UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE FÍSICA DE SÃO CARLOS
DEPARTAMENTO DE FÍSICA E INFORMÁTICA

ESPECTRÔMETRO PARA A TRANSFERÊNCIA
DE POLARIZAÇÃO ELÉTRON-NÚCLEO
(EFEITO OVERHAUSER)

Clovis Isberto Biscegli

Tese apresentada ao Instituto de Física
de São Carlos, Universidade de São Paulo,
para a obtenção do título de Doutor em
Ciências: "Física Aplicada"

Orientador: Prof. Dr. Cláudio José Magon

SÃO CARLOS - 1994

**IFSC UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO**
Instituto de Física e Química de São Carlos

Fone (0162) 72-6222
Fax (0162) 72-2218

Av. Dr. Carlos Botelho, 1465
Caixa Postal 369
CEP 13560.970 - São Carlos - SP
Brasil

MEMBROS DA COMISSÃO JULGADORA DA TESE DE DOUTORADO DE CLÓVIS IEDRÉO DIACCEGLI APRESENTADA AO
INSTITUTO DE FÍSICA E QUÍMICA DE SÃO CARLOS, DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, EM 24/05/1994

COMISSÃO JULGADORA:

Claudio José Magor

Prof. Dr. Claudio José Magor

Edson Eduardo Barberis

Prof. Dr. Edson Eduardo Barberis

José Carlos Sartori

Prof. Dr. José Carlos Sartori

Alvaro Garcia Neto

Prof. Dr. Alvaro Garcia Neto

Cláudio Rangel Nascimento

Prof. Dr. Cláudio Rangel Nascimento

A G R A D E C I M E N T O S

* Ao Prof. Dr. Cláudio J. Magon, pela orientação deste trabalho, por sua amizade, dedicação, apoio e por me ajudar a transpor desafios.

* Ao Dr. Luiz A. Colnago, pela sugestão do tema desta tese e pelas valiosas discussões.

* Ao Prof. Dr. Horacio A. Panepucci, por me receber em seu grupo e pelo incentivo.

* Ao Dr. Silvio Crestana, pela confiança, amizade e estímulo constantes.

* Ao Prof. Dr. Sérgio Mascarenhas, pela orientação da primeira etapa do meu programa de doutorado, pelo apoio e por sua amizade de muitos anos.

* Aos colegas do CNPDIA/EMBRAPA, pesquisadores, secretárias, bibliotecárias, técnicos e demais funcionários, pela colaboração, incentivo e apoio.

* Aos Profs. Drs. Alberto Tannus e Tito J. Bonagamba, pelas sugestões e discussões durante a execução deste trabalho.

* Aos Engs. Mateus J. Martins e Edson L. G. Vidotto pelas valiosas sugestões, pela boa vontade e disposição em me ajudar.

* Aos técnicos de apoio do grupo de Ressonância Magnética, professores, secretárias, bibliotecárias e aos demais funcionários do IFQSC-USP, pela colaboração.

* Aos colegas de pós-graduação, Ruberley R. de Souza, Paulo H. de Souza, Sérgio C. Saab, Marco A. O. Pagano e Pedro L. Frare Jr., pela convivência, amizade e apoio.

* Aos meus pais, esposa e filhos que sempre me incentivaram, proporcionando um convívio familiar harmônico e fraternal.

* À todas as pessoas que de alguma forma colaboraram para a realização desta tese, mas que não estão explicitamente citadas.

* Às Instituições, IFQSC-USP, CNPQ, FAPESP, FINEP, PADCT e EMBRAPA, pelos subsídios necessários à realização deste trabalho.

Os elementos fundamentais, através de cuja negação ou afirmação a alma chega ao conhecimento da verdade, são cinco: a experiência prática, a investigação científica, o princípio ético, a sabedoria filosófica e a razão intuitiva. Exclui-se a conjectura, isto é, a mera suposição, porque pode enganar-nos.

(Aristóteles, 384-322 a.C. - A Ética de Nicômacos)

*Dedico este trabalho a meus
pais, minha esposa e meus
filhos.*

S U M Á R I O

LISTA DE FIGURAS

RESUMO

ABSTRACT

CAPÍTULO I: INTRODUÇÃO	1
1.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS	1
1.2 RESSONÂNCIA DUPLA	3
1.3 MOTIVAÇÃO E OBJETIVOS DESTA TESE	4
1.3.1 MOTIVAÇÃO	4
1.3.2 OBJETIVOS	4
1.4 ORGANIZAÇÃO DA TESE	5
1.5 CONTRIBUIÇÕES	6
CAPÍTULO II: TEORIA DE RMN, RPE E DNP	8
2.1 INTRODUÇÃO	8
2.2 PRINCÍPIOS BÁSICOS DE RMN	8
2.2.1 TÉCNICA DE RMN PULSADA	11
2.2.2 EQUILÍBRIO TÉRMICO E RELAXAÇÃO	15
2.3 TEORIA SIMPLES DE RPE	23
2.4 TEORIA DE DNP	26
2.4.1 CONCEITOS GERAIS	26
2.4.2 EFEITO OVERHAUSER	27
CAPÍTULO III: MATERIAIS E MÉTODOS	43
3.1 INTRODUÇÃO	43
3.2 ESPECTRÔMETRO DE RMN	43
3.3 ESPECTRÔMETRO DE RPE	56
3.3.1 " PIN MODULATORS "	59
3.3.2 GERADOR DE PULSOS PARA OS MODULADORES	60
3.4 CAVIDADE DE RPE	61
3.5 CABEÇOTE PARA DNP	67
3.6 AMPLIFICADOR DE POTÊNCIA E BOBINAS DE MODULAÇÃO	71
3.7 SISTEMA DE AQUISIÇÃO DE DADOS	73
3.8 CONTROLE DO MOTOR DE PASSOS	76
3.9 BOBINAS DE GRADIENTE	80
3.10 AMOSTRA	80

3.10.1 PREPARAÇÃO	83
3.10.2 SUPORTE	84
3.10.3 DETERMINAÇÃO DO NÚMERO DE SPINS	85
3.11 REALIZAÇÃO DOS EXPERIMENTOS	88
3.11.1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS	88
3.11.2 POSIÇÃO DO PULSO DE RF	92
CAPÍTULO IV: GERAÇÃO DE IMAGEM POR RETROPROJEÇÃO E	
"SOFTWARES"	96
4.1 INTRODUÇÃO	96
4.2 O MÉTODO DE RETROPROJEÇÃO	96
4.2.1 GRADIENTE DE CAMPO MAGNÉTICO	97
4.2.2 GERAÇÃO DA IMAGEM	98
4.2.3 TRATAMENTO MATEMÁTICO	101
4.3 PROGRAMA DE CONTROLE DO ESPECTRÔMETRO DE RMN E	
AQUISIÇÃO DE DADOS	107
4.4 PROGRAMA DE GERAÇÃO DE IMAGENS PELO MÉTODO DE	
RETROPROJEÇÃO FILTRADA	111
CAPÍTULO V: RESULTADOS	115
5.1 INTRODUÇÃO	115
5.2 COMPROVAÇÃO DO AUMENTO NO SINAL DE RMN	115
5.3 IMAGENS OBTIDAS	121
CAPÍTULO VI: DISCUSSÃO DOS RESULTADOS E CONCLUSÕES	127
6.1 DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	127
6.2 CONCLUSÕES	130
6.3 SUGESTÕES	131
APÊNDICE I: PROGRAMA DE CONTROLE DO ESPECTRÔMETRO DE RMN E	
AQUISIÇÃO DE DADOS	133
APÊNDICE II: PROGRAMA DE GERAÇÃO DE IMAGENS PELO MÉTODO DE	
RETROPROJEÇÃO FILTRADA	147
APÊNDICE III: ESQUEMA ELETRÔNICO DO SISTEMA DE AQUISIÇÃO	156
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	157

L I S T A D E F I G U R A S

FIGURA 2.1	Diagrama de energia para o próton no campo magnético.	10
FIGURA 2.2	Sinal de RMN ("Free Induction Decay" - FID).	15
FIGURA 2.3	Níveis de energia e populações para o sistema homonuclear IS.	28
FIGURA 2.4	Transições entre os níveis de energia que podem estar envolvidas na relaxação do sistema.	30
FIGURA 2.5	Populações dos níveis imediatamente após a saturação das transições S.	31
FIGURA 2.6	Direção inicial da relaxação cruzada após a saturação das transições S.	33
FIGURA 2.7	Níveis de energia para o sistema de dois spins.	35
FIGURA 3.1	Diagrama de blocos do espectrômetro de RMN pulsado.	45
FIGURA 3.2	Circuito eletrônico do transmissor de RF pulsado.	47
FIGURA 3.3	Circuito eletrônico do receptor em fase e quadratura.	48
FIGURA 3.4	Circuito tanque com acoplamento capacitivo.	52
FIGURA 3.5	Sintonia do circuito tanque.	53
FIGURA 3.6	Divisor de potência e ligação com cabo de $\lambda/4$.	54
FIGURA 3.7	Espectrômetro de RPE de banda-X.	57
FIGURA 3.8	Gerador de pulsos para os moduladores.	62
FIGURA 3.9	Sequência de pulsos usada nos experimentos de DNP.	63
FIGURA 3.10	Partes principais da cavidade de RPE.	65
FIGURA 3.11	Partes da cavidade de RPE (cont.).	66
FIGURA 3.12	Cavidade de RPE com acoplamento e frequência ajustáveis.	66
FIGURA 3.13	Espectro de RPE do DPPH.	67
FIGURA 3.14	Espectro de RPE do TEMPOL.	68
FIGURA 3.15	Amplitude do sinal de RPE em relação ao centro da cavidade.	69
FIGURA 3.16	Cabeçotes para DNP.	70
FIGURA 3.17	Amplificador de áudio.	72
FIGURA 3.18	Sinal de RPE do DPPH em função do ganho do amplificador de potência.	73
FIGURA 3.19	Diagrama de blocos do sistema de aquisição para RMN.	74

FIGURA 3.20	Diagrama de blocos do circuito de controle do motor de passos.	77
FIGURA 3.21	Circuito do controle do motor de passos.	78
FIGURA 3.22	Circuito do controle do motor de passos (cont.).	79
FIGURA 3.23	Desenho esquemático da cavidade e motor de passos no eletroimã.	81
FIGURA 3.24	Desenho das bobinas de gradiente.	82
FIGURA 3.25	Nitróxidos TEMPOL e PCA.	83
FIGURA 3.26	Tubo de quartzo com dois capilares dentro - vista longitudinal.	84
FIGURA 3.27	Tubo de quartzo com dois capilares dentro - vista transversal.	85
FIGURA 3.28	Tubo de quartzo com capilar fora do centro.	85
FIGURA 3.29	Amostra dentro da cavidade de RPE.	86
FIGURA 3.30	Espectros de RPE do rubi e do "pitch".	89
FIGURA 3.31	Espectros de RPE do rubi e do TEMPOL.	90
FIGURA 3.32	Posição do pulso de RF em relação à microonda.	93
FIGURA 3.33	Amplitude do sinal de RMN em função da posição do pulso de RF.	93
FIGURA 3.34	Diagrama de blocos da montagem completa do espectrômetro de DNP.	95
FIGURA 4.1	Gradiente de campo.	98
FIGURA 4.2	Projeção de dois tubos com água.	99
FIGURA 4.3	Reconstrução da imagem pelo método de retroprojeção.	100
FIGURA 4.4	a) Gradiente G_ϕ , definição de r ao longo da direção do gradiente; b) demonstração da relação entre x , y , r e ϕ .	104
FIGURA 4.5	Fluxograma do programa RMN.	108
FIGURA 4.6	Imagem gerada sem pós-processamento.	114
FIGURA 5.1	Sinal de RMN sem irradiação com microonda.	116
FIGURA 5.2	Sinal de RMN irradiado com microonda.	117
FIGURA 5.3	FID com gradiente e sem irradiação.	118
FIGURA 5.4	FID com gradiente e irradiado.	118
FIGURA 5.5	FID para dois capilares sem irradiação.	119
FIGURA 5.6	FID para dois capilares com irradiação.	120
FIGURA 5.7	FID para dois tubos à 90° em relação ao gradiente.	121

FIGURA 5.8	Imagem dos capilares sem irradiação com microonda.	122
FIGURA 5.9	Imagem do tubo vazio fora do centro.	123
FIGURA 5.10	Imagem com Efeito Overhauser.	123
FIGURA 5.11	Inversão de fase do FID devido à irradiação.	124
FIGURA 5.12	Imagens obtidas usando o Efeito Overhauser.	126

R E S U M O

Este trabalho apresenta os detalhes da construção de um espectrômetro para a realização de experimentos de transferência de polarização elétron-núcleo (Efeito Overhauser). São também mostrados: as implementações e modificações feitas no espectrômetro de RPE existente no Laboratório de Ressonância Magnética do DFCM, os circuitos para a construção de um equipamento de RMN para operar de forma pulsado na frequência fixa de 14 MHz, os desenhos da cavidade de RPE construída para a banda-X ($\sim 9,2$ GHz), os "softwares" modificados e desenvolvidos para aquisição de dados, tratamento e reconstrução de imagens. São apresentados os resultados do aumento do sinal de RMN e as imagens obtidas através da Tomografia de Ressonância Magnética, usando amostras menores do que 1 mm de diâmetro (volume $\sim 10 \mu\text{l}$), a uma concentração de 2,2 mM de TEMPOL dissolvido em água destilada.

A B S T R A C T

This work describes in details the arrangements that must be accomplished for development of a spectrometer for Dynamic Nuclear Polarization - DNP (Overhauser Effect). Also, the construction project of a 14 MHz pulsed NMR spectrometer and drawings of a home made EPR cavity for X-band ($\sim 9,2$ GHz) are shown. The DNP probe built for the experiments and modifications done on the EPR spectrometer existing at Laboratory of Magnetic Resonance are discussed in detail. Results on the enhancement of the NMR signal due electron-proton dynamic interactions are presented. NMR imaging of very small objects, 1 mm diameter glass tube filled with 5 ~ 10 μ l of 2,2 mM of free radicals (TEMPOL) solution, obtained through backprojection reconstruction NMR tomography method, are presented.

CAPÍTULO I: INTRODUÇÃO

1.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Desde 1953 quando A. W. Overhauser previu teoricamente a possibilidade da transferência de polarização elétron-núcleo e que tal fato poderia resultar num aumento significativo da amplitude do sinal de Ressonância Magnética Nuclear (RMN), inúmeras aplicações surgiram em física, química e mais recentemente em medicina com o advento da Tomografia de Ressonância Magnética (TORM) ⁽¹⁾.

O enorme avanço tecnológico em dispositivos semicondutores, novos materiais e componentes eletrônicos permitiu o uso do agora conhecido Efeito Overhauser em pesquisa, desenvolvimento e aplicações antes dificultadas por falta de equipamentos adequados.

A realização experimental do Efeito Overhauser em solução, por exemplo, requer a irradiação do soluto paramagnético para saturar a transição eletrônica, enquanto se observa as variações do sinal de RMN do solvente. Dramáticos aumentos na amplitude do sinal de RMN, que chegam a várias ordens de grandeza, podem ser obtidos.

Em 1956 foi realizado um clássico experimento para a verificação da transferência de polarização elétron-núcleo (também denominada "Dynamic Nuclear Polarization - DNP") usando Lítio e Sódio metálicos dissolvidos em amônia líquida anidro. Aumentos na amplitude do sinal de RMN de 110 vezes para o Lítio e 10 vezes para o Sódio foram obtidos ⁽²⁾.

Recentemente, muitos trabalhos na literatura mostram um número crescente de outros usos da técnica de DNP, principalmente em Tomografia de Ressonância Magnética. Entre 1988 e 1992 um grupo de pesquisadores ingleses publicou uma série de trabalhos com diferentes aplicações de DNP ⁽³⁻⁸⁾. Imagens de radicais livres em solução, imagens *in vivo* de radicais livres injetados em ratos, imagens *in vivo* de radicais exógenos e endógenos oriundos de certas

patologias como câncer, doenças inflamatórias e do coração foram objetos de estudo. Outro trabalho realizado na França também estuda o diagnóstico de algumas doenças em ratos através da imagem de radicais livres injetados usando a técnica de DNP⁽⁹⁾.

Aplicações da TORM em problemas agropecuários, meios porosos e ciência do solo despertam o interesse de pesquisadores e cientistas em várias partes do mundo e abrem um novo cenário de oportunidades de pesquisa. Trabalhos recentes realizados por pesquisadores da EMBRAPA/CNPq⁽¹⁴⁻²⁷⁾ sobre o uso da TORM em fluxo preferencial e infiltração de água no solo, estudo da frente de congelamento em solos e microscopia de RMN como ferramenta de investigação de fluxo preferencial em 3-D confirmam a enorme potencialidade da técnica.

Um dos principais objetivos da TORM é a obtenção de imagens com qualidade cada vez melhor, com maior resolução e contraste. Muitas inovações tecnológicas têm sido introduzidas visando atingir esses objetivos. Pesquisadores e fabricantes têm desenhado novos ímãs supercondutores com alta homogeneidade de campo, têm alterado a geometria das bobinas de gradiente e de excitação/recepção e têm desenvolvido sofisticados softwares para aquisição e tratamento de dados e para reconstrução de imagens⁽⁴⁸⁻⁵¹⁾. A técnica de transferência de polarização elétron-núcleo^(3,10) se apresenta como uma alternativa que pode contribuir para melhorar significativamente a relação sinal/ruído do sinal de RMN, principalmente na obtenção de imagens de objetos da ordem de milímetros. O ganho de sensibilidade teórico da técnica de DNP é de 659 vezes⁽¹¹⁾ e está relacionado com a razão $g\beta/g_n\beta_n$ do elétron-hidrogênio. Porém, na prática, ganhos acima de 400 vezes⁽¹¹⁾ não são ainda obtidos, devido principalmente à largura dos espectros de Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE) que impede a total saturação da transição eletrônica. Uma das dificuldades práticas é a grande diferença entre as frequências de absorção dos elétrons (GHz) - núcleos (MHz) que é de quase mil vezes. Isto obriga o desenho do cabeçote ("probe") para DNP ter tecnologia tanto para

radiofrequência quanto para microondas.

Outro problema encontrado na técnica de DNP está na operação do espectrômetro de RPE na banda-X. Amostras em solução aquosa sofrem absorção de energia da microonda pela água, provocando o seu aquecimento e até evaporação. O presente trabalho apresenta uma alternativa para esse problema, possibilitando a operação simultânea dos dois espectrômetros e sem causar o aquecimento da amostra conforme será detalhadamente mostrado nos capítulos seguintes.

Nesse sentido, outro grupo de pesquisadores americanos⁽¹⁰⁾ apresenta uma proposta versátil de um espectrômetro para RPE, DNP e RMN de alta resolução multinuclear.

1.2 RESSONÂNCIA DUPLA

Por que ressonância dupla e por que usá-la? Um dos mais importantes desenvolvimentos ocorridos após o surgimento do conceito de ressonância magnética é a assim chamada ressonância dupla, na qual, por exemplo, a transição da ressonância paramagnética eletrônica é excitada enquanto se observa simultaneamente o sinal da ressonância magnética nuclear. Há muitas razões para se fazer ressonância dupla: polarização nuclear, aumento na sensibilidade, simplificação de espectros, geração de radiação coerente (lasers e masers), decifrar espectros complexos, características físicas do movimento molecular, acoplamento hiperfino, interações intermoleculares, estrutura de soluções com radicais livres entre parceiros marcados entre outras⁽¹³⁾.

O cap. 7 da referência 12 apresenta de forma didática, uma discussão detalhada sobre o assunto proporcionando uma melhor compreensão dos conceitos e inovações introduzidas para o entendimento da ressonância dupla.

1.3 MOTIVAÇÃO E OBJETIVOS DESTA TESE

1.3.1 MOTIVAÇÃO

São muitos os motivos que levaram a realização do presente trabalho:

- Possibilidades de obtenção de imagens de pequenos objetos via TORM, (da ordem de 0,1 mm) aproveitando o aumento da amplitude do sinal de RMN devido à transferência de polarização elétron-núcleo (microscopia de RMN).

- Em ciência do solo existem hoje enormes desafios no estudo da estrutura interna, textura, morfologia, movimento de líquidos em diferentes solos sob diferentes condições e desenvolvimento de raízes entre outros, os quais podem ser feitos através da espectroscopia de RMN e TORM. Em agropecuária para o estudo da estrutura interna de sementes e raízes irradiadas com raios-X para a produção de radicais livres.

- O estudo da estrutura interna de órgãos de pequenos animais, nos quais foram injetados marcadores paramagnéticos, visando o diagnóstico precoce de algumas patologias e a localização de radicais livres gerados por certas doenças.

- A possibilidade de aprender, modificar e desenvolver novos softwares, algoritmos e técnicas de aquisição e reconstrução de imagens geradas por TORM.

- Futura instalação e implementação no CNPDIA/EMBRAPA (S. Carlos - SP) de equipamento de TORM visando a pesquisa e o desenvolvimento de técnicas e métodos de obtenção de imagens de TORM aplicadas a sementes, raízes, solos, plantas, folhas, frutas e pequenos animais.

1.3.2 OBJETIVOS

- Desenvolver, construir e implementar um espectrômetro para a realização de experimentos que envolvem a transferência de

polarização elétron-núcleo (Efeito Overhauser), aproveitando a experiência e a comprovada competência do grupo de ressonância magnética do IFQSC-USP, na construção de equipamentos, na geração e obtenção de imagens por tomografia de ressonância magnética nuclear⁽²⁸⁻³⁴⁾ e a tradição em trabalhar com RPE e RMN⁽³⁵⁻⁴⁰⁾.

- Utilizar para esse desenvolvimento essencialmente a infraestrutura do espectrômetro de RPE de banda-X existente.

- Gerar e obter imagens de pequenos objetos da ordem de milímetros.

- Dominar a técnica e a tecnologia de experimentos de DNP.

- Mostrar a viabilidade da realização de experimentos que levem a microscopia de RMN.

1.4 ORGANIZAÇÃO DA TESE

A presente tese está assim organizada:

O Capítulo I trata da introdução ao assunto, os fatos históricos, a revisão da literatura, o atual estado da arte relativos ao tema do trabalho, a motivação, a organização, objetivos e contribuições.

No Capítulo II estão desenvolvidos os conceitos físicos e matemáticos relativos à teoria de RMN, de RPE, Efeito Overhauser, DNP, relaxação e suas aplicações diretamente ligadas aos objetivos desta tese.

Os materiais e métodos usados, a realização dos experimentos, o desenvolvimento, construção e funcionamento dos equipamentos, os diagramas e circuitos eletrônicos, as montagens, modificações e funcionamento dos espectrômetros, os desenhos da cavidade de RPE e do cabeçote para DNP e a preparação de amostras estão detalhadamente mostrados no Capítulo III.

O Capítulo IV descreve a TORM, o método de retroprojeção⁽⁴⁶⁾ e os "softwares" de aquisição e de reconstrução de imagens.

Estão mostradas no Capítulo V as imagens obtidas e os resultados sobre o aumento do sinal de RMN devido à transferência

de polarização elétron-núcleo, os quais foram os objetivos do presente trabalho.

No Capítulo VI é feita uma discussão dos resultados e as conclusões são apresentadas. Também são listadas as sugestões para trabalhos futuros.

No Apêndice I está a listagem do programa de controle do espectrômetro de RMN e aquisição de dados usado na presente tese.

No Apêndice II está a listagem do programa de geração de imagens pelo método de retroprojeção filtrada.

O Apêndice III mostra o circuito eletrônico completo do sistema de aquisição, controle e visualização de dados para RMN.

Todas as dificuldades encontradas durante a realização do trabalho estão mencionadas nos respectivos tópicos onde elas surgiram.

1.5 CONTRIBUIÇÕES

As principais contribuições desta tese são:

- Construção do espectrômetro de RMN pulsado operando na frequência fixa de 14 MHz, com largura e duração de pulsos ajustáveis, com pulsos de $\pi/2$ e π sincronizados, podendo os ajustes serem feitos analogicamente no próprio aparelho ou remotamente via interface com microcomputador.
- Construção de cavidade de RPE para a banda-X, com frequência e acoplamento ajustáveis^(41,42).
- Construção do cabeçote para DNP colocado transversalmente no centro da cavidade de RPE⁽⁴³⁾.
- Montagem e modificações no espectrômetro de RPE para operar no modo super-heterodino e com a introdução de dois "PIN MODULATORS" para pulsar a microonda⁽⁴⁴⁾.
- Construção de circuito gerador de pulsos com atraso e duração ajustáveis para sincronizar os pulsos de $\pi/2$ do espectrômetro de RMN e os pulsos de microondas com o sistema de aquisição.

- Modificações e adaptação de interface para microcomputador para aquisição automática de dados, com dois canais analógicos com A/D de 12 bits⁽⁴⁵⁾.

- Modificações e adaptação de softwares para aquisição automática de dados, para o processamento e reconstrução de imagens via microcomputador e desenvolvimento de novos softwares para tratamento de dados.

- Realização de experimentos para a transferência de polarização elétron-núcleo (DNP) mostrando efetivo aumento na amplitude do sinal de RMN devido à irradiação da amostra com microondas e posterior obtenção de imagens de objetos da ordem 1 milímetro.

CAPÍTULO II: TEORIA DE RMN, RPE E DNP

2.1 INTRODUÇÃO

A teoria sobre ressonância magnética nuclear (RMN), ressonância paramagnética eletrônica (RPE), transferência de polarização elétron-núcleo (DNP), os mecanismos de relaxação e interação e os princípios físicos envolvidos, foram objeto de trabalho de muitos pioneiros, existindo portanto uma vasta literatura publicada sobre o assunto^(11,12,47,60). Este capítulo apresenta de forma resumida, a descrição dos fenômenos, a nomenclatura, as equações e a abordagem matemática pertinentes.

2.2 PRINCÍPIOS BÁSICOS DE RMN

Todos os núcleos com número de massa ímpar possuem a propriedade de spin de momento angular escrito como $\vec{I}\hbar$. O valor de $\vec{I}$ é sempre um múltiplo ímpar inteiro de 1/2. Núcleos com isótopos cujo número é par, podem não apresentar spin se a carga nuclear for par, ou possuem spin inteiro $\vec{I}$ com valores 1, 2, 3, etc.

O fato do núcleo possuir tanto, spin quanto carga, lhe confere um momento magnético $\vec{\mu}_N$ o qual é proporcional à magnitude do spin, ou seja,

$$\vec{\mu}_N = \gamma_N \hbar \vec{I} = g_N \beta_N \vec{I} \quad (2.1)$$

onde γ_N é o fator giromagnético nuclear medido em $\text{rd s}^{-1} \text{G}^{-1}$, $\hbar$ é a constante de Planck dividida por 2π , g_N é uma constante adimensional denominada fator g nuclear e β_N é o magneton nuclear dado por $e \hbar / 2 M c$ (onde e e M são respectivamente a carga e a massa do próton e c a velocidade da luz).

Com relação a RMN, as quantidades g_N e $\vec{I}$ são importantes porque quando têm valores diferentes permitem a distinção entre um núcleo e outro.

A teoria quântica estabelece que os estados permitidos para o spin nuclear são quantizados, tal que a componente do spin nuclear m_I para qualquer direção, pode somente assumir um conjunto discretos de valores, dados por $+I, (I-1), \dots, -I$, onde m_I é chamado de número quântico de spin nuclear. Para o próton com $\vec{I} = 1/2$, m_I só pode tomar os valores $+1/2$ ou $-1/2$. Se um campo magnético estático uniforme $\vec{H}$ é aplicado sobre um próton, há uma interação entre o campo magnético e o momento magnético $\vec{\mu}_N$, representada pelo Hamiltoniano

$$\mathcal{H} = -\vec{\mu}_N \cdot \vec{H} \quad (2.2)$$

Se a direção do campo magnético é definida como direção z , então a interação pode ser escrita como

$$\mathcal{H} = -\gamma \hbar H_z I_z = -g_N \beta_N H_0 I_z \quad (2.3)$$

onde I_z representa os estados permitidos da componente na direção z do spin nuclear e pode ter os valores $+1/2$ ou $-1/2$, $H_z = H_0$ é a componente do campo na direção z . Essas possibilidades estão mostradas em termos do diagrama de níveis de energia na fig. 2.1.

As grandezas β_N e g_N são ambas positivas para o próton, portanto o nível $m_I = +1/2$ corresponde à situação na qual o campo magnético H_0 e o momento magnético nuclear são paralelos, para $m_I = -1/2$ são antiparalelos. Numa amostra macroscópica na qual o conjunto de prótons fica submetido a um campo magnético externo é esperado que alguns prótons estejam com spin $+1/2$ e outros com spin $-1/2$. Também se espera que essa distribuição de spins nos dois estados possíveis seja governada pela lei de Boltzmann, de tal modo que o número de spins $+1/2$, $N_{+1/2}$, dividido pelo número de spins $-1/2$, $N_{-1/2}$, seja igual a $e^{-\Delta E/KT}$, onde ΔE é a diferença de energia, dada por $g_N \beta_N H$, devido ao conhecido desdobramento Zeeman, K é a constante de Boltzmann e T a temperatura. Admitindo-se que esse sistema permaneça em equilíbrio térmico e sem entrar em detalhes sobre os mecanismos de relaxação, existe mais prótons nos estado $+1/2$ do que no $-1/2$.

Fig. 2.1 Diagrama de energia para o próton no campo magnético.

