* de uma semente de amendoim adquirido em um espectrômetro de RMN-DT com tempo morto de 12 μs . Nesta figura pode-se ver um sinal que decai muito rápido, seguido de um sinal com decaimento mais lento. O sinal que decai rápido é o sinal referente aos componentes que estão sólidos, como as proteínas e carboidratos e o sinal que decai mais lentamente é dos componentes no estado líquido principalmente o óleo.

Na expansão da parte inicial da FIGURA 8 é possível observar que a parte inicial do *FID* (sinal A), devido aos componentes sólidos, decai durante o

tempo morto do espectrômetro. Consequentemente, apenas uma pequena parte do FID desses componentes pode ser medida (sinal B). No componente (C) do FID estão apenas os sinais de óleo e água livre.^[17] Como T_2^* é da ordem de milissegundos, o decaimento do FID (C) é governado, principalmente pela não homogeneidade do campo magnético (equação 5).

FIGURA 8: Sinal FID para semente de amendoim adquirido após um pulso de $\pi/2$ no espectrômetro Minispec NF Mq 20.^[17]

Para uma determinação mais precisa dos componentes sólidos com um espectrômetro com t_m da ordem de $10 \mu s$ é necessário fazer a correção da intensidade do sinal de sólido, para isso é necessário utilizar amostras certificadas com teor de sólido/líquido conhecido. Esse é o procedimento que se usa no método direto de determinação do teor de gordura sólida em margarinas, manteigas e chocolates conhecido como *Solid Fat Content - SFC*.^[13,26] Discutiremos mais sobre esta aplicação a seguir.

Para que possa fazer medições dos componentes sólidos em espectrômetro com t_m da ordem de $10 \mu s$, tem sido desenvolvidas sequências de pulsos (eco sólido) que refocalizam a interação dipolar homonuclear ou interação quadrupolar $^1H-^1H$. Essas sequências consistem em refocalizar o sinal da interação dipolar ou quadrupolar na forma de um eco, que minimiza o efeito do tempo morto no sinal de RMN de amostras sólidas. Apresentaremos algumas das mais utilizadas sequências de pulso para refocalização do sinal de RMN na forma de eco.

1.4 SEQUÊNCIAS DE PULSOS UTILIZADAS EM RMN-DT NO ESTADO SÓLIDO

A primeira sequência de pulso de eco sólido (ES) foi proposta por Powles e Mansfield^[27] (FIGURA 9). A sequência consiste na formação de um eco através do uso de dois pulsos de $\pi/2$, separados por um tempo τ_{aq} e defasados em 90° . Experimentalmente é utilizado um $\tau_{aq} = t_m$ para que o máximo do eco seja obtido exatamente após o t_m do espectrômetro, obtendo assim a aquisição máxima dos componentes rígidos da amostra. Considerando a formação do eco a partir do primeiro pulso, o eco é formado em $t_e = 2\tau_{aq}$, na FIGURA 9 está representado o esquema da sequência ES.

FIGURA9: Esquema da sequência de pulso Eco-Sólido utilizada para a formação do eco.^[15]

Outra sequência de pulso que proporciona a aquisição do sinal de RMN em amostras sólidas com pouca perda de magnetização durante t_m é a sequência *mixed Magic Sandwich Echo* (mixed-MSE), desenvolvida por Waugh^[28-29] e modificado por Takegoshi^[30] e Matsui.^[31] Esta sequência apresenta eficiência superior a sequência de ES e seu esquema de pulsos é demonstrada na FIGURA 10.

A sequência de *mixed-MSE* consiste de um pulso de 90° em ϕ , seguida por um tempo τ_{aq} e uma parte com vários pulsos denominada de “*sandwich*”. A sequência proporciona que na média o Hamiltoniano $\hat{H}_D$ seja promediado a zero no tempo de eco t_e , esta sequência também refocaliza as interações lineares no operador de spin, como homogeneidade do campo magnético

estático e deslocamento químico isotrópico. Com isso, a sequência de mixed-MSE produz um eco que tem pouca interferência do t_m da sonda e funciona para qualquer estado inicial de magnetização. Esta característica especial permite seu uso como um bloco de sequência de pulsos mais complexas.^[32]

A parte “sandwich” da sequência é composta de dois blocos de quatro pulsos de 90° , onde a fase do segundo bloco é invertida em 180° da fase do primeiro. Por fim, após um tempo de espera τ_{aq} , surge o eco que refocaliza os sinais de materiais sólidos, ou seja, com interações dipolares ^1H - ^1H . Na FIGURA 10 e apresentado um esquema geral da sequência mixed-MSE, o eco é formado em $t_e = 6\tau_{aq}$, considerando a formação do eco a partir do primeiro pulso.

FIGURA 10: Esquema da sequência de pulso mixed-Magic Sandwich Echo.^[15]

Apesar da sequência mixed-MSE ser um método bastante robusto, existe alguns inconvenientes como o grande número de pulsos de rf e a duração total da sequência ser relativamente longa, por exemplo, para um espectrômetro com duração de pulso $\pi/2 = 2,5 \mu\text{s}$ e $t_m = 12 \mu\text{s}$ a duração mínima total da sequência mixed-MSE é de $99,5 \mu\text{s}$. Sendo assim podendo levar a formação de alguns artefatos, como por exemplo, a distorção no sinal de RMN em diferentes τ_{aq} para uma mesma amostra.

As sequências de ES e mixed-MSE são as mais utilizadas em RMN-DT para caracterização de componentes sólidos, porém existe outras sequências de pulsos, proposta por Rhim and Kessemeier^[33] (1971), assim como suas variações propostas por Bilsky^[34] et. al (2003) e Sergeev^[35] (2003), mas que

tem sido pouco utilizadas em RMN-DT para análise de materiais sólidos. Iremos discuti-las mais a diante.

Assim, o desenvolvimento de novas sequências de pulso ou instrumentação capazes de aumentar a eficiência da técnica para caracterizar amostras sólidas por RMN-DT é extremamente desejável.

1.5 APLICAÇÕES DA RMN-DT NA CARACTERIZAÇÃO DE MATERIAIS ORGÂNICOS SÓLIDOS

A primeira aplicação da RMN-DT que se usou para caracterizar sólidos, foi o método de determinação de gordura sólida em margarinas e manteigas, conhecido como método *Solid Fat Content* (SFC).^[13,26] Esse método e sua curva de fusão são um dos parâmetros de qualidade mais importante para indústria de óleos, gorduras e chocolate. Esses parâmetros são utilizados para o controle do processo de hidrogenação, interesterificação (enzimática pela enzima lípase ou química catalisada por metal alcalino) e mistura, além disso, o controle do nível de gordura sólida é necessário para o desenvolvimento de novos produtos ou substituição de matéria prima.^[36-38]

O método direto de SFC utiliza a equação 16 para obter o parâmetro SFC. O início do sinal (S_{11}) de RMN é composto por núcleos de ^1H no estado sólido/líquido e o sinal a partir de 70 μs é devido apenas aos ^1H no estado líquido (S_{70}). O conteúdo de gordura sólida é calculado a partir da razão entre os componentes sólidos ($S_{11} - S_{70}$) e componentes líquidos (S_{70}), f é um fator de correção empírica (estabelecido durante a calibração) para contabilizar o tempo morto do espectrômetro.

$$SFC (\%) = \frac{f \cdot (S_{11} - S_{70})}{(S_{11} - S_{70}) \cdot f + S_{70}} * 100 \quad (16)$$

Porém este método não apresenta bons resultados quando diferentes formas cristalinas estão presentes, Arnaut Declerck e colaboradores^[39] realizaram estudos da influência do polimorfismo na determinação de SFC em

diferentes manteigas, eles utilizaram o método de deconvolução do sinal de RMN e obtiveram resultados semelhantes com o método que utiliza o *fator – f*, com a vantagem de não utilizar padrões para calibração. Outro resultado foi na determinação dos polimorfos α e β na manteiga de cacau, o método de deconvolução obteve resultados mais precisos quando comparado com o método de *fator – f*. Estamos propondo nesta tese um método alternativo para determinação do SFC, através da deconvolução do sinal obtido com a sequência RK-ROSE.

Outra aplicação da RMN-DT em estado sólido se dá na indústria farmacêutica, onde a quantificação da forma de ingredientes farmacêuticos ativos (*Active Pharmaceutical Ingredients* - APIs) desempenham um papel central desde o desenvolvimento preliminar de medicamento até a fabricação em escala industrial.^[40-42] Os APIs podem assumir diferentes formas polimórficas, formar solvatos e hidratos, bem como ter parte amorfa. Por isso é muito importante determinar a presença dessas estruturas nos APIs uma vez que cada polimorfo pode ter diferentes características que impactam nas propriedades farmacodinâmica do medicamento.^[42]

Cerca de 80-90% das drogas presentes no mercado são disponibilizadas no estado sólido.^[40] Um problema recorrente associado aos fármacos no estado sólido é a baixa taxa de dissolução. Outra característica importante, e que está intimamente relacionada com a taxa de dissolução e, consequentemente, à biodisponibilidade do fármaco é a existência de várias formas cristalinas que um fármaco pode assumir no momento da sua cristalização, trata-se de um sério problema para a indústria farmacêutica.^[40,42]

Os métodos normalmente utilizados para determinação de polimorfismo (RMN de alta resolução em sólidos, difratometria de raios-X, Raman, espectroscopia no infravermelho, etc) em fármacos são caros, envolvem radiação ionizante, requerem calibração trabalhosa e podem ter baixa precisão.^[41-42] Buscando minimizar os custos, a RMN-DT emergiu como uma importante ferramenta para análise de polimorfos. Dirk Stueber e Stefan Jehle^[43] (patente^[44]) propuseram um método para quantificar APIs e determinar o conteúdo de polimorfo anidro em amostras de medicamentos. Para isso

usaram a sequência de pulso saturação-recuperação^[45-46] (SR) em um equipamento de fabricação da Bruker.

A RMN-DT também tem sido usada no monitoramento de processos, especialmente em ambiente industrial. Atualmente, a indústria de processo baseia-se na proteção da qualidade exigida do produto com o uso otimizado de equipamentos, materiais e energia. As indústrias beneficiam cada vez mais de tecnologia analítica de processo confiável para controle de produção e garantia preventiva da qualidade do produto. Ao mesmo tempo em que os dispositivos analíticos de processo podem aumentar a eficiência, a orientação regulatória baseadas na ciência reconhecem técnicas espectroscópicas como ferramentas potencialmente úteis para a qualidade no produto e processos de fabricação.

O objetivo de tecnologia analítica de processo é uma compreensão abrangente e, assim, um melhor controle dos processos de fabricação: previsibilidade e a confiabilidade da qualidade devem ser incorporadas ao processo, conseqüentemente, idealmente, deve ser monitorado *on-line* ou *in-situ*.

O termo "on-line" implica que os métodos analíticos obtenham informações diretamente do processo. Isso está em contraste com a análise off-line, em que uma amostra é retirada do processo e transferida para um laboratório analítico central com instrumentação sofisticada. Formalmente, as técnicas analíticas on-line podem ser classificadas em técnicas on-line, em linha e não invasivas.

Tanto para monitoramento *on-line* ou *in-situ*, muitas vezes é necessário acompanhar mudanças estruturais e dinâmicas nos sistemas de interesse em tempo real. Este é caso do monitoramento de processos envolvendo a formação e mudanças estruturais de polímeros, que se dá por diversas técnicas analíticas.

A RMN-DT é capaz de obter informações para monitorar diferentes processos, já que é extremamente sensível as variações de mobilidade molecular. Muitas dessas informações são obtida por técnicas relativamente rápidas o que torna a RMN-DT particularmente útil para monitoramento em tempo real de processos físico-químicos.

C. Hertlein e colaboradores^[47] estudaram a cinética de cristalização do polímero *s – poly(propylene)(sPP)*, *polyethylene – co – octene* (*PEcO*) *epoly(ε – caprolactone)* (*PεCL*). No começo da cristalização os componentes apresentam grande mobilidade molecular e os valores de T_2 são altos. Quando se inicia o processo de cristalização os valores de T_2 tendem a ficar menores. Os valores da cristalinidade obtidos por RMN-DT foram maiores para o *PεCL* e menores para o *PEcO*, corroborando com os resultados de dilatométrica e espalhamento de raio-X.^[47]

Outra possível aplicação da RMN-DT se dá no monitoramento em tempo real de reações de polimerização, os sinais de RMN são adquiridos em função do tempo e com o ajuste de cada sinal, utilizando a equação 17 (mais detalhes na seção 3.3) é possível obter quantidades associadas da formação dos produtos e consumo dos reagentes. Com esses valores em função do tempo de reação e da temperatura é possível determinar os parâmetros de cinética de reação, como por exemplo, a constante de velocidade da reação (K_c) e energia de ativação (E_a). A determinação dos parâmetros de cinética da reação polimérica é muito importante para a identificação dos mecanismos de reação e possíveis irregularidades durante o processo.

A constante de velocidade e energia de ativação é importante para mensurar como a reação se comporta em diferentes condições, principalmente diferentes concentrações dos reagentes e temperaturas. Logo, o desenvolvimento de um método para identificar estas propriedades se torna importante para a química básica e também para a química aplicada na indústria. Estamos propondo nesta tese um método para determinação dos parâmetros da cinética de reação de polimerização da resina Araldite, através da deconvolução do sinal de RMN obtido com a sequência RK-ROSE.

Mais recentemente, Mecit-Oztop e colaboradores^[48] desenvolveu um trabalho de base para um método confiável de controle de qualidade de açúcares em pó com a sequência ES^[27] e mixed-MSE.^[28-31] Açúcares em pó obtidos por spray ou liofilização são mais suscetíveis a absorver umidade desde que são transformados em estrutura amorfa, Oztop adquiriu diferentes açúcares e realizou a determinação da fração cristalina e amorfa nas amostras.

Oztop comprova a dependência linear da cristalinidade com o segundo momento (M_2). Diversos trabalhos^[49-56] utilizam a RMN-DT para estudo físico-químico da matéria, as análises em sólidos vem crescendo com o desenvolvimento de sequências de pulsos.

2.0 OBJETIVOS GERAIS E ESPECÍFICOS

A tese teve como objetivo geral desenvolver novas sequências de pulsos capazes de detectar sinais de materiais sólidos com forte interação dipolar homonuclear em aparelhos de RMN-DT com tempo morto na faixa de 8,5 -25 μ s e aplicá-las em análise não destrutiva de diversos materiais.

Os objetivos específicos foram:

- Avaliar as sequências de pulso *Spinlock* e de eco sólido para detecção de materiais sólidos em RMN-DT;
- Reavaliar a sequência proposta por Rhim and Kessemeier (RK) e otimiza-la em diferentes espectrômetros;
- Desenvolver a base teórica da nova sequência RK-ROSE (radio frequency optimized solid echo);
- Comparar a eficiência da sequência RK-ROSE com as sequências de FID, ES e mixed-MSE e implementar a sequência RK-ROSE para determinação de tempo de relaxação T_1 e T_2 ;
- Realizar diversas aplicações dessa sequência no monitoramento de reação de polimerização, caracterização de polímeros, e como método alternativo para medição de SFC;
- Utilizar a sequência RK-ROSE como filtro de fase móvel para estudar o comportamento da dinâmica molecular de alguns polímeros em diferentes temperaturas.

3.0 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 AMOSTRAS UTILIZADAS

Amostras de azeite de oliva, manteiga, manteiga de cacau, margarina, soja em grão, resina epóxi Araldite[®] foram adquiridos no comércio local de São Carlos-SP. Amostras de celulose (C₆H₁₀O₅)_n, sacarose (C₁₂H₂₂O₁₁) com massa molecular de 162,14 e 342,29 g.mol⁻¹, respectivamente, e poliestireno (C₈H₈)_n foram obtidas da SigmaAldrich[®].

A amostra de soja foi preparada triturando aproximadamente 5 gramas de soja em um moinho (IKA[®]- modelo A11B). O óleo dessa amostra de soja triturada foi extraído com 50 mL de clorofórmio (CHCl₃), com agitação magnética durante 120 minutos. Realizada a filtragem após o tempo de agitação, o resíduo sólido foi levado à 80 °C durante 12 horas na estufa.

As amostras de Araldite[®] foram preparadas misturando-se a resina epóxi com o endurecedor na proporção de 10:8 (m/m) como indicado pelo fabricante. Os reagentes foram colocados em um saco plástico e misturados durante aproximadamente 2 minutos, até a homogeneização da amostra. Após este período foi transferido para o tubo de 10 mm de diâmetro e levado ao espectrômetro para aquisição dos sinais.

A amostra de poliestireno (PS) foi preparada da seguinte maneira: inicialmente acrescentamos 1 g do PS no tubo de 10 mm, que foi aquecida com um soprador térmico (pistola de ar quente) Vonder[®] modelo STV 1500N até a completa fusão do PS e posteriormente aguardamos sua solidificação, isto foi necessário para concentrar a amostra na região de ótima detecção da sonda, que é de aproximadamente 1 cm.

Para avaliar o desempenho da sequência IR-RK-ROSE pesou-se 2g de celulose que foi transferida para o tubo de RMN para aquisição dos sinais e foi preparado também uma amostra contendo 2 g de sacarose no tubo de 18 mm e dentro foi colocado um tubo de acrílico de 8 mm de diâmetro, foram feitos experimentos no espectrômetro I com uma mistura de acrílico (amorfo) e sacarose (cristalina), o $\tau_{IR-RK-ROSE}$ na variou de 20 μ s até 15 s.

As amostras utilizadas no estudo da dinâmica molecular de polímeros através do Filtro de Fase Móvel com a sequência RK-ROSE foram fornecidas pela Sigma-Aldrich, as amostras são os polímeros: poly[2-methoxy-5-(3,7-dimethyl-octyloxy)-1,4-phenylenevinylene] (MDMO-PPV - massa molecular > 100 000) e poly[2-methoxy-5-(2-ethylhexyloxy)-1,4-phenylenevinylene] (MEH-PPV - massa molecular > 100 000), eles apresentam cadeias principais idênticas e diferenciando apenas as cadeias laterais.

3.2 EQUIPAMENTOS UTILIZADOS

Utilizou-se inicialmente um console transmissor/receptor de RMN da Tecmag[®] Houston, EUA. Foram usados amplificadores de potência modelo AMT-3205 (300 W) e 3200 LB (1KW) da Herley Medical Products e o pré-amplificador da Miteq[®], modelo 1114 – SMA. Esse sistema foi acoplado a um ímã de $B_0 = 0,5T$ ($\nu = 20,17$ MHz para o núcleo de 1H) da Bruker[®] com sua respectiva sonda de 18 mm de diâmetro. Esse espectrômetro foi designado espectrômetro I.