Para se induzir transições entre os dois níveis de spin nuclear, é necessário aplicar nesse sistema um campo eletromagnético alternado com energia $\Delta E = \hbar \omega = h \nu$. A absorção de energia ocorre desde que a direção do campo magnético alternado seja perpendicular à do campo magnético estático e que sua frequência ν satisfaça a condição de ressonância dada por⁽¹¹⁾

$$h \nu = g_N \beta_N H_0 \quad (2.4)$$

Esse campo alternado pode igualmente produzir transições do estado $+1/2$ para $-1/2$ ou do $-1/2$ para $+1/2$ e a absorção de energia da radiação do campo só pode ser detectada se existirem mais spins $+1/2$ do que $-1/2$.

A equação 2.4 mostra que pode-se observar absorção de ressonância nuclear variando-se a intensidade do campo magnético H_0 ou a frequência ν . Por razões práticas usualmente mantém-se a frequência fixa e varia-se a intensidade do campo magnético até atingir valores que satisfaçam a condição de ressonância, obtendo-

se assim um espectro de absorção de energia em função do campo magnético. Devido a diferentes valores do fator g nuclear e de spin, núcleos diferentes requerem diferentes valores para H_0 e ν para que a ressonância ocorra. Como exemplo, para o ^1H submetido a um campo de 10.000 G, a ressonância ocorre a uma frequência $\nu = 42,577$ MHz, isto é, na faixa de radiofrequência (RF).

2.2.1 TÉCNICA DE RMN PULSADA

A abordagem clássica do movimento de spins nucleares em um campo magnético proporciona uma melhor compreensão dos fenômenos e sua relação com os aspectos experimentais. Neste item este tratamento será usado para discutir brevemente a técnica de excitação/detecção de RMN pulsada e a origem do sinal de RMN conhecido como FID - "Free Induction Decay"⁽¹²⁾.

Conforme mostrado na mecânica clássica⁽⁶²⁾, um dipolo magnético $\vec{\mu}_N$ na presença de um campo magnético $\vec{H}$, sofre a ação de um torque que o faz precessionar em torno da direção do campo com uma frequência dada pela relação de Larmor

$$\vec{\omega} = -\gamma_N \vec{H} \quad (2.5)$$

A equação clássica para a evolução temporal do momento angular $\vec{I}$ é dada por

$$\frac{d\vec{I}}{dt} = \vec{\mu} \times \vec{H} \quad (2.6)$$

e como

$$\vec{\mu} = \gamma_N \vec{I} \quad (2.7)$$

tem-se que

$$\frac{d\vec{\mu}}{dt} = \gamma_N \vec{\mu} \times \vec{H} \quad (2.8)$$

As equações acima valem para um dipolo isolado, mas em uma amostra real, tem-se um número grande de dipolos magnéticos e

portanto é necessário considerar o comportamento macroscópico desses dipolos. A soma das contribuições elementares de cada dipolo é descrita pela magnetização total por unidade de volume $\vec{M}$, conforme a eq. 2.9

$$\vec{M} = \frac{1}{V} \sum \vec{\mu}_i \quad (2.9)$$

desse modo a eq. 2.8 fica

$$\frac{d\vec{M}}{dt} = \gamma_N \vec{M} \times \vec{H} \quad (2.10)$$

Para facilitar a interpretação, é conveniente adotar um sistema de coordenadas girante (x' , y' , z') com relação ao sistema de laboratório (x , y , z) que tenha a direção z' coincidente com a direção z . Também será adotada a direção do campo magnético $\vec{H}$ na direção z e usualmente chamado de H_0 .

Nesse sistema que gira em torno de H_0 , a magnetização descreve uma trajetória muito mais simples do que em relação ao sistema de laboratório.

Dessa forma, obtém-se a equação para a variação temporal de $\vec{M}$ no sistema girante a partir de⁽⁶²⁾

$$\left(\frac{d\vec{M}}{dt} \right)_{lab} = \left(\frac{d\vec{M}}{dt} \right)_{gir} + \vec{\omega} \times \vec{M} \quad (2.11)$$

onde $\vec{\omega}$ é a frequência angular de rotação do vetor unitário do sistema girante de coordenadas com respeito ao sistema de laboratório. Combinando-se a eq. 2.10, que se refere ao sistema de laboratório, com a eq. 2.11 tem-se

$$\left(\frac{d\vec{M}}{dt} \right)_{gir} = \gamma_N \vec{M} \times \vec{H} - \vec{\omega} \times \vec{M} \quad (2.12)$$

que pode ser escrita como

$$\left(\frac{d\vec{M}}{dt} \right)_{gir} = \gamma_N \vec{M} \times \left(\vec{H} + \frac{\vec{\omega}}{\gamma_N} \right) \quad (2.13)$$

A eq. 2.13 é mais usualmente escrita como

$$\left(\frac{d\vec{M}}{dt}\right)_{\text{gir}} = \gamma_N \vec{M} \times \vec{H}_{\text{ef}} \quad (2.14)$$

onde $\vec{H}_{\text{ef}}$, denominado campo efetivo no sistema girante, é a soma do campo externo aplicado com um campo "fictício" $\vec{\omega}/\gamma_N$ que surge em virtude da rotação. A análise da forma da eq. 2.14 mostra que, no sistema girante, a magnetização precessiona em torno do $\vec{H}_{\text{ef}}$. Quando somente H_0 está presente e se a frequência angular do sistema girante for $\vec{\omega} = -\gamma_N \vec{H}_0$, o campo efetivo anula-se e conseqüentemente, a partir da eq. 2.13, tem-se $\vec{M}$ invariante com o tempo no sistema girante. Agora, se for aplicado, além de $\vec{H}_0$, um campo $\vec{H}_1(t)$ perpendicular a $\vec{H}_0$ ($\vec{H}_1(t) \ll \vec{H}_0$ para que a resposta $\vec{M}(t)$ do sistema de spins seja proporcional a $\vec{H}_1(t)$)⁽⁴⁷⁾ rodando no sistema girante com frequência angular ω , então $\vec{H}_{\text{ef}}$ no sistema girante fica

$$\vec{H}_{\text{ef}} = \vec{H}_0 + \frac{\vec{\omega}}{\gamma_N} + \vec{H}_1(t) \quad (2.15)$$

Na condição de ressonância, $\vec{H}_0$ é cancelado pelo campo fictício e a magnetização $\vec{M}$ interage somente com $\vec{H}_1$, o qual gira com a mesma frequência do sistema girante. Normalmente é adotada a direção x' para $\vec{H}_1$. Portanto, da eq. 2.14 fica evidente que a magnetização precessiona ao redor do eixo x' com frequência angular γH_1 . Se $\vec{H}_1$ é aplicado durante um curto período de tempo t (onde t deve ser muito menor do que todos os processos de relaxação do sistema de spins), então $\vec{M}$ precessionará em torno de um ângulo dado por

$$\theta = \gamma_N H_1 t \quad (2.16)$$

Se t é escolhido tal que $\theta = \pi/2$, a magnetização gira até o plano $x'y'$ e fica na direção do eixo y' , e este pulso de excitação é conhecido como "pulso de 90° ". Por outro lado, se $\theta = \pi$, a magnetização fica invertida e o pulso é chamado de "pulso de 180° ".

No experimento de RMN a amostra é colocada dentro de uma bobina tipo solenóide, onde é gerado o campo magnético alternado

de excitação $H_1(t)$, que por sua vez é perpendicular ao campo externo H_0 . A magnetização inicialmente aponta na direção de H_0 devido ao equilíbrio térmico, e tem uma magnitude dada por⁽⁶⁰⁾

$$M_0 = \frac{N \gamma_N^2 \hbar^2 I(I + 1)}{3 K T} H_0 \quad (2.17)$$

onde N é o número de spins da amostra, I é o spin nuclear e KT a energia térmica (K = constante de Boltzmann). Após um pulso de 90° , a magnetização estará perpendicular a $\vec{H}_0$ e precessionará com uma frequência angular γH_0 . O fato da magnetização girar no plano xy , causa uma variação do fluxo magnético e induz no solenóide uma força eletromotriz (f.e.m.) dada pela lei de indução de Faraday⁽⁴⁷⁾

$$V \propto n A \frac{dM_y}{dt} \quad (2.18)$$

sendo n o número de espiras da bobina, A a sua área e M_y a componente y da magnetização no plano xy .

É claro que esta é uma situação ideal onde a amostra ocupa todo o volume da bobina. Na situação real é preciso introduzir um fator de correção para levar em conta o volume efetivamente ocupado pela amostra, fator este conhecido como "fator de preenchimento".

Observa-se no experimento real que a precessão dura um certo tempo e depois decai. Esse decaimento é devido principalmente às flutuações do campo magnético local na região da amostra e inhomogeneidades de H_0 , e faz com que a magnetização transversal perca coerência de fase. Assim, a f.e.m. induzida tem a seguinte forma

$$V \propto M_{y0} e^{\frac{-t}{T_2^*}} e^{i(\omega - \omega_0) t + \phi} \quad (2.19)$$

onde ω_0 é a frequência de Larmor, ω é a frequência do pulso de RF, M_{y0} é a componente da magnetização no eixo y imediatamente após o pulso de $\pi/2$, T_2^* é chamado de tempo de relaxação transversal (ou spin-spin) e ϕ é a fase.

O sinal que oscila com frequência dada por $(\omega - \omega_0)$ e que

decai exponencialmente, é usualmente chamado de FID ("Free Induction Decay"), ou indução livre com decaimento e pode ser visto na fig. 2.2.

Fig. 2.2 Sinal de RMN ("Free Induction Decay" - FID).

Devido ao formalismo fenomenológico introduzido por Bloch, a transformada de Fourier da eq. 2.19, que representa a linha de absorção do sinal de RMN é Lorentziana e pode ser escrita como⁽⁴⁷⁾

$$f(\omega) = \frac{T_2}{\pi} \frac{1}{1 + (\omega - \omega_0)^2 T_2^2} \quad (2.20)$$

Um sistema de spins nucleares real colocado em um campo $\vec{H}_0$, apresenta freqüências de precessão em torno de uma faixa $\Delta\Omega$, sendo necessário, portanto, a aplicação de um pulso de $\pi/2$, cujo espectro de freqüência exceda a banda $\Delta\Omega$. Para isso, o tempo de duração do pulso deve ser tal que

$$t \ll (\Delta\Omega)^{-1} \quad (2.21)$$

e o campo alternado H_1 intenso o suficiente para que γH_1 seja muito maior que $\Delta\Omega$ e conseqüentemente garantir que a magnetização de todos os núcleos, com freqüência de Larmor dentro da faixa $\Delta\Omega$, precessionem em torno de H_1 .

2.2.2 EQUILÍBRIO TÉRMICO E RELAXAÇÃO

Este item tem o propósito de apresentar um resumo a respeito

dos mecanismos de relaxação, os tempos de relaxação T_1 e T_2 e uma breve discussão envolvendo as origens da relaxação magnética. O tratamento quântico destes temas e o formalismo proposto por Bloch, conduzem praticamente aos mesmos resultados e podem ser vistos com mais detalhes nas referências 11, 12 e 47.

Foi mencionado no item 2.2, que a absorção de energia só pode ser detectada se existir uma diferença de população entre os dois níveis de energia. Então, para uma amostra macroscópica com spin nuclear $1/2$, colocada em um campo magnético estático, supõe-se que existem N_+ spins no estado $+1/2$ (de mais baixa energia) e N_- no estado $-1/2$ (de mais alta energia). Após um tempo suficientemente longo no campo magnético, e depois de atingido o equilíbrio térmico, há um pequeno excesso de spins no estado $+1/2$, o qual dá origem a uma pequena magnetização dependente da temperatura. A razão entre N_+ e N_- é escrita como

$$\frac{N_+}{N_-} = e^{g_N \beta_N H / K T} \quad (2.22)$$

em acordo com a lei de Boltzmann, sendo o número total de spins $N = N_+ + N_-$. À temperatura ambiente, $g_N \beta_N H \ll KT$ e então a exponencial pode ser expandida em primeira ordem, resultando em $[1 + (g_N \beta_N H / KT)]$. Assim, observa-se que as populações dos níveis são quase iguais, porque o termo $g_N \beta_N H / KT$ é da ordem de 10^{-5} , ou seja, a população entre os dois estados difere somente de uma parte em 10^5 , o que mostra que o sinal de absorção de ressonância nuclear é extremamente pequeno. Em outras palavras, a técnica de RMN é uma técnica de baixa sensibilidade.

A seguir são analisadas as consequências da aplicação de um campo magnético alternado sobre este sistema de spins.

Se uma perturbação dependente do tempo $V(t)$ é aplicada a um sistema com níveis de energia discretos, a taxa de transições do nível a para o nível b , causada pela perturbação, é dada pela conhecida equação derivada da teoria de perturbação dependente do tempo, e escrita como

$$P_{ab} = \frac{2\pi}{\hbar} |\langle b|V|a\rangle|^2 \delta(E_b - E_a - \hbar\nu) \quad (2.23)$$

onde P_{ab} , a probabilidade de transição, representa o número de transições por segundo e δ é a função delta de Dirac. A função δ impõe a condição que P_{ab} é zero, a menos que a energia $\hbar\nu$ seja exatamente igual a diferença de energia $E_b - E_a$ entre os estados a e b . Pode-se notar pela eq. 2.23 que a probabilidade de transição $P_{ab} = P_{ba} = P$. Para simplificar a notação, o estado de spin $+1/2$ será escrito como α e o estado $-1/2$ como β .

As transições causadas pelo campo alternado são chamadas de **transições estimuladas** e as demais de **transições espontâneas**, que ocorrem devido a outras razões. Assim, a taxa de variação da população do estado α devido às transições estimuladas, é dada pela seguinte equação

$$\frac{dN_\alpha}{dt} = N_\beta P_{\beta\alpha} - N_\alpha P_{\alpha\beta} = P(N_\beta - N_\alpha) \quad (2.24)$$

Chamando agora a diferença de população de $n = N_\alpha - N_\beta$ e escrevendo N_α e N_β em termos de N e n , obtém-se

$$N_\alpha = \frac{1}{2} (N + n) \quad , \quad N_\beta = \frac{1}{2} (N - n) \quad (2.25)$$

substituindo-se N_α e N_β , a eq. 2.24 fica

$$\frac{dN_\alpha}{dt} = \left(\frac{1}{2}\right) \frac{dn}{dt} = -Pn \quad (2.26)$$

ou

$$\frac{dn}{dt} = - 2 P n \quad (2.27)$$

Esta equação diferencial para a taxa de variação da diferença de população, tem como solução

$$n = n(0) e^{-2 P t} \quad (2.28)$$

onde $n(0)$ é a diferença de população no instante $t = 0$.

Por outro lado, a variação de absorção de energia advinda do campo magnético alternado é obtida computando-se o número de spins que transitam do estado α para o β menos o número de spins do estado β para o α , emitindo energia no processo. A equação que descreve essa variação é escrita como

$$\frac{dE}{dt} = N_{\alpha} P_{\alpha\beta} (E_{\beta} - E_{\alpha}) - N_{\beta} P_{\beta\alpha} (E_{\alpha} - E_{\beta}) \quad (2.29)$$

ou

$$\frac{dE}{dt} = n P \Delta E \quad (2.30)$$

Agora, é preciso considerar as implicações das equações 2.28 e 2.30. A eq. 2.28 assegura que, mesmo que se inicie o processo com uma diferença de população igual a $n(0)$, a aplicação do campo de RF ressonante resultará num decaimento exponencial da diferença de população e eventualmente os níveis ficarão igualmente populados. Esta situação é descrita como uma **saturação** do sistema. Por sua vez, a eq. 2.30 indica que somente ocorrerá absorção de energia do campo alternado se n for diferente de zero. Assim, a análise das equações acima leva a conclusão de que a linha de absorção ressonante acabará por desaparecer.

Claramente, outros fatores devem estar presentes, e não é sem uma justificativa que inicialmente foi afirmado que $N_{\alpha} > N_{\beta}$. Desde que $N_{\alpha} = N_{\beta}$ na ausência do campo magnético estático, o estabelecimento do equilíbrio térmico entre os dois estados após a aplicação do campo deve, inevitavelmente, requerer que existam

interações entre os núcleos e suas vizinhanças, o que causa a alteração na orientação dos spins, fazendo com que o excesso de energia magnética seja transferida para outros graus de liberdade do sistema. Este processo, de transições não radioativas entre os dois estados α e β , é chamado de **relaxação spin-rede**.

O termo **rede** é conveniente porque no caso de sólidos o processo de relaxação de fato envolve as vibrações da rede cristalina, mas de uma forma geral, **rede** se refere também a outros graus de liberdade do sistema e não somente àqueles relacionados com o spin. A relaxação dos spins é possível porque o sistema de spins está acoplado com as vibrações térmicas da **rede**, seja gás, líquido ou sólido. O ponto fundamental é que a rede está em equilíbrio térmico, o que significa que as probabilidades de transições espontâneas entre os níveis **não** são iguais, como é o caso para as transições induzidas. Assim, é preciso também considerar as consequências deste resultado. Chamando de $W_{\alpha\beta}$ e de $W_{\beta\alpha}$ ($W_{\alpha\beta} \neq W_{\beta\alpha}$) as probabilidades de transições do estado $\alpha \rightarrow \beta$ e $\beta \rightarrow \alpha$ respectivamente, e por analogia com a eq. 2.24, a taxa de variação de N_α pode ser escrita como

$$\frac{dN_\alpha}{dt} = N_\beta W_{\beta\alpha} - N_\alpha W_{\alpha\beta} \quad (2.31)$$

Quando o equilíbrio térmico for atingido, tem-se o sistema no estado estacionário e então $dN_\alpha/dt = 0$. Escrevendo agora a população de equilíbrio como N_α^0 e N_β^0 tem-se que

$$\frac{N_\beta^0}{N_\alpha^0} = \frac{W_{\alpha\beta}}{W_{\beta\alpha}} \quad (2.32)$$

Como a população dos níveis segue a lei de Boltzmann, a razão das probabilidades de transição deve ser igual a $e^{-\Delta E/KT}$. Expressando N_α e N_β em termos de N e n , como anteriormente, obtém-se

$$\frac{dn}{dt} = -n(W_{\beta\alpha} + W_{\alpha\beta}) + N(W_{\beta\alpha} - W_{\alpha\beta}) \quad (2.33)$$

que pode então ser escrita como

$$\frac{dn}{dt} = - \frac{(n - n_0)}{T_1} \quad (2.34)$$

onde a diferença de população no equilíbrio térmico n_0 é igual a

$$n_0 = N \frac{W_{\beta\alpha} - W_{\alpha\beta}}{W_{\beta\alpha} + W_{\alpha\beta}} \quad (2.35)$$

e

$$\frac{1}{T_1} = (W_{\alpha\beta} + W_{\beta\alpha}) \quad (2.36)$$

T_1 tem dimensões de tempo e é então chamado de **tempo de relaxação spin-rede**. Ele representa o tempo que a energia leva para ser transferida para outros graus de liberdade, ou seja, o tempo que o sistema de spins demora para atingir o equilíbrio. Valores grandes de T_1 (minutos ou mesmo horas) significam uma relaxação muito lenta.

É possível agora obter-se uma descrição mais completa do sistema de spins, combinando-se a eq. 2.27, que representa o efeito do campo de RF, com a eq. 2.34, que leva em conta o efeito da relaxação, encontrando-se

$$\frac{dn}{dt} = - 2 P n - \frac{(n - n_0)}{T_1} \quad (2.37)$$

mas no equilíbrio ($dn/dt = 0$) na presença do campo de RF, a diferença de população n é dada por

$$n = \frac{n_0}{(1 + 2 P T_1)} \quad (2.38)$$

A eq. 2.38 combinada com a eq. 2.30, fornece a expressão final para a taxa de absorção de energia do campo de RF

$$\frac{dE}{dt} = n P \Delta E = n_0 \Delta E \frac{P}{(1 + 2 P T_1)} \quad (2.39)$$

A eq. 2.39 indica que se $2PT_1 \ll 1$, a saturação pode ser evitada trabalhando-se com baixa potência de RF, uma vez que P é

proporcional ao quadrado do campo de RF.

No estudo do comportamento macroscópico da magnetização e dedução da eq. 2.19 para o sinal induzido no solenóide, foi introduzido um parâmetro T_2^* , chamado de **tempo de relaxação transversal**, que governa o tempo de duração do decaimento exponencial, sem ter sido, entretanto, explicado a origem deste tempo e sua relação com o sistema de spins.

Assim, supondo-se um sistema de spins alinhados, tal que N_α spins estejam no estado α e N_β no estado β , a componente z da magnetização $\vec{M}$ é então

$$M_z = \gamma_N \hbar (N_\alpha - N_\beta) = \gamma_N \hbar n \quad (2.40)$$

Como visto anteriormente, devido à relaxação spin-rede, a diferença de população n decai exponencialmente até o equilíbrio, sendo a taxa de variação dada por

$$\frac{dn}{dt} = - \frac{n}{T_1} \quad (2.41)$$

Como M_z é proporcional a n , (ver eq. 2.40) M_z obedece a equação

$$\frac{dM_z}{dt} = - \frac{M_z}{T_1} \quad (2.42)$$

e decai a zero com o tempo característico T_1 . É claro que não há, neste caso, na ausência de campo externo, nenhuma distinção física entre a direção z e qualquer outra, portanto M_x e M_y também decaem a zero no mesmo tempo que M_z .

A introdução do campo magnético estático H_0 ao longo da direção z, altera drasticamente essa situação. Primeiro, M_z não tende mais para o valor zero no equilíbrio térmico, mas se aproxima do valor estacionário M_0 , que é proporcional à susceptibilidade χ_0 devido a todos os spins. Sendo

$$M_0 = \gamma_N \hbar n_0 = \chi_0 H_0 \quad (2.43)$$

onde

$$\chi_0 = \frac{N \gamma_N^2 \hbar^2 I (I + 1)}{3 K T} \quad (2.44)$$

Assim, a relaxação de M_z segue a eq. 2.34 e fica

$$\frac{dM_z}{dt} = - \frac{(M_z - M_0)}{T_1} \quad (2.45)$$

E segundo, mesmo que as componentes transversais M_x e M_y , ainda decaiam exponencialmente para zero, o tempo de decaimento agora, é em geral, diferente de T_1 , sendo necessário introduzir-se outro **tempo de relaxação transversal** T_2 , para estas componentes, tal que

$$\frac{dM_x}{dt} = - \frac{M_x}{T_2} \quad e \quad \frac{dM_y}{dt} = - \frac{M_y}{T_2} \quad (2.46)$$

Pode-se ponderar por que T_1 e T_2 não são iguais. Uma resposta curta para esta questão, é que as relaxações longitudinal e transversal dependem de diferentes processos dentro do sistema de spins. Mudanças em M_x e M_y , não alteram a energia Zeeman total dos spins nucleares, enquanto que M_z requer a troca de energia Zeeman com a **rede**.

Uma descrição macroscópica completa do sistema de spins em um campo magnético foi proposta por Bloch (ver capítulos 2 e 5 da ref. 12), e ficou conhecida como **as equações de Bloch**, as quais levam em conta o movimento de precessão da magnetização e os efeitos de relaxação. Nessa descrição, o spin desenvolve uma precessão amortecida, na qual as componentes transversais de $\vec{M}$ decaem a zero com um tempo característico T_2 , enquanto M_z relaxa para seu valor de equilíbrio M_0 com um tempo de decaimento T_1 .

As equações de Bloch, além de fornecerem uma descrição clara de T_1 e T_2 , dão uma explanação macroscópica satisfatória a respeito da absorção em ressonância magnética e predizem que a forma da linha de absorção é Lorentziana conforme a eq. 2.20.

O tempo de relaxação spin-rede, T_1 , determina o grau de saturação e T_2 a largura da linha não saturada. As duas formas de

relaxação são causadas por campos magnéticos ou elétricos dependentes do tempo na região do núcleo, campos estes que têm origem no movimento térmico aleatório, os quais estão presentes em qualquer forma de matéria. Um spin nuclear de spin $1/2$, por exemplo, sente um campo magnético local devido a outros spins ou núcleos que se movem na sua vizinhança, ou de elétrons desemparelhados, ou ainda devido a interações rotacionais, nas quais a rotação molecular gera campos onde está o núcleo. Em geral, duas condições são necessárias para o mecanismo de relaxação. Primeiro, deve existir alguma interação que atue diretamente sobre o sistema de spins, e segundo, ela deve ser dependente do tempo. Interações estáticas podem alterar as posições e intensidades das linhas espectrais, sem contudo contribuir para o seu alargamento.

Um requisito essencial para a relaxação, é que o movimento molecular tenha uma escala de tempo apropriada. Interações que mudam de sinal muito mais rápido que a frequência de ressonância nuclear ($\sim 10^7$ Hz) não produzem nenhum efeito na relaxação. As vibrações moleculares e os movimentos eletrônicos são relativamente sem importância para os mecanismos de relaxação. Movimentos rotacionais e difusão são em geral fontes importantes de relaxação em líquidos, assim como o são as vibrações da rede para os sólidos, as colisões para os gases, e certos movimentos lentos de rotação e de torção dentro das moléculas.

É difícil resumir todos os efeitos importantes, porque toda interação nuclear conhecida, acoplada com qualquer tipo de movimento possível, dá origem a inúmeros mecanismos de relaxação. A compreensão dos processos de relaxação em líquidos é complicada e tem sido objeto de intensos estudos e pesquisas⁽¹²⁾.

2.3 TEORIA SIMPLES DE RPE

A origem do paramagnetismo eletrônico está ligada à circulação de carga a nível atômico⁽⁶⁰⁾. O momento de dipolo magnético permanente, que certos átomos, íons, moléculas e alguns

materiais apresentam, é atribuído ao movimento circular de massa e carga associadas. Assim, o dipolo magnético é devido ao momento angular de spin do elétron, ou ao seu momento angular orbital ou a uma combinação de ambos. Dessa forma, o momento magnético $\vec{\mu}_L$ associado ao movimento orbital do elétron e sua quantidade de movimento angular $\vec{L}$ estão relacionados através da equação

$$\vec{\mu}_L = - \frac{e}{2 m_e c} \vec{L} \quad (2.47)$$

onde m_e é a massa do elétron, e a sua carga e c a velocidade da luz.

A eq. 2.47, embora tenha sido deduzida para o caso de órbita circular, é válida sempre, uma vez que só depende de constantes fundamentais. O sinal negativo indica que os vetores momento magnético e momento angular são colineares e têm sentidos opostos.

Em virtude da existência do spin do elétron, $\vec{S}$ (momento angular intrínseco), existe um momento magnético associado $\vec{\mu}_S$ relacionados por

$$\vec{\mu}_S = - g \frac{e}{2 m_e c} \vec{S} \quad (2.48)$$

As equações 2.47 e 2.48 podem ser escritas como

$$\vec{\mu}_L = - \frac{\beta_e}{\hbar} \vec{L} \quad (2.49)$$

$$\vec{\mu}_S = - g \frac{\beta_e}{\hbar} \vec{S} \quad (2.50)$$

onde β_e é o magneton de Bohr ($\beta_e = e\hbar/2m_e c = 0,927 \times 10^{-20}$ ergs/gauss), g o fator g de spin (parâmetro adimensional que vale 2,00232 para o elétron livre).

Quando o elétron possui tanto spin como movimento orbital, o momento angular total $\vec{J}$ é dado pela soma vetorial

$$\vec{J} = \vec{L} + \vec{S} \quad (2.51)$$

Para o elétron livre, por exemplo, $S = 1/2$ e $L = 0$,

resultando o valor de $J = 1/2$. Neste caso, o momento magnético total fica

$$\vec{\mu}_e = -g \frac{\beta}{\hbar} \vec{J} \quad (2.52)$$

Na maioria dos átomos, íons e moléculas, os efeitos magnéticos dos elétrons, incluindo os efeitos devido ao spin e ao movimento orbital, se anulam, de forma que o material se comporta como não magnético. Por outro lado, quando uma amostra contendo momentos magnéticos é submetida a um campo magnético uniforme e constante, os dipolos magnéticos elementares tendem a alinhar-se com o campo externo. Essa propriedade é quem normalmente caracteriza os materiais paramagnéticos. Esse alinhamento (magnetização) é freqüentemente perturbado pelas colisões nas substâncias gasosas, pelas vibrações térmicas e rotações nas líquidas e pelas vibrações térmicas nas sólidas, e também pelas flutuações do campo magnético local devido aos outros elétrons e núcleos vizinhos. Assim, pode-se afirmar que em geral a magnetização é função da temperatura e que materiais que tenham elétrons com spin desemparelhados apresentam paramagnetismo⁽⁶⁰⁾.

Analogamente à eq. 2.2, para uma amostra paramagnética na presença de um campo magnético estático, a energia de interação entre o momento magnético e o campo é dada por

$$\mathcal{H} = - \vec{\mu}_e \cdot \vec{H} \quad (2.53)$$

Considerando o campo magnético $\vec{H}$ aplicado em apenas uma direção, por exemplo a direção z , a eq. 2.53 se resume a

$$\mathcal{H} = g_e \beta_e H_0 S_z \quad (2.54)$$

onde $H_z = H_0$ é a componente do campo externo na direção z , S_z representa os estados permitidos da componente na direção z do spin eletrônico e pode ter os valores $m_s = + 1/2$ ou $m_s = - 1/2$.

Como $S = 1/2$ para o elétron, existem duas orientações permitidas para o spin, paralelo e anti-paralelo a H_0 . O estado de menor energia é aquele paralelo ao campo com $m_s = - 1/2$.