Utilizou-se também um espectrômetro Minispec ND Mq20 Bruker[®] do IFSC-USP, que consiste no ímã com $B_0 = 0,49 T$ ($\nu = 19,9$ MHz para o 1H) com sua respectiva sonda de 10 mm de diâmetro, com controlador de temperatura BVT (espectrômetro II). Posteriormente usou-se outro modelo Minispec NF Mq20 Bruker na Embrapa Instrumentação com controlador de temperatura externo (espectrômetro III).

A determinação de T_1 das amostras foi realizada com a sequência de pulso Inversão-Recuperação (IR), com os parâmetros experimentais apresentados na TABELA 1. Os sinais foram normalizados pelo ponto de máximo sinal, o valor do tempo de relaxação desta amostra de PS foi de $T_1 = 329 \pm 28$ ms.

Amostra	Poliestireno
Tempo de aquisição	3ms
Temperatura	25 °C
Número de médias	16
Quantidade da amostra	1g
Tp_{90°	2,5 μ s
τ_i	0,01 ms
τ_f	5,3 s
Número de pontos	21

TABELA 1: Parâmetros experimentais para aquisição do sinal de RMN para a amostra de poliestireno.

3.3 AJUSTE DE SINAIS DE RMN-DT DE MATERIAIS SÓLIDO E LÍQUIDOS

Para o ajuste de sinais de RMN-DT de materiais sólido e líquidos utilizou-se a equação de Abragam^[57] (equação 17). O primeiro termo da equação é referente aos componentes rígidos e o segundo termo se refere aos componentes móveis presentes na amostra.

$$f(t) = Fr * \exp^{-\frac{1}{2}(aT_{2r})^2} * \frac{\sin(b*t)}{(b*t)} + Fm * \exp^{-(t/T_{2m})^\beta} \quad (17)$$

$$M_2 = \frac{a^2 + b^2}{3} \quad (17.1)$$

onde Fr e T_{2r} é a fração e a largura do decaimento da componente gaussiana, Fm e T_{2m} é a fração e o tempo de relaxação transversal dos componentes móveis e β o fator de ajuste, que pode variar de 0 à 2. Através da equação de Abragam podemos determinar o segundo momento (M_2) da distribuição de acoplamento dipolar, através da equação 17.1.

Em sistemas rígidos o T_{2r} é da ordem de μ s e em sistemas móveis o T_{2m} é da ordem de algumas centenas de milissegundos. Buscando facilitar a implementação desses procedimentos em análise de rotina, apresentaremos

no APÊNDICE 6.3 uma sequência de passos para a implementação da equação de Abragam no software OriginPro 9.0.

A FIGURA 11A foi simulada utilizando os parâmetros $Fr = 0.6$, $Fm = 0.4$, $T_{2r} = 0,02 \text{ ms}$ e $T_{2m} = 1,2 \text{ ms}$ na equação 17, mais detalhes no APÊNDICE 6.3. Através do sinal de RMN-DT pode-se estimar a fração relativa das regiões do material que apresentam diferentes mobilidades. Na FIGURA 11B está o resultado da TF do sinal simulado na FIGURA 11A, o procedimento experimental adotado foi o mesmo para a FIGURA 1.

FIGURA 11: A) Modelo de FID para um sistema que apresenta dois tempos de relaxação distintos e B) Sinal transformada de Fourier dos sinais de RMN da FIGURA 11A.

Para estimarmos a eficiência da sequência RK-ROSE realizou-se a aquisição dos sinais de RMN com as amostras de resina curada e o polímero poliestireno (PS). Os resultados com a resina curada foram normalizados pela intensidade máxima do sinal em cada conjunto de experimentos, já o resultado com o PS foi utilizado um método para estimar a eficiência da sequência. Este método consiste nos seguintes passos: a) Ajustar o sinal a partir da metade do eco obtido por uma sequência de pulso que refocaliza as interações dipolares ^1H - ^1H e assim estimar os parâmetros a e b da equação de Abragam; b) utilizar os parâmetros a e b como valores fixos para ajustar o sinal FID com a equação 18 (seção 4.2) e assim estimar a amplitude inicial $I(0)$; e c) normalizar todo conjunto de sinais pelo valor obtido de $I(0)$.

Uma aplicação desenvolvida nesta tese foi a utilização dos sinais obtidos com a sequência RK-ROSE para sanar os parâmetros de cinética de reação

(Kc e Ea) de polimerização da resina Araldite. A amostra foi preparada, conforme descrito anteriormente, e levada ao espectrômetro II. Os sinais foram adquiridos por diferentes sequências em função da coordenada de reação, a normalização de cada conjunto de experimentos foi feita pelo sinal de maior intensidade. O espectrômetro II salva os dados em um único arquivo, para facilitar o tratamento dos sinais foi feito uma rotina em ambiente Matlab que está no APÊNDICE 6.4.

Outra aplicação desenvolvida nesta tese foi o uso da sequência RK-ROSE como filtro de fase móvel, iniciou-se o procedimento com aproximadamente 1 g do polímero (MDMO-PPV ou MEM-PPV) no tubo de 10 mm de diâmetro e colocamos no espectrômetro II. A temperatura foi ajustada inicialmente para 193 K (este espectrômetro possui controlador de temperatura BVT-Bruker), aguardamos 5 minutos e realizamos a aquisição dos sinais de RMN. Após a aquisição do sinal a temperatura foi elevada para 196 K, aguardamos novamente o tempo de 5 minutos e realizamos a aquisição do sinal, este procedimento foi repetido até a temperatura final de 433 K.

Para a utilização do sinal adquirido com a sequência RK-ROSE para determinar o fator SFC de manteiga e manteiga de cacau, os experimentos foram realizados no espectrômetro III. As amostras de manteiga de cacau foram preparadas seguindo o procedimento estabelecido na ISSO 8292^[58] e a amostra de manteiga foi preparada seguindo o protocolo do método direto AOC Cd 16b-93.

Utilizamos aproximadamente 1 mL das amostras para realizar o tratamento térmico, com os seguintes banhos termostáticos: a) Cienlab modelo: CE-110/6 com temperatura de trabalho: 10 a 40 °C, resolução de $\pm 0,1$ °C e b) Tecnal modelo TE-2005 com temperatura de trabalho de 0°C e resolução de $\pm 0,1$ °C. Este procedimento inicia-se por: a) derreter a amostra durante 5 minutos à 100°C, b) manter a amostra 5-15 minutos na temperatura de 60 °C, c) 60 minutos na temperatura de 0°C e por fim d) 30-35 minutos na temperatura de análise, para a manteiga a temperatura de análise foi de 10°C a 40°C.

4.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Iniciou-se o trabalho de doutorado avaliando sequências de pulsos que pudesse ser usadas em análise de materiais sólidos no espectrômetro de RMN-DT baseado em um console CAT 100 (Tecmag), com imã permanente com $B_0 = 0,5$ T ($\nu = 20,17$ MHz para o núcleo de ^1H) e sonda de um espectrômetro Minispec (Bruker) com tempo morto de $t_m = 25 \mu\text{s}$. A primeira sequência que analisamos foi a sequência de pulso *spin-lock*,^[17,59-62] que normalmente é usada na determinação da relaxação longitudinal no referencial girante ($T_{1\rho}$).

A sequência de pulso *spin-lock* (FIGURA 12) usa um pulso de $\pi/2$, que rotaciona a magnetização para o plano xy, seguido por um pulso de longa duração τ_{el} em y e de baixa intensidade, que é denominado de pulso *spin-lock* (SL). O pulso SL, mantém a magnetização no eixo y, devido ao campo B_1 criado nesse eixo. Durante o tempo de duração do pulso SL, que pode ser de uma potência bem menor do que o pulso de $\pi/2$, o sinal decai com $T_{1\rho}$.

FIGURA 12: Esquema da sequência de pulso *spin-lock*, que é utilizada para determinar o tempo de relaxação $T_{1\rho}$.

Nossa hipótese inicial era que como a sequência SL termina em baixa potência, que segura a magnetização no eixo y, pudesse levar há um tempo morto menor do que o sinal obtido com um pulso de $\pi/2$ e de alta potência (pulso *hard*). Ou seja, a menor potência antes da aquisição do sinal poderia levar a um menor tempo morto. No entanto, não foi observada redução significativa do tempo morto mesmo usando um pulso de *spin-lock* com só 58% da potência do pulso de $\pi/2$. O CAT 100 possui apenas dois níveis de

potência, alta e baixa (+ 5 dB de atenuação) que podem ser selecionadas durante a sequência de pulso.

Na FIGURA 13 estão os sinais de RMN obtidos para a resina epóxi curada com um pulso de $\pi/2 = 11 \mu s$ e $t_m = 25 \mu s$ (FID- quadrados pretos) e com a sequência SL, sendo o primeiro pulso de $\pi/2 = 11 \mu s$ e o segundo pulso com + 5 dB de atenuação, com duração de $\pi/2 = 18 \mu s$ e também com um $t_m = 25 \mu s$. Esses resultados mostram que na condição de *spin-lock* o sinal de sólido é aproximadamente 56% maior do que o obtido no sinal de FID. Essa maior intensidade do sinal de sólidos, não era inicialmente esperado. Esperava-se uma redução no tempo morto, mas não um ganho de intensidade sem a redução do t_m .

FIGURA 13: Sinais de RMN da resina curada adquiridos após um pulso de $\pi/2 = 11 \mu s$ (FID-quadrado preto) e excitando com a sequência SL (linha vermelha) sendo o primeiro pulso de $\pi/2 = 11 \mu s$ e o segundo pulso com + 5dB de atenuação, com $\pi/2 = 18 \mu s$.

Com este resultado inesperado passamos a realizar diversos experimentos para compreender o ganho na intensidade do sinal de RMN. Primeiramente fez-se a aquisição do sinal com os dois pulsos, com a mesma potência, isto é, os dois pulsos de $\pi/2 = 11 \mu s$. Na FIGURA 14 estão os sinais de RMN da amostra de resina curada obtido com um único pulso de $\pi/2$ (FID-quadrado preto) no espectrômetro com $t_m = 25 \mu s$ e o sinal que se obteve com dois pulsos de $\pi/2 = 11 \mu s$, defasados em 90° (linha vermelha). O que se observa nesta figura é que quando os dois pulsos apresentam a mesma potência o sinal do SL foi ainda mais intenso (~85 %) que o FID.

FIGURA 14: Sinais de RMN da resina epóxi curada adquiridos após um pulso de $\pi/2 = 11 \mu s$ (FID-quadrado preto) e excitando com a sequência SL (linha vermelha) com os dois pulso de $\pi/2 = 11 \mu s$.

Com esses resultados e outros que são apresentados a seguir, levantou-se a hipótese de que essa sequência seria uma sequência do tipo eco sólido (FIGURA 9), sem o tempo de espera entre os dois pulsos. Assim, passamos a verificar o efeito no sinal de RMN da sequência SL, em comparação com o FID, adicionando-se um tempo entre os pulsos (τ) de 0 a $5 \mu s$.

Na TABELA 2 estão os valores das intensidades máxima dos sinais FID, ES e diferentes condições de potência nos pulsos. Neste conjunto de experimentos utilizamos a amostra de resina epóxi curada e assumimos a condição de $Tp_1 = \pi/2 = 11 \mu s$ e $SL = \pi/2 = 18 \mu s$ (sendo que na condição de SL foi acionada a atenuação de + 5 dB).

Pode-se observar na TABELA 2 que a intensidade máxima do FID (condição 1 e 2) foi bem menor do que as intensidades do sinal obtido nas condições 3 à 6. Também pode-se observar que a intensidade do sinal nos experimentos com dois pulsos, sem intervalos, foi mais intensa que os sinais adquiridos com a sequência de ES. Esses resultados mostram que com $\tau = 0$, havia a formação de um sinal mais intenso que deveria ser um eco, uma vez que se tratava de dois pulsos de $\pi/2$ e defasados em 90° .

Condição	Sequência de Pulso	Intensidade (u.a.)
1	Tp_1	0,546
2	SL	0,336
3	$Tp_1 - Tp_1$	1
4	$Tp_1 - SL$	0,801
5	$SL - SL$	0,716
6	$SL - Tp_1$	0,946
7	$Tp_1 - t_m - Tp_1$	0,75
8	$Tp_1 - t_m - SL$	0,559
9	$SL - t_m - SL$	0,418
10	$SL - t_m - Tp_1$	0,569

TABELA 2: Resultados de RMN obtidos com diferentes sequências de pulso para amostra de resina epóxi curada. Onde $Tp_1 = 11 \mu s$, $SL = 18 \mu s$ e $t_m = 25 \mu s$.

Partindo da ideia que seria um sinal de eco, passou a verificar qual a influência de diferentes ângulos *flip* (ou duração do pulso) na intensidade máxima do sinal de RMN. Na FIGURA 15 estão os resultados da variação da intensidade máxima do sinal de RMN obtidos com diferentes ângulos de *flip* no segundo pulso da sequência e a intensidade do sinal FID. Nestes experimentos com dois pulsos, usou-se sempre o primeiro pulso com $\pi/2 = 11 \mu s$. Como esperado, a intensidade máxima foi observada quando se utilizou um tempo de pulso igual a $\pi/2$. Nesta condição a intensidade do sinal foi bem maior do que a que se obteve com o FID e com pulsos $\theta > \pi/2$.

FIGURA 15: Intensidade máxima do sinal de RMN para resina epóxi (araldite) curada em diferentes condições do ângulo *flip* do segundo pulso da sequência, com $\tau = 0$ e o primeiro pulso $\pi/2$ (quadrado azul) e intensidade do sinal após um pulso de $\pi/2$ (o eixo x do gráfico não é válido para esta condição).

Também avaliou-se o efeito da duração no primeiro pulso (neste conjunto de experimentos denominamos o primeiro pulso como sendo Tp_1) na intensidade máxima do sinal. Na FIGURA 16, círculo azul tem-se a intensidade do sinal para $\tau = 0$ e com Tp_1 de 2 a 50 μs , equivalente a ângulos θ de $0,1\pi$ à $4,5\pi$. Pode-se observar nesta figura que a intensidade máxima do sinal aumentou em ângulos $\theta \leq \pi/2$, quando se usou maiores valor de τ . É possível observar também que o sinal atinge uma intensidade máxima para ângulos $3\pi/2 \leq \theta \leq 5\pi/2$ e que a intensidade decai para em ângulos $\theta > 5\pi/2$. Ou seja, a intensidade é máxima quando a duração de Tp_1 está entre 33 a 55 μs .

Também foram realizados experimentos usando esses mesmos valores de ângulo de *flip*, mas para τ de 1 a 5 μs (triângulos e losango da FIGURA 16). Os resultados mostraram que para todos os valores de τ (entre 1 e 5 μs) a intensidade máxima decaiu, quando comparamos com os mesmos experimentos sem tempo entre os pulsos e decai mais para maiores valores de τ .

FIGURA 16: Intensidade máxima do sinal de RMN para resina epóxi (araldite) curada em diferentes condições do ângulo *flip* do primeiro pulso e τ da sequência com dois pulsos. Intensidade do sinal adquirido por um pulso (quadrado preto), o eixo x do gráfico não é válido para esta condição. Em todos os experimentos o segundo pulso foi de $\pi/2 = 11 \mu s$.

Portanto, com os resultados obtidos nas FIGURAS 15 e 16 é possível concluir que existe uma condição ótima para a duração no primeiro pulso (Tp_1) e que utilizando $\tau = 0$ a intensidade do sinal é superior ao sinal adquirido com a sequência FID ou ES. Outra característica observada neste conjunto de experimentos foi que a partir de ângulos $\theta \geq 5\pi/2$ é que se observou a formação do sinal de RMN na forma de eco, com ângulos $\theta < 5\pi/2$ não adquiríamos o eco a partir do ponto de máximo.

Na FIGURA 17A está a comparação dos sinais adquiridos na condição de $4\pi/2 - \tau - \pi/2$ (linha preta) e $5\pi/2 - \tau - \pi/2$ (linha vermelha), com $\tau = 0$ e $\pi/2 = 11 \mu s$, sendo assim adotamos como condição ótima no primeiro pulso *flip* $\theta = 5\pi/2$. Na FIGURA 17B são apresentados os sinais de RMN adquiridos com a sequência FID (■) e na condição ótima no primeiro ângulo *flip*: $5\pi/2 - \tau - \pi/2$, com $\tau = 0$ e $\pi/2 = 11 \mu s$.

FIGURA 17: Sinais de RMN adquiridos para a resina epóxi (araldite) curada nas condições A) $4\pi/2 - \tau - \pi/2$ (linha preta) e $5\pi/2 - \tau - \pi/2$ (linha vermelha) e B) comparação da condição ótima $5\pi/2 - \tau - \pi/2$ (linha azul) com o sinal adquirido com o FID, nestes experimentos foi utilizado $\tau = 0$ e $\pi/2 = 11 \mu s$.

Com os sinais da FIGURA 17B é possível observar o ganho na caracterização desta amostra, que foi de aproximadamente 138% em comparação ao sinal do *FID*. Para efeito de comparação os parâmetros experimentais foram fixados como: 64 médias, temperatura de 27 °C, tempo de espera de 5 s, 1 g de amostra e mesmo ganho no receptor.

Outra variável estudada foi à influência da potência do primeiro pulso. Na FIGURA 18 estão as intensidades máximas do sinal adquirido em diferentes condições para Tp_1 . Na linha preta foi utilizado a mesma atenuação que o segundo pulso, já na linha azul foi selecionado a atenuação de + 5 dB durante o primeiro pulso. Foi possível observar que a potência durante o primeiro pulso também influencia na intensidade máxima do sinal, porém devido a limitações instrumentais já discutidas anteriormente, não foi possível realizar um estudo mais detalhado sobre o efeito da potência no espectrômetro CAT 100.

FIGURA 18: Intensidade máxima do sinal adquirido para a resina epóxi curada nas condições de sem atenuação (linha preta) e com atenuação (linha azul).

Para demonstrar que esta sequência se tratava de um eco sólido fez-se também experimentos com amostra líquida. Para isso usou-se uma amostra de azeite de oliva, que tem $T_1 = 200$ ms e permite tempo de reciclagem da sequência da ordem de 1s. Em amostras líquidas os termos A-F (equação 9, introdução) que contém um fator geométrico e de spin, o fator geométrico se anula para todos os seis termos, devido ao movimento isotrópico das moléculas do azeite. Assim, a interação dipolar $^1H-^1H$ é nula.

Na FIGURA 19 é possível ver que a intensidade máxima do sinal adquirido para o azeite de oliva foi decaindo em ângulos *flip* maiores e está bem próxima da intensidade do FID. Este resultado mostra que essa sequência só é eficiente quando estão presentes na amostra acoplamentos dipolares $^1H-^1H$, acoplamento este presente apenas em amostras com baixa mobilidade molecular. Ou seja, em sistemas não acoplados e um eco de Hahn.

A variação na intensidade máxima da FIGURA 19 com diferentes ângulos *flip* pode ser justificada, pois podemos considerar que a partir da metade do primeiro pulso parte da magnetização começa a sofrer os processos de relaxação, consequentemente menos magnetização será detectada com o aumento do ângulo *flip* em amostras líquidas.