Analogamente ao que ocorre para os prótons, é possível se induzir transições entre os dois níveis de spin. Para isso, é necessário aplicar nesse sistema um campo eletromagnético alternado que tenha a direção do campo magnético perpendicular à do campo magnético estático. A absorção de energia ocorre se a frequência ν satisfizer a condição de ressonância dada por⁽¹¹⁾

$$h \nu = g_e \beta_e H \quad (2.55)$$

Para o elétron livre, por exemplo, ($g = 2,00232$) submetido a um campo de 10.000 G, a frequência de ressonância ocorre para $\nu = 28,026$ GHz, que está na faixa de microondas. Esse valor de frequência é aproximadamente 1000 vezes maior do que o valor para o próton. Usualmente os espectrômetros conhecidos como de banda-X, operam à frequência de $\sim 9,5$ GHz ($\lambda \approx 3$ cm) e requerem um campo de ~ 3.400 G para a ressonância do elétron livre.

Novamente por razões experimentais, nos espectrômetros de RPE convencionais, mantém-se a frequência fixa e varia-se a intensidade do campo magnético estático até passar pela condição de ressonância, obtendo-se um espectro de absorção em função do campo.

No Cap. III, itens 3.3 e 3.11, estão discutidos em detalhes os aspectos essenciais sobre a configuração e operação do espectrômetro de RPE utilizado no presente trabalho.

2.4 TEORIA DE DNP

2.4.1 CONCEITOS GERAIS

Este item apresenta uma descrição da teoria da transferência da polarização elétron-núcleo (DNP) nos seus aspectos que interessam para o desenvolvimento do presente trabalho. Overhauser previu teoricamente que a saturação da linha de ressonância dos

elétrons de condução em um metal, poderia produzir um aumento na polarização nuclear por um fator maior que 1000 vezes. Tal fato seria esperado para metais nos quais os núcleos atingem o equilíbrio térmico com a rede, por meio da interação hiperfina magnética com os elétrons de condução⁽¹⁾. A verificação experimental de tal efeito ocorreu em seguida, primeiro para metais, e depois para líquidos, com substâncias paramagnéticas diluídas em solução⁽²⁾.

A característica essencial da polarização nuclear através do efeito Overhauser é que deve existir um processo dominante de relaxação nuclear, o qual requer um "spin flip" simultâneo do núcleo e do elétron. Em metais, a interação escalar de contato de Fermi ($a\vec{I}\cdot\vec{S}$) é a responsável pelo processo de relaxação, onde elétrons e núcleos "spin flips" em direções opostas. Em líquidos, os graus de liberdade rotacional e translacional da molécula, introduzem uma dependência temporal para o acoplamento dipolar, proporcionando assim a relaxação. Portanto, íons paramagnéticos em solução podem apresentar o efeito Overhauser. Quando dois spins A e B estão acoplados entre si, ocorre freqüentemente que a relaxação de um spin afeta a relaxação do outro. Se a relaxação cruzada ("cross-relaxation") acontece, é esperado que qualquer alteração na população dos estados do spin A causará mudanças secundárias nas populações dos estados do spin B. A ressonância dupla e os experimentos de **polarização dinâmica** (DNP) são realizados para tirar vantagens destas mudanças.

2.4.2 EFEITO OVERHAUSER

O efeito Overhauser elétron-núcleo pode ser melhor compreendido estudando-se inicialmente a origem do efeito Overhauser nuclear (**nOe** - nuclear Overhauser effect). Assim, é didático discutir um modelo simples a respeito dos caminhos para a relaxação, considerando-se as transições entre os níveis de energia de um sistema de dois spins nucleares I e S com o mesmo γ ,

mas com diferentes deslocamentos químicos, submetidos a um campo magnético H_0 . Para simplificar, ambos spins têm valor $1/2$, pertencem a mesma molécula mas não sofrem acoplamento escalar ("J-coupled"). Este sistema apresenta quatro níveis de energia correspondendo aos núcleos nos estados $\pm 1/2$ de acordo com os valores de m_I , m_S mostrados abaixo e conforme a fig. 2.3.

$$m_I = +1/2, \quad m_S = +1/2, \quad (\alpha\alpha)$$

$$m_I = +1/2, \quad m_S = -1/2, \quad (\alpha\beta)$$

$$m_I = -1/2, \quad m_S = +1/2, \quad (\beta\alpha)$$

$$m_I = -1/2, \quad m_S = -1/2, \quad (\beta\beta)$$

Os deslocamentos químicos são geralmente muito pequenos quando comparados com as frequências de Larmor (partes por milhão), de tal modo que as transições de cada núcleo são aproximadamente iguais em energia, resultando que os estados $\alpha\beta$ e $\beta\alpha$ são ligeiramente degenerados. Assim, as duas transições do núcleo I têm exatamente a mesma energia, e o mesmo é válido para o núcleo S, fazendo com que o espectro não perturbado consista de dois "singlets" de igual intensidade.

Um sistema de spins em equilíbrio térmico com um reservatório ocupa os níveis de energia com probabilidades dadas pela distribuição de Boltzmann.

Fig. 2.3 Níveis de energia e populações para o sistema homonuclear IS.

Como a diferença de energia entre os estados $\alpha\beta$ e $\beta\alpha$ é

desprezível, estes estados têm a mesma população N ($4N$ é o número total de spins do sistema). O estado $\alpha\alpha$ sendo o de menor energia, contém um excesso de núcleos, enquanto $\beta\beta$ é deficiente de aproximadamente a mesma quantidade. Chamando de δ o excesso ou a deficiência, as respectivas populações estão indicadas na fig. 2.3. É claro que o interesse está nas diferenças de população entre os estados, o qual pode ser resumido como segue:

$$\text{transições I:} \quad \alpha\alpha - \beta\alpha = \delta$$

$$\alpha\beta - \beta\beta = \delta$$

$$\text{transições S:} \quad \alpha\alpha - \alpha\beta = \delta$$

$$\beta\alpha - \beta\beta = \delta$$

$$\text{transições } \Delta m = 0 \quad \beta\alpha - \alpha\beta = 0$$

$$\text{transições } \Delta m = 2 \quad \alpha\alpha - \beta\beta = 2\delta$$

As primeiras quatro diferenças são devido às transições normais e dão origem às linhas de RMN, enquanto que as outras duas envolvem mudanças no número quântico m , que é 0 ou 2. Mesmo assumindo que transições deste tipo não são observadas sob condições normais (devido às regras quânticas de seleção), não se pode afirmar com segurança que elas não estejam envolvidas na relaxação do sistema. Todavia, deve ser considerado que se as diferenças de população são perturbadas, o sistema tentará restaurá-las pelos meios que dispuser. Isto leva a vários caminhos possíveis através do qual o sistema relaxa, conforme mostrado na fig. 2.4, o que deve ser experimentalmente verificado.

As probabilidades de transição serão designadas por W , com um índice inferior para indicar a mudança em m (ex: W_0 para $\beta\alpha-\alpha\beta$, W_1 para $\alpha\alpha-\beta\alpha$, W_2 para $\alpha\alpha-\beta\beta$, etc.) e um índice superior para indicar a qual núcleo a transição pertence (W_1^I ou W_1^S). Com relação à fig. 2.4, o que se procura é entender a relaxação de um sistema de núcleos que interagem entre si, a nível de transições individuais,

e relacionar o que se mede (neste caso T_1) com o que de fato está acontecendo. Na medida de T_1 , por exemplo, espera-se até que a magnetização longitudinal atinga o equilíbrio.

Fig. 2.4 Transições entre os níveis de energia que podem estar envolvidas na relaxação do sistema.

Se uma medida deste tipo for feita para o núcleo I do sistema de dois spins, o que se observa é a soma de intensidades de suas duas transições degeneradas. Portanto, T_1 deve estar relacionado de alguma forma com a combinação de W_1^I , W_2 e W_0 . Se as duas últimas transições não ocorrem (isto é, se $\Delta m = 0$ e $\Delta m = 2$), então T_1 é dado por

$$T_1^I = \frac{1}{2W_1^I} \quad (2.56)$$

conforme visto anteriormente, eq. 2.36.

Curiosamente, se W_2 e W_0 são diferentes de zero, a taxa de relaxação total para o núcleo I aparentemente deve envolver as diferenças de população do núcleo S além de suas próprias. Isto contradiz a hipótese feita para a definição de T_1 , a qual estabelece que a taxa de variação da magnetização macroscópica devida a um núcleo, depende somente de seu desvio do equilíbrio, e nada é dito a respeito da magnetização devida ao outro núcleo. Portanto, não se deve esperar uma medida simples para T_1 quando se trabalha com um sistema com mais de um spin.

Na realização de um experimento de **nOe**, força-se a mudança da diferença de população de uma determinada transição, enquanto se observa a intensidade de sinal das outras.

Neste exemplo, procura-se saturar ambas transições S e observa-se os sinais devido às transições I, após o novo equilíbrio ter sido atingido. Saturar as transições S significa igualar as populações dos níveis de energia conectados por S, conforme mostra a fig.2.5.

Para analisar este experimento à luz dos processos de relaxação discutidos, é necessário escrever um conjunto de equações simultâneas para as taxas de variações das populações dos diferentes níveis de energia, para os vários caminhos de relaxação propostos, e resolvê-las considerando as condições de contorno impostas pela saturação de S. (Este procedimento está mostrado em seguida para o efeito Overhauser elétron-núcleo).

Entretanto, pode-se estimar o possível efeito de cada trajeto para a relaxação, analisando-se as circunstâncias imediatamente após a saturação de S ter sido obtida. As novas diferenças de populações podem ser vistas na fig. 2.5, e após comparação com as condições de equilíbrio anterior, resulta:

Fig. 2.5 Populações dos níveis imediatamente após a saturação das transições S.

$$\text{transições I:} \quad \alpha\alpha - \beta\alpha = \delta$$

$$\alpha\beta - \beta\beta = \delta$$

$$\text{transições S:} \quad \alpha\alpha - \alpha\beta = 0$$

$$\beta\alpha - \beta\beta = 0$$

$$\text{transições } \Delta m = 0 \quad \beta\alpha - \alpha\beta = \delta$$

$$\text{transições } \Delta m = 2 \quad \alpha\alpha - \beta\beta = \delta$$

O sistema como um todo claramente não está em equilíbrio e é uma hipótese razoável supor que ele irá tentar se ajustar para atingir uma situação muito próxima do equilíbrio. Isto será considerado a partir da perspectiva de cada caminho de relaxação possível. W_1^S é irrelevante porque as diferenças de população através daquelas transições estão fixas e mantidas pela saturação na ressonância de S. W_1^I também não contribui, porque a diferença de população através de cada transição I era δ no equilíbrio térmico, e ainda permanece com o mesmo valor δ . Assim, do ponto de vista de W_1^I , nenhuma alteração é necessária. *Se somente transições quânticas simples são ativas como caminhos de relaxação, a saturação de S não afeta a intensidade de I, ou em outras palavras não há NOE em I devido a S.*

É necessário portanto analisar os efeitos devidos a W_0 e W_2 . A diferença de população entre os estados $\alpha\beta$ e $\beta\alpha$ é agora δ , enquanto que no equilíbrio era 0. Então W_0 atua no sentido de transferir população do estado $\alpha\beta$ para o $\beta\alpha$, tentando restaurar a diferença de população que era 0. Isto por sua vez faz com que a população de uma das transições superiores de I aumente, diminuindo a população inferior da outra transição I, acarretando portanto uma diminuição da intensidade total do sinal devidos a I, conforme mostrado na fig. 2.6.

Fig. 2.6 Direção inicial da relaxação cruzada após a saturação das transições S.

Esta tendência é restaurada por W_1^I , uma vez que as transições I já estavam em equilíbrio, de tal forma que o resultado final vai depender do balanceamento de W_1^I e W_0 . Se W_0 é o caminho de relaxação dominante, a saturação de S faz com que diminua a intensidade dos sinais devidos a I, ou em outras palavras, há um **nOe** negativo de I devido a S.

O mesmo argumento pode ser usado para W_2 . A diferença de população de $\alpha\alpha - \beta\beta$ é agora δ , enquanto que no equilíbrio era 2δ . Portanto, W_2 atua no sentido de transferir população do estado $\beta\beta$ para o estado $\alpha\alpha$, para tentar restaurar a diferença de população de 2δ . Isto faz com que diminua a população do nível superior de uma das transições I e aumente a população do nível inferior da outra transição I, resultando portanto no aumento da intensidade dos sinais devidos a I. Novamente, esta tendência sofre a reação de W_1^I . Agora, se W_2 é o caminho de relaxação dominante, então a saturação das transições S resultam num aumento da intensidade dos sinais devidos a I, isto é, há um **nOe** positivo de I devido a S.

O efeito Overhauser nuclear (**nOe**), é a mudança na intensidade do sinal de RMN de uma transição quando a outra transição está sendo perturbada. O termo perturbação, de interesse nos experimentos de **nOe**, é entendido como *saturação*, no sentido de

eliminar a diferença de população de uma determinada transição irradiando-a com um campo de RF apropriado. O **nOe** é portanto, a manifestação do esforço do sistema como um todo para permanecer no equilíbrio térmico, uma vez que força-se mudanças nas diferenças de população de parte do sistema, resultando que as outras partes se alteram para compensar as mudanças.

Seja I_0 a intensidade normal de uma ressonância observada em um sistema em equilíbrio térmico e não perturbado. Agora, se a intensidade observada enquanto se satura a outra ressonância é dada por I (esperando-se que um novo equilíbrio térmico seja atingido), então o **nOe** é definido como

$$n_I(S) = \frac{(I - I_0)}{I_0} \quad (2.57)$$

A expressão $n_I(s)$ significa que é um **nOe** do núcleo I quando o núcleo S é saturado. Nota-se, a partir desta definição, que o **nOe** será positivo se a nova intensidade for maior do que a intensidade do sistema não perturbado e negativo se for menor. Na prática, ambos casos são observados.

O conceito de efeito Overhauser nuclear, os caminhos para a relaxação e as transições estudados anteriormente, podem ser estendidos para um novo sistema de dois spins, sendo S agora um elétron com spin $1/2$, obtendo-se assim o chamado efeito Overhauser elétron-núcleo.

A forma geral do Hamiltoniano de spin para um sistema de dois spins, constituído de um spin nuclear I e um spin eletrônico S , é escrita como

$$\mathcal{H} = \mathcal{H}_0 + \mathcal{H}_{IS}(t) + \mathcal{H}_I(t) + \mathcal{H}_S(t) \quad (2.58)$$

onde $\mathcal{H}_0 = -\omega_I I_z + \omega_S S_z$ é o Hamiltoniano Zeeman para o sistema no campo magnético externo H_0 , isto é, a interação magnética entre os momentos de dipolo nuclear e eletrônico e o campo magnético. Os termos $\omega_I = \gamma_I H_0$ e $\omega_S = |\gamma_S| H_0$ são as frequências de Larmor nuclear e eletrônica respectivamente, e γ_I e $|\gamma_S|$ são os conhecidos

fatores giromagnéticos para o núcleo I e elétron S.

$\mathcal{H}_{IS}(t)$ representa a interação elétron-núcleo dependente do tempo, a qual dá origem ao processo de relaxação envolvendo ambos spins e é a responsável pelo Efeito Overhauser. É composto do termo de interação dipolar clássico

$$\mathcal{H}_{SI}^D = \gamma_I \gamma_S \hbar^2 \left\{ \frac{3 (\mathbf{I} \cdot \mathbf{r}) (\mathbf{S} \cdot \mathbf{r})}{r^5} - \frac{\mathbf{I} \cdot \mathbf{S}}{r^3} \right\} \quad (2.59)$$

e o termo escalar de contato de Fermi

$$\mathcal{H}_{SI}^E = a \mathbf{I} \cdot \mathbf{S} \quad (2.60)$$

$\mathcal{H}_I(t)$ representa as outras interações que contribuem para a relaxação dos spins nucleares I, mas que não envolvem o spin eletrônico S.

$\mathcal{H}_S(t)$ representa as interações similares para os spins eletrônicos S.

Para spin nuclear $I = 1/2$ e spin eletrônico $S = 1/2$ o sistema apresenta quatro níveis de energia conforme mostrado na fig. 2.7.

Fig. 2.7 Níveis de energia para o sistema de dois spins.

Os autoestados não perturbados de $\mathcal{H}_0$ são $| - + \rangle$, $| + + \rangle$, $| - - \rangle$ e $| + - \rangle$, onde o primeiro sinal representa a orientação do spin nuclear I no campo magnético e o segundo sinal o mesmo para o spin eletrônico S, conforme os valores de m_I e m_S :

$$m_I = -1/2, \quad m_S = +1/2$$

$$m_I = +1/2, \quad m_S = +1/2$$

$$m_I = -1/2, \quad m_S = -1/2$$

$$m_I = +1/2, \quad m_S = -1/2$$

com populações N_{-+} , N_{++} , N_{--} e N_{+-} . No esquema de níveis de energia mostrado na fig. 2.7, as linhas sólidas representam as probabilidades de transições entre os níveis.

As probabilidades de transições entre estes níveis são indicadas, como no exemplo anterior, por W_I , W_S , W_0 , W_1 e W_2 . Em virtude das transições eletrônicas e nucleares serem muito diferentes em energia, não se pode estimar as diferenças de população de forma simples como foi feito para o **nOe**. É necessário considerar agora a taxa de variação das populações N_{ij} , escrevendo-se um conjunto de equações de balanceamento do sistema, como⁽⁶³⁾

$$\begin{aligned} \frac{dN_{-+}}{dt} = & -\{W_0 + W_1 + W_I + W_S\} (N_{-+} - N_{-+,0}) \\ & + \{W_1 + W_I\} (N_{++} - N_{++,0}) \\ & + \{W_S\} (N_{--} - N_{--,0}) \\ & + \{W_0\} (N_{+-} - N_{+-,0}) \end{aligned} \quad (2.61a)$$

$$\begin{aligned} \frac{dN_{++}}{dt} = & \{W_1 + W_I\} (N_{-+} - N_{-+,0}) \\ & - \{W_2 + W_1 + W_I + W_S\} (N_{++} - N_{++,0}) \\ & + \{W_2\} (N_{--} - N_{--,0}) + \{W_S\} (N_{+-} - N_{+-,0}) \end{aligned} \quad (2.61b)$$

$$\begin{aligned} \frac{dN_{--}}{dt} = & \{W_S\} (N_{-+} - N_{-+,0}) + \{W_2\} (N_{++} - N_{++,0}) \\ & - \{W_0 + W_1 + W_I + W_S\} (N_{--} - N_{--,0}) \\ & + \{W_1 + W_I\} (N_{+-} - N_{+-,0}) \end{aligned} \quad (2.61c)$$

$$\begin{aligned} \frac{dN_{+-}}{dt} = & \{W_0\} (N_{-+} - N_{-+,0}) + \{W_S\} (N_{++} - N_{++,0}) \\ & + \{W_1 + W_I\} (N_{--} - N_{--,0}) \\ & - \{W_2 + W_1 + W_I + W_S\} (N_{+-} - N_{+-,0}) \end{aligned} \quad (2.61d)$$

onde os termos $N_{ij,0}$ se referem aos níveis de população para o sistema no equilíbrio térmico, e foram incluídos para que as

populações tenham seus valores corretos, dados pela distribuição de Boltzmann, quando o sistema está no equilíbrio térmico. Experimentalmente, as quantidades observáveis são as magnetizações I_z e S_z , as quais estão relacionadas às populações dos níveis, pelas seguintes equações

$$\begin{aligned} I_z &= K \gamma_I \{ (N_{-+} + N_{--}) - (N_{++} + N_{+-}) \} \\ S_z &= K |\gamma_S| \{ (N_{-+} + N_{++}) - (N_{--} + N_{+-}) \} \end{aligned} \quad (2.62)$$

onde K é uma constante de proporcionalidade. Calculando-se as taxas de variações de I_z e S_z dados pela eq. 2.62 e usando as eqs. 2.61, obtém-se

$$\begin{aligned} \frac{dI_z}{dt} &= -\{W_0 + 2W_1 + W_2 + 2W_I\} (I_z - I_0) \\ &\quad - \frac{\gamma_I}{|\gamma_S|} \{W_2 - W_0\} (S_z - S_0) \\ \frac{dS_z}{dt} &= -\frac{|\gamma_S|}{\gamma_I} \{W_2 - W_0\} (I_z - I_0) \\ &\quad - \{W_0 + W_2 + 2W_S\} (S_z - S_0) \end{aligned} \quad (2.63)$$

onde S_0 e I_0 , são os valores no equilíbrio térmico dados pela lei de Curie.

Observa-se a partir das eqs. 2.63, que devido à interação dependente do tempo $\mathcal{H}_{IS}(t)$, as magnetizações I_z e S_z não são independentes uma da outra, mas estão acopladas. No que se refere à magnetização eletrônica S_z , a eq. 2.63 pode ser simplificada, uma vez que o termo $\mathcal{H}_{IS}(t)$, responsável pela interação elétron-núcleo, não contribui significativamente para a relaxação eletrônica. Os spins eletrônicos possuem mecanismos mais eficientes de relaxação, como a interação magnética dipolar eletrônica, interação de troca e interação spin-órbita representados pelo termo $\mathcal{H}_S(t)$. Assim, as eqs. 2.63 ficam

$$\begin{aligned} \frac{dI_z}{dt} = & -\{W_0 + 2W_1 + W_2 + 2W_I\} (I_z - I_0) \\ & - \frac{\gamma_I}{|\gamma_S|} \{W_2 - W_0\} (S_z - S_0) \end{aligned} \quad (2.64)$$

$$\frac{dS_z}{dt} = -2W_S (S_z - S_0)$$

No experimento de ressonância dupla, o sinal de RMN, o qual é proporcional a I_z , pode ser observado em condições estacionárias. Assim, fazendo $dI_z/dt = 0$, a eq. 2.64 é escrita como

$$I_z - I_0 = - \frac{W_2 - W_0}{\{W_0 + 2W_1 + W_2 + 2W_I\}} \frac{\gamma_I}{|\gamma_S|} (S_z - S_0) \quad (2.65)$$

O sinal de RPE, proporcional a S_z , é irradiado com um campo magnético alternado com uma frequência ω_S , suficiente para causar uma saturação parcial das transições eletrônicas. A dependência de S_z com a intensidade do campo magnético alternado H_{1S} , aplicado exatamente na ressonância, é obtida a partir das equações de Bloch como sendo⁽⁴⁷⁾

$$S_z = S_0 \left(\frac{1}{1 + \gamma_S^2 H_{1S}^2 T_{1S} T_{2S}} \right) \quad (2.66)$$

onde T_{1S} e T_{2S} são os tempos de relaxação spin-rede e spin-spin, da linha de RPE. Combinando-se as equações 2.65 e 2.66, tem-se

$$\begin{aligned} (I_z - I_0) = & - \left\{ \frac{W_0 + 2W_1 + W_2}{W_0 + 2W_1 + W_2 + 2W_I} \right\} \left\{ \frac{W_2 - W_0}{W_0 + 2W_1 + W_2} \right\} \\ & \times \frac{\gamma_I}{|\gamma_S|} S_0 \frac{\gamma_S^2 H_{1S}^2 T_{1S} T_{2S}}{1 + \gamma_S^2 H_{1S}^2 T_{1S} T_{2S}} \end{aligned} \quad (2.67)$$

O aumento do sinal de RMN é usualmente definido como

$$A = \frac{(I_z - I_0)}{I_0} \quad (2.68)$$

a eq. 2.67 é então escrita como

$$A = -\frac{|\gamma_S|}{\gamma_I} \left\{ \frac{W_0 + 2W_1 + W_2}{W_0 + 2W_1 + W_2 + 2W_I} \right\} \left\{ \frac{W_2 - W_0}{W_0 + 2W_1 + W_2} \right\} \quad (2.69)$$

$$\times \frac{\gamma_S^2 H_{1S}^2 T_{1S} T_{2S}}{1 + \gamma_S^2 H_{1S}^2 T_{1S} T_{2S}}$$

onde os valores de S_0 e I_0 no equilíbrio térmico, dados pela lei de Curie (eq. 2.17), foram usados. Como o interesse experimental está nos fenômenos oriundos da interação elétron-núcleo $\mathcal{H}_{IS}(t)$, e como as probabilidades de transição W_0 , W_1 e W_2 são devidos àquela interação, é conveniente definir um parâmetro de acoplamento elétron-núcleo ρ , onde

$$\rho = \frac{W_2 - W_0}{W_0 + 2W_1 + W_2} \quad (2.70)$$

o qual é uma quantidade mensurável e depende somente das interações $\mathcal{H}_{IS}(t)$. O outro termo da eq. 2.69, que também depende das probabilidades de transição W_i , é chamado de fator de perda, escrito como f , dado por

$$f = \frac{W_0 + 2W_1 + W_2}{W_0 + 2W_1 + W_2 + 2W_I} \quad (2.71)$$

O significado de f pode ser entendido considerando que o tempo de relaxação para os spins eletrônicos ($\leq 10^{-6}$ s) é muito menor que o dos spins nucleares ($> 10^{-3}$ s). Assim, qualquer mudança na polarização dos spins eletrônicos aparece na escala de tempo dos spins nucleares, como se tivesse ocorrido instantaneamente. Portanto, na escala temporal de RMN, o termo da eq. 2.64, $(S_z - S_0)$ pode ser considerado como constante.

Como $(W_0 + 2W_1 + W_2)$ representa a parte da taxa de relaxação nuclear que tem origem na interação com os elétrons e W_I as contribuições para a taxa de relaxação nuclear vinda de outras interações, tal qual as que normalmente estão presentes nos sistemas diamagnéticos (e comumente escrita como $1/T_{1,0}$), então o fator de perda f , pode ser escrito como

$$f = \frac{1/T_1 - 1/T_{1,0}}{1/T_1} \quad (2.72)$$

Assim, f mede a fração da taxa de relaxação total devida à interação elétron-núcleo. Quando esta interação é desprezível, $f=0$, e quando é dominante, $f=1$. Com estas definições para ρ e para f , a eq. 2.69 se torna

$$A = \frac{I_z - I_0}{I_0} = - \frac{|\gamma_S|}{\gamma_I} f \rho \frac{\gamma_S^2 H_{1S}^2 T_{1S} T_{2S}}{1 + \gamma_S^2 H_{1S}^2 T_{1S} T_{2S}} \quad (2.73)$$

Por exemplo, para um experimento realizado em um campo magnético de 3.300 G, o qual corresponde a uma frequência de 9,250 GHz, para o sinal de RPE (banda-X), o sinal de RMN é medido primeiro sem a irradiação da microonda, obtendo-se valores para I_0 , e depois em função da potência de microonda aplicada, quando o sinal de RPE está sendo irradiado, para obter-se I_z . Mas, para frequências de microonda, H_{1S} não é fácil de ser medido. Então, assumindo que $(H_{1S})^2$ é proporcional a potência de microonda aplicada, P , a eq. 2.73 pode ser escrita como

$$A^{-1} = - \left(\frac{|\gamma_S|}{\gamma_I} f \rho \right)^{-1} \left\{ 1 + \frac{1}{\alpha P \gamma_S^2 T_{1S} T_{2S}} \right\} \quad (2.74)$$

onde α é uma constante. Portanto um gráfico do inverso do aumento, A^{-1} , em função do inverso da potência, P^{-1} , deve resultar em uma linha reta que intercepta o eixo do inverso do aumento no valor $[(|\gamma_S|/\gamma_I) f \rho]^{-1}$, correspondendo ao valor do aumento para a saturação completa do sinal de RPE.

Quando o campo magnético da microonda é aplicado, as transições conectadas por W_S e que cumprem as regras de seleção $\Delta m_S = \pm 1$, $\Delta m_I = 0$ são excitadas (fig. 2.7). As populações dos níveis $| - + \rangle$, $| + + \rangle$ crescerão às custas dos níveis $| - - \rangle$, $| + - \rangle$, respectivamente, até a completa saturação do sinal de RPE, onde então as populações dos níveis ficarão iguais e portanto fora do equilíbrio. Como resultado o nível superior de uma das transições

I ($|-->$) perde população, enquanto que a outra transição I ($|++>$) aumenta. Os níveis $| - + >$ e $| + - >$ são conectados por W_0 que atua no sentido de fazer com que suas populações se aproximem do valor de equilíbrio dado pela distribuição de Boltzmann. O resultado final é o aumento do sinal de RMN, o qual é proporcional às diferenças $(N_{--} - N_{+-})$ e $(N_{-+} - N_{++})$. Embora o campo de microonda aplicado tende a igualar as populações dos níveis eletrônicos, os processos de relaxação forçam a redistribuição de Boltzmann entre os níveis. Em termos de probabilidade de transição entre os níveis de energia para o caso da interação puramente escalar, resulta que a única transição permitida é W_0 . Então, as equações 2.70 e 2.71 têm como resultado $\rho = -1$ e $f = 1$ para essa interação particular. Assim, o aumento máximo no sinal obtido é

$$A = \frac{-\rho |\gamma_S|}{\gamma_I} = \frac{|\gamma_S|}{\gamma_I} \quad (2.75)$$

No caso da interação dipolar, as transições W_0 , W_2 e W_1 são todas permitidas. Entretanto, pode ser mostrado que o parâmetro de acoplamento elétron-núcleo, é sempre positivo⁽⁴⁷⁾. Sob condições ideais, $\rho = 1/2$, então o máximo aumento observável, para acoplamento dipolar puro, é $-1/2(|\gamma_S|/\gamma_I)$. Na prática, ambas interações, escalar e dipolar, podem estar presentes e o aumento observado fica no intervalo $-1/2(|\gamma_S|/\gamma_I)$ e $|\gamma_S|/\gamma_I$.

Em linhas gerais, o aumento no sinal de RMN depende da razão dos fatores giromagnéticos elétron-núcleo e de três parâmetros: o grau de saturação da transição eletrônica a ser irradiada, o fator de acoplamento elétron-núcleo e o fator de perda. Além disso, é condição importante para que ocorra o Efeito Overhauser, que a rede seja capaz de trocar quanta de energia $\hbar(\omega_S \pm \omega_I)$ com o sistema de spins. No caso de líquidos, os principais mecanismos que proporcionam a troca de energia são os movimentos rotacional e translacional da molécula. Os elétrons desemparelhados são introduzidos, em geral, como radicais livres (ver Cap. III, Item 3.10), onde, por exemplo, o soluto paramagnético é dissolvido em

água destilada. Assim, no experimento de DNP, o spin nuclear I investigado, pode vir tanto do núcleo do próprio radical, quanto dos núcleos do solvente ou até de outros núcleos de moléculas diamagnéticas dissolvidas. O principal objetivo de se estudar DNP em líquidos tem dois aspectos. Primeiro, o estudo teórico fornece informação sobre a magnitude relativa das interações escalar e dipolar entre os elétrons e os núcleos, as constantes de tempo do movimento molecular e relaxação eletrônica. Segundo, a aplicação prática, que pode produzir fatores de amplificação (aumentos do sinal de RMN) de até 659 vezes. Uma vez que o sinal de RMN é proporcional à diferença de população dos níveis Zeeman, um aumento nesta diferença por um fator 659 aumenta a sensibilidade do sinal de RMN pelo mesmo fator.

CAPÍTULO III: MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 INTRODUÇÃO

A realização de experimentos de DNP requer a operação simultânea dos espectrômetros de RPE e RMN de forma sincronizada com o sistema de aquisição de dados. Para a obtenção de imagens o equipamento deve ainda acionar o motor de passos para girar a amostra, enquanto se aplica um gradiente de campo magnético estático na direção do campo magnético constante H_z . Como tais características não são normalmente encontradas nos espectrômetros convencionais, este capítulo descreve o desenvolvimento experimental usado. Estão detalhadamente descritos os diagramas, desenhos e circuitos dos módulos construídos, seu funcionamento, construção do cabeçote para DNP e da cavidade para RPE, a amostra e sua preparação e a realização do experimento propriamente dito.

3.2 ESPECTRÔMETRO DE RMN

A frequência de operação do espectrômetro de RMN pulsado foi definida, na prática, por dois parâmetros: o valor do γ_N do núcleo de interesse contido na amostra e a faixa de trabalho do eletroímã disponível no Laboratório de RPE do DFCM. A equação 2.4 relaciona essas grandezas e pode ser escrita como⁽¹¹⁾

$$\omega = \gamma_N H_0 \quad (3.1)$$

onde ω é a frequência angular dada em rd s^{-1} .

As amostras usadas contêm água e portanto para o próton do ^1H $\gamma_N = 26.753 \text{ rd s}^{-1} \text{ G}^{-1}$. Assim, por razões práticas de construção e obtenção de componentes eletrônicos no mercado, optou-se por fixar a frequência em 14,0 MHz. Da eq. 3.1 tem-se

$$H = \frac{2 \pi 14 \times 10^6}{26.753} = 3.288G \quad (3.2)$$

Este valor de campo magnético está perfeitamente dentro da faixa de trabalho do eletroímã que pode operar desde alguns Gauss até aproximadamente 10.000 G.

Desse modo foi construído um espectrômetro de RMN pulsado para detecção em fase e quadratura cujo diagrama de blocos está mostrado na fig. 3.1.

Para melhor compreensão do funcionamento do espectrômetro construído, o desenho do seu circuito eletrônico completo foi desmembrado como segue: circuito eletrônico do transmissor, circuito do receptor, fonte de alimentação, circuito tanque e circuito divisor de potência.

Transmissor - composto dos seguintes blocos:

- Oscilador, pulsador, programador de pulsos interno, filtros passa faixa, amplificador de potência de RF e saída de referência. A figura 3.2 mostra o circuito eletrônico do transmissor.

Cada bloco será em seguida explicado em detalhes:

- Oscilador: montagem usual usando o transistor 2N2222 com realimentação entre coletor e base, estabilizada a cristal. Proporciona na saída do coletor uma onda senoidal contínua de amplitude igual a 10 V_{pp} e frequência fixa de 14 MHz que é transformada em onda quadrada e mantida em 5 V pelo 1/4 do CI 7402. Suas duas saídas vão: uma para o pulsador e a outra para a referência.

- Pulsador: O outro 1/4 do CI 7402 recebe em uma de suas entradas o sinal quadrado (pino 12) que vem do oscilador e na outra pulsos gerados pelo programador de pulsos. A saída é um sinal na forma de um trem de pulsos retangulares cuja seqüência, duração e frequência de repetição, são dadas pelo programador de pulsos.

Fig. 3.1 Diagrama de blocos do espectrômetro de RMN pulsado.

Cada pulso contém o sinal quadrado de 14 MHz. Sua saída vai para o filtro passa faixa centrado em 14 MHz.

- Programador de pulsos interno: Este bloco, formado pelos circuitos integrados 4047, 74121 e 74123, é responsável pela formação dos pulsos de $\pi/2$ e π . Ele pode ser programado de forma analógica, pelo usuário, quando a chave SW se encontra na posição "interno". Na posição "externo" os pulsos são gerados na interface do microcomputador e são programados via teclado. O CI 4047 fornece o tempo de repetição dos pulsos e pode ser ajustado de zero até 3 s através do potenciômetro de 1 M Ω . A geração e o ajuste de duração do 1º pulso é feito no 74121, desde 8 até 100 μ s, pelo potenciômetro de 100 K Ω . O 1/2 do 74123 gera o intervalo entre os pulsos cujo ajuste é feito pelo potenciômetro de 1 M Ω . Finalmente, o 2º pulso é gerado pelo outro 1/2 do 74123 e sua duração ajustada pelo potenciômetro de 100 K Ω . Como não foram feitos experimentos de eco de spin, o primeiro pulso foi usado como sincronismo principal para todos os demais eventos e o segundo pulso passou a ser o pulso de $\pi/2$.

- Filtro passa faixa: Composto dos capacitores e bobinas C15, C16, C17, L5 e L6, tem a função de cortar as componentes do sinal abaixo e acima de 14 MHz e devolver ao sinal sua forma senoidal. Sua saída está conectada à base do 1º transistor do amplificador de potência de RF.

- Amplificador de potência de RF: É composto de dois estágios de amplificação, sendo ambos sintonizados em 14 MHz. O 1º estágio, formado pelo transistor 2N2219, eleva a amplitude dos pulsos para 10 V_{pp}, sinal este que vai para a base do transistor de saída de RF, outro 2N2219 que fornece aproximadamente 20 V_{pp}, ou 1 W_{pp} em 50 Ω , para o circuito tanque onde está a bobina e o suporte para a amostra.

Fig. 3.2 Circuito eletrônico do transmissor de RF pulsado.

- Referência: Composto por outro conjunto de capacitores e bobinas, que funcionam como o filtro passa faixa para formar o sinal senoidal para a referência dos misturadores, e por quatro resistores, que servem para fazer o casamento de impedância para o próximo estágio. Sua saída vai para o divisor 0° - 90° .

Receptor - composto dos seguintes blocos:

Primeiro estágio pré-amplificador de RF integrado, segundo pré-amplificador transistorizado, divisor 0° - 0° , divisor 0° - 90° , misturadores, filtro passa baixa, amplificador de áudio e filtro

passa baixa ativo. A figura 3.3 mostra o circuito completo do receptor.

Fig. 3.3 Circuito eletrônico do receptor em fase e quadratura.

- 1° pré-amplificador de RF integrado: trata-se de um pré-amplificador integrado, comercial, marca ANZAC mod. AM-113, de banda larga, de 10 a 100 MHz, com figura de ruído de 1,5 dB e ganho de 30 dB. Sua função é amplificar e definir a figura de ruído do sinal gerado na bobina onde está a amostra. Sua saída vai para o 2° pré-amplificador.

- 2° pré-amplificador transistorizado: composto de dois estágios sintonizados em 14 MHz, tendo como elementos ativos dois transistores MOS FET DUAL GATE 40821 com ganho total de 50 dB. Amplifica o sinal vindo do 1° pré-amplificador e sua saída vai para o divisor 0°-0°.

- Divisor 0°-0°: Este componente passivo divide o sinal vindo do 2° pré-amplificador em dois sinais iguais de mesma fase. Foi utilizado o mod. PSC2-1 marca Mini Circuits. Suas duas saídas estão ligadas uma em cada um dos misturadores SRA-1.

- Divisor 0°-90°: Recebe o sinal senoidal de 14 MHz vindo da referência e o divide em dois, sendo um em fase com o sinal de entrada e o outro em quadratura. Suas duas saídas, em fase (0°) e quadratura (90°), vão para os misturadores SRA-1. O componente utilizado foi o mod. PSCQ2-14 da Mini Circuits.

- Misturadores: Têm a função de "misturar" o sinal vindo do divisor 0°-0° com os sinais em fase e quadratura enviados pelo divisor 0°-90°. São também conhecidos como detectores sensíveis à fase (Phase Sensitive Detector - PSD)⁽⁵²⁾. São responsáveis pelo sistema que gera os sinais real e o imaginário⁽⁵²⁾. Também foram usados componentes da Mini Circuits, mod. SRA-1. A saída de cada misturador vai para o filtro passa baixa.

- Filtros passa baixa: São formados por um par RC, ligados na saída de cada um dos misturadores e servem para cortar frequências acima de 30 KHz. Fazem a ligação entre os misturadores e os amplificadores de áudio.

- Amplificadores de áudio: São dois, um para a saída do sinal real e outro para o imaginário. Cada canal amplificador é composto de dois amplificadores operacionais TL071. A saída é conectada ao filtro passa baixo ativo.

- Filtros passa baixo ativo: Também são dois, um para cada canal. Formado pelo amplificador operacional TL071, e projetado para ter uma resposta plana até a frequência de corte de 6 KHZ a 3 dB. A saída de cada filtro vai para a placa de aquisição de dados localizada no microcomputador.

Fonte de alimentação:

Foi construída uma fonte convencional para fornecer uma tensão simétrica igual a ± 21 VDC. Os reguladores LM 7812, LM 7912 e LM 7805 para as tensões de ± 12 e ± 5 VDC respectivamente, foram montados nas placas do transmissor e do receptor, o mais próximo possível dos circuitos.

Na montagem e ligações elétricas da fonte com as placas de circuito impresso, foram encontrados os conhecidos problemas de corrente AC circulando pelas "malhas de terra" e o indesejável sinal de 60 Hz em diversos pontos do circuito. Devido aos amplificadores de alto ganho, esses efeitos eram esperados e foram minimizados com os tradicionais filtros e desacoplamentos feitos com capacitores, indutores e resistores, conforme indicado nas respectivas figuras.

Circuito tanque:

O circuito tanque consiste em um circuito LC ressonante próximo da frequência do transmissor (14 MHz). O acoplamento usado foi capacitivo. Normalmente é considerado o elemento mais crítico⁽³⁰⁾ no espectrômetro de RMN, sendo construído artesanalmente para atender a um determinado objetivo. Neste caso, o circuito tanque é o próprio cabeçote para DNP⁽⁴³⁾ que está explicado detalhadamente no item 3.5. Por agora o cabeçote para DNP será tratado apenas como o circuito ressonante LC, onde serão abordados os aspectos de acoplamento e sintonia.

Conforme mencionado no Cap. II, para se induzir transições

entre os estados possíveis dos spins dos núcleos atômicos da amostra, é necessário colocá-la no interior de uma bobina onde existe um campo eletromagnético alternado com frequência de Larmor. A intensidade do campo e sua duração devem ser suficientes para alterar a direção da magnetização nuclear de seu estado de equilíbrio ao longo do campo estático H , tal que se cumpra a relação⁽⁵²⁾

$$\theta = \gamma_N H_1 t_w = \frac{\pi}{2} \quad (3.3)$$

onde θ é o ângulo de rotação da magnetização no sistema de coordenadas girante, H_1 é o campo magnético alternado perpendicular a H e t_w é o tempo de duração do campo H_1 .

O circuito tanque está conectado ao amplificador de RF, que tem uma impedância de saída de 50Ω , através de um cabo coaxial com impedância $Z_0 = 50 \Omega$. Portanto, o circuito tanque funciona como uma carga para o amplificador de RF e para que ocorra a máxima transferência de potência, é necessário o casamento de impedância⁽⁵⁵⁾. Assim, o circuito tanque deve apresentar uma impedância de 50Ω , na frequência de Larmor, para intensificar o valor do campo de RF produzido pela bobina. O circuito adotado é mostrado na fig. 3.4.

O capacitor de acoplamento C_a está colocado em série com o circuito ressonante, formado pela indutância L da bobina de RF e pelo capacitor de sintonia C_s . Os valores de C_a e C_s são dados teoricamente por⁽³¹⁾

$$C_a = [(Q \omega L - R_0) R_0 \omega^2]^{-1/2} \quad (3.4)$$

e

$$C_s = \frac{Q R_0 \omega C_a - 1}{Q R_0 \omega^3 C_a L} \quad (3.5)$$

onde Q é o fator de qualidade da bobina e L é a indutância.

Fig. 3.4 Circuito tanque com acoplamento capacitivo.

Os valores de Q e L são determinados experimentalmente com o auxílio de um medidor de fator de qualidade Hewlett-Packard, mod. 260A, $R_0 = 50 \, \Omega$ e ω é dado pela frequência angular de Larmor. Com os valores de Q e L medidos na bobina construída, os valores de C_a e C_s calculados estão na faixa de dezenas de pF. Na montagem final, para facilitar os ajustes, foram usados capacitores variáveis de 30 a 80 pF.

A resistência real R , do fio da bobina, apesar de não estar representada no circuito, é importante porque seu valor determina fator de qualidade dado por $Q = \omega_0 L / R$. Ajustando-se o capacitor de sintonia C_s , observa-se que a parte real da impedância tem valor normalmente muito maior do que $50 \, \Omega$ na frequência de ressonância f_r ($f_r = \omega_0 / 2\pi$). Então, para um perfeito casamento de impedância com o cabo coaxial, o valor ideal da impedância deveria ser igual a $Z_0 = 50 \, \Omega$. Para contornar essa dificuldade, a solução é colocar um capacitor de acoplamento C_a , em série com o circuito LC, que representa uma impedância imaginária Z_{Ca} , que cancela a parte imaginária da impedância do circuito tanque, na frequência em que a parte real daquela impedância é igual a Z_0 . Dessa forma, o circuito tanque fica acoplado perfeitamente com o cabo coaxial em uma frequência ligeiramente diferente de f_r . Os capacitores C_a e C_s são variáveis, o que permite que sejam ajustados para o melhor

acoplamento e sintonia.

Com a amostra colocada no interior da bobina, o circuito tanque pode então ser sintonizado conforme mostra a fig. 3.5. Para o procedimento de sintonia utilizou-se um gerador de varredura Hewlett-Packard mod. 8690B e um divisor de potência da Mini Circuits mod. ZFSC 2-2, com faixa de operação de 10 a 1000 MHz e com isolamento entre as portas A e B da ordem de 30 dB quando a porta S está conectada a uma impedância de 50 Ω .

A faixa de frequência fornecida pelo gerador deve ser selecionada entre extremos conhecidos para incluir a frequência de ressonância do circuito tanque, f_r . O gerador ainda fornece uma marca para a frequência de acoplamento desejada e um sinal de sincronismo para o eixo X do osciloscópio. Este método de sintonia baseia-se no princípio conhecido como sintonia por reflexão⁽³¹⁾. Com o osciloscópio no modo XY, ajusta-se os capacitores C_s e C_a até que o sinal na frequência desejada desapareça na tela do osciloscópio, conforme mostrado na fig. 3.5, ou seja, toda a potência fornecida pelo gerador de varredura de RF, é absorvida pelo circuito tanque naquela frequência e nada é refletido para a porta B. Nessa condição o circuito está perfeitamente acoplado e sintonizado.

Fig. 3.5 Sintonia do circuito tanque.

Uma vez obtida a sintonia, o divisor de potência ZFSC 2-2 é substituído por outro divisor de potência construído com um par de

diodos cruzados e um cabo coaxial, conhecido como cabo de $\lambda/4$, e as demais conexões com o amplificador de potência e com o pré-amplificador são refeitas, conforme mostrado na fig. 3.1. Para melhor compreensão do funcionamento, esta parte do circuito foi redesenhada em detalhes e será em seguida explicada de acordo com a fig. 3.6.

As ligações com o circuito tanque merecem atenção e cuidados especiais porque conectam, ao mesmo tempo, a bobina da amostra com a saída do amplificador de potência de RF, onde pulsos de 1 W são gerados, e a entrada do pré-amplificador, que é de baixo ruído e destinado a sinais de baixo nível. A montagem da fig. 3.6 visa compatibilizar essa condição, transferindo a máxima potência dos pulsos de RF para a bobina sem saturar e danificar o pré-amplificador, e garantindo que o pequeno sinal produzido pelo sistema de spins da amostra seja captado e amplificado com a melhor relação sinal/ruído possível.

Fig. 3.6 Divisor de potência e ligação com cabo de $\lambda/4$.

O cabo coaxial com comprimento igual a $\lambda/4$ tem a seguinte propriedade: sua impedância nominal Z_0 obedece a relação⁽⁵⁵⁾

$$Z_0^2 = Z_E Z_S \quad (3.6)$$

onde $Z_0 = 50 \, \Omega$ nos cabos comerciais, Z_E é a impedância de entrada

e Z_s é a impedância de saída.

Assim, durante a aplicação do pulso de RF de $\pi/2$, o par de diodos D_1 fica polarizado pela voltagem de 20 V_{pp} e funciona como um curto, de modo que essa tensão aparece no ponto C, conexão com o circuito tanque, e no ponto A que é a entrada do cabo coaxial. No ponto B, pela mesma razão, o par de diodos D_2 também conduz e funciona como um curto para terra. Então, do ponto de vista da impedância Z_s do cabo coaxial, Z_s fica com valor próximo de zero, como $Z_0 = 50 \Omega$ e pela Eq. 3.6, Z_E tende para valores de impedância infinita. Ou seja, praticamente toda potência é direcionada para o circuito tanque, protegendo dessa forma o pré-amplificador.

Imediatamente após o fim do pulso de RF, o par de diodos D_1 funciona como um circuito aberto, impedindo a passagem de ruídos abaixo de $\sim 0,5$ V do amplificador de potência para o circuito tanque e para o pré-amplificador. O par de diodos D_2 também fica aberto para sinais menores do que $\sim 0,5$ V provenientes da bobina.

Nesta situação $Z_s = Z_{amp} = 50 \Omega$. Como $Z_0 = 50 \Omega$, então pela equação 3.6, $Z_E = 50 \Omega$ (casamento de impedância na entrada) o que significa máxima transferência de sinal para o amplificador. Desse modo o sinal de RMN (FID) induzido pelo sistema de spins na bobina é conduzido para a entrada do pré-amplificador de RF com a máxima eficiência.

O cabo coaxial usado tem uma impedância nominal $Z_0 = 50 \Omega$ e o dielétrico é de polietileno. O fator de velocidade utilizado para o cálculo de λ foi $v = 0,667$ c (extraído do manual do fabricante), $c = 3 \times 10^8$ m/s e $f = 14$ MHz. O valor de λ se obtém de

$$\lambda = \frac{v}{f} = \frac{0,667 \times 3 \times 10^8}{14 \times 10^6} = 14,29 \text{ m} \quad (3.7)$$

Logo $\lambda/4 = 3,57$ m (verificado experimentalmente) foi o comprimento do cabo coaxial utilizado para a conexão do circuito tanque com o pré-amplificador.

3.3 ESPECTRÔMETRO DE RPE

Neste item será descrito o espectrômetro de RPE de banda-X ($\lambda \approx 3$ cm, $F \approx 9$ GHz) existente no Laboratório de Ressonância Magnética do DFCM desde 1970 e as alterações introduzidas para que pudesse ser usado nos experimentos de DNP. A fig. 3.7 mostra o diagrama de blocos da montagem final do espectrômetro de RPE.

O espectrômetro de RPE do DFCM é um equipamento convencional no que se refere ao seu funcionamento básico, mas difere dos comerciais na montagem, pois, trata-se de um equipamento cujos módulos eletrônicos e as partes que compõe a ponte de microonda foram adquiridas separadamente. Essa opção traz a vantagem da versatilidade onde diferentes configurações de detecção, por exemplo, são possíveis. Não serão aqui explicados em detalhes o funcionamento de todos os módulos do espectrômetro de RPE porque o uso dessa técnica está bastante difundido entre os especialistas e usuários de RPE e uma vasta literatura existe sobre o assunto^(54,57). Um estudo detalhado sobre operação, funcionamento, tipos de detecção, vantagens, desvantagens e características das diferentes configurações desse espectrômetro de RPE pode ser visto na referência 36.

As modificações básicas efetuadas na montagem usual do espectrômetro para a realização de experimentos de DNP foram as seguintes:

- Substituição da cavidade Varian V-4535 pela cavidade de RPE especialmente construída para esse fim.

- Substituição do "T-mágico" por um circulador marca Sivers Lab. mod. PM 7050 X, o qual permite que mais potência de microonda gerada pelo klystron seja direcionada para a cavidade de RPE⁽⁵⁴⁾.

- Introdução de dois moduladores ("PIN MODULATORS") marca Hewlett Packard mod. 8735 B para pulsar a microonda conforme explicado no Item 3.3.1.

- Substituição do " Lock-in " marca PAR mod. HR8 por um outro digital marca PAR mod. 5210.
- Substituição do amplificador de potência para alimentar as bobinas de modulação marca Hewlett Packard mod. 467A por um amplificador dedicado construído para esse fim e cujo circuito está

Fig. 3.7 Espectrômetro de RPE de banda-X.

mostrado no Item 3.6.

- A frequência de modulação do campo estático H (necessária para a detecção sensível à fase) foi abaixada para 3,88 KHz, devido ao material latão usado na construção da cavidade de RPE, o que obstruiria significativamente a penetração do campo magnético para a frequência de modulação usual de 100 KHz.

- Uso de bobinas de modulação instaladas do lado de fora da cavidade de RPE.

- Gerador de pulsos com atraso ajustável especialmente construído para atuar sobre os "PIN MODULATORS" e cujo circuito e funcionamento está detalhado no Item 3.3.2.

- Para a geração do gradiente de campo magnético na direção do campo magnético estático H, foram usadas um par de bobinas do tipo Helmholtz existente e instalada ao redor das peças polares do eletroímã. O desenho e características das bobinas estão mostradas no Item 3.9.

- O motor de passos, usado para girar a amostra, e seu módulo de controle normalmente não fazem parte do espectrômetro, por isso não estão representados no diagrama de blocos, mas o circuito eletrônico está mostrado no Item 3.8.

A atual montagem do espectrômetro permite que se selecione entre a detecção homodina ou super-heterodina. O controle automático de frequência (CAF) utilizado é do tipo que estabiliza a frequência do klystron sempre na frequência de ressonância da cavidade, mesmo durante a passagem pela condição de ressonância da amostra, na qual a frequência de ressonância da cavidade varia. Essa forma, além de eliminar os efeitos da instabilidade na frequência do klystron, evita que ocorram misturas entre a absorção e dispersão no sinal detectado. Assim, se desejado, o espectrômetro pode ser sintonizado para detectar sempre o sinal de absorção.

Foi escolhida a detecção super-heterodina por ser mais conveniente em termos de sensibilidade e por requerer pouca potência na cavidade durante a localização e detecção do sinal de RPE, o que evita o aquecimento da amostra.

A lista dos principais componentes do espectrômetro, marca, modelo e algumas características importantes estão indicadas abaixo:

- Fonte do Klystron: Hewlett Packard; 716B.
- Klystron: Varian; VA 265; 8,5 - 9,6 GHz; 600 mW.
- Isolador de ferrite: Narda Microwave; 1210; isolação 30 dB.
- Freqüencímetro: Hewlett Packard; x532B.
- "PIN MODULATOR": Hewlett Packard; 8735 B; 8,5 - 12,4 GHz; atenuação máxima 80 dB; resposta $\approx$ 30 ns.
- Atenuador variável: Hewlett Packard; x382A; atenuação máxima 50 dB.
- Defasador: Hewlett Packard; x885A; 0 - 360°.
- Circulador: Sivers Lab.; PM 7050X.
- Cavidade de RPE: construída na oficina mecânica da EMBRAPA; 8,8 - 12 GHz; cilíndrica; latão; modo TE₀₁₁.
- Acoplador direcional: Narda Microwave; 1071-10; 8,2 - 12,4 GHz.
- Oscilador local: Philips; PM 7015x; 8,5 - 10,5 GHz; 10 mW.
- Misturador e pré-amplificador: Varian, Lel Division; xBH-7-60-12-50; freqüência intermediária 60 MHz; banda de passagem 12 MHz.
- Amplificador de FI: Varian, Lel Division; ITA-34-60-08-50; freqüência intermediária 60 MHz; banda de passagem 8 MHz.
- "Lock-in": PAR; 120; sensibilidade 0,1 mV max; 10 KHz (usado no controle automático de freqüência - CAF).
- "Lock-in": PAR; 5210; sensibilidade 10 nV max; 120 KHz.
- Eletroímã: Varian; V-3900; peças polares de 12"; 0 - 10 KG.
- "Fieldial": Varian; Mark II.
- Fonte do eletroímã: Varian; V-2800; 10 KW.

3.3.1 "PIN MODULATORS"

Conforme mencionado no item anterior, a configuração usual do espectrômetro de RPE foi alterada para permitir a introdução de

dois moduladores de microonda (" PIN MODULATOR "), ver a fig. 3.7. Um dos moduladores foi colocado no ramo da ponte de microonda que vai para a cavidade. Sua função é pulsar (bloqueando/liberando) a microonda que chega à cavidade onde está a amostra a ser irradiada. Desse modo, quando o modulador está com 0 dB de atenuação, toda a potência da microonda do klystron pode ser enviada para a amostra durante um período previamente ajustado. Durante o período seguinte, a atenuação do modulador pode chegar ao valor máximo de 80 dB e nenhuma microonda chega à amostra. Esse procedimento evita o seu aquecimento durante a realização dos experimentos. O outro modulador está no ramo do controle automático de frequência (CAF), e opera em oposição ao primeiro, permitindo assim que o CAF continue funcionando, apesar da microonda estar sendo pulsada. O modulador HP 8735B é um componente de microonda feito a partir de um guia de onda para a banda-X, tendo no seu interior um conjunto de diodos especiais para microonda, que quando sujeitos a uma tensão de 0 V fazem com que o modulador apresente uma atenuação de 0 dB. Com uma tensão negativa de - 1,5 V, a atenuação máxima do modulador chega a 80 dB, bloqueando praticamente a passagem da microonda. O circuito eletrônico do gerador de pulsos contruído para atuar nos moduladores está descrito no Item 3.3.2. A seqüência de pulsos e sua sincronização com os pulsos de RF e com o sistema de aquisição de dados estão mostradas na fig. 3.9.

3.3.2 GERADOR DE PULSOS PARA OS MODULADORES

Um novo gerador de pulsos com duração e atraso ajustáveis foi construído a partir de um aparelho anterior existente. Foram feitas as adaptações e modificações necessárias para operar de acordo com a seqüência de pulsos mostrada na fig. 3.9. O diagrama do circuito eletrônico do gerador de pulsos pode ser visto na fig. 3.8.

O funcionamento do gerador é o seguinte: Um pulso de 5 V fornecido pelo espectrômetro de RMN é conectado à entrada de sincronismo através de um cabo coaxial. Esse pulso dispara o

multivibrador monoestável 74LS123 que coloca na saída Q um pulso cuja duração depende do potenciômetro P2 e dos capacitores C4 e C5, que são selecionados pela chave CH3. A duração dos pulsos pode ser ajustada continuamente de 12 ms até 3,5 s. Com a chave CH4 na posição INT esse pulso é dividido em dois pulsos com fases opostas pelos transistores Q4 e Q5. Os pulsos, agora um positivo e outro negativo, vão para os transistores Q6 e Q7, que em conjunto com os potenciômetros P3 e P4 e as baterias fornecem nas saídas J3 e J4 os sinais para os moduladores de microonda. As saídas J3 e J4 fornecem cada uma um pulso negativo com amplitude ajustável de 0 a -1,5 V, mas com fases opostas, ou seja, em J3 o sinal está em -1,5 V e no pulso de sincronismo vai para 0 V, enquanto J4 que estava em 0 V foi para -1,5 V. Essa combinação de pulsos é melhor visualizada na fig. 3.9. O ajuste na posição do pulso de RF ($\pi/2$) em relação ao tempo em que a microonda permanece ligada (atraso), é feito no espectrômetro de RMN através do potenciômetro que controla o intervalo entre os pulsos de $\pi/2$ e π . Conforme mencionado no Item 3.2, o programador de pulsos foi modificado para que o primeiro pulso passasse a ser o sinal principal de sincronismo para todos os demais eventos.

O segundo pulso foi então usado como o pulso de $\pi/2$. O intervalo entre os pulsos e conseqüentemente o atraso, pode ser ajustado de 25 ms até 1,8 s. A outra metade do 74LS123, responsável pelo sinal de atraso não foi utilizada. Conforme mostra a fig. 3.8 a conexão de sincronismo foi feita diretamente no pino 9 do 74LS123 que gera a duração do pulso.