FIGURA 19: Intensidades máximas dos sinais de RMN para o azeite de oliva adquiridos com a sequência FID (■) (o eixo x do gráfico não é válido para esta condição) e em diferentes condições do ângulo θ no primeiro pulso da sequência, com $\tau = 0$ e $\pi/2 = 11\mu s$.

Com esses resultados pode-se concluir que a nova condição da sequência tipo eco sólido (com dois pulsos sem intervalo entre eles) aumenta a intensidade de componentes sólidos com pouca interferência na caracterização dos componentes de alta mobilidade (líquidos ou em soluções).

Assim, fez-se um experimento para determinação dos componentes sólidos/líquidos em amostras heterogêneas, como farelo de sementes de soja, que tem aproximadamente 97% de componentes sólidos (proteínas e carboidratos) e cerca de 3% de componentes no estado líquido (óleo).

Na FIGURA 20A estão às intensidades máximas dos sinais de RMN adquiridas em diferentes ângulos de *flip* para uma amostra de 1 g de farelo de soja. Neste experimento não foi realizado a aquisição do sinal de RMN em condições de $\theta < 5\pi/2$, pois nestas condições não se observa a formação do eco, como discutido anteriormente.

Na condição de $\theta = 5\pi/2$ a intensidade do eco é máxima, em valores de $\theta > 5\pi/2$ a intensidade decai para valores menores, por exemplo, com o primeiro pulso na condição de $\theta = 5\pi/2$ a intensidade é máxima e na condição de $\theta = 7\pi/2$ a intensidade caiu 22 %. Na FIGURA 20B está à comparação dos sinais de RMN obtidos com a sequência de FID (■) e com a sequência ES

modificada para a condição $5\pi/2 - \tau - \pi/2$ com $\tau = 0$. Na FIGURA 20B é possível observar que a sequência de ES modificada para a condição $5\pi/2 - \tau - \pi/2$ com $\tau = 0$ (linha vermelha) apresentou um aumento na intensidade do sinal dos componentes sólidos em aproximadamente 335% quando comparada com o sinal do FID (■). Ou seja, um método muito eficiente para detecção dos componentes sólidos mesmo em espectrômetros com alto tempo morto, neste espectrômetro $t_m = 25 \mu s$.

FIGURA 20: A) Intensidades máximas dos sinais de RMN para soja adquiridos com a sequência de pulso FID (■), o eixo x do gráfico não é válido para esta condição e a intensidade máxima com a sequência de ES em diferentes condições de θ , com $\tau=0$ e B) Comparação entre os sinais obtidos da soja com a sequência de pulso FID (linha preta) e a sequência ES modificada para a condição $5\pi/2 - \tau_1 - \pi/2$ com $\tau_1 = 0$. A duração do pulso $\pi/2$ é $11 \mu s$.

Com os sinais da FIGURA 21B foi possível estimar o ganho efetivo desta nova sequência, na TABELA 3 estão apresentados os valores dos parâmetros obtidos com o ajuste dos sinais de RMN com a equação 17. Para o FID (linha preta da FIGURA 21B) a fração dos componentes sólidos foi de apenas $0,46 \pm 0,03 \%$. Esta fração está muito abaixo da determinada com o ajuste do sinal adquirido com a nova sequência (linha vermelha da FIGURA 21B) que apresentou fração sólida de $0,87 \pm 0,01 \%$. Observamos também uma diferença no T_{2r} , a nova sequência proporciona a refocalização do sinal de RMN na forma de eco, sem sofrer grandes distorções da não homogeneidade de B_0 durante o tempo morto.

As demais diferenças observadas na TABELA 3 podem ser explicadas pela diferença na relação sinal/ruído (S/R), o sinal FID apresenta uma relação

$S/R = 3,7$ e o sinal adquirido com a nova sequência uma relação de $S/R = 14,5$.

A relação S/R é um parâmetro muito importante nas medições com RMN-DT. Experimentalmente é necessário ter uma boa relação S/R para que o ajuste do sinal de RMN não traga resultados indesejáveis, porém existe sempre um compromisso entre a relação S/R e o tempo total de análise.

	f_r (%)	T_{2r} (ms)	f_m (%)	T_{2m} (ms)	β	r^2
FID	$0,46 \pm 0,03$	$0,0048 \pm 0,0001$	$0,52 \pm 0,03$	$0,13 \pm 0,01$	$0,71 \pm 0,1$	0,9152
ED*	$0,87 \pm 0,01$	$0,0143 \pm 0,0001$	$0,14 \pm 0,02$	$0,13 \pm 0,01$	$0,63 \pm 0,08$	0,9977

TABELA 3: Parâmetros determinado com o ajuste da FIGURA 20B com a equação 17, onde f_r e f_m é a fração rígida e móvel, respectivamente.

Com esses resultados passamos a realizar buscas na literatura, sem sucesso inicial, se havia algum relato de uma sequência com essas características. Também passamos a realizar experimentos em um espectrômetro de RMN-DT comercial com tempo morto menor. Para isso usou-se o espectrômetro II, um Minispec NF mq-20 (Bruker) com $B_0 = 0,49$ T ($\nu = 19,9$ MHz para o núcleo de ^1H), sonda com 10 mm de diâmetro, tempo morto de $8,5 \mu\text{s}$, pulso $\pi/2 = 4 \mu\text{s}$. Além disso, foram feitas parcerias com o grupo de RMN do IFSC, para que se avaliasse essa nova sequência do ponto de vista teórico.

Os resultados iniciais das simulações (APÊNDICE 6.5) demonstraram que a sequência se tratava de um método de eco sólido, que refocaliza interações dipolares homonuclear, comum em RMN de ^1H , de materiais orgânicos e também pode refocalizar interação quadrupolar, que é observada para núcleos com $\text{spin} > 1/2$. Foi observado experimentalmente e confirmado teoricamente que a melhor condição do primeiro pulso é ter duração de $2 * t_m$.

Após terem sido feitas todas as simulações teóricas, encontrou-se na literatura artigos que usaram uma sequência de pulso similar ao que estávamos desenvolvendo. Essas sequências de pulso foi proposta por Rhim and Kessemeier^[33] (1971), assim como suas variações propostas por Bilsky^[34]

et. al (2003) e Sergeev^[35] (2003). Elas também consistem em dois pulsos, sendo que o primeiro pulso com duração de Tp_1 seguido por um pulso de $\pi/2$, defasados em $\Phi + 90^\circ$ na fase e separados por um tempo τ (FIGURA 21).

FIGURA 21: Esquema da sequência de pulso utilizada desenvolvida por Rhim-Kesemeier.

Nesses artigos considerava-se o segundo pulso como um pulso delta e o eco era refocalizado em $\tau_{aq} = \frac{tp_1}{2} + \tau$ após o segundo pulso. Isso também só era observado quando o ângulo *flip* do primeiro pulso satisfizesse a seguinte condição $\theta = \frac{\pi}{2} + n\pi$, onde n é um número inteiro ímpar. O tempo mínimo para formar o eco é atingido quando $\tau = 0$, e as condições de $Tp_1 = 2 * \tau_{aq} \approx 2 * t_m$. No entanto, nossos resultados estavam sugerindo que o ângulo de flip, para eco máximo, não estava limitado a um número ímpar de $\frac{\pi}{2}$. Para demonstrar, que isso era verdade, passamos a fazer experimentos e simulações com qualquer ângulo de flip.

4.1 ASPECTOS GERAIS DOS EXPERIMENTOS RHIM E KESSEMEIER

Realizou-se um conjunto de experimentos para determinar como a intensidade do eco se altera de acordo com a amplitude (v_1) e a duração do primeiro pulso Tp_1 . Inicialmente estávamos interessados apenas na amplitude do sinal, somente seu valor absoluto e não se havia informações sobre a fase. Assim, podemos considerar qualquer número inteiro de n , utilizando ângulos múltiplos de $\pi/2$ no primeiro pulso Tp_1 .

As amplitudes máximas dos ecos, em função do ângulo *flip* com τ_{aq} de 15 (■) e 18 (▲) μs , são mostradas na FIGURA 22. A condição $\tau_{aq} \approx 2 * t_m$ foi realizada com $t_m = 8,5 \mu s$ para obter os valores desejados de τ_{aq} . As intensidades foram normalizadas pela intensidade máxima obtida neste

conjunto de experimentos. As condições experimentais são mostradas na TABELA 4.

θ	Intensidade pulso T_{p1} ($\nu_1 = \omega_1/2\pi$)(kHz)	t_{p1} (μ s)	τ (μ s)	τ_{aq} (μ s)
$\pi/2$	12,8	31,28	0	15,64
π	16,6	30,04	0	15,02
$3\pi/2$	23,7	31,68	0	15,84
2π	34,3	29,12	0	14,56
$5\pi/2$	39,2	31,9	0	15,95
$\pi/2$	12,8	31,28	2.36	18
π	16,6	30,04	2.98	18
$3\pi/2$	23,7	31,68	2.16	18
2π	34,3	29,12	3.44	18
$5\pi/2$	39,2	31,9	2.05	18

TABELA 4: Condições experimentais da sequência de pulso RK.

Para $\theta < 3\frac{\pi}{2}$ a intensidade do eco mostrado na FIGURA 22 aumenta com ambos os valores de τ_{aq} , como esperado pela teoria Hamiltoniana a ser apresentada a seguir. E para $\theta > 3\frac{\pi}{2}$ as intensidades permanecem quase constante, mostrando que para a intensidade mais elevadas de rf uma similar recuperação do eco é alcançada se n é um numero inteiro par ou impar múltiplo de $\pi/2$. Nós observamos maior intensidade do sinal com $\tau = 0$ para qualquer ângulo θ .

FIGURA 22: Variação na intensidade do eco para a amostra de polietireno em diferentes condições da sequência de pulso RK.

4.2 TEORIA HAMILTONIANA PARA REFOCALIZAÇÃO DO ACOPLAMENTO DIPOLAR

A sequência de pulso proposta por Rhim e tal é mostrada na FIGURA 21. A sequência de RK consiste de um pulso com duração T_{p1} seguido por um tempo τ e um pulso de $\pi/2$, defasados em 90° de fase. O eco dipolar surge no tempo $\tau_{aq} = \frac{t_{p1}}{2} + \tau$ após o ultimo pulso $\pi/2$, como pode ser calculado na Teoria de Hamiltoniano Médio (THM).^[63] O angulo *flip* no primeiro pulso é definido como $\theta = \frac{\pi}{2} + n\pi$, com n um número inteiro, para garantir que toda a magnetização é transversal ao campo estático externo. Para quantificar o segmento rígido, o mínimo τ_{aq} deve ser usado, o que significa que deve ser escolhido um tempo de $\tau_{aq} \geq T_m$. Discutiremos brevemente a teoria por trás de uma sequência de eco sólido e as condições para se recuperar a magnetização em sistemas dipolares.

O operador Hamiltoniano de um sistema N spins $\frac{1}{2}$ na presença de um campo magnético externo $\vec{B}_0$, sujeito a interações dipolares e Zeeman, é dado por:^[57]

$$H = -\omega_0 \sum_i I_i^z + \sum_{i>j} 2\pi d_{ij} \left(2I_i^z I_j^z - \frac{1}{2} (I_i^+ I_j^- + I_i^- I_j^+) \right) =$$

$$= -\omega_0 \sum_i I_i^z + H_d^{zz}, \quad (18)$$

onde os índices superiores indicam o componente do momento angular e os índices inferiores designam o spin nuclear. O termo $\omega_0 = \gamma B_0$ é a frequência de Larmor em radianos/s e γ é a razão giromagnética do núcleo.

A intensidade da interação dipolar é dada por $d_{ij} = \left(\frac{\mu_0 \gamma^2 \hbar}{4\pi r_{ij}^3} \right) \frac{1-3\cos^2 \theta_{ij}}{2} = \frac{\delta_{ij}}{2} \frac{1-3\cos^2 \theta_{ij}}{2}$, onde r_{ij} é o vetor internuclear entre o spin nuclear i e j e θ_{ij} é o angulo entre r_{ij} e o campo magnético estático B_0 , e δ_{ij} é a intensidade da interação dipolar em unidade de frequência. Se um pulso de rf é aplicado na direção x, a dinâmica é regida pelo seguinte hamiltoniano:

$$H' = -\omega_1 \sum_i I_i^x + H_d^{zz} \quad (19)$$

com $\omega_1 = \gamma B_1$ sendo a frequência em radianos/s e B_1 é a intensidade do campo aplicado. As interações de Zeeman, durante o pulso, é considerada desprezível no hamiltoniano.

A ideia central por trás de qualquer sequência de eco sólido é a capacidade de refocalizar a dinâmica devido às interações indesejáveis durante uma parte da sequência.^[64] No caso específico da RMN-DT, as sequências de pulsos como RK e mixed-MSE foram projetadas usando a THM. A equação é dada por:

$$\begin{aligned} H' &= -\omega_1 \sum_i I_i^x \\ &\quad + \left(-\frac{1}{2} \right) \sum_{i>j} 2\pi d_{ij} \left(2I_i^x I_j^x - \frac{1}{2} (I_i^+ I_j^- + I_i^- I_j^+) - \frac{3}{2} (I_i^+ I_j^+ \right. \\ &\quad \left. + I_i^- I_j^-) \right) = \\ &= -\omega_1 \sum_i I_i^x - \frac{1}{2} H_d^{xx} - \frac{3}{4} \sum_{i>j} 2\pi d_{ij} (I_i^+ I_j^+ + I_i^- I_j^-), \quad (20) \\ &= -\omega_1 \sum_i I_i^x - \frac{1}{2} H_d^{xx} - \frac{3}{4} \sum_{i>j} 2\pi d_{ij} (I_i^+ I_j^+ + I_i^- I_j^-), \quad (20) \end{aligned}$$

Com os operadores definidos ao longo do eixo x. Além do último termo, este hamiltoniano tem exatamente a mesma forma que a equação 18, mas com $-1/2$ como fator multiplicador da interação dipolar H_d^{xx} . Esta mudança do sinal é responsável pela refocalização da dinâmica gerada pelo acoplamento dipolar. O último termo, que cria várias coerências quânticas, é um termo não-secular. Se $\nu_1 = \frac{\omega_1}{2\pi} \gg d_{ij}$, ou seja, a intensidade da rf for mais forte do que o acoplamento dipolar, a equação 20 pode ser tratada de acordo com a THM e os efeitos provenientes a este termo são insignificantes. No entanto, para acoplamentos dipolares ^1H - ^1H em sólidos, tal aproximação não é sempre válida e os termos não-seculares induzem distorções sobre o decaimento do eco (em

comparação com o sinal FID) e não permitem que a interação dipolar seja totalmente refocalizada.^[65-67]

Uma solução para superar tal limitação é simplesmente aumentar a potência de RF. No entanto, devido a limitações experimentais a potência no probe não pode ser muito além de 100 KHz, ainda insuficiente para satisfazer a condição $\nu_1 \gg d_{ij}$. Uma maneira viável para reduzir os efeitos indesejáveis dos termos não seculares é utilizar sequências de pulsos mais curtas. A sequência de eco mais curta para sistemas dipolares é a sequência de ES, que tem uma baixa eficiência para refocalizar as interações dipolares. A sequência de mixed-MSE é a mais comumente utilizada, mas sua duração total não pode ser menor que 50 μ s mesmo utilizando um pulso de $\pi/2 = 1 \mu$ s.

Na seção seguinte nós discutiremos como alcançar as condições experimentais ideais na potência de RF, duração de pulso e tempos para a sequência de pulso RK, sem necessidade de se usar um pulso impar de $\pi/2$. Essa nova condição ou sequência de pulsos foi denominada de RK-ROSE, onde ROSE é devido a Radio frequency Optimized Solid-Echo (eco sólido otimizado por radiofrequência).

4.2 RHIMKESSEMEIER - RADIOFREQUENCY OPTIMIZED SOLID-ECHO (RK-ROSE)

Nós primeiramente definimos os parâmetros para quantificar a eficiência da sequência de pulso de eco em refocalizar as interações dipolares ^1H - ^1H , a amostra utilizada foi aproximadamente 1g de poliestireno (PS). O PS é um polímero termoplástico com temperatura de transição vítrea de 105°C, a amostra foi adquirida da Sigma-Andrich[®] e foi utilizada como amostra referência, pois apresenta segmentos rígidos muito bem definidos.

Para um sistema de spins que apresenta interações dipolares ^1H - ^1H como no PS, o sinal FID (em magnitude) é definido pela interação dipolar ^1H - ^1H e pode ser descrito pela seguinte equação 21:

$$I(t) = I(0)e^{-\frac{1}{2}(at_{2r})^2} \left| \frac{\sin(bt)}{bt} \right| \quad (21)$$

onde $I(0)$, a e b são relacionados com a magnetização total do núcleo de ^1H e a interação dipolar. Em princípio a equação pode ser utilizada para fazer o ajuste do FID e estimar todos os três parâmetros. No entanto, isso dificilmente é atingido, pois grande parte dos espectrômetros não apresentam $t_m \leq 10 \mu\text{s}$, que está na ordem do decaimento FID para amostras rígidas.

Uma estratégia comum para ter uma estimativa mais robusta do conteúdo sólido é:

- Ajustar o sinal a partir da metade do eco obtido por uma sequência de pulso que refocaliza as interações dipolares ^1H - ^1H e assim estimar os parâmetros a e b ;
- Utilizar os parâmetros a e b como valores fixos para ajustar o sinal FID com a equação 21 e assim estimar a amplitude inicial $I(0)$;

Utilizaremos desta estratégia para calcular a eficiência das sequências de pulsos. O sinal foi adquirido com a sequência de pulso RK com os seguintes parâmetros $Tp_1 = 2 \cdot \tau_{aq} \approx 2 \cdot t_m$ ($\tau = 0$) e θ escolhido para fornecer a intensidade máxima do eco. Estes parâmetros foram fixados no ajuste do sinal FID, então a intensidade inicial $I(0)$ pode ser obtida por extrapolação do sinal através da equação 21, como mostrado na FIGURA 23A.

O valor $I(0)$ foi determinado e utilizado para normalizar os sinais de eco em cada conjunto de experimentos, esta intensidade do eco normalizada representa a fração do sinal refocalizado pela sequência de pulso e definida por nós como a eficiência da sequência de pulso. A FIGURA 23B mostra a eficiência da sequência de pulso RK com $\tau = 0 \mu\text{s}$ em diferentes condições de potências ($\nu_1 = \omega_1/2\pi$) e ângulos $\theta = \omega_1 \cdot t_{p1} = (n\frac{\pi}{2})$.

Esses experimentos foram realizados no espectrômetro III, este espectrômetro Minispec ND mq-20 é produzido pela Bruker com $B_0 = 0,49 \text{ T}$ ($\nu = 19,9 \text{ MHz}$ para o núcleo de ^1H), sonda de 10 mm , tempo morto de $12 \mu\text{s}$, $\pi/2 = 2,4 \mu\text{s}$ (utilizando a atenuação de 4 dB).