3.4 CAVIDADE DE RPE

Inicialmente usou-se a cavidade cilíndrica Varian V-4535 que faz parte do espectrômetro de RPE. Entretanto, conforme será explicado no próximo item, os resultados obtidos com essa cavidade não foram satisfatórios.

Fig. 3.8 Gerador de pulsos para os moduladores.

Fig. 3.9 Sequência de pulsos usada nos experimentos de DNP.

A solução encontrada foi a de projetar e construir uma cavidade de RPE para operar na banda-X com frequência e acoplamento ajustáveis⁽⁴¹⁾.

Assim, foi construída uma cavidade cilíndrica de latão para operar na faixa de aproximadamente 8,8 a 9,6 GHz no modo TE_{011} . Os parâmetros para o desenho da cavidade foram orientados pela obra citada na ref. 54. As dimensões principais calculadas em função da frequência e do modo desejados são: diâmetro interno 4,15 cm e comprimento de 3,0 a 4,0 cm, variável através do movimento da tampa inferior. O desenho das partes que compõem a cavidade estão detalhadamente mostrados nas figuras. 3.10 e 3.11. A variação na frequência de ressonância da cavidade é obtida girando-se a tampa inferior do cilindro, para dentro ou para fora, o que altera o seu comprimento e conseqüentemente a frequência. A entrada da microonda na cavidade é feita por um pequeno orifício retangular, conhecido como íris, na tampa superior e o acoplamento é do tipo capacitivo, feito por um parafuso de teflon que desliza faceando o íris, também na tampa superior do cilindro. O acoplamento com o guia de onda

vindo do circulador é feito através de uma flange convencional presa com quatro parafusos. A figura 3.12 mostra o desenho em perspectiva da cavidade montada.

Nenhum tratamento especial como banho de ouro ou prata foi feito na superfície interna da cavidade. Após a usinagem, as partes que compõem a superfície interna foram apenas polidas. A amostra é colocada na cavidade através de um furo transversal ao cilindro, a 2,0 cm da tampa superior.

Para a verificação da performance da cavidade foram realizados experimentos utilizando-se amostra líquida preparada com radicais livres da família dos nitróxidos, como o TEMPOL (4-hydroxy-2,2,6,6-tetra-methyl-piperidine-1-oxyl - Aldrich) dissolvidos em água destilada com concentração de 2,2 mM, e amostra sólida com algumas miligramas de DPPH (α, α' -diphenyl- β -picryl-hydrazyl) envolvida em fita de teflon com diâmetro aproximado de 1 mm.

A fig. 3.13 mostra o espectro da derivada primeira do sinal de absorção da amostra de DPPH colocada no centro da cavidade. A fig. 3.14 mostra o espectro da derivada primeira do sinal de absorção da amostra de TEMPOL (10 μ l de uma solução 2,2 mM). A análise do espectro revela que a relação sinal/ruído é muito boa e comparável ao sinal obtido com cavidades cúbicas comerciais.

Um outro tipo de experimento foi efetuado visando determinar a variação da amplitude do sinal em função de sua posição na cavidade. Isto era necessário para se confirmar que no modo TE_{011} a densidade de linhas de campo magnético é maior no centro do cilindro⁽⁵⁴⁾. A amostra contendo DPPH foi colocada no centro da cavidade e um espectro obtido. Em seguida a amostra foi deslocada de um em um milímetro em relação ao centro e as amplitudes dos espectros foram anotadas. Todas as demais condições do espectrômetro foram mantidas constantes. A fig. 3.15 ilustra a variação da amplitude do sinal de RPE em função da posição da amostra.

Fig. 3.10 Partes principais da cavidade de RPE. a) corpo cilíndrico; b) Tampa inferior; c) Tampa superior.

Fig. 3.11 Partes da cavidade de RPE (cont.) a) Guia de onda e flange de acoplamento; b) Parafuso de ajuste.

Fig. 3.12 Cavidade de RPE com acoplamento e frequência ajustáveis.

Fig. 3.13 Espectro de RPE do DPPH.

Esse resultado confirma que nessa cavidade cônica o lugar ideal para se colocar a amostra é no centro, onde a densidade de linhas do campo magnético da microonda é maior.

Com a cavidade de RPE funcionando perfeitamente foi então construído o suporte para a amostra e a bobina de RF para a excitação/recepção do sinal de RMN, conhecido como cabeçote para DNP, que está descrito no próximo item.

3.5 CABEÇOTE PARA DNP

Um dos desafios do presente trabalho, foi o estudo, desenho, construção e testes do cabeçote para DNP. São conhecidas as inúmeras dificuldades para a realização de experimentos de ressonância dupla, onde a colocação de bobinas de rádio-freqüência dentro ou fora de cavidades de RPE requerem paciência, criatividade e muita experimentação. A introdução de condutores metálicos (fios para bobinas) dentro de uma cavidade de RPE provoca efeitos muitas vezes inevitáveis. A interação da radiação eletromagnética (microonda na banda-X) com fios de cobre, usados na construção da bobina de RF, é a responsável por tais efeitos. Para citar alguns: a diminuição do fator de qualidade, absorção, reflexão e deformações do campo eletromagnético da microonda, deslocamento da freqüência e alteração no modo natural de ressonância.

Fig. 3.14 Espectro de RPE do TEMPOL.

Uma publicação⁽⁵⁴⁾, muito consultada por pesquisadores e usuários de RPE e RMN, mostra de forma detalhada uma revisão sobre os cabeçotes e espectrômetros para ressonância dupla, seus problemas e soluções para aquela época, onde o enfoque está do desenho de cavidades e bobinas.

Para a realização de testes preliminares com objetivo de desenvolver o melhor cabeçote para DNP, procurou-se usar uma cavidade de RPE comercial existente no laboratório do DFCM. O primeiro cabeçote contruído constituiu na montagem de uma bobina solenoidal enrolada ao redor de um tubo de acrílico, de 5,5 mm de diâmetro externo, colocado longitudinalmente ao longo do eixo de uma cavidade cilíndrica Varian V-4535 conforme a fig. 3.16-A. Experimentos realizados com esse cabeçote mostraram apenas um pequeno aumento do sinal de RMN. A razão desse pequeno aumento, é atribuída principalmente à blindagem produzida pela bobina de radio-freqüência ao campo de microonda, limitando dessa forma a potência de microonda sobre a amostra.

Uma outra tentativa foi contruir uma bobina tipo "sela", que é muito mais aberta, ao redor de outro tubo de acrílico similar ao anterior e repetir a experiência, ver a fig. 3.16-B.

Fig. 3.15 Amplitude do sinal de RPE em relação ao centro da cavidade.

Aumentos na amplitude do sinal de RMN da ordem de 4 vezes foram então obtidos com uma relação sinal/ruído pequena. Essa configuração obstrui menos a potência de microonda, todavia a sensibilidade da bobina é aproximadamente $1/3$ da tipo solenóide⁽⁵⁶⁾. Para contornar essas dificuldades, visando obter o máximo de sinal, com a melhor relação sinal/ruído e com o mínimo de obstrução da potência de microonda, foi então construído outro cabeçote. Esse novo cabeçote incluiu também a construção de uma cavidade de RPE, vista no item 3.4, a qual permitiu a montagem de bobinas colocadas transversalmente ao eixo do cilindro da cavidade.

Assim, o atual cabeçote para DNP, é formado por um par de bobinas com 3 espiras cada (fio de cobre nº 34 esmaltado) enroladas ao redor do tubo de acrílico de 5,5 mm de diâmetro e afastadas 6 mm, conforme mostra a fig. 3.16-C. Essa configuração se aproxima da conhecida bobina de Helmholtz⁽⁵³⁾, apesar de não cumprir plenamente a condição que a separação das bobinas deve ser igual ao raio.

Essa nova montagem reduz sensivelmente o efeito de blindagem do campo magnético da microonda no centro da cavidade, permitindo uma razoável irradiação da amostra.

Fig. 3.16 Cabeçotes para DNP.

Também fornece um campo de RF com intensidade e homogeneidade suficientes para excitar o sistema de spins nucleares, além de melhorar a relação sinal/ruído.

Com essa versão final de cabeçote dentro da cavidade de RPE construída, foram realizados todos os experimentos de ressonância dupla, onde significativo aumento do sinal de RMN foi observado e imagens de amostras de 1mm de diâmetro foram obtidas. Esses resultados estão apresentados no Cap. V.

3.6 AMPLIFICADOR DE POTÊNCIA E BOBINAS DE MODULAÇÃO

Para a obtenção da derivada primeira do sinal de absorção é necessário que o espectrômetro tenha um sistema de detecção sensível à fase. Para isso o campo magnético estático H deve ser modulado em intensidade⁽⁵⁴⁾ por um sinal de baixa frequência, através de um par de bobinas do tipo de Helmholtz colocadas coaxiais com as peças polares do eletroímã. A frequência dessa modulação é dada pela saída de referência do "lock-in" que é também o amplificador do sinal e o próprio detector. Esse pequeno sinal alternado na saída do "lock-in" tem que ser amplificado de modo que a corrente nas bobinas gere um campo magnético de até alguns Gauss na região onde está a amostra. Este item descreve o circuito e a construção do amplificador de potência e das bobinas de modulação, conforme mostrado no diagrama de blocos, fig. 3.7.

Como a frequência de modulação foi fixada em 3,88 KHz, o amplificador de potência passou a ser um simples amplificador de áudio. Foi usado o circuito integrado TDA-1010 que gera até 10 W de potência de saída em uma carga de 8Ω , e um divisor resistivo como controle de ganho do amplificador. A fig. 3.17 mostra o diagrama do circuito eletrônico do amplificador e da fonte de alimentação construídos.

Para as bobinas de modulação foi usado um par de bobinas planas feitas por um fio enrolado de forma espiral e colado com resina em uma placa. Essas bobinas foram extraídas de um

Fig. 3.17 Amplificador de áudio.

espectrômetro comercial obsoleto. Elas são convenientes porque ocupam pouco espaço e têm que ser colocadas uma de cada lado da cavidade de RPE, o mais próximo possível e entre as peças polares do eletroímã.

Para o teste da linearidade do amplificador, tendo agora as bobinas como carga, e sua eficiência na modulação do campo magnético, foi realizado um experimento com uma amostra de DPPH onde se registrou a derivada primeira do sinal de absorção em função da posição da chave de ganho do amplificador, conforme a ilustra a figura 3.18.

A análise do espectro da fig. 3.18 mostra que a amplitude do sinal de RPE aumenta de acordo com a posição da chave de ganho e sem provocar o alargamento da linha⁽⁵⁴⁾. O mesmo teste foi repetido

Fig. 3.18 Sinal de RPE em função do ganho do amplificador de potência.

para amostra com TEMPOL. Desse modo, mantidas as condições indicadas na figura, a chave de ganho pode ficar na posição x5 durante todos os experimentos.

3.7 SISTEMA DE AQUISIÇÃO DE DADOS

Para aquisição automática do sinal de RMN (FID), armazenamento, tratamento e visualização dos dados foi construída uma placa de aquisição de dados e respectivo "software" para microcomputador (IBM PC), a partir de um sistema de aquisição e controle, desenvolvido inicialmente⁽⁴⁵⁾ para fazer parte de um espectrômetro de RMN pulsado para análise de rotina do teor de óleos em sementes.

O novo sistema de aquisição incorpora algumas adaptações e

modificações no "hardware" e no "software", em relação ao sistema anterior, para atender às necessidades exigidas na realização dos experimentos de DNP. A fig. 3.19 mostra o diagrama de blocos do sistema construído e o circuito eletrônico completo com todos os detalhes está no Apêndice II. O software foi escrito em linguagem C e seu fluxograma e listagem estão mostrados no Cap. IV.

Fig. 3.19 Diagrama de blocos do sistema de aquisição para RMN.

As principais características do sistema construído são:

- Digitalizador:

- Conversor A/D: 12 bits - ADC 674JD.
- Faixa dinâmica: 10 V_{pp}.
- Número de canais: dois com digitalização simultânea.
- "Trigger": externo, nível TTL (borda de subida).
- Taxa de amostragem: 30 μ s a 50 ms.
- Tamanho da memória para o sinal: 64 a 2048 palavras.
- Processamento do sinal:
 - "average": 10⁶ médias.
 - correção da linha de base: pela média dos últimos pontos.
 - suavização ("smooth").

- FFT: em aproximadamente 1 s para 256 pontos (PC-XT com co-processador).
- visualização em tempo real do sinal no domínio do tempo e frequência.
- gravação do sinal em arquivo a cada aquisição.
- Gerador de pulsos programável:
 - Número de canais: 3 de saída com nível TTL.
 - Largura dos pulsos: 100 ns a 65 ms (passo 1,0 ns).
 - Intervalo entre pulsos: 100 ns a 65 ms (passo 100 ns).
 - Tempo de repetição: 1ms a 65 s (passo 1 ms).
- Tela:

Duas janelas foram criadas, uma para o domínio do tempo (FID) e outra para o domínio da frequência (módulo da FFT). O sinal pode ou não ser normalizado para efeito de exibição no vídeo. Também é possível a observação dos dois canais ou apenas um deles. Uma escala numérica mostra os valores de frequência e amplitude do sinal. No Cap. V são mostrados alguns exemplos de impressão da tela gráfica do sinal de RMN da amostra de TEMPOL.
- Ajuste:

Os parâmetros estão sempre presentes na tela para informação ou ajuste. Os ajustes podem ser feitos a qualquer tempo e o parâmetro que se deseja alterar e onde está o cursor é mostrado em vídeo reverso.
- FFT:

Esse módulo calcula a transformada de Fourier rápida de um conjunto de dados na forma complexa (parte real e parte imaginária) e trabalha sempre com potência de dois, ou seja, o conjunto de dados deve conter 64, 128, 256, 512, ... elementos.

O funcionamento do sistema de aquisição não será explicado em detalhes devido: primeiro por ser um assunto específico e atualmente familiar aos usuários de espectrômetros de RMN, não sendo considerado essencial para a compreensão do objeto desta

tese, e segundo porque seria muito extenso descrever todo o funcionamento e a lógica usada no complexo circuito eletrônico. Nos experimentos com amostras muito pequenas não foi usado o gerador de pulsos programável, porque ele introduzia um elevado nível de ruídos no pré-amplificador de RF, principalmente devido à conexão entre o microcomputador e o transmissor do espectrômetro de RMN. Esse ruído se deve em grande parte à fonte chaveada que alimenta todo o microcomputador. Nesses casos, optou-se por usar o circuito gerador de pulsos do próprio espectrômetro de RMN.

3.8 CONTROLE DO MOTOR DE PASSOS

Conforme mencionado na introdução deste capítulo, foi necessário girar a amostra através de um motor de passos para a obtenção de imagens. Isto porque a instalação do eletroímã só dispunha de um par de bobinas para a geração de gradientes. Com as bobinas montadas coaxialmente às peças polares do eletroímã, obtém-se um gradiente na direção z , isto é, paralelo ao próprio campo magnético estático H . Dessa forma, para se obter uma imagem tomográfica do objeto, pelo método conhecido como retroprojeção ("back projection")⁽⁴⁶⁾, este deve ser girado em torno de um eixo no mínimo de 0° a 180° , em intervalos que podem ser, por exemplo, de 6° . A cada ângulo é feita uma aquisição do sinal de RMN (FID). O conjunto de n aquisições forma uma matriz de dados que será trabalhada e usada na reconstrução da imagem.

Portanto, para fazer o motor de passos girar de um ângulo pré-determinado e de forma sincronizada, é necessário um circuito de controle, que a partir de um pulso de sincronismo, gere os pulsos e forneça corrente para as bobinas do motor fazendo-o rodar um determinado número de graus. Para isso foi usado um motor de passos e seu respectivo circuito de controle existente no laboratório e cujo diagrama de blocos está ilustrado na fig. 3.20.

Trata-se de um circuito de controle que permite que o motor seja operado de várias formas: programada, um único pulso,

Fig. 3.20 Diagrama de blocos do circuito de controle do motor de passos.

contínuo, sentido horário ou anti-horário. Além disso, para a seleção do ângulo de giro e para zerar os contadores, o circuito pode funcionar com seu oscilador interno, com oscilador externo, com pulso de sincronismo externo e tem chaves para o disparo manual. O diagrama do circuito eletrônico completo do controlador do motor de passos está mostrado nas figuras 3.21 e 3.22.

O princípio de funcionamento é simples: o número de graus que se deseja que o motor gire, é selecionado através de um conjunto de quatro chaves digitais (chave "thumbwheel"). A saída digital das chaves é comparada com o sinal vindo dos contadores. Quando o valor selecionado é atingido, um pulso lógico dispara o multivibrador que deixa então um trem de pulsos, do oscilador, passar para o motor de passos, por um certo período de tempo, fazendo-o girar daquele valor em graus.

O motor de passos foi fixado sobre a mesa onde estão situados os componentes que compõem a ponte de microonda. O eixo do motor está ligado ao suporte da amostra (tubo de quartzo) dentro da cavidade através de um tubo fino de acrílico, conforme mostra a

Fig. 3.22 Circuito do controle do motor de passos (cont.).

fig. 3.23. O motor de passos construído com materiais metálicos tem que ficar afastado das peças polares e das bobinas do eletroímã para não deformar a homogeneidade do campo magnético estático.

3.9 BOBINAS DE GRADIENTE

Para a geração do gradiente de campo magnético superposto ao campo magnético estático, foi usado um par de bobinas de Helmholtz existente e instalado coaxialmente às peças polares do eletroímã, conforme ilustrado na fig. 3.24. As bobinas foram interligadas na forma anti-Helmholtz, produzindo assim um valor zero para o campo magnético no centro das peças polares e valores crescentes de campo para pontos afastados do centro, de modo que quando superposto ao campo magnético estático, produzisse como resultado um gradiente de campo. A alimentação das bobinas foi feita através de uma fonte de corrente contínua marca Tectrol mod. TC 20-03. Durante os experimentos para a obtenção de imagens a corrente foi ajustada de 0,2 A a 1 A, dependendo do caso.

O valor exato do gradiente de campo não é importante para os experimentos. Para uma corrente de 0,5 A, por exemplo, o valor médio do gradiente medido foi de 0,22 G/cm. As medidas foram realizadas com um Gaussímetro digital Walker Scientific Inc., mod. MG-4D.

3.10 AMOSTRA

No Cap. I do presente trabalho foi por diversas vezes mencionado a intenção de se obter imagens tomográficas de sementes, raízes, frutas, folhas e pequenos animais. Em todos os casos a água é o constituinte principal das amostras. Assim, todos os experimentos foram feitos com amostras em solução, ou seja, um soluto paramagnético que contém radicais livres dissolvidos em água. Devido à perda dielétrica provocada pela interação do campo elétrico da radiação da microonda na banda-X com amostras aquosas,

Fig. 3.23 Desenho esquemático da montagem da cavidade e motor de passos no eletroimã.

procurou-se preparar amostras com o menor tamanho possível (~ 1 mm) mas que proporcionassem uma razoável relação sinal/ruído.

FIO ESMALTADO Nº 15
400 ESPIRAS

Fig. 3.24 Desenho das bobinas de gradiente.

Trabalhos recentes na literatura⁽⁸⁾ revelam que os compostos contendo radicais livres mais convenientes são os da família dos nitróxidos. Espectroscopistas de RPE têm usado nitróxidos desde 1980 como meio de contraste nas imagens clínicas por TORM. Os nitróxidos são compostos quimicamente versáteis, com uma característica comum que é o grupo N-O onde está localizado o elétron desemparelhado. Os mais usados são baseados na piperidina ou na pirrolidina mostrados na fig. 3.25.

A piperidina (4-hydroxy-2,2,6,6-tetra-methyl-piperidine-1-oxyl) é conhecida comercialmente como TEMPOL e a pirrolidina (3-carboxy-2,2,5,5-tetra-methyl-pyrrolidine-1-oxyl) como PCA (Pyrrolidine Carboxylic Acid).

Fig. 3.25 Nitróxidos TEMPOL E PCA.

O fato de serem radicais livres não significa que são especificamente tóxicos. Sua toxicidade em ratos é da mesma ordem de magnitude do Gd-DTPA, um composto normalmente usado como contraste paramagnético em imagens clínicas por TORM⁽⁸⁾.

O número de linhas de sinal de RPE encontrada em uma amostra de TEMPOL, é determinada pela interação hiperfina entre o elétron desemparelhado e o núcleo do nitrogênio adjacente. Como ¹⁴N tem spin 1, o espectro usual de RPE apresenta três linhas principais, ver a fig. 3.14.

3.10.1 PREPARAÇÃO

As amostras usadas nos experimentos de DNP foram preparadas dissolvendo-se TEMPOL (Aldrich) em água destilada nas concentrações de 2,0 e 2,2 mM. Alguns pesquisadores^(3,8) e colaboradores estudaram a influência dos nitróxidos na relaxação dos prótons da água, a estabilidade e o efeito do contraste em função da concentração. O valor de 2,2 mM para a concentração foi escolhido por apresentar o melhor resultado para as imagens com "phantoms".

3.10.2 SUPORTE

Para facilitar a construção e tendo em vista que a amostra teria que ser girada para a obtenção de imagens, o suporte da amostra foi feito com um tubo de quartzo usado em espectroscopia de RPE. O tubo tem 80 mm de comprimento, 4,0 mm de diâmetro externo e 3,0 mm interno conforme a fig. 3.26. Esse tubo é colocado dentro do tubo de acrílico onde está enrolada a bobina de excitação /recepção para RMN.

Fig. 3.26 Tubo de quartzo com dois capilares dentro - vista longitudinal

Para simplificar os experimentos e a interpretação das imagens geradas, algumas configurações de tubos capilares com a solução água + TEMPOL foram testadas. A fig. 3.27 mostra o desenho esquemático do tubo de quartzo com dois capilares dentro vistos em corte. Um capilar fora de centro como mostra a fig. 3.28, também foi usado como "phantom" com objetivo de revelar definição e detalhes na imagem.

A fig. 3.29 mostra o desenho em corte transversal da cavidade de RPE, tubo de acrílico, tubo de quartzo e capilares com amostra.

O volume da solução usada como amostra nos tubos de 1 mm de diâmetro foi de $\sim 5 \mu\text{l}$. As imagens obtidas com e sem efeito Overhauser estão mostradas no Cap. V.

Fig. 3.27 Tubo de quartzo com dois capilares - vista transversal.

Fig. 3.28 Tubo de quartzo com capilar fora do centro - vista transversal.

3.10.3 DETERMINAÇÃO DO NÚMERO DE SPINS

O conhecimento sobre a ordem de grandeza do número de spins da amostra é importante porque a realização do experimento de DNP, depende da concentração do material paramagnético na solução^(3,8). Além disso, como o sinal de RPE é proporcional ao número de spins, a sua localização pode se tornar difícil se o número de spins for próximo ao limite experimental do espectrômetro⁽⁵⁴⁾.

Fig. 3.29 Amostra dentro da cavidade de RPE.

Para amostras preparadas em laboratório, é sempre possível estimar-se o número de spins com um cálculo simples, conforme está explicado a seguir. Entretanto, para amostras irradiadas com raios-X, para produção de radicais livres, por exemplo, não se tem conhecimento prévio a respeito do número de spins gerados. Assim, neste item é mostrado em detalhes uma metodologia para a determinação experimental do número de spins de uma amostra desconhecida. Para a verificação do método foi usada uma amostra preparada com um número de spins obtido a partir do cálculo teórico.

- Cálculo:

Para uma molaridade de 2 mM em 10 ml de água destilada, tem-se

$$m = M P_m V \quad (3.8)$$

onde m é a massa do TEMPOL a ser diluída, M é a molaridade, P_m é o peso molecular e V é o volume.

Como o peso molecular do TEMPOL (Aldrich) é 172,25 g, obtem-se $m = 0,003445$ g. Para 10 μ l de solução pode-se estimar o número de moléculas uma vez que agora a massa é de 3.44×10^{-6} g. Como 1 mol (172.25 g) corresponde a $6,0 \times 10^{23}$ moléculas, então obtem-se

$1,2 \times 10^{16}$ moléculas ou spins por grama.

- Verificação experimental¹:

O método escolhido para a determinação do número de spins foi o do padrão secundário^(58,59) usando a técnica de RPE. Esse método utiliza um padrão que permanece fixo na cavidade durante o experimento e não interfere no sinal de RPE desejado.

O padrão disponível no laboratório é o rubi sintético (Al_2O_3) que contém cerca de 5% de Cr^{3+} . Este padrão é calibrado contra um outro padrão de número de spins conhecido, o qual é medido na mesma posição da cavidade em que ficará a amostra desconhecida (TEMPOL). O padrão com número de spins conhecido usado foi o "pitch" KCl da Varian, com N_0 igual a 10^{13} spins/cm.

O número de spins será proporcional à área da curva obtida no espectro de RPE e é dado por⁽⁵⁸⁾

$$N = K \frac{I_a M_r (\Delta H_a)^2 G_R}{I_r M_a G_a} \quad (3.9)$$

onde

$$K = N_0 \frac{I_r M_p G_p}{I_p M_r (\Delta H_p)^2 G_r} \quad (3.10)$$

sendo I a intensidade do sinal, M a amplitude de modulação, G o ganho e ΔH a largura de linha. Os índices a , r e p são para amostra, rubi e "pitch" respectivamente, e $N_0 = 10^{13}$ spins/cm.

Uma quantidade de TEMPOL de 0,0034 g foi dissolvida em 10 ml de água destilada. Em seguida 10 μl desta solução foram pipetados e transferidos para um capilar de quartzo para ser colocado na cavidade do espectrômetro de RPE. As medidas foram feitas no espectrômetro de RPE com a cavidade cilíndrica Varian V-4535. Inicialmente o "pitch" foi colocado num tubo de quartzo e este foi posicionado 1,8 cm dentro da cavidade pela abertura superior. O

¹Medidas realizadas com a colaboração do MSc Sérgio C. Saab.

rubi foi colocado dentro da cavidade pela abertura inferior e ficou fixo nesta posição durante as medidas. Em seguida foi registrado o espectro de RPE de cada um deles. O "pitch" tem uma linha de ressonância em torno de 3180 G e o rubi em 5150 G para uma frequência de 8,98 GHz. Todos os demais parâmetros como: frequência e amplitude de modulação, tempo e amplitude de varredura, constante de tempo e ganho foram anotados. Estes espectros estão mostrados na fig. 3.30.

O próximo passo foi substituir o "pitch" pela amostra de 10 μ l de TEMPOL. O espectro obtido apresenta três linhas para um valor de campo central de 3192 G. O espectro do rubi foi novamente registrado e ambos espectros podem ser vistos na fig. 3.31.

A partir dos espectros registrados em papel foram feitas as medidas de intensidade e largura de linha. Estes valores, mais os valores da amplitude de modulação e ganho, foram colocados nas equações 10 e 11 fornecendo para N o valor $7,7 \times 10^{17}$ spins/g.

O valor encontrado experimentalmente difere um pouco do valor calculado, e essa diferença pode ser devida a vários fatores tais como: imprecisão na pesagem do TEMPOL; grau de pureza do TEMPOL; imprecisão na medida do volume da amostra; dificuldade de se medir com precisão a quantidade de "pitch" dentro da cavidade; alteração nas condições da cavidade quando se tira o "pitch" e se coloca o TEMPOL e imprecisão nas medidas sobre os registros gráficos. Todavia, se observadas as condições acima, essa metodologia é relativamente fácil de ser usada e fornece a ordem de grandeza do número de spins.

3.11 REALIZAÇÃO DOS EXPERIMENTOS

3.11.1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Conforme visto no Cap. II, as equações 2.4 e 2.13 estabelecem a condição de ressonância para se observar um sinal de ressonância magnética. Como a frequência do transmissor do espectrômetro de RMN

Fig. 3.30 Espectros de RPE do rubi e do "pitch".

Fig. 3.31 Espectros de RPE do rubi e do TEMPOL.

foi fixada em 14,0 MHz, para se obter um sinal de RMN de uma amostra aquosa, a eq. 3.2 fornece o valor de campo magnético estático que deve ficar em torno de 3.288 G. Com esse valor de campo fixo, procurou-se localizar uma das linhas do espectro de RPE do TEMPOL, variando-se a frequência do klystron e, concomitantemente, sintonizando-se a cavidade de RPE e toda a ponte de microonda, para aquela frequência. Por isto, a cavidade de RPE tinha que ter a sintonia e acoplamento ajustáveis.

Em linhas gerais a realização do experimento de DNP, com objetivo de se obter aumento no sinal de RMN, consistiu em sintonizar a frequência da microonda no centro de uma das linhas de RPE do TEMPOL, mantendo-se o campo magnético estático fixo no valor próximo a 3.288 G. Em seguida, a amostra foi irradiada com a potência máxima de microonda disponível, enquanto simultaneamente o sinal de RMN (FID) era observado. Os sinais de RMN foram digitalizados e transferidos para o microcomputador através da interface.

Para a obtenção de imagens, foi aplicado um gradiente de campo magnético na direção do campo magnético estático e o motor de passos era acionado para girar a amostra em intervalos regulares e previamente selecionados, enquanto o sinal de RMN era adquirido. Os experimentos foram efetuados primeiro com a microonda desligada e depois com a microonda ligada, mas pulsando para evitar o aquecimento e evaporação da amostra, conforme explicado anteriormente.

Muitas foram as dificuldades enfrentadas na preparação e realização dos experimentos relatados, onde é necessária a operação simultânea dos dois espectrômetros sincronizados com o sistema de aquisição de dados, com o controle do motor de passos, com os "PIN MODULATORS" e com o campo magnético fixo em uma das linhas de RPE do TEMPOL e na ressonância dos prótons da água.