Como $\tau_{aq} = \frac{\theta}{4\pi\nu_1}$, o valor mínimo de θ é escolhido para obter o máximo do eco logo após o tempo morto da sonda, $\theta = \theta_{min} = 4\pi * \nu_1 * t_m$. Em elevadas potências de RF, a eficiência decai em função do ângulo θ devido à relaxação spin-spin. Exceto para $\nu_1 = 24$ kHz, nos observamos uma mínima variação na eficiência máxima, e aproximadamente 90% de eficiência é atingida para todos os valores de ν_1 , mas com a inclinação diminuindo com o aumento a potência. Este limite tem relação com a condição $\nu_1 \gtrsim d_{ij}$ (FIGURA 23A), que deve ser respeitada para a perfeita refocalização da interação dipolar ^1H - ^1H .

FIGURA 23: A) Os pontos representam o sinal FID (■) adquiridos para amostra de poliestireno após a excitação de um pulso hard de $\frac{\pi}{2} = 2.4\text{ }\mu\text{s}$ e metade do eco (■) obtido após a excitação com a sequência de pulso RK com $\tau_{aq} = 11.6\text{ }\mu\text{s}$. O sinal FID foi adquirido logo após o tempo morto de $t_m = 11.6\text{ }\mu\text{s}$ e o eixo tempo do sinal obtido com a sequência RK foi deslocado para zero a partir do máximo do eco. A linha solida para a metade do eco da sequência RK representa o ajuste com a equação 21 fornecendo os valores de a e b . Os valores obtidos para a e b foram fixados na equação 21 e realizado o ajuste do sinal adquirido com a sequência FID, com a amplitude como um parâmetro livre. Isto proporcionou uma estimativa da amplitude do sinal FID extrapolada para $I(0)$ (linha preta). B) Eficiência da sequência de pulso RK para diferentes potências de RF e ângulos θ .

Para verificar a relação do tempo ao eco (τ_{aq}) com a sequência RK, realizamos a análise da dependência de τ_{aq} com o ângulo de θ . O resultado é mostrado na FIGURA 24A para diferentes amplitudes nominais de rf (ν_1), com $\tau = 0\text{ }\mu\text{s}$ nós esperamos que $\tau_{aq} = \frac{1}{4\pi\nu_1} \theta$. Utilizando os coeficientes angulares obtidos com o ajuste linear dos dados, foi possível determinar os

valores de ν_1 experimentais e compará-los com os valores nominais. Os valores comparados estão em boa concordância, por exemplo, para o valor nominal de 24 KHz foi obtido um valor experimental de $\nu_1 = 27 \pm 3 \text{ KHz}$.

FIGURA 24: Valores de tempo ao eco (τ_{aq}) obtidos com diferentes ângulos θ e seus ajustes lineares com a equação $\tau_{aq} = \frac{1}{4\pi\nu_1} \theta$. B) Eficiência da sequência RK em diferentes condições de τ_{aq} . O ajuste da curva foi feito com uma função quadrática $(1 - \alpha t^2)$ com $\alpha = 5,8 \pm 0,1 (\mu\text{s})^{-2}$. A linha tracejada horizontal representa uma eficiência de 99% de eficiência em aproximadamente $\tau_{aq} \sim 4 \mu\text{s}$.

A FIGURA 24B mostra a eficiência na refocalização do sinal de RMN obtido com a sequência para a amostra de poliestireno ($\bullet$) com diferentes valores de τ_{aq} (de 8,5 à 20 μs). A eficiência representa uma tendência decrescente com o aumento de τ_{aq} . O perfil dos resultados se ajusta muito bem através de uma função quadrática $(1 - \alpha t^2)$ com $\alpha = 5,8 \pm 0,1 (\mu\text{s})^{-2}$.

Seguindo a tendência quadrática prevemos a eficiência superior a 95% para $\tau_{aq} \lesssim 9 \mu\text{s}$ e 99% (linha tracejada) para $\tau_{aq} \lesssim 4 \mu\text{s}$. Portanto, com a atual tecnologia de sondas, a sequência de pulso é possível estimar com precisão os componentes rígidos de uma amostra, sem depender de uma calibração externa (que utiliza 3 amostras padrão), como geralmente são feitas as análises de SFC com o FID.

Em espectrômetros com $t_m \leq 4 \mu\text{s}$ o conteúdo sólido em amostras pode ser estimado com um erro menor que 1%. A estratégia mais comum para minimizar o tempo morto de uma sonda é diminuir o fator de qualidade Q,

porém isso resulta em uma menor sensibilidade e utilização de maior potência de rf para excitação. Isto não é uma desvantagem para núcleos abundantes como ^1H e ^{19}F . No entanto, a velocidade de resposta dos componentes como o duplexador e pré-amplificador impõe algumas limitações sobre o t_m mínimo atingível para probe sintonizados em frequências de 20 MHz ou inferior.

É possível alcançar alta eficiência em refocalização das interações dipolares ^1H - ^1H usando a sequência de pulso RK com a potência de rf otimizada. Idealmente, a melhor condição é obtida com os parâmetros a seguir: $\tau = 0 \mu\text{s}$, $t_{p1} = \left(\frac{n}{4\nu_1}\right) = 2 * \tau_{aq} \sim 2 * T_m$ e $\nu_1 \gg d_{ij}$, mas o último parâmetro pode ser relacionado para $\nu_1 \gtrsim d_{ij}$ se o tempo morto da sonda for $t_m < 20 \mu\text{s}$. Para sondas com tempo morto maiores, é necessário realizar uma curva da estimativa da eficiência vs diferentes condições de τ_{aq} . Esta curva poderá ser utilizada para obter um fator de correção para estimar com precisão o teor de sólidos com uma sonda que apresenta $t_m > 20 \mu\text{s}$.

Devido a proposta de otimização para a sequência de pulso RK, nós sugerimos denominar a versão com parâmetros otimizados da sequência de Rhim-Kessemeier Radiofrequency Optimized Solid-Echo (RK-ROSE).

Agora iremos comparar o desempenho dos experimentos com a sequência RK-ROSE com outras sequências de pulso comumente utilizadas para a obtenção de sinais de RMN em amostra com interação dipolar ^1H - ^1H . As sequências de ES e mixed-MSE são as mais utilizadas e por isso iremos utiliza-la como padrão de comparação. Uma vez que o desempenho real de cada experimento depende crucialmente do τ_{aq} , para comparar a eficiência das sequências de pulsos definimos as condições experimentais para o menor τ_{aq} possível dado a sequência de pulso ou tempo morto da sonda, ou seja, o mínimo possível $\tau_{aq} = t_m$ (para as sequências de RK-ROSE e ES) ou o mínimo tempo entre os pulsos (para mixed-MSE). Os experimentos foram realizados utilizando os espectrômetros com t_m de 8,5 e 11,6 μs . Exceto para o FID todos os sinais mostrados na FIGURA 25 correspondem a metade do eco, ou seja, o zero do eixo do tempo é definido para o máximo do eco.

Na FIGURA 25A estão mostrados os sinais de eco obtidos com a sequência RK-ROSE, mixed-MSE e ES. A amostra utilizada foi o poliestireno e os experimentos foram realizados no espectrômetro de $t_m = 11,6 \mu s$. Os sinais foram adquiridos com valores de $\tau_{aq} = 12 \mu s$ para as sequências de RK-ROSE e ES e $\tau_{aq} = 15 \mu s$ para a sequência de mixed-MSE (é recomendado que o intervalo entre os pulso da mixed-MSE seja de $1,5 \mu s$ no mínimo). Para a sequência mixed-MSE o tempo ao eco é dado por $t_e = 6\tau_{aq}$ (FIGURA 10), neste caso o tempo mínimo τ_{aq} da sequência mixed-MSE não é definido por t_m e sim pelo tempo mínimo entre os pulsos.

As eficiências foram calculadas utilizando o procedimento descrito anteriormente. Os resultados indicam claramente que, sob tais condições os experimentos com a sequência RK-ROSE fornecem uma melhor refocalização do sinal, atingindo aproximadamente 91 % de eficiência em comparação com 79 % e 75 % obtidos com as sequências mixed-MSE e ES, respectivamente.

A FIGURA 25B mostra a mesma comparação para os sinais de eco adquiridos com τ_{aq} de $8,5 \mu s$ para as sequências RK-ROSE e ES e $14,2 \mu s$ para a sequência mixed-MSE. Mais uma vez, τ_{aq} é limitado pelo intervalo entre os pulsos da sequência mixed-MSE, no mínimo de $1,5 \mu s$ em vez do t_m . As eficiências na refocalização foram de 98 %, 96 % e 94 %, para as sequências de RK-ROSE, ES e mixed-MSE, respectivamente. No entanto, uma característica observada na FIGURA 25B é que enquanto o sinal de eco adquirido com as sequências RK-ROSE e ES se aproximam do decaimento do sinal FID, o sinal adquirido com a sequência mixed-MSE apresenta uma cauda em tempos de aquisição maiores (linha verde na FIGURA 25B). Este efeito é devido aos termos não seculares do Hamiltoniano dipolar, que se tornam mais importantes se o tempo de evolução total for maior, com é o caso da sequência mixed-MSE.

Uma das aplicações mais difundidas da refocalização do acoplamento dipolar $^1H-^1H$ é avaliar o conteúdo rígido e moveis, que pode estar diretamente relacionado às propriedades como a cristalinidade de matérias orgânicos, composição sólida em sistemas heterogêneos, razão sólido/liquido em suspensão ou emulsão, etc. Em espectrômetros cujo t_m se aproxima do tempo

de relaxação de sistemas rígidos a abordagem adotada na legenda da FIGURA 23 é geralmente empregada para avaliar a contribuição do sinal contínuo para o FID, geralmente através da aplicação da sequência de pulso como a mixed-MSE.

Para realizar isso, é crucial que a sequência de eco dipolar não altere a forma do sinal, caso contrário os parâmetros a e b extraídos do ajuste não corresponderão ao decaimento do FID. Neste sentido a sequência RK-ROSE parece ser mais apropriada do que a sequência mixed-MSE, pois apresenta uma menor distorção do sinal, como observado nas FIGURAS 25A e 25B.

A FIGURA 25C mostra uma comparação entre as sequências de RK-ROSE e mixed-MSE para diferentes valores de τ_{aq} . Podemos observar que, além de maior eficiência nas mesmas condições de τ_{aq} , a eficiência diminui significativamente mais lentamente em função de τ_{aq} na sequência RK-ROSE, mostrando uma vantagem para sondas com t_m maiores.

FIGURA 25: Metade do sinal de eco e eficiência para o PS obtidos com diversas sequências de pulso, nas condições de mínimo τ_{aq} . Os sinais foram adquiridos com os espectrômetros que possui a) tempo morto de 11,6 μ s, b) tempo morto de 8,5 μ s. C) comparação da dependência da eficiência em refocalizar a magnetização em diferentes τ_{aq} para a sequência RK-ROSE (●) e mixed-MSE (●).

4.3 APLICAÇÃO DA SEQUÊNCIA DE PULSO RK-ROSE: MONITORAMENTO DE REAÇÕES POLIMÉRICAS

Uma aplicação desenvolvida nesta tese é a utilização da RMN-DT para sanar a cinética de cura da resina epóxi Araldite. Tradicionalmente o método (dinâmico ou isotérmico) utilizado é o de calorimetria exploratória diferencial (DSC). A cura de uma resina termorrígida é um processo bastante complexo que pode ser definido como a mudança nas propriedades químicas e físicas de uma determinada formulação resina/endurecedor, a compreensão dos mecanismos e cinética das reações de cura é essencial para um melhor conhecimento das relações estrutura-propriedade.^[68-70]

A amostra de resina epóxi foi adquirida no comércio local de São Carlos-SP, ela apresenta tempo de cura de 90 minutos. Foi misturada a resina com o

endurecedor, na proporção de 10:8 (m/m) até a homogeneização e posteriormente transferida para o tubo de 10 mm para aquisição dos sinais de RMN. Esta parte da tese foi realizada no espectrômetro III.

Anterior à aquisição dos sinais em diferentes tempos de cura foi necessário realizar a otimização da sequência RK-ROSE. As variáveis analisadas foram o ângulo θ e a potência de rf (ν_1) no primeiro pulso, as amostras utilizadas foram a resina (reagente) e a resina curada (produto). A resina e o endurecedor puros (reagentes do araldite) tem alta viscosidade e o produto da mistura dos dois (resina curada) é um material rígido.

A melhor condição da sequência RK-ROSE para a resina foi de $\theta = 3\pi/2$ com duração de 35,7 μs e para a resina curada a melhor condição do primeiro pulso foi de $\theta = 7/2\pi$ com duração de 27,16 μs , nas duas condições $\tau = 0 \mu s$ e o segundo pulso $\pi/2 = 2,4 \mu s$.

Buscando compreender qual seria a melhor condição de t_{p1} (otimizado para resina ou resina curada) no monitoramento da reação, foi realizada o preparo da mistura resina/endurecedor e acompanhado o processo de cura na temperatura de 300K. Na FIGURA 26 estão as intensidades máximas do sinal de eco adquirido na condição de $3\pi/2$ (●) e $7/2\pi$ (●) para o pulso Tp_1 em diferentes tempos de reação. Nesta figura é possível visualizar que quando utilizamos Tp_1 de $3\pi/2$ a intensidade do sinal decai à medida que ocorre a reação, porém a intensidade no final da reação reduz em aproximadamente 32 %. Isto ocorre, pois à interação dipolar $^1H-^1H$ aumenta à medida que ocorre a reação e como Tp_1 está otimizado para resina (que apresenta baixa interação dipolar $^1H-^1H$) a refocalização das interações dipolares não é eficiente.

Na FIGURA 26 é possível visualizar também que quando utilizamos Tp_1 otimizado para o produto da reação, à medida que ocorre a reação a intensidade do eco decai, porém no final da reação a intensidade decaiu apenas 5% da intensidade do sinal no início da reação, sendo assim a melhor condição para estudarmos a cinética de reação é com Tp_1 de 27,16 μs ($7/2\pi$).

FIGURA 26: Intensidade máxima do sinal de eco em diferentes tempos de reação de polimerização da resina epóxi, foram normalizadas. Sinais adquiridos com a sequência de pulso RK-ROSE nas condições de $3\pi/2$ (●) e $7\pi/2$ (●).

Realizamos a comparação do sinal adquirido com a sequência RK-ROSE com as sequências de pulso FID, ES e mixed-MSE. O sinal FID foi adquirido logo após o tempo morto ($t_m = 11,6 \mu s$), a sequência de ES foi utilizada $\tau_{aq} = 12 \mu s$ e para a sequência de mixed-MSE foi utilizado $\tau_{aq} = 15 \mu s$, devido às limitações já discutidas anteriormente.

Na TABELA 5 é possível ver que a sequência RK-ROSE proporciona a maior intensidade do sinal referente aos componentes sólidos da amostra de resina curada, a intensidade do sinal foi de máxima (igual a 1) quando foi adquirido com a sequência RK-ROSE. Esta intensidade cai para apenas 0.55 quando adquirimos o sinal logo após um pulso de $\pi/2$. A maior eficiência da sequência RK-ROSE comparada com a ES (intensidade de 0,86) é devido a ES apresentar dois tempos τ_{aq} antes da aquisição do eco, ocorrendo a relaxação de parte do sistema de spins durante esses tempos e consequentemente menor magnetização estará em fase com o detector. Já na sequência de mixed-MSE (intensidade de 0,96) esta perda de magnetização é menor devido aos blocos de pulsos $\pi/2$ (*Sandwich*).

Uma possível explicação da eficiência da sequência RK-ROSE frente às demais é devido ao fato de sua duração total ser inferior às demais sequências. Por exemplo, para este experimento a duração total da evolução da sequência mixed-MSE foi de $100 \mu s$ e para a sequência RK-ROSE foi de aproximadamente $41,6 \mu s$.

Sequência de Pulso	Intensidade do sinal	Duração Total
FID	0,55	14,4 μ s
Eco - Solido	0,86	28,8 μ s
Mixed - MSE	0,96	100 μ s
RK - ROSE	1	41,6 μ s

TABELA 5: Valores da intensidade do sinal de RMN adquiridos com diferentes sequências para amostra resultante do processo de cura da resina epóxi e os valores de duração total de cada sequência.

Na FIGURA 27 estão as intensidades máximas adquiridas com as sequências de FID, ES, MSE e RK-ROSE em função da coordenada de reação. A intensidade do FID (■) só decai em função do tempo de reação, pois, quando ocorre o processo de solidificação, a magnetização sofre o processo de relaxação T_2 mais rapidamente e o FID perde grande parte do sinal durante o tempo morto do espectrômetro.

Para os sinais adquiridos com a sequência de ES (●) a intensidade do eco decai até aproximadamente 50 minutos de reação e depois permanece constante. Já para as sequências mixed-MSE (▲) e RK-ROSE (▼) a intensidade máxima decai até aproximadamente 50 minutos de reação, após este tempo ela apresenta um aumento na intensidade máxima do eco e depois permanecem constantes. Após o tempo de 50 minutos a intensidade cresce devido à formação das ligações cruzadas no material. A maior intensidade do sinal com a sequência RK-ROSE, após esse tempo é devido a melhor refocalização das interações dipolares ^1H - ^1H , presentes na resina curada. As intensidades foram normalizadas para cada sequência de pulso utilizada.

FIGURA 27: Intensidade máxima dos sinais adquiridos com as sequências de pulsos FID (■), eco solido (●), mixed-MSE (▲) e RK-ROSE (▼).

Para determinação dos parâmetros de cinética de reação foi realizado o processo de monitoramento da reação nas temperaturas de 293, 313, 333, 353 e 383K. Os sinais de RMN adquiridos em função do tempo são compostos, neste caso, por componentes com alta mobilidade molecular e componentes com baixa mobilidade molecular. Utilizando a equação de Abragam (equação 17, materiais e métodos) é possível realizar o ajuste do sinal de RMN para obtermos a fração de sólido (F_r) e líquido (F_m) em tempos de reação específicos.^[71]

Um esquema geral da reação de polimerização é apresentada na FIGURA 28. Resumidamente na primeira etapa os elétrons da diamina atacam o atomo de carbono próximos a o oxigênio epóxi, proporcionando inicialmente uma carga negativa no oxigênio e positiva no nitrogênio. O par de elétrons do oxigênio extrai um átomo de hidrogênio do nitrogênio, gerando assim um álcool e uma amina, e estabilizando as cargas. Como estamos utilizando diaminas, o outro grupo amina reage com outro grupo epóxi levando a formação do produto da etapa 1.

FIGURA 28: Esquema simplificado para a cura da resina epóxi.^[73]

Na FIGURA 29 estão os valores dos parâmetros f_m e f_r , obtidos com o ajuste dos sinais adquiridos com a com a sequência RK - ROSE em diferentes tempos de reação à 293K. Através do ajuste da curva pode-se acompanhar a formação do produto majoritário e o consumo dos reagentes. Conforme vai ocorrendo à reação de polimerização, a viscosidade do meio vai ficando menor e as cadeias poliméricas vão se intrelaçando por ligações cruzadas e com isso o processo de relaxação se torna cada vês mais curto. Para está temperatura o processo chega ao equilíbrio em aproximadamente 20 horas. Com o aumento da temperatura este equilíbrio é atingido cada vez mais rápido.

A gelificação e a vitrificação são os dois fenômenos macroscópicos mais importantes que ocorrem durante a cura da resina.^[68-69] Na gelificação o sistema passa de um líquido viscoso a um gel elástico,^[68-70] esta alteração no meio faz com que a fração dos ^1H na fase móvel decaia rapidamente em um curto espaço de tempo (conforme indicado na FIGURA 29). Após a gelificação o processo de cura continua mais lentamente, porque a mobilidade do sistema vai ficando mais restrita, devido ao aumento da densidade de ligações cruzadas, este processo pode ser monitorado através da fração dos ^1H na fase móvel (indicada na FIGURA 29). A partir deste estágio a conversão dos ^1H da fase móvel para a fase rígida se torna cada vez mais lento.

Dando início ao processo de vitrificação, que é a formação de um sólido vítreo a partir de vários produtos da etapa 1 (FIGURA 29), ou seja, é o processo no qual a reação química é resfriada durante o ciclo de cura, sendo que a resina

não atinge o estado de cura total.^[69-70] Todos esses processos podem ser identificados na FIGURA 29.

FIGURA 29: Parâmetros de f_m e f_r obtidos com o ajuste dos sinais de RMN em diferentes tempos de reação adquiridos com a sequência de pulso RK-ROSE à 293K.

Os valores apresentados na FIGURA 27 juntamente com os sinais da FIGURA 29 podem ser combinados através de uma expressão analítica derivada do tratamento de Anderson-Weiss^[71] para obter o parâmetro de eficiência da sequência. Na equação 18 está a função utilizada para calcular a linha de base para os sinais adquiridos.

$$\eta_{base} = f(T)\eta_{Low} + (1 - f(T))\eta_{high} \quad (18)$$

onde $f(T)$ é a intensidade máxima dos sinais adquiridos, η_{Low} é a intensidade no final da reação e η_{high} a intensidade no início da reação. Na prática os valores de η_{Low} e η_{high} são fixos, sendo a variável $f(T)$ a intensidade máxima do sinal adquirido em cada tempo de reação.

Na FIGURA 30A está a formação da linha de base para o ajuste do sinal adquirido com a sequência de RK-ROSE à 293K. Nesta figura é possível observar que a linha de base calculada se ajusta perfeitamente aos sinais adquiridos. Na FIGURA 30B está o gráfico da eficiência da sequência RK-ROSE para monitoramento da reação de polimerização. Para obtermos o

gráfico foi dividida a intensidade dos sinais adquiridos em diferentes tempos ($f(T)$) de reação pela linha de base (η_{base}) calculada através da equação 18.

FIGURA 30: A) Gráfico dos sinais utilizado para calcular a linha de base e B) sinal obtido com a sequência RK-ROSE normalizado pela linha de base.

Como mencionado anteriormente é possível utilizar os sinais de RMN adquiridos durante a coordenada de reação para obtermos parâmetros de cinética de reação de polimerização, tais como constante de velocidade (K_c) e energia de ativação (E_a). Para a reação de cura da resina epóxi podemos realizar o tratamento utilizando as equações de uma reação auto-catalítica de primeira ordem.^[70,71] A RMN-DT fornece os dados da formação dos produtos e o desaparecimento dos reagentes (FIGURA 29). Utilizando a equação 19 pode-se obter a constante de velocidade K_c .

$$\ln A = \ln \frac{(1+q)}{q} - K_c (1 + q)t \quad (19)$$

Na FIGURA 31A está o gráfico de $\ln(A)$ versus t . Nele é possível ver uma curva que muda para uma reta com declínio negativo em $K_c (1 + q)$, no caso de uma reação puramente auto-catalítica, a linha reta resultante passa pela origem. Como a reação foi monitorada em várias temperaturas é possível obtermos o valor da constante de velocidade (K_c) para cada temperatura de reação e assim obter um gráfico de K_c versus $1/T$ (FIGURA 31b). Realizando o ajuste do gráfico na FIGURA 31B obtém a energia de ativação da reação de polimerização da resina epóxi Araldite $E_a = 31,58 \pm 3,77$ KJ/mol. Este valor se

aproxima do valor obtido pela sequência de MSE e dos valores reportados na literatura.^[70,71-72]

FIGURA 31: A) Logaritmo natural da concentração do reagente, obtidos em diferentes temperaturas e B) gráfico de Arrhenius para a reação de polimerização da resina epóxi.

4.4 APLICAÇÃO DA SEQUÊNCIA DE PULSO RK-ROSE: DETERMINAÇÃO DO TEMPO DE RELAXAÇÃO T_1 E T_2 EM MATERIAIS SÓLIDOS

A principal sequência de pulso para determinar o tempo de relaxação longitudinal (T_1) conhecida como inversão recuperação (FIGURA 3A) foi desenvolvida por Vold e Waugh.^[16] Ela usa um pulso de 180 graus seguido de um tempo τ_{IR} e um pulso de 90 graus ($180_\phi - \tau_{IR} - 90_\phi - T_m - Acq - 5T_1$). Esta sequência que faz aquisição do sinal FID apresenta algumas complicações em espectrômetros com $t_m > 10 \mu s$ limitações estas já discutidas na tese. E devido aos possíveis problemas que a aquisição do sinal FID pode proporcionar na determinação dos tempos de relaxação esta parte da tese teve como objetivo implementar na sequência de IR à sequência RK-ROSE (FIGURA 32) para proporcionar a aquisição do sinal de eco com pouca influência do tempo morto, aumentando assim a precisão na determinação do tempo de relaxação longitudinal T_1 .

FIGURA 32: Esquema da sequência de pulso IR-RK-ROSE.

espectrômetro II. Para tal experimento foi utilizada uma amostra de poliestireno (PS), Tp_1 foi otimizada para gerar o eco após o t_m . Na FIGURA 33A estão os FID coletados em função do tempo τ_{IR} e na FIGURA 33B os sinais adquiridos com a sequência RK-ROSE em diferentes valores de $\tau_{IR-RK-ROSE}$. Esses dados foram adquiridos com o mesmo ganho no receptor, número de médias e temperatura. É possível observar que os sinais adquiridos com a sequência RK-ROSE apresentaram maior intensidade, devido às características já discutidas anteriormente.

O tempo de relaxação determinado pela sequência IR foi de $T_1 = 762,9 \pm 2,5 \text{ ms}$ e o tempo de relaxação obtido com a sequência IR-RK-ROSE foi de $T_1 = 756,1 \pm 3,1 \text{ ms}$, resultados bem próximos. No entanto, o sinal obtido com a sequência IR-RK-ROSE apresenta a vantagem de ser mais intenso.

FIGURA 33: A) Sinais de RMN adquiridos com a sequência IR e B) com a sequência de pulso RK-ROSE em diferentes condições de τ para amostra de poliestireno.

Como comprovado que a nova aplicação da sequência RK-ROSE é eficiente na determinação do tempo de relaxação T_1 , a partir de agora não realizaremos mais a aquisição do sinal com a sequência padrão de IR e buscamos agora estudar a determinação de T_1 em amostras de sacarose e celulose. As amostras se diferem bastantes nos tempos de relaxação T_1 , a celulose é um dos bio-polímeros mais importantes e comuns, possui diversas aplicações. A celulose possui ampla aplicação na indústria alimentícia, têxtil, papel e indústrias farmacêuticas. Sendo assim a determinação de parâmetros de relaxação para as amostras é muito importante, principalmente para comprovar a eficiência de uma nova sequência de pulso.

As amostras foram adquiridas da Sigma Aldrich® e pesadas em aproximadamente 1 g para aquisição dos sinais de RMN. Na FIGURA 34A estão os sinais para uma amostra de sacarose adquiridos com a sequência FID e RK-ROSE, é possível observar que a sacarose apresenta apenas um componente rígido. Está amostra sólida apresenta a largura do decaimento da componente gaussiana de $T_{2r} = 0,011 \pm 0,002 \text{ ms}$.

Na FIGURA 34B estão os sinais adquiridos para a amostra de celulose, essa amostra apresenta pelo menos duas componentes. Uma com $T_{2r} = 0,014 \pm 0,001 \text{ ms}$ e outra com tempo de relaxação longo ($T_2 = 0,321 \pm 0,002 \text{ ms}$). Os sinais de eco adquirido com a sequência RK-ROSE apresentou maior intensidade para as duas amostras, quando comparada com o sinal FID.

FIGURA 34: Sinais de RMN adquiridos com as seqüências de FID e RK-ROSE para as amostras e A) sacarose e B) celulose. Para estimar o sinal em $I(0)$ foi utilizado o mesmo procedimento da FIGURA 17.

Na FIGURA 35A e 35B estão os sinais obtidos para diferentes valores de $\tau_{IR-RKROSE}$ com a seqüência RK-ROSE para as amostras de sacarose e celulose, respectivamente. Na FIGURA 35C estão as intensidades máximas dos sinais de eco, onde é possível observar que os tempos de relaxação T_1 das amostras se diferem bastante. Com o ajuste dos sinais da FIGURA 35C obtemos os tempos de relaxação T_1 das amostras de sacarose e celulose (TABELA 6).

FIGURA 35: Sinais de eco obtidos com a sequência IR-RK-ROSE para as amostras de A) sacarose, B) celulose e C) Intensidade máxima dos sinais obtidos na FIGURA 34 A e B.

Na TABELA 6 é possível observar que as amostras se diferem pouco pelo T_{2r} , pois a sacarose apresentou um $T_{2r} = 0,011 \pm 0,002$ ms e a celulose $T_{2r} = 0,014 \pm 0,001$ ms. Todavia por valores de T_1 a diferença é significativa, a amostra de sacarose apresentou $T_1 = 2.145,9 \pm 13,8$ ms e a celulose apresentou dois valores de T_1 , sendo o maior de $T_1 = 179,41 \pm 0,06$ ms.

Amostra	T_{2r} (ms)	T_2 (ms)	T_1 (ms)	
Sacarose	$0,011 \pm 0,002$ ms	*	$2.145,9 \pm 13,8$ ms	
Celulose	$0,014 \pm 0,001$ ms	$0,321 \pm 0,002$ ms	$85,42 \pm 0,09$ ms	$179,41 \pm 0,06$ ms

TABELA 6: Valores de tempos de relaxação T_1 e T_2 obtidos para as amostras de sacarose e celulose.

Para representar a eficiência da sequência IR-RK-ROSE foi realizado um experimento de aquisição dos sinais para a amostra de celulose, com o eco refocalizado para gerar o sinal em $\tau_{aq} = 40 \mu s$. Na FIGURA 36 estão os sinais adquiridos com FID e RK-ROSE, o FID não apresenta os sinais de T_{2r} , pois com $t_m = 40 \mu s$ os sinais dos 1H referente aos componentes rígidos já relaxaram. Portanto o sinal adquirido é devido aos componentes moveis. Já o

signal obtido com RK-ROSE é composto pelo componente rígido e móvel. O T_1 determinado nestas condições está próximo dos valores da TABELA 6.

FIGURA 36: Sinais de RMN adquiridos para amostra de celulose com a sequência de FID (■) e RK-ROSE (linha vermelha). Os sinais foram deslocados para a sobreposição dos sinais referente aos componentes moveis.

Utilizamos a sequência IR-RK-ROSE para determinação de T_1 e T_2 em experimentos bi-dimensionais (2D). Assim, como na RMN de alta resolução, os experimentos 2D em RMN-DT vem crescendo e ampliando as aplicações da técnica. A sequência de IR-FID foi recentemente utilizada para obtenção de experimentos de T_1 - T_2 de materiais sólidos.^[74] Para isso usam-se os vários FID que são adquiridos em função do tempo τ_{IR} , como os da FIGURA 35.

O tratamento do sinal adquirido com a sequência de IR pode ser modificada para gerar um mapa 2D que seja capaz de obter o valor de T_1 em uma dimensão e T_2 em outra dimensão. Em parceria com a pesquisadora Dr. Corinne,^[75] pesquisadora no Institut National de la Recherche Agronomique da França (INRA). Corinne^[76] possui um novo algoritmo para a transformada inversa de Laplace, com base na reconstrução do método de máxima entropia, combinando o decaimento exponencial em função de um termo adicional extraído da função de Abragam.

Para obter os sinais 2D com a sequência IR-RK-ROSE foram realizados aquisições com diferentes valores de $\tau_{IR-RK-ROSE}$. Na FIGURA 37A e 37B estão os sinais de RMN adquiridos com a sequência RK-ROSE e IR-RK-ROSE,

respectivamente, para as amostras de sacarose e acrílico, é possível observar que os sinais de se diferem entre as amostras. Os valores de T_1 e T_{2r} para estas amostras são apresentados na TABELA 7.

FIGURA 37: Sinais de RMN adquiridos com a sequência: A) RK-ROSE e B) IR-RK-ROSE para as amostras de acrílico (linha/quadrado preto), sacarose (linha/quadrado vermelho) e mistura de acrílico/sacarose (quadrado/linha azul). A mistura foi preparada colocando a amostra de sacarose em um tubo de 18 mm e dentro deste tudo outro tubo de 10 mm de acrílico.

É possível observar nos valores de T_1 e T_{2r} apresentados na TABELA 7 que o método é capaz de diferenciar as amostras, e principalmente a mistura entre sacarose/acrílico. Na FIGURA 38 está o resultado da transformada de Laplace em duas dimensões (ILT-2D) da amostra de acrílico/sacarose. Nesta figura pode-se ver que há uma grande separação no eixo de T_1 e uma menor separação no eixo de T_{2r} . Esse método poderá ser uma nova e potente ferramenta para estudo de materiais sólidos por RMN-DT, mesmo em aparelhos com longo tempo morto e poderá futuramente ser utilizado para quantificar misturas.

Amostra	T_{2r}			T_1	
Acrílico	0,014 ± 0,001 ms	0,042 ± 0,001 ms		83,1 ± 1,1 ms	
Sacarose	0,011 ± 0,002 ms			2.391,2 ± 33,2 ms	
Mistura	0,009 0,002 ms	0,015 ± 0,001 ms	0,052 ± 0,001 ms	78,9 ± 2,2 ms	2.232,1 ± 19,3 ms

TABELA 7: Valores de tempos de relaxação T_1 e T_{2r} obtidos para diferentes amostras.

FIGURA 38: Gráfico da transformada inversa de Laplace em 2D para amostra de acrílico e sacarose. O processamento dos sinais foi feito pela Dra. Corinne Rondeau-Mouro, usando um algoritmo de máxima entropia.^[76]

4.5 APLICAÇÃO DA SEQUÊNCIA DE PULSO RK-ROSE COMO FILTRO DE FASE MÓVEL

A maioria dos métodos de RMN-DT usados para selecionar os sinais de segmentos específicos, com base na diferença de mobilidade é fundamentada sobre o efeito da interação dipolar ^1H - ^1H no sinal de RMN, conhecido como filtro dipolar. Para as seguintes discussões nos denominamos com filtro de fase rígida aquelas que selecionam o sinal dos componentes móveis, suprimindo o sinal dos componentes rígidos. Os filtros de fase rígida mais utilizados são o filtro de Goldman Shen,^[77-78] o filtro dipolar proposto por Mellinger e colaboradores^[80,81] e o filtro Magic e Eco Polarization (MAPE).^[82] Existem também métodos que podem fornecer a seleção de sinais de segmentos rígidos. Por exemplo, o filtro de duplo quantum fornece este tipo de seleção do sinal.

Os filtros dipolar são amplamente utilizadas como blocos de construção em sequências de pulso para estudar nano-heterogeneidade em polímeros através de experiências de difusão de spins,^[82] regime intermediário de dinâmica molecular^[83] e processos de cristalização.^[84-85] Dada a grande aplicabilidade dos filtros dipolares em experimentos de RMN, propomos aqui

uma adaptação da sequência RK-ROSE como uma maneira simples de realizar os experimentos de filtro de fase móvel.

O uso da sequência de RK-ROSE como filtro de fase móvel (MF-RK-ROSE) baseia-se na aquisição de dois sinais de eco, com diferença na fase dos pulsos. Na ausência da interação dipolar ^1H - ^1H , a sequência de pulso com $\tau = 0$ deve atuar como uma excitação com ângulo *flip* de $\theta = n\left(\frac{\pi}{2}\right)_\phi + \left(\frac{\pi}{2}\right)_{\phi+90^\circ} = \left(\frac{\pi}{2}\right)_{\phi-90^\circ}$. Portanto os sinais provenientes de segmentos móveis estão muito próximos do máximo (considerando que τ_{aq} é suficientemente curto, tanto que a inhomogeneidade de B_0 pode ser ignorada). Assim, a sequência RK-ROSE deve ser capaz de detectar sinais de ^1H decorrentes de segmentos moleculares moveis e rígidos. Para condições ótimas de RF e o primeiro pulso definido como sendo múltiplo de $\pi/2$, a refocalização dos sinais de componentes rígidos é condicionada a existência de 90° de diferença de fase entre os dois pulsos, mas os sinais dos componentes móveis é independente dipolar desta diferença de fase.

Com a aquisição de dois conjuntos de dados, com e sem mudança de fase e subtraindo os resultados é possível seleccionar o sinal dos componentes rígidos. O sinal adquirido com a fase deslocada em Φ_{+90° apresenta relação com os ^1H dos sistemas rígidos e moveis (similar ao FID simulado da FIGURA 11 A) já o sinal adquirido em fase apresenta apenas a relaxação com os ^1H dos sistemas moveis (similar ao sinal – fase líquida – exponencial da FIGURA 11A). Subtraindo um sinal pelo outro obtemos apenas o sinal característico dos componentes rígidos (similar ao sinal – fase rígida – gaussiana da FIGURA 11A).

Uma das possíveis aplicações da MF-RK-ROSE é detectar as transições de mobilidade de um polímero devido às relaxações moleculares, medindo o sinal obtido com o filtro em diversas temperaturas. Resumidamente, em temperaturas sem movimentos moleculares a intensidade do sinal é máxima.