Entretanto cabe aqui ressaltar que o principal problema encontrado foi a instabilidade do valor do campo magnético estático ao longo do tempo de aquisição de dados. As variações no valor do

campo causam uma dispersão na frequência do sinal de RMN induzido na bobina (FID), o que afeta significativamente a qualidade da imagem obtida, conforme será visto no Cap. IV. As causas dessa instabilidade são devidas ao controlador do campo magnético estático do eletroímã, Varian "Fieldial Mark II", que controla o campo através de um sensor de efeito Hall. Esse equipamento tem mais de 23 anos de uso e foi por diversas vezes aberto para ser consertado, regulado, calibrado e muitos componentes foram trocados visando melhorar a estabilidade do eletroímã. Todavia, os resultados apresentados no Cap. V mostram que apesar desses problemas, a transferência de polarização elétron-núcleo foi conseguida e imagens foram obtidas.

3.11.2 POSIÇÃO DO PULSO DE RF

A teoria sobre DNP requer que a transição eletrônica do soluto paramagnético seja saturada enquanto o sinal de RMN do solvente é observado. Entretanto nada é explicado sobre quanto tempo a amostra dever ser irradiada. Alguns autores^(3,10) sugerem que a amostra seja irradiada por 1 s e após este tempo é aplicado o pulso de RF. Para o caso do presente trabalho foi realizado um experimento para se determinar o tempo ideal de irradiação da amostra antes da aplicação do pulso de RF. Uma amostra de 5 μ l de solução 2,2 mM de água + TEMPOL foi colocada na cavidade de RPE e os experimentos foram conduzidos conforme o seguinte esquema: o gerador de pulsos foi ajustado para que os "PIN MODULATORS" fossem acionados de forma a deixar a microonda ligada por 0,9 s e desligada por outro período igual. O pulso de RF de $\pi/2$ foi aplicado a partir 0,4 s do instante em que a microonda era ligada, e a amplitude do sinal de RMN (FID) medida. Em seguida o experimento foi repetido incrementando-se o tempo do início do pulso de RF de 0,1 s, conforme mostra a fig. 3.32.

Fig. 3.32 Posição do pulso de RF em relação à microonda.

O gráfico mostrado na fig. 3.33 reflete a evolução do sinal de RMN em função do tempo de irradiação da amostra.

Fig. 3.33 Amplitude do sinal de RMN em função da posição do pulso de RF.

A análise da fig. 3.33 mostra que o máximo aumento de sinal ocorre para tempos de irradiação da amostra maiores que 0,7 s. Após este tempo, o pulso de RF pode ser aplicado e observa-se que a amplitude do sinal de RMN permanece aproximadamente constante. Por razões experimentais foi escolhido o tempo de 0,9 s para a duração do pulso de microonda, o que concorda com dados da literatura⁽¹⁰⁾ onde a aplicação do pulso de RF ocorre após a microonda ter sido

ligada por 1 s. Dessa forma esse protocolo foi seguido durante os experimentos de DNP e nenhum aquecimento ou evaporação da amostra foi observado.

O diagrama de blocos mostrado na fig. 3.34 ilustra a montagem completa usada na realização dos experimentos de DNP.

Fig. 3.34 Diagrama de blocos da montagem completa do espectrômetro de DNP.

CAPÍTULO IV: GERAÇÃO DE IMAGENS POR RETROPROJEÇÃO E "SOFTWARES"

4.1 INTRODUÇÃO

Este capítulo trata do processo de geração de imagens por retroprojeção e dos "softwares" usados. Como os primeiros trabalhos a respeito da técnica de Tomografia por Ressonância Magnética (TORM) surgiram em 1973, a literatura publicada sobre o assunto desde então é extensa. Outras informações e detalhes sobre TORM podem ser vistas nas referências 30, 34, 46, 49, 50 e 51. Portanto, a descrição a seguir é um breve resumo da técnica de retroprojeção usada nesta tese para a geração das imagens, as quais estão apresentadas no Cap. V.

São também descritos os "softwares" desenvolvidos e modificados para aquisição de dados e para reconstrução de imagens.

4.2 O MÉTODO DE RETROPROJEÇÃO

Um dos grandes anseios da medicina é poder observar o interior do corpo humano através de métodos não invasivos. Recentemente, grande parte dessa necessidade foi satisfeita pelo desenvolvimento da Tomografia Axial Computadorizada de raios-X (TAC), ou CT (de "Computed Tomography"). Esta técnica utiliza a absorção diferencial dos raios-X pelos diferentes tecidos, medida segundo muitas direções diferentes, de modo a poder reconstruir matematicamente imagens bidimensionais de secções escolhidas de qualquer parte do corpo. Embora a TAC tenha provado ser um instrumento de diagnóstico extremamente útil, apresenta alguns inconvenientes: a) as imagens obtidas são fundamentalmente anatômicas, sem muitas informações sobre o estado fisiológico dos órgãos internos; b) algumas patologias têm propriedades de absorção de raios-X muito semelhantes às dos tecidos circundantes, dificultando sua identificação; c) os raios-X, mesmo em pequenas doses, têm um risco não desprezível de provocarem danos e

alterações fisiológicas aos tecidos.

O desenvolvimento da TORM contribuiu para suprir algumas lacunas da TAC, com vantagens, oferecendo uma nova técnica capaz de obter imagens de secções do corpo humano sem expor o paciente à radiação ionizante. A TORM não usa raios-X, mas sim uma interação inofensiva de campos magnéticos e ondas de rádio com os núcleos atômicos. Ao contrário da TAC, que representa a densidade **eletrônica** dos tecidos, a TORM representa não só a densidade de **núcleos** atômicos (normalmente prótons de hidrogênio) fornecendo informações anatômicas comparável à da TAC, mas também informação sobre os processos químicos e dinâmicos presentes nos tecidos. Esta particularidade torna a imagem de RMN em muitos casos mais útil que a de raios-X, fornecendo meios para uma discriminação mais sensível entre os tecidos normais e patológicos. A imagem de RMN tem também aplicação em outras áreas do conhecimento, como por exemplo, em agropecuária e ciência dos solos, onde movimentos de água nos solos, e determinadas propriedades de frutas, folhas, sementes e raízes podem ser estudadas de forma não destrutiva.

O método de reconstrução de imagens por retroprojeção⁽⁶⁴⁾ a ser analisado, foi o primeiro a ser utilizado tanto em TAC como em TORM, por ser o mais simples conceitualmente e também o mais fácil de entender.

4.2.1 GRADIENTE DE CAMPO MAGNÉTICO

As técnicas de geração de imagens por RMN envolvem a aquisição e processamento de sinais adquiridos no domínio do tempo, cujas componentes de frequência e fatores de fase possuem uma codificação espacial, ou seja, dependem da posição dos spins ressonantes na amostra. Esta codificação espacial é conseguida colocando-se o objeto em um campo magnético cuja magnitude dependa da posição. Assim, a magnetização macroscópica $\vec{M}(\vec{r})$ é proporcional à densidade de prótons, $\rho_H(\vec{r})$. Então, se o campo magnético B tiver valores diferentes no espaço a frequência angular de precessão

$\omega = \gamma_N B$, refletirá esta dependência espacial. Em outras palavras, a frequência na qual um particular spin precessiona, é determinada pela posição do spin dentro do objeto. Um gradiente de campo magnético unidimensional é conseguido superpondo ao campo uniforme B_0 , um campo paralelo que varia linearmente ao longo da direção de B_0 , e possui um gradiente constante $G_z = \partial B_z(\vec{r}) / \partial z$, ou seja

$$B_z = B_0 + G_z z \quad (4.1)$$

onde $B_z(\vec{r})$ foi tomado na direção z , como ilustrado na fig. 4.1. Conseqüentemente,

$$\omega(z) = \gamma_N (B_0 + G_z z) \quad (4.2)$$

Fig. 4.1 Gradiente de campo.

4.2.2 GERAÇÃO DA IMAGEM

O exemplo simples mostrado em seguida, ilustra melhor como está relacionada a dependência espacial de ω , dado pela eq. 4.2, com o mapeamento da distribuição de prótons. Dois tubos preenchidos com água estão colocados no campo magnético onde os valores de

campo são B_1 e B_2 respectivamente. Após serem excitados pelo campo do pulso de RF, a magnetização de cada tubo precessionará com frequências $\omega_1 = \gamma_N B_1$ e $\omega_2 = \gamma_N B_2$, gerando um FID composto $s(t)$.

Aplicando-se a Transformada de Fourier (TF) em $s(t)$, obtém-se sua composição espectral, mostrando quanto de sinal está presente em cada frequência ω . Portanto, tem-se dois picos nas frequências ω_1 e ω_2 , cujas amplitudes são proporcionais ao número de prótons de hidrogênio em cada tubo. Como a relação entre frequência e posição é conhecida, este espectro representa a *imagem* em uma dimensão dos dois tubos, uma vez que ele reflete quanto de água tem em cada posição. Em outras palavras, a TF é a *projeção espacial* da densidade de prótons segundo uma linha paralela à direção do gradiente aplicado, conforme mostra a fig. 4.2a.

Fig. 4.2 a) Projeção de dois tubos com água; b) e c) Projeção para outra direção.

Uma imagem bidimensional da secção transversal de um objeto, é obtida a partir de múltiplas projeções do mesmo plano da secção, através de técnicas de reconstrução. No presente trabalho, as projeções foram obtidas com um único gradiente de campo constante e fixo na direção z , isto é, paralelo ao campo magnético estático B_0 . Para obter-se as projeções para diversas direções do objeto, este foi girado em torno de seu eixo através de um mecanismo acoplado a um motor de passos, conforme explicado no Cap. III,

itens 3.8, 3.9 e 3.11. Desta forma, o objeto foi girado de 0° a 180° , em intervalos de 6° , por exemplo, obtendo-se assim 30 projeções unidimensionais da mesma secção, mostradas esquematicamente na fig. 4.2. Para cada ângulo, após o pulso de RF de 90° , o FID era digitalizado e armazenado através do sistema de aquisição de dados. Em seguida, o FID e o respectivo módulo da TF eram mostrados no vídeo do microcomputador. Este conjunto de dados constitui-se nas projeções do objeto ao longo da cada ângulo, e será usado para a reconstrução da imagem da secção transversal do objeto.

Os principais métodos matemáticos de reconstrução da imagem são a retroprojeção e a retroprojeção filtrada. A retroprojeção de imagens permite apenas obter *sombras*, que são uma vaga aproximação do objeto original em estudo, ver a fig. 4.3.

Fig. 4.3 Reconstrução da imagem pelo método de retroprojeção;
a) Projeção; b) retroprojeção normal; c) retroprojeção filtrada.

A fig. 4.3 mostra como exemplo um objeto circular A e seis orientações do gradiente de campo. Os semicírculos da fig. 4.3a

representam as seis projeções obtidas para o objeto. Em 4.3b essas distribuições de densidade de prótons são retroprojetadas e a intersecção de todas as retroprojeções define uma sombra que corresponde aproximadamente à forma do objeto. Nota-se, porém, a baixa resolução obtida, em particular o aparecimento de sombras mais tênues que conferem à imagem um efeito tipo estrela. Devido a estes inconvenientes, foram desenvolvidas outras técnicas de reconstrução de modo a se obter melhores imagens. No método da retroprojeção filtrada, as projeções obtidas são modificadas por convolução ou filtragem antes da retroprojeção, eliminando-se assim as sombras indesejáveis. Por exemplo, o efeito tipo estrela no objeto circular é evitado por convolução de modo a se obter regiões negativas na projeção. Como resultado da aplicação desta operação matemática às projeções, a imagem bidimensional do objeto reconstruído apresenta agora o aspecto mostrado na fig. 4.3c.

4.2.3 TRATAMENTO MATEMÁTICO

Seja $M_0(z)$ a densidade de magnetização de equilíbrio para um objeto linear com dimensão finita sujeito a um gradiente de campo constante e unidimensional. Após a excitação por um pulso de RF, o sinal produzido por um elemento de magnetização transversal $dM(z,t)$ localizado na posição z é dado por

$$dM(z, t) = M_0(z) e^{i\omega(z)t} e^{-t/T_2} dz \quad (4.3)$$

O sinal total devido a contribuição de todos os elementos $dM(z,t)$ é escrito como

$$S(t) = \int_z M_0(z) e^{i\gamma_N(B_0 + G_z z)t} e^{-t/T_2} dz \quad (4.4)$$

Fora dos limites do objeto $M_0(z)$ é zero, então os limites de integração podem ser extentidos para infinito e colocando-se o termo oscilatório para fora da integral, obtém-se

$$S(t) = e^{i\omega_0 t} \int_{-\infty}^{+\infty} M_0(z) e^{i\gamma_N G_z z t} e^{-t/T_2} dz \quad (4.5)$$

A eq. 4.5 representa um sinal modulado de radiofrequência, à frequência de Larmor ω_0 , onde a informação sobre a distribuição espacial da densidade de prótons $\rho_H(z)$, está na envoltória. Introduzindo agora uma nova variável $k(t) = \gamma_N G_z t$, resulta para a eq. 4.5

$$S(k(t)) = e^{-k(t)/(\gamma_N G_z T_2)} \int_{-\infty}^{+\infty} M_0(z) e^{ik(t)z} dz \quad (4.6)$$

onde o termo oscilante em ω_0 desaparece porque toda a análise é feita no sistema girante de coordenadas. Assim, $S(k(t))$ pode ser escrita como o produto de duas funções, ou seja,

$$W(k(t)) = e^{-\frac{k(t)}{\gamma_N G_z T_2}} \quad (4.7)$$

e

$$G(k(t)) = \int_{-\infty}^{+\infty} M_0(z) e^{ik(t)z} dz \quad (4.8)$$

A última equação mostra a imagem do objeto, isto é, $M_0(z)$, o qual está relacionado com $G(k)$ através da TF. Mas o sinal medido é o $S(k)$ e não $G(k)$. Usando o teorema da convolução, a TF de $S(k)$ pode ser escrita como

$$\mathfrak{F}\{S(k)\} = \mathfrak{F}\{W(k) G(k)\} = \mathfrak{F}\{W(k)\} \otimes \mathfrak{F}\{G(k)\} \quad (4.9)$$

ou

$$\mathfrak{F}\{S(k)\} = P(z) \otimes M_0(z) \quad (4.10)$$

onde $P(z) = \mathfrak{F}\{W(k)\}$, é dado por⁽³⁰⁾

$$P(z) \propto \frac{1}{1 + (\gamma_N G_z T_2)^2 z^2} \quad (4.11)$$

Esta função é chamada de "Point Spread Function" e é

característica do experimento. Neste caso é uma função Lorentziana de z , com meia largura dada por

$$\Delta z = \frac{1}{\gamma_N G_z T_2} \quad (4.12)$$

A expressão para Δz fornece o menor tamanho possível dos pontos da imagem, ou "pixels". Isto limita a resolução com a qual a imagem representa o objeto. Existe uma relação entre a distância entre "pixels" na imagem final, δz , e a máxima frequência espacial, $k_{\max} = \gamma_N G_z t_{\max}$, ($t_{\max}$ é o máximo tempo de aquisição, isto é, $t_{\max} = N \delta t$, onde N é o número de pontos digitalizados e δt a taxa de amostragem) contida no sinal amostrado, dada por $\delta z = 1/k_{\max}$, então

$$\delta z = \frac{1}{\gamma_N G_z t_{\max}} \quad (4.13)$$

Assim, surgem claramente as condições para observar-se uma imagem sem borrões. De acordo com o critério de Rayleigh, dois "pixels" são distingüíveis somente se a separação entre eles δz for maior que suas larguras, Δz , ou seja,

$$\delta z > \Delta z \quad \text{ou} \quad \frac{1}{\gamma_N G_z t_{\max}} > \frac{1}{\gamma_N G_z T_2} \quad (4.14)$$

Da eq. 4.14, obtém-se a chamada *condição de boa resolução*, isto é, $t_{\max} \ll T_2$. Nesta condição, $P(z)$ aproxima-se de uma função delta e então a eq. 4.9 pode ser escrita como

$$S(k(t)) \approx \int_z M_0(z) e^{ik(t)z} dz \quad (4.15)$$

Nestas condições a *imagem* em uma dimensão do objeto $M_0(z)$ (que é proporcional a $\rho_H(z)$), é a transformada de Fourier do sinal de RMN, $S(k)$ adquirido.

Considere agora uma amostra plana, com $\rho_H(\vec{r})$, colocada em um campo magnético $\vec{B} = (B_0 + \vec{G} \cdot \vec{r}) \hat{z}$, e seja $M_0(\vec{r})$ a magnetização transversal. Assim, o sinal $S(t)$ na presença do gradiente $\vec{G}$, em analogia à eq. 4.5, pode ser escrito como

$$S(t) = \int_S M_0(\vec{r}) e^{i\gamma_N \vec{G} \cdot \vec{r} t} e^{-t/T_2} dS \quad (4.16)$$

onde dS é um elemento de superfície sobre objeto.

A geração de uma imagem por RMN consiste em obter $M_0(\vec{r})$, que é proporcional a $\rho_H(\vec{r})$ e também função dos tempos de relaxação característicos do objeto, a partir de um conjunto de sinais $S(t)$. A retroprojeção é uma das técnicas usadas para tal finalidade, onde a imagem é gerada a partir dos FIDs ou ecos, registrados na presença de um gradiente de magnitude constante, cuja orientação relativa à amostra é variada em ângulos igualmente espaçados entre 0° e 180° , ou 0° e 360° . Para cada orientação ϕ do gradiente em relação ao sistema de coordenadas (x,y) fixo na amostra, tem-se para a eq. 4.16

$$S_\phi(t) = \int_{x,y} M_0(x,y) e^{i\gamma_N G(x\cos\phi + y\sin\phi)t} dx dy \quad (4.17)$$

onde com o auxílio da fig. 4.4, a relação $r = x\cos\phi + y\sin\phi$ foi usada e o mesmo tratamento para T_2 (eq. 4.14) foi adotado.

Fig. 4.4 a) Gradiente G_ϕ , definição de r ao longo da direção do gradiente; b) demonstração da relação entre x , y , r e ϕ .

O conjunto de sinais $S_\phi(t)$ constituirá uma função

bidimensional $S(\phi, t)$, amostrada num sistema polar de coordenadas escrita como

$$S(\phi, t) = \int_{x,y} M_0(x, y) e^{i\gamma_N G(x\cos\phi + y\sin\phi)t} dx dy \quad (4.18)$$

Observa-se que o sinal $S(\phi, t)$ da eq. 4.18 é a transformada de Fourier da magnetização $M_0(x, y)$ calculada nos pontos $(kx, ky) = (\gamma_N G \cos\phi t, \gamma_N G \sin\phi t)$, sendo as funções $S(\phi, t)$ e $M_0(t)$ amostradas em sistemas de coordenadas polar e cartesiano, respectivamente. Portanto, $M_0(t)$ pode ser escrita como

$$M_0(x, y) = \int_{\phi, t} S(\phi, t) e^{-i\gamma_N G(x\cos\phi + y\sin\phi)t} |t| dt d\phi \quad (4.19)$$

onde $|t| dt d\phi$ é o elemento de superfície do sistema polar de coordenadas (ϕ, t) na qual a função $S(t)$ é adquirida. Usando o valor de $r = x\cos\phi + y\sin\phi$, a eq. 2.19 resulta

$$Q_\phi(r) = \int S_\phi(t) e^{(-i\gamma_N G r t)} |t| dt \quad (2.20)$$

A função $Q_\phi(r)$ é conhecida como projeção filtrada da distribuição de magnetização na direção de aplicação do gradiente G . Para reconstruir a imagem, deve-se somar (retroprojetar) as projeções filtradas no intervalo angular de definição de $S_\phi(t)$, obtendo-se

$$M_0(x, y) = \int Q_\phi(r) d\phi \quad (2.21)$$

A função $Q_\phi(r)$ é o resultado da TF do produto do sinal $S_\phi(t)$, adquirido na presença do gradiente com orientação ϕ relativa à amostra, pela função $|t|$. Este produto é limitado, pois a função $S_\phi(t)$ apresenta decaimento rápido devido ao gradiente, tornando-se desprezível para tempos maiores que um dado instante t_m . Assim, a função $|t|$ está limitada ao intervalo $-t_m < t < t_m$ e possui ψ como transformada de Fourier. A função ψ é conhecida como função de convolução ou função núcleo^(30,34). Pelo teorema da convolução, a TF do produto $S_\phi(t)$ e $|t|$, limitada ao intervalo acima, é a convolução das transformadas de $S_\phi(t)$ e ψ , ou seja

$$Q_{\phi}(r) = \mathfrak{F} \{S_{\phi}(t)\} \otimes \psi \quad (2.22)$$

A análise anterior mostra que a reconstrução da distribuição $M_0(x,y)$ pelo método de retroprojeção pode ser realizada de duas formas:

a. multiplicação de cada um dos sinais $S_{\phi}(t)$ por $|t|$, TF dos produtos resultantes e posterior retroprojeção das projeções filtradas.

b. obtenção das projeções por TF dos sinais $S_{\phi}(t)$, convolução com ψ e posterior retroprojeção das projeções filtradas. Este método é conhecido como convolução-retroprojeção.

Os procedimentos de multiplicação, no domínio do tempo, de cada sinal $S_{\phi}(t)$ pela função $|t|$ limitada ao intervalo $|t| < t$, ou a convolução das projeções com o núcleo ψ constituem uma filtragem. O processo de simplesmente retroprojetar projeções implica no aparecimento do efeito estrela mencionado anteriormente (fig. 4.3), que resulta do fato de as contribuições de cada uma das projeções não se cancelarem em pontos externos à região fora do objeto. A convolução de cada projeção com a função ψ (ou a TF do produto de $S_{\phi}(t) |t|$) gera projeções filtradas, cujos perfis possuem valores positivos e negativos, os quais, na retroprojeção, somam-se sobre o domínio de definição do objeto e cancelam-se fora do mesmo, eliminando o artefato estrela.

Na prática, os sinais adquiridos são digitalizados e todo o processamento realizado num microcomputador, o que significa trabalhar com dados discretos, de tal modo que as integrais anteriormente apresentadas são substituídas por somas. A TF é realizada por um algoritmo de transformada rápida (FFT), exigindo que a função a ser transformada seja conhecida em pontos igualmente espaçados. Como a imagem final é mostrada num reticulado cartesiano, a retroprojeção é acompanhada de interpolação de dados de um sistema polar a um sistema cartesiano de coordenadas. Este assunto é tratado no próximo item, onde os "softwares" de aquisição e reconstrução, os algoritmos de FFT e de interpolação são

descritos. As listagens dos respectivos "softwares" estão anexadas nos Apêndices I e II.

4.3 PROGRAMA DE CONTROLE DO ESPECTRÔMETRO DE RMN E AQUISIÇÃO DE DADOS.

O programa de controle do espectrômetro de RMN e aquisição de dados foi escrito em linguagem C, no ambiente Borland C++ V2.0. A sua listagem completa está no Apêndice I e o seu fluxograma está mostrado na fig. 4.5. No Cap. V, as figuras 5.1 a 5.7 e ilustram como ele é apresentado ao usuário. O programa foi idealizado para ser executado em qualquer microcomputador do tipo PC, equipado com vídeo monocromático CGA (80x25 caracteres, 320x200 pixels). O núcleo do programa consiste na execução de 9 tarefas hierárquicas:

1 - Preparar

Esta rotina prepara a interface do microcomputador com o espectrômetro e dispara a sequência de pulsos.

2 - Adquirir

Após a execução de cada ciclo da sequência de pulsos esta rotina faz a transferência dos sinais em fase e quadratura, respectivamente aos vetores PARTE_REAL[] e PARTE_IMAG[], de dimensões NP_T.

3 - Corrigir a linha de base (opcional)

A correção da linha de base que pode existir nos sinais adquiridos (normalmente causada por "offsets DC" nos estágios de amplificação de áudio) pode ser efetuada por esta rotina. Ela assume que o "offset" é constante (correção de ordem zero) e o seu valor é calculado pela média dos últimos pontos adquiridos, padronizado em 10% do total de pontos.

Fig. 4.5 Fluxograma do programa RMN.

4 - Filtragem (opcional)

Esta rotina permite, caso haja necessidade, uma melhoria na relação sinal/ruído do espectro adquirido. O algoritmo utilizado faz a substituição de cada ponto do espectro pela sua média com os dois vizinhos mais próximos: $y[i] = 0.5*y[i] + 0.25*y[i+1] + 0.25*y[i-1]$.

5 - Promediação

Após cada repetição da seqüência de pulsos, os sinais em fase e quadratura são acumulados nos vetores AVER_REAL[] e AVER_IMAG[]. Quando é atingido o número de repetições que foi programado pelo usuário, é calculado o valor médio do sinal em cada um dos NP_T canais adquiridos.

6 - Processar (ou FFT)

Nesta etapa é calculada a transformada de Fourier rápida do sinal na forma de inteiros complexos. Esta rotina requer que a dimensão dos vetores de entrada (partes real e imaginária) seja especificada em potências de 2, o que nos restringe à condição $NP_T = 2^n$; $n = 1, 2, 3, \dots$

7 - Mostrar

Neste módulo é feita a exibição dos sinais de forma gráfica na tela. Duas janelas foram criadas, uma para o domínio do tempo e a outra para o domínio da frequência. Para simplificar, esta última janela mostra apenas o módulo da transformada de Fourier. Os sinais podem (ou não) serem normalizados para efeito de exibição. Também é possível optar pela exibição das duas componentes, real e imaginária, ou apenas uma delas. Neste último caso, serão mostradas a componente real no domínio do tempo e o módulo da transformada de Fourier no domínio da frequência. Além disso, também ficam assinaladas na janela da transformada de Fourier, a escala, as posições dos picos encontrados (via algoritmo implementado no programa) e o baricentro do espectro (primeiro momento).

8 - Salvar (opcional)

Após efetuada a promediação o usuário tem a opção de

salvar em arquivos os dados adquiridos. O nome dos arquivos criados seguem a seqüência RMN00.DAT, RMN01.DAT, ...

9 - Girar a amostra (opcional)

Nesta etapa é feita a rotação da amostra, via comandos enviados ao controlador do motor de passos. Para simplificar, esta etapa é executada pela mesma subrotina que cuida da etapa 8 anterior.

Estas 9 etapas são ciclicamente executadas seqüencialmente na ordem especificada acima. O término do programa (e retorno ao DOS) é ativado quando a tecla [CTRL]ESC é pressionada.

A interface com o usuário é feita através da subrotina AJUSTE(), a qual é chamada sempre após o término de cada etapa. Esta subrotina lê o teclado, detecta quando alguma tecla é pressionada e toma as providências necessárias. Os parâmetros mais importantes, que o usuário tem acesso são os seguintes:

- DWT - "dwell time"
- NPT - Número de pontos
- MORTO - Tempo morto
- CANAIS - Número de componentes exibidas na tela
- LINB - "Flag" para acionar correção da linha de base
- SMTH - "Flag" para acionar filtro
- MEDIA - Número de ciclos acumulados para promediação
- NORM - "Flag" para acionar normalização dos gráficos
- PULS01 - Largura do primeiro pulso
- PULS02 - Largura do segundo pulso
- TAW - Separação entre os dois pulsos
- TR - Período de repetição da seqüência
- AUTO_S - "Flag" para acionar salvamento automático de dados
- ANG - Posição angular da amostra
- ANGP - Passo de rotação da amostra
- ANGM - Ângulo de rotação máximo

Além de poder efetuar o ajuste destes parâmetros durante a execução do programa, sem interromper a seqüência de pulsos, o usuário pode também ativar teclas especiais para outras funções de

interesse, conforme está mostrado no fluxograma.

Examinando a listagem do programa, incluída no Apêndice I, vê-se que:

- Todas as variáveis globais são denotadas por letras maiúsculas, enquanto que as locais por minúsculas.

- Todas as funções desenvolvidas para esta aplicação possuem nomes compostos apenas de letras maiúsculas, enquanto que os nomes das funções já incorporadas no compilador são compostos de letras minúsculas.

- Todas as declarações de variáveis, definições, inclusões de bibliotecas, formatação de funções, etc são feitas no início do programa, antes do módulo "main".

- O módulo "main" é o núcleo do programa. Nele são inicializados os circuitos da interface, a tela gráfica, os parâmetros da aquisição, o canal de DMA e é feita a chamada à subrotina de distribuição de tarefas.

- Os valores dos parâmetros estão sempre presentes na tela, para informação e ajustes. O parâmetro ativo, ou seja, aquele sob ação das teclas de incremento e decremento é mostrado em vídeo reverso. Toda vez que cada etapa é concluída e alguma tecla de ação é pressionada, os valores mostrados na tela são atualizados.

4.4 PROGRAMA DE GERAÇÃO DE IMAGENS PELO MÉTODO DE RETROPROJEÇÃO FILTRADA.

A seguir é descrito o programa IMAGE 1.0 que gera as imagens a partir dos dados fornecidos pelo programa de aquisição RMN 2.0 e cuja listagem está no Apêndice II. O algoritmo de reconstrução é o de retroprojeção e já foi discutido no item 4.2. O IMAGE foi escrito em linguagem C, no ambiente Borland C++ V2.0 e pode ser executado em qualquer microcomputador tipo PC. Quando executado em um PC-386SX-33MHz com co-processador aritmético ele consome cerca de 10 segundos de execução, considerando a leitura de dados,

cálculos e apresentação da imagem na tela. As tarefas executadas pelo IMAGE são as seguintes:

1 - Os dados obtidos pelo programa RMN são armazenados em arquivos seqüencialmente nomeados de RMN00.DAT, RMN01.DAT e assim por diante. Para cada ângulo de rotação da amostra (isto é, para cada projeção) um arquivo é gerado. Nestes arquivos são armazenados, em formato ASCII, os sinais de FID em fase e quadratura. A primeira tarefa do IMAGE é ler todos estes arquivos (normalmente, cerca de 30 arquivos), determinar o número de pontos adquiridos em cada sinal de FID (denominado NPT e tipicamente igual a 128), o número de projeções (nproj) e o fator de normalização dos espectros (norma).