O aumento da temperatura leva ao aparecimento de movimentos moleculares específicos e a diminuição da fração rígida resulta em uma

redução da intensidade do sinal da MF-RK-ROSE. Uma vez que estamos lidando com experimento de temperatura variável, é importante evitar o surgimento de artefatos devido a lei de Curie ou qualquer outro não-linearidade não relacionado com movimentos moleculares. Isto é conseguido normalizando o sinal filtrado pela intensidade total (rígido+móvel) em cada temperatura. Esta intensidade normalizada é definida na equação 20.

$$I_{MF}^N(T) = \frac{I_{RK-ROSE}^{\emptyset,\emptyset+90^\circ}(T) - I_{RK-ROSE}^{\emptyset,\emptyset}(T)}{I_{RK-ROSE}^{\emptyset,\emptyset+90^\circ}(T)} \quad (20)$$

onde $I_{RK-ROSE}^{\emptyset,\emptyset+90^\circ}(T)$ e $I_{RK-ROSE}^{\emptyset,\emptyset}(T)$ representam a intensidade do sinal com e sem a mudança de fase. Na prática, espera-se que a dependência de cada transição em diferentes temperaturas siga um comportamento fenomenológico de Boltzman do tipo sigmoidal tal como:

$$I_{MF}^N(T) = \sum_{i=1}^n \frac{A_i}{1 + \exp\left(\frac{T - T_i^{1/2}}{\sigma_i}\right)} + I_{MF}^N(\infty) \quad (21)$$

onde A_i é a amplitude dos ^1H envolvidos em cada processo de relaxação; $T_i^{1/2}$ é a temperatura central, ou seja, a temperatura de transição média; σ_i é a inclinação da curva sigmoidal associada à largura de uma determinada transição de dinâmica; $I_{MF}^N(\infty)$ refere-se a fração de ^1H que pode manter a temperatura acima da dinâmica de transição, que pode oferecer informações sobre parâmetro de ordem dos movimentos anisotrópicos ou a agregação de cadeias observadas em polímeros conjugados.

Para demonstrar um exemplo de aplicação, usamos a sequência de pulso MF-RK-ROSE para investigar os processos de relaxação térmico de dois polímeros conjugados: poly[2-methoxy-5-(3,7-dimethyl-octyloxy)-1,4-phenylenevinylene] (MDMO-PPV) e poly[2-methoxy-5-(2-ethylhexyloxy)-1,4-phenylenevinylene] (MEH-PPV), dois polímeros que apresentam cadeia principal idênticas mas cadeias laterais ligeiramente diferente.

As estruturas dos polímeros são apresentadas na FIGURA 38. Esses polímeros são utilizados como camadas ativas em dispositivos eletrônicos orgânicos, devido a boa mobilidade de elétrons ao longo da cadeia principal.

Tem também alto grau de processabilidade, devido à mobilidade das cadeias laterais. Por serem polímeros amorfos, espera-se observar dois processos de relaxação molecular associados ao aparecimento de movimentos de cadeia lateral e transição vítrea.^[86-88] Como são polímeros com estrutura química e morfologia semelhantes, então as possíveis diferenças nos processos de relaxação podem ser atribuídas a características específicas associadas ao empacotamento local.

Nas FIGURAS 38A e 38B estão as intensidades $I_{MF}^N(T)$ dos sinais adquiridos com a sequência MF-RK-ROSE para os polímeros MDMO-PPV e MEHPPV, respectivamente e os ajustes correspondentes usando a função de Boltzman com $n = 2$, isto é, assumindo dois processos de relaxação. Os demais parâmetros são apresentados na TABELA 8.

Amostra	A_1	$T_1^{1/2}(^{\circ}\text{C})$	$\sigma_1(^{\circ}\text{C})$	A_2	$T_2^{1/2}(^{\circ}\text{C})$	$\sigma_2(^{\circ}\text{C})$	$I_{MF}^N(\infty)$
MEH-PPV	$0,28 \pm 0,04$	-22 ± 3	17 ± 3	$0,56 \pm 0,05$	100 ± 3	30 ± 4	$0,08 \pm 0,03$
MDMO-PPV	$0,16 \pm 0,05$	-15 ± 4	14 ± 3	$0,51 \pm 0,06$	56 ± 5	26 ± 2	$0,17 \pm 0,01$

TABELA 8: Valores dos parâmetros obtidos com o ajuste dos sinais da FIGURA 39 com a equação 21.

Comparando-se as curvas, observamos que dois processos podem ser vistos separadamente no experimento com o polímero MEH-PPV (linhas verde e azul da FIGURA 39). No entanto, eles aparecem sobrepostos para o polímero MDMO-PPV. Isso ocorre porque o MEH-PPV tem uma temperatura de relaxação das cadeias laterais mais alta e mais baixa temperatura de transição vítrea, como visto pelo parâmetro $T_2^{1/2}$ do ajuste dos sinais com a equação 21.

Em temperatura mais elevada, o início do movimento da cadeia lateral observada para o polímero MDMO-PPV pode ser atribuída a sua cadeia lateral mais linear tornando-o propenso a um maior empacotamento molecular, consequentemente aumentando assim a temperatura de transição. A baixa temperatura de transição vítrea $T_2^{1/2}$ observadas para o polímero MDMO-PPV também é relatada na literatura.^[89-90]

Cabe aqui mencionar que os valores absolutos das temperaturas de transição vítrea relatados nesta tese são aproximadamente 40°C superior aos medidos por DSC.^[91] Isso é comum na comparação entre RMN de ^1H e

medidas de DSC, ocorre porque o RMN de ^1H é sensível aos movimentos moleculares em uma escala de frequência (~ 1000 Hz) maior que o DSC ($\sim 0,01$ Hz).

Em baixas temperaturas a intensidade $I_{MF}^N(T)$ não é 1, como deveria ser se todos os segmentos estivessem totalmente rígidos. Isto é atribuído a rotações locais rápidas de grupos CH_3 nas extremidades das cadeias laterais, que reduzem o acoplamento dipolar e aparecem mobilidade em temperaturas extremamente baixas ($\sim 80^\circ\text{C}$). Como efeito, a diminuição da intensidade nestas temperaturas em $\sim 1,5$ maior para o polímero MDMO-PPV do que para o polímero MEH-PPV, que é bastante coerente com a relação entre o número de grupos CH_3 em cada polímero.

Outra observação é o fato que a intensidade $I_{MF}^N(T)$ em temperaturas elevadas não decai para zero, o que significa que ainda há uma fração do polímero que permanece rígida, mesmo em temperaturas próximas a $\sim +160^\circ\text{C}$. Isto pode ser atribuído a agregação das cadeias poliméricas, como é comumente observado em polímeros conjugados.^[92-93] Os parâmetros $I_{MF}^N(\infty)$ na tabela 8 revela um maior grau de agregação para o polímero MDMO-PPV do que o polímero MEH-PPV.

FIGURA39: Intensidade normalizada MF-RK-ROSE em função da temperatura para os polímeros a) MEH-PPV e b) MDMO-PPV.

4.6 APLICAÇÃO DA SEQUÊNCIA RK-ROSE COMO MÉTODO ALTERNATIVO PARA DETERMINAR TEOR DE GORDURA SOLIDA POR RMN-DT

Para obter o método padrão de determinação do teor de gorduras solidas (SFC) em alimentos é necessário que o equipamento de RMN-DT apresente algumas especificações, dentre elas possuírem três amostras padrões e espectrômetro com $t_m \leq 10 \mu s$, adereços este que acrescenta alto valor para aquisição. Nesta parte da tese utilizaremos o sinal de RMN adquirido com a sequência RK-ROSE como método alternativo para estimar o teor de SFC sem a utilização de padrões.

Os sinais foram adquiridos no espectrômetro III, na condição de $T_m = 8,5 \mu s, 14 \mu s$ e $28 \mu s$, como mencionado anteriormente para utilização da sequência RK-ROSE na melhor condições é necessário otimizar a potência no primeiro pulso Tp_1 . Sendo assim foi otimizado o pulso Tp_1 para obter o máximo dos sinais logo após os tempos mortos utilizados, sendo que a melhor condição de Tp_1 foram de $22,88 \mu s$ ($\theta = \pi$), $35,28 \mu s$ ($\theta = 2\pi$) e $62,4 \mu s$ ($\theta = \pi$), respectivamente.

Foram adquiridos os sinais para a manteiga de cacau (FIGURA 40) em diferentes condições de tempo morto, é possível observar a vantagem que a sequência RK-ROSE possui em caracterizar amostras sólidas em equipamentos com $t_m > 10 \mu s$. O sinal adquirido com a sequência FID (linha preta) não apresenta contribuições da parte sólida em tempos de aquisição maiores que $20 \mu s$ e com a sequência RK-ROSE foi possível adquirir o sinal referente aos componentes sólidos com $t_m = 28 \mu s$. Os resultados da FIGURA 40 dão indícios que a sequência RK-ROSE pode ser utilizada para determinar o fator SFC.

FIGURA 40: Sinais de RMN adquiridos com as sequências: FID – linha preta ($T_m = 8.5 \mu s$), RK-ROSE – Linha vermelha ($T_m = 8.5 \mu s$), RK-ROSE – Linha azul ($T_m = 14 \mu s$) e RK-ROSE – Linha magenta ($T_m = 28 \mu s$) para a amostra de manteiga de cacau na temperatura de $27^\circ C$.

Para utilização do método direto de SFC é necessário realizar a determinação do fator- f da equação 16, sendo f um fator de correção empírico para contabilizar o sinal perdido durante o tempo morto. O fator- f é determinado durante a calibração do equipamento com a utilização de padrões

com teor SFC de 0 %, 31,2 % e 72,3 %, padrões que custam em média € 3.000,00. Existem na literatura^[39] alguns métodos alternativos para medir SFC através do ajuste do sinal com a equação de Abragam ou suas variações.

A utilização dos padrões para determinar o fator f com a sequência RK-ROSE não é indicado, pois, a duração de Tp_1 depende da interação dipolar $^1H-^1H$ presente em cada conjunto de amostra e para os padrões a melhor condição foi de $Tp_1 = 60,72 \mu s$ ($\theta = 3\pi$) para $t_m = 28 \mu s$, fora da melhor condição de potência para a amostra de manteiga de cacau.

Na TABELA 9 estão os valores de SFC obtidos por diferentes métodos, nos sinais adquiridos com a sequência RK-ROSE foi realizado o cálculo de SFC utilizando a equação 16 (com $f = 1$) e o método de ajuste do sinal seguindo o procedimento de ajuste do sinal com a equação de Abragam.^[57] O SFC obtido com o método padrão foi $87,03 \pm 0,15 \%$ e os valores de SFC obtidos pela sequência RK-SE estão próximos, na TABELA 9 é possível observar que o método de ajuste do sinal foi que mais se aproximou do valor obtido pelo método padrão.

	Dead Time 8,5 μs	Dead Time 14 μs	Dead Time 28 μs
$ISO_{fator-f}$	$87,03 \pm 0,15$	-	-
$RK - Rose_{fator-f}$	88,37	85,93	82,76
$RK - Rose_{Deconvolução}$	$87, \pm 0,74$	$86,43 \pm 0,40$	$86,06 \pm 1,83$

TABELA 9: Valores de SFC para manteiga de cacau obtida por diferentes métodos e em diferente tempo morto.

Foi realizada a isoterma de SFC para a manteiga de cacau seguindo o método direto AOCS Cd 16b-93,^[94] este procedimento inicia-se por: a) derreter a amostra durante 5 minutos à 100°C, b) manter a amostra 5-15 minutos na temperatura de 60 °C, c) 60 minutos na temperatura de 0°C e por fim d) 30-35 minutos na temperatura de análise, para a manteiga a temperatura de análise foi de 10°C a 40°C.

Na FIGURA 41 está a isoterma de SFC para a manteiga de cacau obtido por diferentes métodos, no quadrado preto é o SFC determinado através do método padrão que utiliza o fator- f e tempo morto de 8,5 μs . Nesta figura é possível observar que com o aquecimento da amostra o SFC cai suavemente

até a temperatura de 30 °C, após esta temperatura o SFC cai para valores próximos de 0 %. Perfil idêntico também foi obtido utilizando o método alternativa de deconvolução do sinal RK-ROSE com tempo morto de 8,5 μ s. Este novo método traz resultados semelhantes ao método padrão, porem com a vantagem de não utilizar padrões de calibração.

FIGURA 41: Isoterma de SFC obtido para amostra de manteiga de cacau com o método $ISO_{fator-f}$ (quadrado preto) e método alternativo através da deconvolução do sinal RK-ROSE (esfera vermelha).

Utilizando o método padrão não seria possível determinar o fator SFC em equipamento com $t_m = 28 \mu s$, porém isso foi possível com a utilização da sequência RK-ROSE. Com base em medições de SFC em diferentes temperaturas, podemos determinar algumas propriedades físicas da manteiga, tais como dureza, resistência ao calor, etc.

Na FIGURA 42A é apresentado o sinal FID (Linha preta) com $t_m = 8,5 \mu s$ e os sinais de eco adquiridos com a sequência ES (Linha vermelha), mixed-MSE (Linha azul) e RK-ROSE (Linha magenta) otimizadas para refocalizar o eco logo após o $t_m = 28 \mu s$. É possível observar na FIGURA 42A que a sequência RK-ROSE proporcionou o sinal de maior intensidade, quando comparado com as sequências ES e mixed-MSE. Na FIGURA 42B é

apresentada a isoterma de SFC para a manteiga de cacau, é possível observar que a sequência RK-ROSE foi que mais se aproxima do perfil obtido com o método padrão. A pequena diferença nos valores de SFC podem ser corrigidos obtendo um fator de ajuste, assim como foi realizado na FIGURA 25C.

FIGURA 42: Sinais de RMN obtidos para amostra de manteiga de cacau: A) com diferentes sequências e B) Isotherma do comportamento do SFC em diferentes condições, para a manteiga de cacau no espectrômetro III com tempo morto de 28 μ s.

Esses resultados obtidos demonstram o grande potencial da sequência RK-ROSE em estimar o SFC sem a utilização de padrões, algumas variações de SFC em comparação com o método padrão podem ser explicada por problemas apresentados no espectrômetro III (iremos discutir no apêndice 6.6), resumidamente, a realização de experimentos de difusão^[13] (que utiliza gradientes de campo) proporciona a desmagnetização do campo B_0 . Deixando o espectrômetro fora das especificações da ISO 8292, pois uma das especificações desta ISO é que uma gordura líquida apresente $T_{2^*} \geq 1$ ms e após a utilização do espectrômetro para experimentos de difusão o T_{2^*} foi de apenas 600 μ s.

Outra grande área de aplicação do método SFC é na indústria de manteiga, foram obtida manteiga no comercio local e analisadas pelo método Cd 16b-93 em duplicata. Abordamos aqui outra maneira de tratamento do sinal RK-ROSE, o SFC determinado por deconvolução da primeira amostra foi utilizado para obter uma curva de calibração com o método padrão de SFC, que apresentou $r^2 = 0,995$. O resultado forneceu uma equação de

normalização entre os métodos, com a equação foi realizada a quantificação do SFC da duplicata. Na TABELA 10 estão os valores de SFC obtidos com o método padrão ($t_m = 8,5 \mu s$) e o método de deconvolução do sinal com ($t_m = 28 \mu s$).

TEMPERATURA	$ISO_{fator-f}$	$RK - Rose_{deconvolução}$
10 °C	29,53 %	29,60 %
20 °C	13,73 %	14,08 %
30 °C	3,27 %	4,35 %

TABELA 2: Valores de SFC obtidos por diferentes métodos para a amostra de manteiga comercial.

4.7 DIFICULDADES ENCONTRADAS:

Devido ao contato diário com a sequência desenvolvida podemos apresentar aqui algumas desvantagens da sequência RK-ROSE e de suas aplicações. Como discutido ao longo da tese a eficiência da sequência RK-ROSE é depende da potência (ν_1) e do ângulo *flip* (Φ) no primeiro pulso. Para obter a melhor condição é necessário realizar várias aquisições em diferentes condições de ν_1 e Φ para cada conjunto de amostra.

Para facilitar a implementação desta sequência em diferentes espectrômetros e grupos de pesquisas foi desenvolvido uma rotina no software Matlab que iremos disponibilizar no apêndice 6.7. Esta rotina consiste em pequenos passos experimentais uma maneira de otimização da sequência de pulso RK-ROSE.

A linha de espectrômetro Minispec Mq20 foi modificada, uma simples modificação no filtro. O ND Mq20 utilizava filtro analógico, e a nova versão o NF Mq20 passou a utilizar filtro digital e o que deveria ser uma simples modificação trouxe grandes problemas para os espectroscopistas. Traremos aqui alguns problemas observados neste equipamento: a) o layout de programação das sequências de pulso foi alterada, inicialmente para acrescentar o *delay* dos pontos do filtro; b) este espectrômetro apresentou problemas na

sonda, amplificador, pré-amplificador, homogeneidade do campo magnético e todos esses componentes foram trocados; e c) o problema maior foi quando identificamos que o delay dos pontos do filtro não estava sendo corrigidos pela programação, o t_m de 6 μs na verdade era de 8,5 μs e a correção deste problema varia para cada sequência de pulso.

5.0 CONCLUSÕES

Com a análise dos resultados obtidos nesta tese podemos concluir que foi desenvolvida uma nova condição para a sequência de pulso RK, denominada de Rhim and Kessemeier Radiofrequency Optimized Solid Echo (RK-ROSE). Ela foi testada em equipamentos de RMN-DT com diferente tempo morto, e apresentou excelente eficiência. No espectrômetro com tempo morto de $25 \mu\text{s}$ apresentou $87 \pm 1 \%$ de fração sólida na amostra de grãos de soja, contra apenas $46 \pm 3 \%$ obtidos com a sequência de FID nas mesmas condições experimentais.

A sequência foi testada para uma amostra padrão de poliestireno (PS) em diferentes espectrômetros para compreender seu comportamento, e podemos concluir que sua eficiência é dependente da potência aplicada durante o primeiro pulso de radiofrequência, neste pulso é necessário obedecer as seguintes equações $\theta = \frac{\pi}{2} + n\pi$, sendo a duração mínima o dobro do tempo morto. Satisfazendo essas condições o eco é formado logo após o tempo de espera antes da aquisição, e para obter o máximo em cada condição de potência foi utilizado o tempo ao eco igual ao tempo morto. Esses resultados foram obtidos teoricamente e experimentalmente, para a amostra de PS a eficiência desta nova sequência foi de 98% na caracterização dos segmentos rígidos do PS, resultado bem superior as principais sequências de pulsos utilizadas atualmente.

Com os resultados da eficiência desta nova sequência foram apresentadas algumas aplicação da RMN-DT, a utilização dos sinais adquiridos com a sequência RK-ROSE para sanar os parâmetros de cinética de reação. A reação estudada foi a polimerização da resina epóxi araldite, foi possível determinar os valores de constante de velocidade da reação em diferentes temperaturas, sendo possível assim determinar a energia de ativação de $E_a = 31,58 \pm 3,77 \text{ KJ/mol}$. A reação também foi monitorada com as sequências de FID, ES e mixed-MSE e a sequência RK-ROSE foi a que apresentou maior eficiência em caracterizar a formação dos componentes rígidos da amostra.

Outra aplicação demonstrada nesta tese foi a utilização da sequência RK-ROSE para determinação dos tempos de relaxação T_1 e T_2 , os resultados obtidos comprovaram que os valores de T_1 obtido com a nova sequência estão próximos dos valores obtidos pelo método padrão IR. Para a amostra de PS a sequência IR-RK-ROSE determinou o $T_1 = 756,1 \pm 3,1 \text{ ms}$ e para o método IR o valor foi de $T_1 = 762,9 \pm 2,5 \text{ ms}$, valores bem próximos. Porém com a vantagem do método IR-RK-ROSE apresentar maior intensidade do sinal e ser possível determinar T_1 em equipamentos com tempo morto maior que $25 \mu\text{s}$, foi obtido bons resultados em espectrômetro com tempo morto de $40 \mu\text{s}$. Foi realizado experimentos 2D para amostra de acrílico/sacarose, resultando em mapas que apresentaram os valores de T_1 e T_{2r} das amostras.

Uma aplicação demonstrada nesta tese foi a utilização dos sinais adquiridos com a sequência RK-ROSE como filtro de fase móvel, a metodologia desenvolvida apresentou bons resultados para sanar os parâmetros de mobilidade de diferentes polímeros em diferentes temperaturas. Com os resultados foi possível diferenciar polímeros com cadeia principal idênticas e uma pequena diferença nas cadeias laterais.

Por fim, a sequência RK-ROSE foi utilizada como método alternativo para determinar o teor de gordura sólida por RMN-DT. Os resultados obtidos foram satisfatórios, quando comparado o método padrão o erro está dentro do permitido, para a amostra de manteiga de cacau o SFC foi $87,03 \pm 0,15 \%$ e com o novo método $87,64 \pm 0,74 \%$, $86,06 \pm 1,83 \%$ com tempo morto de $8,5$ e $28 \mu\text{s}$, respectivamente. Foram apresentadas algumas maneiras de tratamento dos dados, o método alternativo apresenta a vantagem de não necessitar dos padrões certificados e pode ser empregado em equipamentos com tempo morto maior que $10 \mu\text{s}$.

Portanto, a sequência RK-ROSE pode ser uma maneira simples e eficiente de recuperar sinais de RMN com interação dipolar ^1H - ^1H , bem como para determinar o SFC, T_1 e T_{2r} de diferentes amostras e filtrar segmentos móveis de materiais heterogêneos.

6.0 APÊNDICE

Buscando facilitar a implementação das diversas sequências de pulso utilizadas nesta tese e a maneira realizada para fazermos os ajustes, apresentaremos a seguir os detalhes mínimos necessários:

6.1 SEQUÊNCIA DE PULSO INVERSÃO RECUPERAÇÃO (IR):

A sequência de pulso denominada IR é a mais utilizada para estimar o tempo de relaxação T_1 , o esquema da sequência é apresentado na FIGURA 3. Como já mencionado é necessário realizar varias aquisições com diferentes valores de τ_{IR} , a função que determina os valores de τ_{IR} é apresentada a seguir:

$$\tau_{n-1} = \exp \left[\ln(\tau_i) + (n - 1) * \left(\frac{\ln(\tau_f) - \ln(\tau_i)}{n} \right) \right]$$

onde n é o numero de pontos, τ_i e τ_f é o tempo inicial e final utilizado no experimento de IR.

Uma breve descrição dos principais eventos que ocorre durante as excitações é apresentada, no inicio ao colocar a amostra na presença do campo magnético B_0 o vetor magnetização encontra-se em equilíbrio térmico na direção Z. O primeiro pulso aplicado (180°) faz com que a magnetização vá para -Z. Durante o tempo τ_{IR} , ocorre o processo de relaxação.

Dependendo do tempo τ_{IR} e do T_1 , há uma distribuição da magnetização entre Z e -Z. Para valores de $\tau_{IR} \ll T_1$, a componente -Z é bem maior do que a componente Z. Se $\tau_{IR} \sim 5 * T_1$, a componente Z atinge aproximadamente 99.3 % do valor de M_0 . Para detectar as componentes no eixo Z, que são dependentes de τ_{IR} e de T_1 , aplica-se um pulso de 90° para rotacionar a magnetização para o plano $x'y'$, onde se faz a medida da intensidade do sinal de RMN.

Após o pulso de 90° a componente que estava no eixo Z, vai para a direção Y, e a componente que estava na direção -Z vai para a direção -Y. Como o sinal de RMN é a resultante da magnetização no plano $x'y'$, o sinal de

RMN na sequência IR varia de máximo negativo a máximo positivo dependendo do valor de τ_{IR} e T_1 .

6.1.1 DETERMINAÇÃO DO VALOR DE T_1 ATRAVÉS DO AJUSTE NO SOFTWARE ORIGINPRO.

Com os sinais adquiridos em diferentes condições de τ_{IR} , é necessário criar um gráfico de τ_{IR} versus intensidade. Para demonstração, foi realizada o experimento de IR da blenda ternaria, nas figuras a seguir está representada o procedimento no software OriginPro 9.0 para estimar o tempo de relaxação T_1 :

» Analisis » Fiting Exponential » Fit Open Dialog; Após esses passos ira abrir uma nova aba no software, nesta nova aba é necessário realizar os seguintes passos:

» Function » ExpoGro1 para ajuste mono-exponencial ou ExpoGro2 para Bi-exponencial » FIT; Após este procedimento o Origin irá fornecer um gráfico semelhante ao da FIGURA 43B.

FIGURA 41: A) Sinais de RMN adquiridos para realizar o ajuste do sinal de IR e B) Sinais adquiridos com a sequencia IR e o ajuste com o (s) valor (es) de T_1 .

Nesta demonstração a amostra utilizada apresenta apenas uma única componente, o experimento foi realizado com os seguintes parâmetros: $n=21$, $\tau_i = 0.01\text{ms}$, $\tau_f = 5.3\text{ s}$, $\pi/2 = 2.5\text{ }\mu\text{s}$, 16 medias, temperatura de 27°C no espectrômetro Minispec Bruker Mq20. O tempo de relaxação $T_1 = 329,1 \pm 28,4\text{ ms}$, experimentalmente o tempo mínimo de espera entre as promediações é de 1,7 s.

6.2 SEQUÊNCIA DE PULSO CPMG:

A sequência de pulso desenvolvida por Carr-Purcell-Meiboom-Gill denominada de CPMG (FIGURA 4) é uma das mais utilizadas em trabalhos de RMN-DT, esta sequência de pulso consiste em $(90_{\phi} - \tau_{CPMG} - (180_{\phi} - \tau_2 - acq - \tau_2)_n$ onde, n = numero de ecos. Experimentalmente para que a aquisição do eco seja no ponto máximo e assim retirar o máximo de informações a respeito do sistema de spins da amostra é necessário que os tempos entre os eventos satisfaçam a seguinte equação:

$$\tau_{CPMG} = \left(\frac{180_{\phi} + acq + 2 * \tau_2}{2} \right)$$

Na introdução da tese foi demonstrado um sinal simulado característico da sequência CPMG, o procedimento foi realizado no software OriginPro 9.0 com 10 μ s de dw e $n = 2048$, os passos são apresentados a seguir:

Abra um novo projeto no software OriginPro 9.0, em seguida clique com o botao diretiro do mouse na coluna X e selecione a opcao: >> Set Column Values. O software ira abri uma nova aba, idêntica a FIGURA 44A. Nesta aba acrecente o número de pontos e Dw e clique em >> OK.

Apos criar a coluna de tempo, clique com o botao diretiro do mouse na coluna Y e selecione a opcao: >> Set Column Values. O software ira abri uma nova aba. Nesta aba acrecente a função >> $1 * \exp(-(col(A)/2))$ e clique em >> OK. O número 1 representa a intensidade normaliza e o número 2 o valor do T_2 .

FIGURA 42: Esquema de simulação do sinal característico obtido com a sequência CPMG.

Para determinar o valor do tempo de relaxação T_2 é necessário realizar o ajuste com a equação ExpDec1 no software OriginPro, neste sinal simulado foi utilizado o valor de $T_2 = 2$ ms.

6.3 SIMULAÇÃO DOS SINAIS DE RMN UTILIZANDO A EQUAÇÃO DE ABRAGAM.

A função de Abragam descreve perfeitamente o sinal de RMN característico de amostras heterogenias, contendo componentes sólidos e líquidos. A FIGURA7 e 11 foram produzida no software OriginPro, todos os três sinais de RMN foram criados com 4096 pontos e $dw = 1 \mu s$. A equação de Abragam (equação 17) apresenta duas componentes, a primeira componente representa os sinais dos componentes sólidos presente na amostra (linha azul-FIGURA 11).

A linha azul da FIGURA11 foi gerada utilizando apenas o primeiro termo da equação de Abragam com os seguintes parâmetros: $Fr = 0.6$, $T_{2r} = 0.02$ ms e $b = 12$. O segundo termo da equação representa os sinais dos componentes moveis presente na amostra (linha vermelha-FIGURA 11), a linha vermelha foi gerada utilizando apenas o segundo tempo da equação de Abragam com os seguintes parâmetros: $Fm = 0.4$, $T_{2m} = 1.2$ ms e $\beta = 2$.

Por fim, para simular o que seria o sinal de RMN para uma amostra que contem o componente sólido (linha azul) e móvel (linha vermelha) foi utilizada a equação de Abragam com os seguintes parâmetros: $Fr = 0.6$, $T_{2r} = 0.02$ ms, $b = 12$, $Fm = 0.4$, $T_{2m} = 1.2$ ms e $\beta = 2$. Esta demonstração será útil principalmente nas aplicações desenvolvidas durante a presente tese.

6.4 PROGRAMA DO MATLAB PARA CONVERTER OS SINAIS ADQUIRIDOS EM FUNÇÃO DA COORDENADA DE REAÇÃO.

Nos espectrômetros utilizados nesta tese possui o método de aquisição automático, ideal para realização de estudo de cinética de reação. Todavia o arquivo salvo com os dados é apenas um, foi criado uma rotina em ambiente Matlab para converter esses sinais e já gerar o gráfico da intensidade Vs Coordenada de reação.

```
% Determinando da Cinetica de reação

disp('Em uma planilha X coloque os sinal adquiridos
(Tempo+Real+Imaginario) pelo expectrometro ');

%Tempo
a=X(:,1);
%Real
b=X(:,2);
%Imaginario
c=X(:,3);

%Magnitude
d=((b.^2)+(c.^2)).^0.5;

%Calculo do numero de pontos de aquisição
e=input('Digite o numero de sinais adquiridos: ');

f = length(d)/e;

for i=1:e
sd(:,i) = d((i-1)*f +1 : i*f);
end

h1=input('Digite o tempo inicial (em s): ');
h2=input('Digite o tempo final (em s): ');

j=(h2-h1)/(e-1);
k=(h1:j:h2)';

% Calculando o maximo de cada sinal
m=max(sd)';

%Plot o grafico

plot(k,m,'o-r')
xlabel('Coordenada de Reação (s)');
ylabel('Intensidademaxima (u.a.)');
title('Cinetica de Reacao ');
```


6.5 RESULTADOS OBTIDOS POR SIMULAÇÃO EM PADRÃO DE PÓ PARA A SEQUÊNCIA RK-ROSE

Foram simulados os sinais de padrão de pó para a sequência RK-ROSE e os gráficos estão na FIGURA 41. Estas simulações foram feitas pelo Dr. Jefferson Filgueiras, a rotina foi escrito em ambiente Matlab. Na FIGURA 45A está o sinal obtido experimentalmente e na FIGURA 45B o sinal obtido por simulação, é possível observar que os resultados obtidos experimental se aproximam do resultado obtido por simulação teórica.

FIGURA 43: A) Representação dos resultados experimentais e B) da simulação do padrão de pó que correlaciona tempo ao eco versus o ângulo de excitação.

6.6 PROCEDIMENTO PARA OTIMIZAÇÃO DA SEQUÊNCIA RK-ROSE

Como discutido na tese a sequência RK-ROSE possui uma condição ótima de potência durante o primeiro pulso, e para facilitar a implementação desta nova condição da sequência foi realizado uma rotina em ambiente Matlab para a otimização dos parâmetros na sequência.

- Faça a calibração do pulso de $\pi/2$ em diferentes condições de atenuação;
- Abra o seguinte rotina no ambiente Matlab:

```
% RODRIGO GARCIA - Determinacao da duracao de TP1 em cada atenuacao
disp('Em cada linha da coluna b coloque o valor do angulo pi/2 (para diferentes atenuações)')
```

```
a1=input('Digite o valor da 1ª atenuação: ');
a2=input('Digite o valor da ultima atenuação: ');
```

```

b3=input('Digite o numero de atenuações utilizadas: ');

c1=input('Digite o valor do tempo morto: ');

%Calculando o delta entre cada experimentos
d1=(a2-a1)/(b3-1);

%Calculando a minima duração de tpx
e=2*c1;

%Calculando o valor de n para cada atenuação
f= ceil(e(1,1)./b(:,1));

% Calculando o valor de TPX que sera utilizado para cada atenuação
g=ceil(f(:,1).*b(:,1));

% Calculando os valores de atenuação
h=(a1:d1:a2);
i=h';

T = table([i],[f],[g],'VariableNames',{'Atenuacao','n','Tpx'})

plot(i,g,'o-r')

```

c) O resultado do item b vai fornecer o TP1 para cada atenuação basta acrescentar no espectrômetro e obter o sinal em cada condição;

d) Com os sinais adquiridos em diferentes condição de TP1 é necessário analisar para saber qual proporcionou a maior intensidade do sinal, para isso utilize o programa a seguir no ambiente Matlab:

```

% RODRIGO GARCIADeterminando a melhor condição da sequência RK-ROSE

disp('Em uma planilha X coloque cada sinal adquirido em uma coluna ')

a1=input('Digite o valor da 1ª atenuação: ');
a2=input('Digite o valor da ultima atenuação: ');

b3=input('Digite o numero de atenuações utilizadas: ');

%Calculando o delta entre cada experimentos
d1=(a2-a1)/(b3-1);

% Calculando os valores de atenuação
h=(a1:d1:a2);
i=h';

% Calculando o maximo de cada sinal
j=max(X);

h = max(j,[],2);

```

```
%Plot o grafico  
  
plot(i,j,'o-r')  
xlabel('Atenuação (dB)');  
ylabel('Intensidade maxima (u.a.)');  
title('Otimização da sequência RK-ROSE');
```

e) Com o gráfico fornecido no passo anterior, basta identificar qual foi a condição de proporcionou o máximo em intensidade e começar a fazer as medições.

7.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1 GIL, V. M. S.; GERALDES, C. F. G. C. **Ressonância magnética nuclear**: fundamentos, métodos e aplicações. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1987. v. 1012, p. 14.
- 2 PURCELL, E. M.; TORREY, H. C.; POUND, R. V. Resonance absorption by nuclear magnetic moments in a solid. **Physical Review**, College Park, v. 69, n. 1-2, p. 37, 1946.
- 3 BLOCH, F.; HANSEN, W. W.; PACKARD, M. The nuclear induction experiment. **Physical Review**, College Park, v. 70, n. 7-8, p. 474-485
- 4 LEVITT, M. H. **Spin dynamics**: basics of nuclear magnetic resonance. Hoboken: John Wiley & Sons, 2001. 740 p.
- 5 SIEVERS, R. (ed.). **Nuclear magnetic resonance shift reagents**. Cambridge: Academic Press, 2012. 424 p.
- 6 THE NOBEL PRIZE. **The nobel prize in physics 1952**. Stockholm, 2019. Disponível em: <https://www.nobelprize.org/prizes/physics/1952/summary/>. Acesso em: 09 ago. 2019.
- 7 THE NOBEL PRIZE. **The nobel prize in chemistry 1991**. Stockholm, 2019. Disponível em: <https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1991/ernst/facts/>. Acesso em: 09 ago. 2019.
- 8 THE NOBEL PRIZE. **The nobel prize in chemistry 2002**. Stockholm, 2019. Disponível em: <https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/2002/summary/>. Acesso em: 09 ago. 2019.
- 9 THE NOBEL PRIZE. **The nobel prize in physiology or medicine 2003**. Stockholm, 2019. Disponível em: <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2003/7453-the-nobel-prize-in-physiology-or-medicine-2003-2003/>. Acesso em: 09 ago. 2019.
- 10 CLARIDGE, T. D. W. **High-resolution NMR techniques in organic chemistry**. 3. ed. Amsterdam: Elsevier, 2016. 552 p.
- 11 KEELER, J. **Understanding NMR spectroscopy**. Hoboken: John Wiley & Sons, 2011.
- 12 CONWAY, T. F.; EARLE, F. R. Nuclear magnetic resonance for determining oil content of seeds. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Oxford, v. 40, n. 7, p. 265-268, 1963.

13 TODT, H.; GUTHAUSEN, G.; BURK, W.; SCHMALBEIN, D.; KAMLOWSKI, A. Time-domain NMR in quality control: standard applications in food. *In*: WEBB, G. A. (ed.). **Modern magnetic resonance**. Dordrecht: Springer, 2008. p. 1739-1743.

14 Fonte própria elaborada pelo autor da tese: Foi obtido no equipamento de 600 MHz da BRUKER.

15 Fonte própria elaborada pelo autor da tese: Foi obtido no equipamento Minispec Mq de 20 MHz da BRUKER.

16 VOLD, R. L.; WAUGH, J. S.; KLEIN, M. P.; PHELPS, D. E. Measurement of spin relaxation in complex systems. **The Journal of Chemical Physics**, Melville, v. 48, n. 8, p. 3831-3832, 1968.

17 COLNAGO, L. A.; DE ANDRADE, F. D. RMN no domínio do tempo: fundamentos e aplicações offline e inline. *In*: **BIOTECNOLOGIA aplicada à agro&indústria** São Paulo: Blucher, 2017. v. 4.

18 CARR, H. Y.; PURCELL, E. M. Effects of diffusion on free precession in nuclear magnetic resonance experiments. **Physical Review**, College Park, v. 94, n. 3, p. 630, 1954.

19 MEIBOOM, S.; GILL, D. Modified spin-echo method for measuring nuclear relaxation times. **Review of Scientific Instruments**, Melville, v. 29, n. 8, p. 688-691, 1958.

20 MACOMBER, R. S. **A complete introduction to modern NMR spectroscopy**. New York: Wiley, 1998.

21 SLICHTER, C. P. **Principles of magnetic resonance**. Berlin: Springer Science & Business Media, 2013.

22 SEBASTIÃO, R. C. O.; BRAGA, J. P. Operador dipolo-dipolo na base de momento angular: um complemento ao estudo de ressonância magnética nuclear. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 5, p. 1058-1061, 2008.

23 CUNHA, G. P. **Estudo da microestrutura e dinâmica molecular do Poly (3-(2'-ethylhexyl) thiophene)(P3EHT) via ressonância magnética nuclear**. 2016. 99 f. Dissertação (Mestrado Física Aplicada) – Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2016.