2 - O passo seguinte é realizar as transformadas de Fourier rápidas dos dados obtidos ao longo de cada uma das projeções. O módulo das transformadas é armazenado seqüencialmente no vetor inteiro `int_data[]`, de dimensão `ndata = nproj * NPT`. Além disso, também é feita a transferência dos dados de entrada para um único arquivo em formato binário denominado "image.cmp". Este arquivo, por ter uma formatação mais compacta, é útil para armazenamento dos dados originais em disquetes.

3 - A linha de base ("offset DC") dos espectros adquiridos é eliminada através de um algoritmo simples executado no espaço de frequências. As componentes espectrais do sinal correspondentes a frequências próximas de zero são substituídas por uma média ponderada entre os seus vizinhos: $y[0] = (y[-3] + 2*y[-2] + 2*y[2] + y[3]) / 6$; $y[-1] = (y[-4] + 2*y[-3] + 3*y[-2]) / 6$; $y[1] = (y[4] + 2*y[3] + 3*y[2]) / 6$.

4 - O algoritmo de reconstrução utilizado requer que os sinais adquiridos não contenham "offset" em frequência. Em outras palavras, ele pressupõe que os sinais de FID foram adquiridos na frequência de Larmor. Por razões instrumentais, no presente trabalho as componentes espectrais do sinal adquirido estão sempre posicionadas na região positiva do eixo de frequências. A translação do espectros para o centro do eixo de frequências é

efetuado calculando-se o baricentro (ou o primeiro momento) do conjunto de projeções. Isto permite que se faça automaticamente uma primeira correção do "offset" de frequência. Nos casos em que este ajuste não for suficiente, o programa permite que o usuário faça a correção de forma manual.

5 - Como a região do espectro de Fourier que contém informações relevantes à reconstrução da imagem é pequena, se comparada com a largura de banda, é conveniente restringir o espectro à sua porção central a fim de obter uma maior resolução na imagem. Este processo é chamado de "zoom" e pode ser ativado pelo usuário.

6 - Após ser executado o tratamento dos dados mencionado nos itens 3, 4 e 5, é construído o vetor `float_data[]`, que contém a porção selecionada do espectro formatada em ponto flutuante. Este vetor é entrada para a subrotina `CONVBACK` que executa o algoritmo de retroprojeção. Este algoritmo foi desenvolvido por outros pesquisadores^(30,34) do grupo de RM e é muito bem conhecido e utilizado pelos especialistas da área de imagens. A partir dos dados correspondentes a um arranjo bidimensional polar o algoritmo gera a imagem em um arranjo retangular `nx:ny` (tipicamente 100:100) com 256 níveis de intensidade. Os dados finais são guardados em um arquivo denominado de "image.pac" e toda a memória já alocada é liberada.

7 - A visualização da imagem é providenciada pela subrotina `PLOT_IMAGE`. Ela faz a leitura do arquivo `image.pac` e mostra a imagem na tela com 16 níveis de cinza. Um resultado típico está mostrado na fig. 4.6. Há duas opções para a distribuição dos níveis de cinza, que podem ser escolhidas pelo usuário. Uma delas corresponde a uma distribuição uniforme dos 16 níveis ao longo das 256 intensidades. A segunda, denominada de "image enhancement", acentua os níveis mais intensos.

Fig. 4.6 Imagem gerada sem pós-processamento.

Através da subrotina `PLOT_IMAGE` é possível ter uma visualização rápida da imagem, a fim de verificar o resultado do experimento. Entretanto, é interessante para uma edição final que seja feito um tratamento da imagem mais complexo e eficiente. Existem vários programas comerciais que atendem a esta necessidade. Os programas utilizados foram o "Image in" e o "PStyler", os quais permitem um pós-processamento das imagens geradas pelo programa `IMAGE`.

CAPÍTULO V: RESULTADOS

5.1 INTRODUÇÃO

Os resultados apresentados estão divididos em duas partes: Primeiro, são mostrados os resultados do aumento do sinal de RMN devido ao Efeito Overhauser. Esta fase teve como objetivo, constatar a efetiva transferência da polarização elétron-núcleo, (DNP) onde as medidas foram realizadas sem a irradiação com microonda e depois com a microonda ligada. A comprovação experimental do aumento do sinal de RMN era preparatória para a próxima etapa, a obtenção de imagens via TORM. Segundo, são mostradas as imagens obtidas através da tomografia de RMN, com e sem a irradiação da microonda, onde diversas configurações de amostras foram utilizadas, visando comprovar, entre outras coisas, as vantagens do ganho de sensibilidade para amostras pequenas, com volume da ordem de microlitros.

5.2 COMPROVAÇÃO DO AUMENTO NO SINAL DE RMN

Um tubo de vidro com diâmetro interno da ordem de 1 mm, preenchido com 10 μ l da solução 2,2 mM de TEMPOL, foi colocado dentro da cavidade de RPE, onde está a bobina de RF (cabeçote de DNP). Com o espectrômetro de RPE sintonizado em uma das linhas do TEMPOL, mas com o atenuador de microonda no máximo (50 dB), o sinal de RMN foi adquirido e a fig. 5.1 mostra o FID obtido. Todos os demais parâmetros experimentais usados, são visíveis na própria tela gerada pelo sistema de aquisição de dados. Este experimento foi realizado sem gradiente de campo, isto é, com a fonte de tensão DC que fornece corrente para as bobinas de gradiente desligada. A janela superior da fig. 5.1 mostra a parte real e a parte imaginária do FID após 10 médias, e a janela inferior o módulo da transformada rápida de Fourier (FFT) do sinal. Os parâmetros do lado direito da figura até "ângulo máximo (graus)" podem ser

ajustados para a obtenção do melhor sinal. As informações mostradas no lado inferior direito da figura, como "Centro", "Área", "Picos" e "Pico1" são colocadas automaticamente pelo sistema de aquisição de dados, em função do sinal adquirido.

Fig. 5.1 Sinal de RMN sem irradiação com microonda.

O "software" proporciona duas formas para mostrar a frequência e a amplitude do sinal: o "centro" e a "área" sob a curva; o "pico" e "max", respectivamente, permitindo assim a comparação de sinais, por exemplo, para efeito de cálculo de aumento. O sinal foi adquirido fora da ressonância a uma frequência de 3,21 KHz, conforme mostra o parâmetro "Centro" e a "Área" sob a curva foi igual a 111 u.a. (unidades arbitrárias). A unidade de medida da amplitude do sinal, depende de uma série de fatores de "hardware" e do "software" usado. Para efeito de comparação de sinais, o importante é que os amplificadores tenham resposta linear para a faixa de sinais usados nos experimentos. O sinal pode ser mostrado "normalizado", isto é, fazendo com que toda a janela seja preenchida, sem que isto afete os valores calculados pelo "software", mas para ser comparado visualmente depois com o sinal irradiado com a microonda, a normalização está na posição "não".

Em seguida o atenuador de microonda foi colocado na posição "zero dB", e a amostra ficou sob máxima irradiação da microonda,

conforme o esquema explicado no Item 3.11, do Cap. III, fig. 3.33.

Um novo sinal foi adquirido e está mostrado na fig. 5.2. Todos os demais parâmetros do experimento foram mantidos constantes, de tal modo que se alguma alteração ocorreu, se deveu exclusivamente à aplicação de microonda sobre a amostra.

Fig. 5.2 Sinal de RMN irradiado com microonda.

É evidente que houve um aumento do sinal, e uma substancial melhora na relação sinal/ruído. A área sob a curva passou para 710 u.a., ou seja, um aumento de 6,3 vezes maior do que o sinal anterior, obtido dividindo-se o valor da área sob irradiação pelo valor sem irradiação, o que confirma que houve uma efetiva transferência da polarização eletrônica para os prótons, conforme previsto na teoria (eq. 2.64). Colocando-se novamente o atenuador para 50 dB, o FID voltou a apresentar a forma e amplitude que tinha sem irradiação.

Em seguida, o experimento anterior foi realizado com o gradiente de campo aplicado, visando determinar o melhor valor de corrente aplicado nas bobinas de gradiente. Isto foi feito monitorando-se a relação sinal/ruído do sinal de RMN, a qual diminui sensivelmente com a aplicação do gradiente, e pela "projeção" do perfil da FFT⁽⁴⁶⁾, conforme visto no Cap. IV. Valores de corrente desde 0,1 A até 1,5 A foram testados, e a fig. 5.3

mostra o sinal para um único tubo, para uma corrente de 0,5 A, que gerou um gradiente medido de 0,22 G/cm. O valor da área sob a curva é igual a 116 u.a.. O mesmo experimento, agora com irradiação de microonda, pode ser visto na fig. 5.4, sendo o valor da área igual a 856 u.a. e o aumento verificado de 7,3 vezes.

Fig. 5.3 FID com gradiente e sem irradiação.

Fig. 5.4 FID com gradiente e irradiado.

Para este caso, os sinais estão normalizados para facilitar a visualização, mas os números confirmam que o FID da fig. 5.3 é 7,3 vezes menor do que o da fig. 5.4.

Também pode ser observado que o sinal sem a irradiação da microonda foi obtido após 10 aquisições, e o sinal sob irradiação

com apenas **uma** aquisição, e apresenta uma ótima relação sinal/ruído. Para completar esta etapa, outra série de experimentos foi feita com dois tubos capilares, ao invés de apenas um. A fig. 5.5 mostra o sinal de RMN obtido sem irradiação, para dois capilares, sendo ambos preenchidos com 5 μ l da solução 2,2 mM de TEMPOL, colocados de modo que a linha que une o centro dos tubos ficou paralela ao gradiente de campo. Deste modo, os prótons de cada tubo, "sentem" um valor de campo diferente, precessionando com uma frequência de Larmor proporcional ao campo em que estão imersos.

Fig. 5.5 FID para dois capilares sem irradiação.

Observa-se agora que o FID é um sinal composto, com baixa relação sinal/ruído, apresentando características de um sinal modulado com duas frequências diferentes, o que se confirma pela forma da TF (Transformada de Fourier - TF). De fato, a TF do FID acima pode ser interpretada como a projeção do "perfil" dos dois capilares, havendo uma correlação entre a distribuição espacial dos prótons nos tubinhos dentro do gradiente de campo, e a posição dos dois picos da TF no eixo das frequências. Embora o sinal tenha sido obtido após 10 aquisições, se a "normalização" não estivesse ligada, o nível do sinal seria quase indistinguível do ruído.

O valor da área sob a curva ficou igual a 71 u.a. e será comparado com o mesmo sinal sob irradiação da microonda na

fig. 5.6. Em seguida, a microonda foi aplicada e a fig. 5.6 ilustra o FID após apenas 3 aquisições, e a área passou para 403 u.a., ou seja, um aumento de 5,6 vezes.

Fig. 5.6 FID para dois capilares com irradiação.

A relação sinal ruído é muito boa e a TF é bem definida, podendo-se identificar claramente os centros das frequências principais, onde estão os dois tubos, e conseqüentemente a maior concentração de spins nucleares, apesar dos tubos estarem afastados apenas 0,36 mm. (fig. 3.32, Item 3.10, Cap. III).

Para ilustrar ainda mais o experimento, a fig. 5.7 mostra o FID relativo aos dois tubos, mas agora girados de 90° em relação ao gradiente de campo, ou seja, a linha que une o centro dos tubos está perpendicular ao gradiente. O perfil da TF mostra o espalhamento de frequências dos prótons sujeitos ao gradiente de campo. Neste caso, os prótons dentro dos tubos "sentem" um mesmo valor de campo, e portanto contribuem para o FID como se estivessem em um único tubo. Esta figura deve ser comparada com a fig. 5.1, onde não havia gradiente de campo, mas apenas o campo magnético externo H_0 .

Fig. 5.7 FID para dois tubos à 90° em relação ao gradiente.

5.3 IMAGENS OBTIDAS

São em seguida apresentados os resultados das imagens obtidas, primeiro sem irradiação da microonda, e depois com a microonda ligada, usando a vantagem do aumento do sinal de RMN proporcionado pela transferência de polarização elétron-núcleo (DNP). Toda uma metodologia foi desenvolvida e implementada para a geração de imagens de amostras pequenas dentro da cavidade de RPE, conforme descrito no Cap. III, Item 3.11. Uma imagem obtida por TORM, pelo método de retroprojeção filtrada (Item 4...., Cap. IV) tem duas fases distintas: a) a aquisição de dados, onde o microcomputador executa e controla todo o processo. b) o tratamento dos dados, que consiste, na reconstrução da imagem, a apresentação da imagem no video do microcomputador, o processamento da imagem e a impressão da imagem no papel. Aqui, mais uma vez, procurou-se usar os "softwares" já desenvolvidos pelo grupo de TORM do DFCM, e a infraestrutura de equipamentos do CNPDIA/EMBRAPA, fazendo-se apenas as modificações e desenvolvimentos necessários para o caso particular deste trabalho. As primeiras imagens obtidas tiveram como objetivos, adquirir experiência na metodologia, verificar o

funcionamento de todo o processo e definir parâmetros, como, largura de pulso de RF; tempo de repetição; ganho do amplificador; número de pontos; tempo morto; número de médias para cada medida; campo de visão e tamanho da imagem; gradiente de campo; ângulo de rotação da amostra; influência da instabilidade do campo estático e os "softwares" , entre outros. Assim, a Fig. 5.8 mostra a imagem dos dois tubos capilares preenchidos com 5 μ l cada com uma solução diluída de sulfato de cobre em água destilada, processada e reconstruída com o "software" chamado **IMAGE**, a partir dos dados adquiridos pelo outro "software" denominado **RMN**.

Fig. 5.8 Imagem dos capilares sem irradiação com microonda.

Outra imagem mostrada na Fig. 5.9, tem um tubo com 2 mm de diâmetro interno, colocado dentro do tubo de quartzo, mas fora do centro, (Fig. 3.31, Item 3.10, Cap. III). O tubo menor está vazio e apenas o tubo externo foi preenchido com a solução de sulfato de cobre. Esta imagem foi feita para testar o potencial do método, na identificação de estruturas internas de objetos não simétricos.

Agora, com os dados adquiridos no experimento que gerou a Fig. 5.6, foi reconstruída a primeira imagem dos dois tubos usando o Efeito Overhauser, conforme mostra a fig. 5.10. Com a relação sinal/ruído 5,3 vezes maior, a imagem apresenta definição e

qualidade melhores.

Fig. 5.9 Imagem do tubo vazio, fora do centro.

Com a metodologia dominada, foi então planejado um experimento fundamental para concluir o trabalho. A solução de TEMPOL de um dos tubos foi substituída por água destilada, ficando agora dentro do cabeçote um tubo com água pura e o outro com a solução de TEMPOL, nas mesmas quantidades. Este experimento foi primeiro idealizado teoricamente, conforme explicado a seguir, e depois comprovado experimentalmente.

Fig. 5.10 Imagem com Efeito Overhauser.

Primeiramente, com a microonda totalmente atenuada, uma imagem dos dois tubos deveria ser normal, uma vez que ambos contêm água. Com o aumento progressivo da potência de microonda,

irradiando os tubos, o tubo que contem água não sofreria nenhuma alteração, mas o tubo que está com água + TEMPOL sentiria os efeitos da transferência de polarização elétron-núcleo e apresentaria inicialmente uma diminuição do seu sinal de RMN. Isto se deve ao fato que o Efeito Overhauser provoca uma inversão na fase do sinal⁽⁸⁾, conforme comprova o sinal negativo (-) na eq. 2.69, do Item 2.4.2, Cap. II., e a fig. 5.11 ilustra este fato.

Fig. 5.11 Inversão de fase no FID devido à irradiação.

Assim, a imagem do tubo com água não se alteraria, mas a imagem do tubo com TEMPOL ficaria quase indefinida, por causa da acentuada diminuição do sinal. Aumentando-se ainda mais a potência da microonda sobre os tubos, o sinal proveniente do tubo com TEMPOL continuaria diminuindo até praticamente desaparecer, sobrando apenas o sinal do tubo com água. Logo, uma imagem nesta situação mostraria apenas um tubo, o que contem água. Prosseguindo com o aumento da potência de microonda, o sinal do tubo com TEMPOL começaria a crescer, igualando-se ao do tubo com água, e uma imagem nesta fase mostraria os dois tubos iguais. Finalmente, com a potência máxima de microonda irradiando os tubos, o sinal de RMN do tubo com TEMPOL seria aproximadamente 6 vezes maior do que o que contem somente água, o que resultaria numa imagem "muito intensa" para o tubo com TEMPOL, como se ele contivesse uma quantidade de prótons 6 vezes maior, e a imagem do outro tubo continuaria

inalterada.

Em seguida foi realizado um experimento fiel à descrição acima, visando a comprovação experimental da metodologia proposta. A Fig. 5.12 mostra, no lado esquerdo, as imagens reais obtidas com os dois tubos, e no lado direito de cada imagem, o desenho esquemático da transformada de Fourier para cada situação.

É evidente o dramático efeito causado pela transferência de polarização elétron-núcleo, sobre o tubo que contem os radicais livres em solução, conforme prevê a teoria. Como mencionado no Cap. I, a técnica de DNP, abre enorme possibilidades de pesquisa e investigação no campo da medicina e biologia, entre outras, onde regiões que contenham radicais livres podem ser melhor mapeadas, devido ao aumento do sinal de RMN. As discussões sobre os resultados obtidos e as conclusões a respeito do presente trabalho, foram reservadas para o Cap. VI.

Fig. 5.12 Imagens obtidas usando o Efeito Overhauser.

CAPÍTULO VI: DISCUSSÃO DOS RESULTADOS E CONCLUSÕES

6.1 DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

A análise dos resultados do presente trabalho contempla dois aspectos: algumas considerações sobre o funcionamento e operação do espectrômetro para DNP como um todo, e uma discussão sobre o efetivo aumento do sinal de RMN da solução contendo radicais livres e as imagens obtidas.

Um experimento de ressonância dupla normalmente representa um grande desafio, face a quantidade e complexidade dos instrumentos envolvidos para a operação simultânea de dois espectrômetros. Somado a isto, devem ser consideradas as dificuldades de se colocar uma bobina de radiofrequência dentro da cavidade de microondas. O espectrômetro de RPE existente no DFCM, após as implementações feitas para funcionar de forma pulsada, mostrou razoável facilidade de operação na localização das linhas de ressonância do TEMPOL. Uma pequena complicação foi introduzida pelo uso dos moduladores para pulsar a microonda, onde o ajuste adequado do nível de bloqueio em cada ramo da ponte de microonda requereu um certo treino. Apesar da microonda estar sendo bloqueada e desbloqueada a cada segundo, o controle automático de frequência (CAF) funcionou perfeitamente por longos períodos, mantendo a frequência do klystron sintonizada na cavidade, ou seja, a inclusão dos moduladores de microonda não prejudicaram o CAF. A cavidade de RPE construída (cabeçote para DNP) apresentou uma performance comparável às comerciais em termos de fator de qualidade, acoplamento e por suportar amostras aquosas, com a vantagem de permitir um ajuste contínuo de frequência de ~ 8,8 a ~ 9,6 GHz, o que era necessário para a realização dos experimentos. Espectros de RPE do TEMPOL e do DPPH, ainda que para pequenas quantidades, foram obtidos com uma boa relação sinal/ruído, conforme mostrado nas figuras 3.14 e 3.15.

O espectrômetro de RMN construído para operar à frequência

fixa de 14 MHz de forma pulsado, apresentou dois tipos de problemas durante boa parte dos experimentos: sensibilidade insuficiente do estágio pré-amplificador sintonizado, para os sinais de RMN das amostras tão pequenas, e uma relação sinal/ruído apenas razoável, devido a ruídos vindos da fonte do microcomputador. Com a inclusão de um pré-amplificador comercial de baixo ruído, a sensibilidade melhorou significativamente. Os ruídos diminuíram para um nível tolerável quando a geração de pulsos passou a ser feita pelo próprio espectrômetro de RMN, não obstante essa operação poder ser programada pelo microcomputador. O oscilador mostrou ótima estabilidade, com flutuações na frequência da ordem de 0,04%, e a amplitude do pulso de RF apresentou variações de 0,2 mV em 20 V_{pp}. Sinais de RMN (FIDs) observados no osciloscópio por períodos de 30 minutos, não mostraram variações perceptíveis em suas amplitudes, mas a área calculada sob a curva da TF, após promediação apresentou flutuações da ordem de 1%. Os demais módulos construídos, montados e usados para os experimentos de DNP, como amplificador de áudio, fonte de corrente para as bobinas de gradiente e bobinas de modulação, foram verificados dentro dos limites de operação, não apresentando problemas. O programa de controle do espectrômetro de RMN e de aquisição de dados funcionou bem durante todo o tempo, proporcionando rapidez e facilidade para a avaliação dos resultados durante os experimentos.

A comprovação do efetivo aumento do sinal de RMN das amostras de solução contendo radicais livres, com aumentos obtidos entre 4 e 8 vezes, permitiu o avanço dos experimentos no sentido da geração de imagens, aproveitando o ganho de sinal oriundo da transferência de polarização elétron-núcleo. Cabe aqui um cálculo rápido para estimar-se o máximo aumento teórico possível. Referindo-se ao Cap. II, eq. 2.70, o máximo aumento ocorrerá quando $\rho = 0,5$, $f = 1$, $|\gamma_S/\gamma_N| = 658$, sendo que o fator de saturação tem que ser dividido por 3 (porque o TEMPOL apresenta 3 linhas hiperfinas e somente uma pode ser irradiada), obtendo-se $A_{\text{máx}} = -109$ para prótons. Na prática este valor não pode ser atingido devido a impossibilidade

de se conseguir uma completa saturação da linha de RPE, mas a literatura⁽⁸⁾ indica que aumentos da ordem de 50 vezes são obtidos sem muitas dificuldades. A limitação nos aumentos obtidos no presente trabalho é atribuída a duas causas principais: a potência de apenas 500 mW do "klystron" instalado no espectrômetro de RPE, e a geometria da bobina de RF dentro da cavidade, que certamente oferece uma blindagem ao campo eletromagnético da microonda na região da amostra. Dos 500 mW de potência gerada pelo "klystron", estima-se que um pouco menos que a metade deste valor, chegue efetivamente à cavidade, mesmo substituindo-se o "T-mágico" pelo circulador, que foi o caso. Ainda assim os aumentos obtidos são comparáveis aos obtidos por outros pesquisadores⁽³⁾ usando "klystron" com 1 W de potência.

As imagens obtidas tiveram o objetivo específico de mostrar a aplicação prática da técnica de transferência de polarização elétron-núcleo, não somente em Física, mas também as possibilidades que se abrem para outras áreas do conhecimento. Torna-se cada vez mais difundido e recomendado no mundo, o uso de métodos, técnicas e processos de investigação não invasivos e não destrutivos em áreas como por exemplo, a biologia, medicina, agropecuária e ciência dos solos. Assim, as imagens mostradas no Cap. V, ainda que de objetos de geometria simples, permitiram o desenvolvimento da metodologia do uso de DNP, e a verificação do funcionamento do espectrômetro para amostras extremamente pequenas ($\sim 10 \mu\text{l}$). Não foram realizados estudos quantitativos dos detalhes das imagens, e nem foi possível a obtenção de imagens de outros objetos como de algumas sementes ou raízes, que era a intenção inicial, em virtude do mal funcionamento da fonte de controle de campo do eletroímã, que passou a causar uma indesejável instabilidade no valor do campo magnético. Apesar dos esforços empregados durante mais de 3 meses, não foi possível resolver o problema da instabilidade, devido ao fato de ser um equipamento da década de 70, onde o envelhecimento de componentes comprometem o seu funcionamento. Estas limitações do funcionamento do eletroímã, praticamente puseram um limite na

obtenção de outras imagens, onde estudos de resolução, definição e outros aspectos estavam planejados. Entretanto, o dramático efeito causado pelo uso da irradiação com microonda fica evidente nas imagens da fig. 5.12, confirmando o enorme potencial do método para imagens *in vivo* de regiões onde radicais livres estejam presentes. Foi mais um passo dado na direção de geração de imagens submilimétricas, visando colaborar com o desenvolvimento da técnica de microscopia de ressonância magnética.

6.2 CONCLUSÕES

O presente trabalho cumpre plenamente os objetivos propostos, pois implementa e coloca em operação um espectrômetro para a transferência da polarização elétron-núcleo (Efeito Overhauser). A comprovação do aumento do sinal de RMN foi realizada para diversas situações, usando amostras extremamente pequenas, exatamente para buscar o limite operacional do equipamento.

As imagens obtidas com e sem a irradiação da amostra com microonda, revelam significativo aumento na relação sinal/ruído e portanto melhora no contraste da imagem.

Também foi introduzida uma nova metodologia para a operação do espectrômetro de RPE, possibilitando o uso da microonda de forma pulsada, permitindo a operação do equipamento sem causar o aquecimento da amostra em solução aquosa.

O trabalho mostra em detalhes os desenhos da cavidade de RPE construída, do cabeçote para DNP, os circuitos eletrônicos do espectrômetro de RMN pulsado, da interface de aquisição e controle do espectrômetro de RMN, bem como os programas de controle e aquisição de dados e de reconstrução de imagens por retroprojeção.

A presente tese deixa como exemplo para usuários de espectrômetros de RPE de banda-X, que a associação de técnicas tradicionais em física pode produzir resultados interessantes e certamente colaborar para o avanço do conhecimento.

6.3 SUGESTÕES

- Implementar no atual espectrômetro de RPE do DFCM o recém adquirido amplificador de potência de microonda, uma nova fonte para o controle do campo magnético e um conjunto de bobinas de gradiente (x,y,z) para permitir a obtenção de imagens em outros planos, mantendo-se a amostra fixa. Desse modo, será possível usar programas mais modernos e mais rápidos como o processamento de imagens através da transformada de Fourier bidimensional (2D-FFT).

- Para usuários de espectrômetros de RPE de banda-X, com "klystron" mais potente, ou que possuam amplificador de potência de microonda, sugere-se proceder as implementações acima, caso desejem realizar pesquisas com ressonância dupla.

- Para Universidades ou Centros de Pesquisa que tenham um tomógrafo de RMN, com eletroímã resistivo de por exemplo, 0,04 T, que permita imagens do corpo humano, o uso do Efeito Overhauser abre um campo de oportunidades em imagens de objetos maiores, onde o mapeamento de radicais livres presentes em certas patologias pode ser investigado. Para isto, será necessário a construção de ressonadores de RPE para operar à frequências de 1,12 GHz para a irradiação dos elétrons, e bobinas de RF para operar em 1,7 MHz, para o sinal de RMN. Imagens obtidas com e sem irradiação de microondas, após um processo de subtração digital, revelam um excelente contraste da região dos radicais livres, onde processos de formação e difusão dos radicais livres podem ser estudados.

- Estudo de alguns tipos de cancer^(5,9), inflamações e necrose de tecidos, onde a presença de radicais livres já está comprovada, podem ser estudados com o uso de pequenos animais, como ratos por exemplo, porque algumas partes de seu corpo cabem dentro do ressonador. Efeito de medicamentos sobre a regeneração celular pode ser acompanhado através de imagens da região, aproveitando o elevado contraste proporcionado pelo aumento do sinal de RMN.

- Em agropecuária, sementes, raízes, folhas e frutos, sadios ou doentes, podem ser melhor estudados com este método avançado e

não destrutivo de pesquisa, através de imagens de TORM das regiões onde há formação de radicais livres espontâneos ou induzidos por meio de radiação.