24 Fonte própria elaborada pelo autor da tese, utilizando o software OriginPro 9.0.

- 25 GARCIA, R. H. S. **Desenvolvimento de pulsos formatados para redução do tempo morto de espectrômetros de RMN no domínio do tempo**. 2015. 70 f. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica e Biológica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2015.
- 26 BRUKER. Solid Fat Content (SFC) Analysis. Disponível em: https://www.bruker.com/fileadmin/user_upload/8-PDF-Docs/MagneticResonance/TD-NMR/SFC_AppNote_T151922.pdf. Acessado em: 09 Ago. 2019.
- 27 POWLES, J. G.; MANSFIELD, P. Double-pulse nuclear-resonance transients in solids. **Physics Letters**, Amsterdam, v. 2, p. 58-59, 1962.
- 28 PINES, A.; RHIM, W.-K.; WAUGH, J. S. Homogeneous and inhomogeneous nuclear spin echoes in solids. **Journal of Magnetic Resonance**, Maryland Heights, v. 6, n. 4, p. 457-465, 1972.
- 29 RHIM, W. K.; PINES, A.; WAUGH, J. S. Time-reversal experiments in dipolar-coupled spin systems. **Physical Review B**, College Park, v. 3, n. 3, p. 684, 1971.
- 30 TAKEGOSHI, K.; MCDOWELL, C. A. A “magic echo” pulse sequence for the high-resolution NMR spectra of abundant spins in solids. **Chemical Physics Letters**, Amsterdam, v. 116, n. 2-3, p. 100-104, 1985.
- 31 MATSUI, S. Suppressing the zero-frequency artifact in magic-sandwich-echo proton images of solids. **Journal of Magnetic Resonance**, Maryland Heights, v. 98, n. 3, p. 618-621, 1992.
- 32 FILGUEIRAS, J. G.; SILVA, U.B.; PARO, G.; D'EURYDICE, M.N.; COBO, M. F.; AZEVEDO, E. R. Dipolar filtered magic-sandwich-echoes as a tool for probing molecular motions using time domain NMR. **Journal of Magnetic Resonance**, Maryland Heights, v. 285, p. 47-54, 2017.
- 33 RHIM, W.-K.; KESSEMEIER, H. Transverse-magnetization recovery in the rotating frame. **Physical Review B**, College Park, v. 3, n. 11, p. 3655, 1971.
- 34 BILSKI, P.; SERGEEV, N. A.; WASICKI, J. Echoes in spin systems with dipolar interactions. **Molecular Physics**, Abingdon, v. 101, n. 3, p. 335-338, 2003.
- 35 SERGEEV, N. A.; PANICH, A. M. Simple two-pulse time-reversal sequence for quadrupole-coupled spin system. **Zeitschrift für Naturforschung A**, Berlin, v. 58, n. 1, p. 33-35, 2003.

- 36 BROSIO, E.; CONTI, F.; DI NOLA, A.; SYKORA, S. A pulsed low resolution NMR study on crystallization and melting processes of cocoa butter. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Oxford, v. 57, n. 2, p. 78-82, 1980.
- 37 DA SILVA, C. A.; DE OLIVEIRA LEITE, M.; VINHA, M. B.; BRANDÃO, S. C. C.; DE OLIVEIRA PINTO, C. L.; DE CARVALHO, A. F. Estudo da qualidade de manteigas por fosfatase alcalina e análises físico-químicas. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 64, n. 368, p. 42-47, 2009.
- 38 GARCIA, R. K. A. **Formulação de gorduras para aplicação em margarinas zero trans com redes neurais a partir de gorduras interesterificadas**. 2010. 117 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 2010
- 39 DECLERCK, A.; NELIS, V.; RIMAU, T.; DEWETTINCK, K.; VAN DER MEEREN, P. Influence of polymorphism on the solid fat content determined by FID deconvolution. **European Journal of Lipid Science and Technology**, Weinheim, v. 120, n. 3, 2018.
- 40 OLIVEIRA, L. M. **Estudos de sólidos farmacêuticos através das técnicas de RMN no estado sólido**. 2014. 134 f. Tese (Doutorado em Ciências Exatas e da Terra) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2014.
- 41 SANCHEZ, S.; ZIARELLI, F.; VIEL, S.; DELAURENT, C.; CALDARELLI, S. Improved solid-state NMR quantifications of active principles in pharmaceutical formulations. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, Amsterdam, v. 47, n. 4-5, p. 683-687, 2008.
- 42 ARAUJO, G. L. B. D.; PITALUGA JR, A.; ANTONIO, S. G.; SANTOS, C. D. O. P.; MATOS, J. D. R. Polimorfismo na produção de medicamentos. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, São Paulo, v. 33, n. 1, p. 27-36, 2012.
- 43 STUEBER, D.; JEHLE, S. Quantitative component analysis of solid mixtures by analyzing time domain ¹H and ¹⁹F T1 saturation recovery curves (qSRC). **Journal of pharmaceutical sciences**, New York, v. 106, n. 7, p. 1828-1838, 2017.
- 44 STUEBER, DIRK; JEHLE, STEFAN. **Rapid quantification of components in solid mixtures of chemicals via time-domain NMR spectroscopy**. U.S. Patent Application n. 16/072,629, 31 jan. 2019.
- 45 GARWIN, R. L.; REICH, H. A. Self-diffusion and nuclear relaxation in He 3. **Physical Review**, College Park, v. 115, n. 6, p. 1478, 1959.

- 46 MARKLEY, JOHN L.; HORSLEY, WILLIAM J.; KLEIN, MELVIN P. Spin-lattice relaxation measurements in slowly relaxing complex spectra. **The Journal of Chemical Physics**, Melville, v. 55, n. 7, p. 3604-3605, 1971.
- 47 HERTLEIN, C.; SAALWÄCHTER, K.; STROBL, G. Low-field NMR studies of polymer crystallization kinetics: changes in the melt dynamics. **Polymer**, London, v. 47, n. 20, p. 7216-7221, 2006.
- 48 GRUNIN, L.; OZTOP, M. H.; GUNER, S.; BALTACI, S. F. Exploring the crystallinity of different powder sugars through solid echo and magic sandwich echo sequences. **Magnetic Resonance in Chemistry**, Oxford, p. 1-9, 2019.
- 49 STURNIOLO, S.; SAALWÄCHTER, K. Breakdown in the efficiency factor of the mixed magic sandwich echo: a novel NMR probe for slow motions. **Chemical Physics Letters**, Amsterdam, v. 516, n. 1-3, p. 106-110, 2011.
- 50 RÄNTZSCH, V.; HAAS, M.; ÖZEN, M. B.; RATZSCH, K. F.; RIAZI, K.; KAUFFMANN-WEISS, S.; PALACIOS, J. K.; MÜLLER, A. J.; VITTORIAS, I.; GUTHAUSEN, G.; WILHELM, M. Polymer crystallinity and crystallization kinetics via benchtop ¹H NMR relaxometry: revisited method, data analysis, and experiments on common polymers. **Polymer**, London, v. 145, p. 162-173, 2018.
- 51 MAUS, A.; HERTLEIN, C.; SAALWÄCHTER, K. A robust proton NMR method to investigate hard/soft ratios, crystallinity, and component mobility in polymers. **Macromolecular Chemistry and Physics**, Weinheim, v. 207, n. 13, p. 1150-1158, 2006.
- 52 SCHÄLER, K.; OSTAS, E.; SCHRÖTER, K.; THURN-ALBRECHT, T.; BINDER, W. H.; SAALWÄCHTER, K. Influence of chain topology on polymer dynamics and crystallization. Investigation of linear and cyclic poly (ε-caprolactone) s by ¹H solid-state NMR methods. **Macromolecules**, Washington, v. 44, n. 8, p. 2743-2754, 2011.
- 53 CUCINELLI, R. N.; BRUNO, M. T. Proton NMR relaxometry as probe of gelatinization, plasticization and montmorillonite-loading effects on starch-based materials. **Carbohydrate Polymers**, Kidlington, v. 182, p. 123-131, 2018.
- 54 SAALWÄCHTER, K. Microstructure and molecular dynamics of elastomers as studied by advanced low-resolution nuclear magnetic resonance methods. **Rubber Chemistry and Technology**, Akron, v. 85, n. 3, p. 350-386, 2012.

55 PAPON, A.; SAALWÄCHTER, K.; SCHÄLER, K.; GUY, L.; LEQUEUX, F., & MONTES, H. Low-field NMR investigations of nanocomposites: polymer dynamics and network effects. **Macromolecules**, Washington, v. 44, n. 4, p. 913-922, 2011.

56 BÄRENWALD, R., CHAMPOURET, Y., SAALWÄCHTER, K., & SCHÄLER, K. Determination of chain flip rates in poly (ethylene) crystallites by solid-state low-field ^1H NMR for two different sample morphologies. **The Journal of Physical Chemistry B**, Washington, v. 116, n. 43, p. 13089-13097, 2012.

57 ABRAGAM, A.; ABRAGAM, A. **The principles of nuclear magnetism**. Oxford: Oxford University Press, 1961.

58 ISO. **Animal and vegetable fats and oil – determination of solid fat content by pulsed NMR – Part 1: direct method**. Geneva, 2008. Disponível em: <https://www.iso.org/standard/41256.html>. Acesso em: 09 ago. 2019.

59 TECHNOLOGY FOR MAGNETIC RESONANCE. **$T_{1\rho}$ measurements**: general application. Houston, 2017. Disponível em: <http://www.tecmag.com/mt-content/uploads/2017/10/t1rho.pdf>. Acesso em 09 ago. 2019.

60 GRÖHN, H. **A study of T_1 rho relaxation**: from relaxation mechanisms to the magnetic resonance imaging contrast. 2003. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Naturais e Meio Ambiente, Universidade de Kuopio, Kuopio, 2003.

61 DUER, M. J. **Solid state NMR spectroscopy**. London: Blackwell Science, 2002. v. 10.

62 LOOK, D. C.; LOCKER, D. R. Nuclear spin-lattice relaxation measurements by tone-burst modulation. **Physical Review Letters**, College Park, v. 20, n. 18, p. 987, 1968.

63 HAEBERLEN, U.; WAUGH, J. S. Coherent averaging effects in magnetic resonance. **Physical Review**, College Park, v. 175, n. 2, p. 453, 1968.

64 HAEBERLEN, U. **High resolution NMR in solids selective averaging**: supplement 1 advances in magnetic resonance. Burlington: Elsevier, 2012.

65 BULJUBASICH, L., SÁNCHEZ, C. M., DENTE, A. D., LEVSTEIN, P. R., CHATTAH, A. K.; PASTAWSKI, H. M. Experimental quantification of decoherence via the Loschmidt echo in a many spin system with scaled dipolar Hamiltonians. **The Journal of Chemical Physics**, Melville, v. 143, n. 16, 2015.

- 66 JALABERT, RODOLFO A.; PASTAWSKI, HORACIO M. Environment-independent decoherence rate in classically chaotic systems. **Physical Review Letters**, College Park, v. 86, n. 12, p. 2490, 2001.
- 67 SÁNCHEZ, C. M., LEVSTEIN, P. R., BULJUBASICH, L., PASTAWSKI, H. M., & CHATTAH, A. K. Quantum dynamics of excitations and decoherence in many-spin systems detected with Loschmidt echoes: its relation to their spreading through the Hilbert space. **Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences**, London, v. 374, n. 2069, 2016.
- 68 HARDIS, R. **Cure kinetics characterization and monitoring of an epoxy resin for thick composite structures**. 2012. 55 f. Graduate Theses and Dissertations (Master of Science) – Iowa State University, Ames, 2012.
- 69 GHAEMY, M.; BARGHAMADI, M.; BEHMADI, H. Cure kinetics of epoxy resin and aromatic diamines. **Journal of Applied Polymer Science**, Hoboken, v. 94, n. 3, p. 1049-1056, 2004.
- 70 COSTA, M. L.; REZENDE, M. C.; PARDINI, L. C. Métodos de estudo da cinética de cura de resinas epóxi. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, São Carlos, v. 9, n. 2, p. 37-44, 1999.
- 71 ANDERSON, P. W.; WEISS, P. R. Exchange narrowing in paramagnetic resonance. **Reviews of Modern Physics**, College Park, v. 25, n. 1, p. 269, 1953.
- 72 TURI, E. **Thermal characterization of polymeric materials**. Amsterdam: Elsevier, 1981.
- 73 RODRIGUES, M. R. A. **Estudo da reação de cura da resina epoxi (araldite) com anidrido ftálico e trietilamina como iniciador**. 1992. 112 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1992.
- 74 PRETO, M. S. M.; TAVARES, M. I. B.; SEBASTIÃO, P. J. O. Caracterização dos constituintes poliméricos da Maytenusilicifolia por relaxação nuclear de ¹H por RMN no Estado Sólido. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, São Carlos, v. 21, n. 5, p. 416-420, 2011.
- 75 RONDEAU-MOURO, C. Disponível em: <https://scholar.google.com.br/citations?hl=pt-BR&user=HXdQn0YAAAAJ>. Acessado em: 09 ago. 2019.
- 76 RONDEAU-MOURO, C., KOVRLIJA, R., VAN STEENBERGE, E.; MOUSSAOUI, S. Two dimensional IR-FID-CPMG acquisition and adaptation of a maximum entropy reconstruction. **Journal of Magnetic Resonance**, Maryland Heights, v. 265, p. 16-24, 2016.

77 GOLDMAN, M.; SHEN, L. Spin-spin relaxation in LaF_3 . **Physical Review**, College Park, v. 144, n. 1, p. 321, 1966.

78 ZHANG, S.; MEHRING, M. A modified Goldman-Shen NMR pulse sequence. **Chemical Physics Letters**, Amsterdam, v. 160, n. 5-6, p. 644-646, 1989.

79 MELLINGER, F.; WILHELM, M.; SPIESS, H. W. Calibration of ^1H NMR spin diffusion coefficients for mobile polymers through transverse relaxation measurements. **Macromolecules**, Washington, v. 32, n. 14, p. 4686-4691, 1999.

80 SCHÄLER, K.; ROOS, M.; MICKE, P.; GOLITSYN, Y.; SEIDLITZ, A.; THURN-ALBRECHT, T.; SCHNEIDER, H.; HEMPEL, G.; SAALWÄCHTER, K. Basic principles of static proton low-resolution spin diffusion NMR in nano phase-separated materials with mobility contrast. **Solid State Nuclear Magnetic Resonance**, London, v. 72, p. 50-63, 2015.

81 MAURI, M.; THOMANN, Y.; SCHNEIDER, H.; SAALWÄCHTER, K. Spin-diffusion NMR at low field for the study of multiphase solids. **Solid State Nuclear Magnetic Resonance**, London, v. 34, p. 125-141, 2008.

82 BUDA, A.; DEMCO, D. E.; BERTMER, M.; BLÜMICH, B.; REINING, B.; KEUL, H.; HÖCKER, H. Domain sizes in heterogeneous polymers by spin diffusion using single-quantum and double-quantum dipolar filters. **Solid State Nuclear Magnetic Resonance**, London, v. 24, n. 1, p. 39-67, 2003.

83 FILGUEIRAS, J. G.; DA SILVA, U. B.; PARO, G.; D'EURYDICE, M. N.; COBO, M. F.; DE AZEVEDO, E. R. Dipolar filtered magic-sandwich-echoes as a tool for probing molecular motions using time domain NMR. **Journal of Magnetic Resonance**, London, v. 285, p. 47-54, 2017.

84 ADAMS, A. Analysis of solid technical polymers by compact NMR. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, Amsterdam, v. 83, p. 107-119, 2016.

85 CHANDRAKUMAR, N. 1D double quantum filter NMR studies. **Annual Reports on NMR Spectroscopy**, Maryland Heights, v. 67, p. 265-329, 2009.

86 BLOISE, A.C.; DE AZEVEDO, E. R.; COSSIELLO, R. F.; BIANCHI, R. F.; BALOGH, D. T.; FARIA, R. M.; ATVARIS, T. D. Z.; BONAGAMBA, T. J. Solid-state nuclear magnetic resonance

study of relaxation processes in MEH-PPV. **Physical Review B**, College Park, v. 71, n. 17, p. 174202-1, 2005.

87 SOUZA, A. A.; COSSIELLO, R.F.; PLIVELIC, T. S.; MANTOVANI, G. L.; FARIA, G. C.; ATVARIS, T.D.Z.; TORRIANI, I. L.; BONAGAMBA, T.J.; DE AZEVEDO, E. R. Temperature dependence of molecular dynamics and supramolecular aggregation in MEH-PPV films: a solid-state NMR, X-ray and fluorescence spectroscopy study. **European Polymer Journal**, Kidlington, v. 44, n. 12, p. 4063-4073, 2008.

88 OSTI, N. C.; MAMONTOV, E.; DAEMEN, L.; BROWNING, J. F.; KEUM, J.; HO, H. C.; CHEN, J.; HONG, K.; DIALLO, S. O. Side chain dynamics in semiconducting polymer MEH-PPV. **Journal of Applied Polymer Science**, Hoboken, v. 136, n. 14, p. 47394, 2019.

89 KIM, J. Y.; FRISBIE, C. D. Correlation of phase behavior and charge transport in conjugated polymer/fullerene blends. **The Journal of Physical Chemistry C**, Washington, v. 112, n. 45, p. 17726-17736, 2008.

90 ZHAO, J.; BERTHO, S.; VANDERNBERGH, J.; ASSCHE, G.V.; MANCA, J.; VANDERZANDE, D.; YIN, A.; SHI, J.; CLEIJ, T.; LUTSEN, L.; VAN MELE, B. Phase behavior of PCBM blends with different conjugated polymers. **Physical Chemistry Chemical Physics**, Cambridge, v. 13, n. 26, p. 12285-12292, 2011.

91 PAPON, A; MONTES, H; HANAFI, M; LEQUEUX, F; GUY, L; SAALWÄCHTER, K. Glass-transition temperature gradient in nanocomposites: evidence from nuclear magnetic resonance and differential scanning calorimetry. **Physical Review Letters**, College Park, v. 108, n. 6, p. 065702, 2012.

92 CHEN, S.-H.; SU, A.-C.; HUANG, Y.-F.; SU, C.-H.; PENG, G.-Y.; CHEN, S.-A. Supramolecular aggregation in bulk poly (2-methoxy-5-(2'-ethylhexyloxy)-1, 4-phenylenevinylene). **Macromolecules**, Washington, v. 35, n. 11, p. 4229-4232, 2002.

93 JENG, U.; HSU, C.-H.; SHEU, H.S.; LEE, H.-Y.; INIGO, A. R.; CHIU, H. C.; FANN, W. S.; CHEN, S. H.; SU, A. C.; LIN, T.-L.; PENG, K.Y.; CHEN, S. A. Morphology and charge transport in poly (2-methoxy-5-(2'-ethylhexyloxy)-1, 4-phenylenevinylene) films. **Macromolecules**, Washington, v. 38, n. 15, p. 6566-6574, 2005.

94 AOCS OFFICIAL METHOD CD 16B-93. **Solid fat content (SFC) by low-resolution nuclear magnetic resonance, direct method**. Urbana, 1999.