APÊNDICE I

PROGRAMA DE CONTROLE DO ESPECTRÔMETRO DE RMN E AQUISIÇÃO DE DADOS.

```

/* ***** */
/*
/*          RMN - V 2.0
/*      Este programa faz o controle do espectrometro de RMN
/*      e a aquisicao de dados
/*
/*      Versao 1.0 : 1991/93 - Andre Torre Neto   (EMBRAPA-NPDIA)
/*      Versao 2.0 : 1993/94 - Claudio Jose Magon (IFQSC-USP)
/*      Clovis I. Biscegli (EMBRAPA-NPDIA)
/* ***** */

#include <stdio.h>      // Biblioteca Borland C++ 2.0
#include <dos.h>
#include <string.h>
#include <graphics.h>
#include <alloc.h>
#include <math.h>
#include <stdlib.h>

#define PREP      0      // Etapas do processo
#define ADQU      1
#define LNBS      2
#define FILT      3
#define AVER      4
#define PROC      5
#define MOST      6
#define SALV      7

#define DIRETO    0      // Tipos de parametros
#define DECIMO    1
#define STRING    2
#define BOOLEAN   3
#define POTENC    4

#define F1        0x3b    // Codigo das teclas especiais
#define F2        0x3c
#define F3        0x3d
#define F4        0x3e
#define F5        0x3f
#define F6        0x40
#define F9        F1+8
#define F10       F1+9
#define SL        75
#define SR        77
#define SU        72
#define SD        80
#define HOME      71
#define END       79
#define PGUP      73
#define PGDN      81
#define ESC       27
#define CTRL      0x04
#define ALT       0x08

#define DWT        0      // Nomes para indexacao na tabela de
#define NPT        1      // ajuste dos parametros
#define MORTO      2
#define CANAIS     3
#define LINB       4
#define SMTH       5
#define NORM       6
#define MEDIA      7
#define AUTO_S     8
#define PULSO1     9
#define PULSO2    10
#define TAW        11
#define TR         12
#define ANG        13
#define ANGP       14
#define ANGM       15

#define NPRM       16      // Numero total de parametros
#define MAX_NPT    2048    // numero maximo de pontos
#define MAX_MORT   50      // maximo tempo morto
#define MAXVAL     65535/2

```

```

#define PI      3.141592654
#define TWOPI   6.283185307
#define MAX(X,Y) ((X > Y) ? X : Y)

/* ***** */

int DWELL_TIME;    // Parametros da aquisicao
int AVERG;
int NP_T;
int NP_T4;
int CORTE;

int LINHA_BASE;    // Opcoes de processamento do sinal
int SMOOTH;
int DUPLO;
int SALVA;
int AUTO_SAVE;
int CONT_SAVE;
int SIMULACAO;
int SUSPENSO;

int DADOS[(MAX_NPT+MAX_MORT)*2]; // Armazenamento do sinal
int FFT_REAL[MAX_NPT];           // no tempo e frequencia
int FFT_IMAG[MAX_NPT];
int FFT_MODULO[MAX_NPT];
int MEDIA_REAL;
int MEDIA_IMAG;
int CONT_AVER;
long far *AVER_REAL;
long far *AVER_IMAG;
int far *PARTE_REAL;
int far *PARTE_IMAG;
int far *FILTRO_REAL;
int far *FILTRO_IMAG;

unsigned long DPTR;
unsigned int  ADR, PAGE, ADR_L, ADR_H; // Parametros do DMA
char far *PTR;

unsigned int MAX_X_T;    // Variaveis diversas
unsigned int MAX_Y_T;
unsigned int ZX_T;
unsigned int ZY_T;
unsigned int MAX_X_F;
unsigned int MAX_Y_F;
unsigned int ZX_F;
unsigned int ZY_F;
int MAX_X;
int MAX_Y;
int NORMALIZA;
int ERRORCODE;
int N_2;
int WD_T;
int WD_F;
int SIMULTANEO; // Variavel do gerador de pulsos
char AMPL[12];
char NOME_ARQ[5][20];
char EXT_ARQ[5][5];
int PARAM;
FILE *OUT; // arquivo de mensagens

// Estrutura para armazenamento dos parametros: posicao na tela,
// valor, maximo e minimo, passo no ajuste, texto apresentado e tipo

struct prm { int stx,sty,endx,endy,hl,val,min,max,passo,tipo; };
struct prm PRM[NPRM];

/* ***** */

double SQR (int); // Funcoes
void far *MEM_ALLOC (int);
void HELP (void);
void TAREFAS (void);
int PREP_AQUISICAO (void);
int ADQUIRE (void);
int FILTRA (void);
int PROCESSA (void);
void MODULO (void);
int MOSTRA (void);
int SALVAR (void);
void GRAVAR (void);

```

```

int      CORRIGE_LB      (void);
int      AVERAGE        (void);
void     SIMULA_SINAL    (void);
void     INICIO_TELA     (void);
void     FIM_TELA        (void);
void     JANELA_TEMPO    (void);
void     ESCALA_TEMPO     (void);
void     ESCALA_FREQU    (void);
void     JANELA_FREQU    (void);
void     PLOT_FREQ       (void);
void     PLOT_TEMPO      (int far *, int far *);
int      ABC_T           (int);
int      ABC_F           (int);
int      ORD_F           (int,int,int);
int      ORD_T           (int,int,int);
void     INICIO_PRM      (void);
int      AJUSTE          (void);
void     SHOW_PRM        (int,char *);
void     PROG_DWT        (void);
void     PROG_PULSO1     (void);
void     PROG_PULSO2     (void);
void     PROG_TR         (void);
void     PROG_TAL        (void);
void     PROG_PRM        (int);
void     INC_PRM         (int);
void     DEC_PRM         (int);
void     CHGDATA         (int *,int *);
int      BITREV          (int,int);
int      LOG2            (int);
void     FFTINT          (int [],int [],int);

/* ***** */

void main(void)
{ char nome[20]; int i; FILE *fp;

  clrscr(); // Limpa a tela

  // Arquivo de mensagens (utilizado para arquivar dados,
  // mensagens de erro, informacoes uteis para debug, etc) :

  if((OUT=fopen("rmn.out","w"))==NULL)
  { printf("\nOutput file 'rmn.out' cannot be open"); return; }

  // Inicializar variaveis globais :

  AVERG=0; NP_T=128; NP_T4=(128*4)-1; CORTE=0; LINHA_BASE=0;
  SMOOTH=0; DÚPLO=0; SALVA=0; AUTO_SAVE=0; SUSPENSO=0; WD_T=0;
  WD_F=0; CONT_SAVE=0; strcpy(AMPL,"Amplitude"); SIMULTANEO=1;

  // Inicializar a PIO :

  outportb(0x303,0x93); outportb(0x302,0xE0);
  if((inportb(0x302)&0xF0)!=0xE0)
  { printf ("Interface nao encontrada. Modo simulacao ativado.\n");
    SIMULACAO = 1; } else SIMULACAO=0;

  // Abrir arquivos de dados :

  strcpy(NOME_ARQ[0],"rmn"); strcpy(EXT_ARQ[0],".dat");
  printf("Nome para arquivo de dados [assumido: rmn.dat] -> "); gets(nome);
  if(strlen(nome)>0)
  { for(i=0;i<20 && (NOME_ARQ[0][i]=nome[i]) != '.' && nome[i] != '\0';i++);
    if(nome[i]=='.') { NOME_ARQ[0][i]='\0'; strcpy(EXT_ARQ[0],&nome[i]); } }
  strcpy(nome,NOME_ARQ[0]); strcat(nome,"0"); strcat(nome,EXT_ARQ[0]);
  if((fp=fopen(nome,"r"))!=NULL)
  { printf("Arquivo ja existe! Sobrepor(S/N)? ");
    if(toupper(getch())=='N') exit (1); }
  fclose (fp);

  INICIO_TELA (); INICIO_PRM ();

  // Alocacao de memoria :

  AVER_REAL = (long far *) MEM_ALLOC (MAX_NPT*4);
  AVER_IMAG = (long far *) MEM_ALLOC (MAX_NPT*4);
  PARTE_REAL = (int far *) MEM_ALLOC (MAX_NPT*2);
  PARTE_IMAG = (int far *) MEM_ALLOC (MAX_NPT*2);
  FILTRO_REAL = (int far *) MEM_ALLOC (MAX_NPT*2);
  FILTRO_IMAG = (int far *) MEM_ALLOC (MAX_NPT*2);

```

```

// Preparar parametros para DMA :

PTR      = (char far *) &NP_T4;
DPTR     = (long) &DADOS;
ADR      = (int) DPTR;
PAGE     = DPTR >> 16;
DPTR     = ADR + (((long)PAGE) << 4);
ADR_L    = (int) DPTR & 0xff;
ADR_H    = ((int) DPTR & 0xff00) >> 8;
PAGE     = DPTR >> 16;
CONT_AVER = 0;

// Inicializar DMA

if(!SIMULACAO)
{ delay (2000);
  outportb(0xb,0x45); /* Selecionar leitura e single byte transfer */
  outportb(0xa,5); /* Inibe operacao do canal 1 de DMA */
  outportb(0x83,PAGE); }

TAREFAS(); // Execucao das tarefas

// Final do programa :

if (!SIMULACAO)
{ outportb (0x302,0xf0); // Inibir circuito controlador de DMA
  outportb (0xb,0x41); } // Reprogramar controlador de DMA p/ Verify
FIM_TELA(); fclose(OUT); return; }

/* ***** */

void far *MEM_ALLOC (int n)
{ void far *p;

  p=farmalloc((long)n);
  if(p==NULL) { printf("Estouro de memoria.\n"); exit (1); }
  return(p); }

/* ***** */

double SQR (int n) { return((double)n*(double)n); }

/* ***** */

void HELP (void)
{ int i; FILE *fp; char buff[80];

  textmode(); clrscr(); printf("I F Q S C - U S P\n\n");
  printf("E M B R A P A - N P D I A\n\n");
  printf("CONTROLE E AQUISIÇÃO DE DADOS PARA RMN - V2.0\n\n");
  if((fp=fopen("rmn.hlp","r"))==NULL)
  { printf("Arquivo RMN.HLP nao encontrado!"); }
  else
  { do { if((fgets(buff,80,fp))!=NULL) printf("%s",buff); }
    while(!feof(fp)); fclose (fp); }
  printf("\nUse qualquer tecla para continuar."); getch(); INICIO_TELA();
  for(i=0;i<NPRM;i++) PROG_PRM(i); }

/* ***** */

void INICIO_TELA (void) // Inicializa a tela grafica
{
  int gdriver,gmode;
  char buff[30];

  gdriver=DETECT; ERRORCODE=graphresult(); initgraph(&gdriver,&gmode,"");
  if(ERRORCODE!=grOk)
  { printf("Graph error: %s",grapherrormsg(ERRORCODE)); exit(1); }
  MAX_X = getmaxx(); MAX_Y = getmaxy(); MAX_X_T = MAX_X_F = (MAX_X-1)/2;
  MAX_Y_T = (MAX_Y-1)/2; MAX_Y_F = MAX_Y-10; ZX_T = ZX_F = 10;
  ZY_T = 20; ZY_F = MAX_Y_T+10; if(MAX_Y<200) strcpy(AMPL,"Ampl.");
  setcolor (WHITE); settextstyle(DEFAULT_FONT,HORIZ_DIR,2);
  outtextxy(MAX_X/2+30,MAX_Y-55,"IFQSC - USP");
  outtextxy(MAX_X/2+30,MAX_Y-25,"EMBRAPA - NPDIA");
  settextstyle(DEFAULT_FONT,HORIZ_DIR,1);
  outtextxy(40,1,
    "CONTROLE E AQUISIÇÃO DE DADOS PARA RMN - V2.0");
  sprintf(buff,"Arquivo: %s%s",NOME_ARQ[0],EXT_ARQ[0]);
  buff[29]='\0'; outtextxy(MAX_X_T/2-textwidth(buff)/2,11,buff);
  settextjustify(LEFT_TEXT,TOP_TEXT); JANELA_TEMPO(); JANELA_FREQU(); }

```

```

/* ***** */

void FIM_TELA (void) { closegraph(); /* retornar ao modo texto */ }

/* ***** */

void JANELA_TEMPO(void) // Desenha a moldura do grafico sinal vs. tempo
{
    moveto(ZX_T,ZY_T); setcolor(WHITE); lineto(MAX_X_T,ZY_T);
    lineto(MAX_X_T,MAX_Y_T); lineto(ZX_T,MAX_Y_T); lineto(ZX_T,ZY_T);
    outtextxy(ZX_T+1,MAX_Y_T+1,"Tempo"); settextstyle(DEFAULT_FONT,VERT_DIR,1);
    outtextxy(ZX_T,((MAX_Y_T-ZY_T)/2)-(textwidth(AMPL)/2)+ZY_T,AMPL);
    settextstyle(DEFAULT_FONT,HORIZ_DIR,1);
    ZX_T += 3; ZY_T += 3; MAX_X_T -= 3; MAX_Y_T -= 3; }

/* ***** */

void ESCALA_TEMPO (void) // Escreve a escala no grafico sinal vs. tempo
{ char buff[20];

    setfillstyle(SOLID_FILL,BLACK);
    bar(MAX_X_T-WD_T+3,MAX_Y_T+1+3,MAX_X_T+3,MAX_Y_T+9+3);
    setfillstyle(SOLID_FILL,WHITE);
    sprintf(buff,"%3.3f ms", (DWELL_TIME/10000.)*(float)NP_T);
    WD_T = textwidth(buff); setcolor(WHITE);
    outtextxy(MAX_X_T-WD_T+3,MAX_Y_T+1+3,buff); }

/* ***** */

void JANELA_FREQU (void) // Desenha a moldura do grafico sinal vs. frequencia
{ int ty;

    moveto(ZX_F,ZY_F); setcolor(WHITE); lineto(MAX_X_F,ZY_F);
    lineto(MAX_X_F,MAX_Y_F); lineto(ZX_F,MAX_Y_F); lineto(ZX_F,ZY_F);
    outtextxy(ZX_F+1,MAX_Y_F+1,"Frequência");
    settextstyle(DEFAULT_FONT,VERT_DIR,1);
    outtextxy(ZX_F,((MAX_Y_F-ZY_F)/2)-(textwidth(AMPL)/2)+ZY_F,AMPL);
    settextstyle(DEFAULT_FONT,HORIZ_DIR,1);
    ZX_F += 3; ZY_F += 3; MAX_X_F -= 3; MAX_Y_F -= 3; }

/* ***** */

void ESCALA_FREQU (void) // Escreve a escala no grafico sinal vs. frequencia
{ char buff[20]; float frequ;

    setfillstyle(SOLID_FILL,BLACK);
    bar(MAX_X_F-WD_F+3,MAX_Y_F+1+3,MAX_X_F+3,MAX_Y_F+9+3);
    setfillstyle(SOLID_FILL,WHITE); frequ = (5000.0 / DWELL_TIME);
    sprintf(buff,"%5.2f KHz",frequ); WD_F = textwidth(buff);
    setcolor(WHITE); outtextxy(MAX_X_F-WD_F+3,MAX_Y_F+1+3,buff); }

/* ***** */

void PLOT_TEMPO (int far *p_r,int far *p_i) // Faz grafico sinal vs. tempo
{ int max_r,max_i,i;

    if(NORMALIZA)
    { max_r = max_i = 0;
      for(i=0;i<NP_T;i++)
      { max_r = abs(p_r[i]) > max_r ? abs(p_r[i]) : max_r;
        max_i = abs(p_i[i]) > max_i ? abs(p_i[i]) : max_i; } }
    else { max_r = max_i = 2100; }
    setfillstyle(SOLID_FILL,BLACK); bar(ZX_T,ZY_T,MAX_X_T,MAX_Y_T);
    setcolor(WHITE); if(!DUPLO)
    { moveto(ZX_T,ORD_T(2,p_r[0],max_r));
      for(i=1;i<NP_T-NP_T/20;i++) { lineto(ABC_T(i),ORD_T(2,p_r[i],max_r)); } }
    else
    { moveto(ZX_T,ORD_T(0,p_r[0],max_r));
      for(i=1;i<NP_T-NP_T/20;i++) { lineto(ABC_T(i),ORD_T(0,p_r[i],max_r)); }
      moveto(ZX_T,ORD_T(1,p_i[0],max_i));
      for(i=1;i<NP_T-NP_T/20;i++)
      { lineto(ABC_T(i),ORD_T(1,p_i[i],max_i)); } } }

/* ***** */

void PLOT_FREQ (void) // Faz grafico sinal vs. frequencia
{ int i,j,k,max,pico[5],pmax[5];
  char buff[40]; float area,center; int above,count;

  N_2=NP_T/2; max=0;
  for(i=0;i<N_2;i++) /* mirror */

```

```

{ j=FFT_MODULO[i]; FFT_MODULO[i]=FFT_MODULO[i+N_2]; FFT_MODULO[i+N_2]=j; }
for(i=1;i<NP_T;i++) { max=FFT_MODULO[i] > max ? FFT_MODULO[i] : max; }
k=0; for(i=0;i<5;i++) pico[i]=pmax[i]=0;
for(i=1;i<NP_T;i++)
{ if(FFT_MODULO[i]>pmax[k]) { pico[k]=i; pmax[k]=FFT_MODULO[i]; }
  else { if((FFT_MODULO[i]<max/4)&&(pmax[k]>max/2)) k++; }
  if(k>4) k=4; }

setfillstyle (SOLID_FILL, BLACK);
bar(MAX_X_F+10,((MAX_Y_F-ZY_F)/3)+ZY_F-10,MAX_X-10,((MAX_Y_F-ZY_F)/3)+ZY_F);

center=0.0; area=0.0; above=0; count=0;
for(i=0;i<NP_T;i++)
{ if(FFT_MODULO[i] > max/4)
  { if(above==0) count=count+1; above=1;
    area=area+(float)(FFT_MODULO[i]-max/4);
    center=center+(float)(i)*(float)(FFT_MODULO[i]-max/4); }
  else above = 0; }
center = (center/area)-(float)N_2;

sprintf(buff,"Centro= %5.2f KHz Area= %5.2f picos = %2d",
        5000.*center/(((float)DWEELL_TIME)*((float)N_2)),area,count);
outtextxy(MAX_X_F+10,((MAX_Y_F-ZY_F)/3)+ZY_F-10,buff);
setfillstyle(SOLID_FILL,BLACK);
bar(MAX_X_F+10,((MAX_Y_F-ZY_F)/3)+ZY_F,MAX_X-10,((MAX_Y_F-ZY_F)/3)+ZY_F+40);

for(i=0;i<k;i++)
{ pico[i]=pico[i]-N_2;
  sprintf(buff,"Pico%d = %5.2f KHz, Max = %d",i+1,
        5000.*pico[i]/(((float)DWEELL_TIME)*((float)N_2)),pmax[i]);
  outtextxy(MAX_X_F+10,((MAX_Y_F-ZY_F)/3)+ZY_F+10*i,buff); }

bar(ZX_F,ZY_F,MAX_X_F,MAX_Y_F); setcolor(WHITE); // Plot
moveto(ZX_F,ORD_F(2,FFT_MODULO[0],max));
for(i=1;i<NP_T;i++) lineto(ABC_F(i),ORD_F(2,FFT_MODULO[i],max));

moveto(ZX_F,(MAX_Y_F+ZY_F)/2); // linha zero horizontal
lineto(MAX_X_F,(MAX_Y_F+ZY_F)/2);

// linha zero vertical
moveto((int)(((float)N_2)*((float)MAX_X_F)/(float)NP_T)+ZX_F,ZY_F);
lineto((int)(((float)N_2)*((float)MAX_X_F)/(float)NP_T)+ZX_F,(MAX_Y_F+ZY_F)/2);

setlinestyle(DASHED_LINE,1,NORM_WIDTH); // linha 25% horizontal
moveto(ZX_F,ZY_F+3*(MAX_Y_F-ZY_F)/8);
lineto(MAX_X_F,ZY_F+3*(MAX_Y_F-ZY_F)/8);

// linha vertical no centro do pico
setlinestyle(DOTTED_LINE,1,NORM_WIDTH); center=center+(float)N_2;
moveto((int)(center*(float)(MAX_X_F)/(float)(NP_T))+ZX_F,ZY_F);
lineto((int)(center*(float)(MAX_X_F)/(float)(NP_T))+ZX_F,(MAX_Y_F+ZY_F)/2);
setlinestyle(SOLID_LINE,1,NORM_WIDTH); }

/* ***** */

int ABC_T (int x)
{ int abc;

  abc=((long)x*MAX_X_T/NP_T)+ZX_T;
  return(abc < MAX_X_T ? abc : MAX_X_T); }

/* ***** */

int ORD_T (int pos,int y,int max)
{ int loc,ord;

  switch(pos)
  { case 0:
    loc=(MAX_Y_T-ZY_T)/4;
    ord=max==0 ? ZY_T : abs((y*((MAX_Y_T-ZY_T)/4.)/max)-loc)+ZY_T; break;
    case 1:
    loc=(MAX_Y_T-ZY_T)/4*3;
    ord=max==0 ? ZY_T : abs((y*((MAX_Y_T-ZY_T)/4.)/max)-loc)+ZY_T; break;
    case 2:
    loc=(MAX_Y_T-ZY_T)/2;
    ord=max==0 ? ZY_T : abs((y*((MAX_Y_T-ZY_T)/2.)/max)-loc)+ZY_T; break;
    default: break; }
  return (ord); }

/* ***** */

```

```

int ABC_F (int x)
{ int abc;

  abc=((long)x*MAX_X_F/NP_T)+ZX_F;
  return(abc < MAX_X_F ? abc : MAX_X_F); }

/* ***** */

int ORD_F (int pos,int y,int max)
{ int loc,ord;

  switch(pos)
  { case 0:
    loc=(MAX_Y_F-ZY_F)/4;
    ord=max==0 ? ZY_F : abs((y*((MAX_Y_F-ZY_F)/4.)/max)-loc)+ZY_F; break;
    case 1:
    loc=(MAX_Y_F-ZY_F)/4*3;
    ord=max==0 ? ZY_F : abs((y*((MAX_Y_F-ZY_F)/4.)/max)-loc)+ZY_F; break;
    case 2:
    loc=(MAX_Y_F-ZY_F)/2;
    ord=max==0 ? ZY_F : abs((y*((MAX_Y_F-ZY_F)/2.)/max)-loc)+ZY_F; break;
    default: break; }
  return (ord); }

/* ***** */

void TAREFAS (void) // Distribuicao de tarefas. Segue a
{ unsigned i; char tecla; int etapa; // hierarquia definida para as etapas
  // do processo (0-8).
  etapa = PREP;
  do
  { if (!SUSPENSO)
    { switch (etapa)
      { case PREP: etapa = PREP_AQUISICAO(); break;
        case ADQU: etapa = ADQUIRE(); break;
        case LNBS: etapa = CORRIGE_LB(); break;
        case AVER: etapa = AVERAGE(); break;
        case FILT: etapa = FILTRA(); break;
        case PROC: etapa = PROCESSA(); break;
        case MOST: etapa = MOSTRA(); break;
        case SALV: etapa = SALVAR(); break;
        default: tecla = AJUSTE(); break; } }
    tecla = AJUSTE(); }
  while((tecla!=ESC) || (!(bioskey(2)&CTRL))); } // Testa tecla [CTRL]ESC

/* ***** */

int PREP_AQUISICAO (void) // Etapa 0 : dispara sequencia de pulsos
{ unsigned int i;

  if(SIMULACAO) return(ADQU);
  outportb(0x302,0xA0);
  outportb(0x302,0x20); // Segurar trigger e fazer */
  outportb(0x302,0x60); // reset do circuito controlador de DMA */
  outportb(0xc,0); // Clear byte pointer flip-flop (v. DMA PC) */
  outportb(0x2,ADR_L); // Fornecer lsb do destino */
  outportb(0x2,ADR_H); // Fornecer msb do destino */
  outportb(0x3,*PTR); // Programar lsb do contador */
  outportb(0x3,*(PTR+1)); // Programar msb do contador */
  outportb(0xA,1); // Habilita operacao do canal 1 de DMA */
  outportb(0x302,0x70); // Liberar trigger */
  /* Trigger por software : outportb(0x302,0x50); outportb(0x302,0x70); */
  return(ADQU); }

/* ***** */

int ADQUIRE (void) // Etapa 1 : faz a transferencia dos dados
{ int cont;

  if(SIMULACAO) { SIMULA_SINAL(); return (FILT); }
  if(!(inportb(8)&2)) return (1); // Aguardar fim do DMA */
  for(cont=0;cont<NP_T;cont++)
  { PARTE_REAL[cont] = ((DADOS[(cont+CORTE)*2]>>4)&0xfff)-0x800;
    if(!DUPLO) PARTE_IMAG[cont] = 0;
    else PARTE_IMAG[cont]=((DADOS[(cont+CORTE)*2+1]>>4)&0xfff)-0x800; }
  return(FILT); }

/* ***** */

int CORRIGE_LB(void) // Etapa 3 : Correcao da linha de base
{ int i,np_to; long soma_real,soma_imag;

```

```

MEDIA_REAL = MEDIA_IMAG = 0;
if(LINHA_BASE)
{ soma_real=soma_imag=0L; np_to=(NP_T*10)/100;
  for(i=NP_T-1;i>NP_T-np_to;i--)
  { soma_real += PARTE_REAL[i]; soma_imag += PARTE_IMAG[i]; }
  MEDIA_REAL = (int)(soma_real/(long)np_to);
  MEDIA_IMAG = (int)(soma_imag/(long)np_to);
  for(i=0;i<NP_T;i++)
  { PARTE_REAL[i] -= MEDIA_REAL; PARTE_IMAG[i] -= MEDIA_IMAG; } }
return (AVER); }

/* ***** */

int AVERAGE (void) // Etapa 5 : Acumula os dados para promediacao
{ int i,jump; char buff[20];

  jump=0;
  if(++CONT_AVER>AVERG)
  { CONT_AVER=SALVA=0;
    for(i=0;i<NP_T;i++) { AVER_REAL[i]=0; AVER_IMAG[i]=0; } }
  else
  { jump=1;
    for(i=0;i<NP_T;i++)
    { AVER_REAL[i] += PARTE_REAL[i]; AVER_IMAG[i] += PARTE_IMAG[i]; }
    sprintf(buff,"Medias: %d ",CONT_AVER); bar(MAX_X-150,100,MAX_X,109);
    outtextxy(MAX_X-120,100,buff);
    if(CONT_AVER==AVERG)
    { jump=0; SALVA=1;
      for(i=0;i<NP_T;i++)
      { PARTE_REAL[i] = AVER_REAL[i] / CONT_AVER;
        PARTE_IMAG[i] = AVER_IMAG[i] / CONT_AVER; } } }
  if(jump==0) return (PROC); else return(PREP); }

/* ***** */

int FILTRA (void) // Etapa 4 : faz "smooth" dos dados (primeiros vizinhos)
{ int i;

  if(SMOOTH)
  { for(i=1;i<(NP_T-1);i++)
    { FILTRO_REAL[i]=(2*PARTE_REAL[i]+PARTE_REAL[i-1]+PARTE_REAL[i+1])/4; }
    for(i=1;i<(NP_T-1);i++)
    { FILTRO_IMAG[i]=(2*PARTE_IMAG[i]+PARTE_IMAG[i-1]+PARTE_IMAG[i+1])/4; }
    FILTRO_REAL[0]=PARTE_REAL[0]; FILTRO_REAL[NP_T-1]=PARTE_REAL[NP_T-1];
    FILTRO_IMAG[0]=PARTE_IMAG[0]; FILTRO_IMAG[NP_T-1]=PARTE_IMAG[NP_T-1];
    for(i=0;i<NP_T;i++)
    { PARTE_REAL[i]=FILTRO_REAL[i]; PARTE_IMAG[i]=FILTRO_IMAG[i]; } }
  return(LNBS); }

/* ***** */

int PROCESSA (void) // Etapa 6 : processa a transformada de Fourier rapida
{ int i;

  for(i=0;i<NP_T;i++)
  { FFT_REAL[i]=PARTE_REAL[i]; FFT_IMAG[i]=PARTE_IMAG[i]; }
  FFTINT (FFT_REAL, FFT_IMAG, NP_T; MODULO(); return(MOST); }

/* ***** */

int MOSTRA (void) // Etapa 7 : gera graficos na tela
{ PLOT_TEMPO (PARTE_REAL, PARTE_IMAG); PLOT_FREQ (); return(SALV); }

/* ***** */

int SALVAR (void) // Etapa 8 : salva dados em arquivo
{ if(SALVA)
  { if(AUTO_SAVE) GRAVAR();
    else
    { bar(MAX_X-150,110,MAX_X,119); outtextxy(MAX_X-120,110,"Gravar(S/N)?" );
      if(toupper(getch())=='S') GRAVAR();
      setfillstyle(SOLID_FILL,BLACK); bar(MAX_X-150,110,MAX_X,119);
      setfillstyle(SOLID_FILL,WHITE); } }
  return(PREP); }

/* ***** */

void GRAVAR(void) // Grava dados em arquivo e faz rotacao da amostra
{ int i; char str[80],nome[20],num[10]; FILE *fp;

  if(PRM[ANG].val<=PRM[ANGM].val)

```



```

{ sprintf(nome, "%s%02d%s", NOME_ARQ[0], CONT_SAVE, EXT_ARQ[0]);
  CONT_SAVE=CONT_SAVE+1;
  if((fp=fopen(nome, "w"))!=NULL )
  { /* fprintf(fp, "%d %f %d\n",
      PRM[NPT].val, (float) (PRM[DWT].val)/10.0, PRM[ANG].val); */
    if (PRM[CANAIS].val==2)
    { for(i=0; i<NP_T; i++)
      { fprintf(fp, "%d %d\n", PARTE_REAL[i], PARTE_IMAG[i]); }
      else for(i=0; i<NP_T; i++) fprintf(fp, "%d\n", PARTE_REAL[i]);
      sprintf(str, "Arquivo: %s      Angulo: %-3d graus", nome, PRM[ANG].val);
      setfillstyle(SOLID_FILL, BLACK);
      bar(MAX_X_T/2-textwidth(str)/2, 11, MAX_X_T/2+textwidth(str)/2, 19);
      setcolor(WHITE); outtextxy(MAX_X_T/2-textwidth(str)/2, 11, str); }
    else putchar('\007'); fclose(fp);
    PRM[ANG].val=PRM[ANG].val+PRM[ANGP].val;
    sprintf(str, "Angulo (graus): %d      ", PRM[ANG].val); SHOW_PRM(ANG, str);
    outportb(0x37A, 2);
    for(i=0; i<(PRM[ANGP].val*10/3); i++)
    { outportb(0x37A, 6); delay(5); outportb(0x37A, 2); delay(5); }
    outportb(0x37A, 0); }
  return; }

/* ***** */

void MODULO(void)          // Calcula o modulo da transformada de Fourier
{ int i; double x1,x2,x3;

  for(i=0; i<NP_T; i++)
  { x1=SQR(FFT_REAL[i]); x2=SQR(FFT_IMAG[i]); x3=sqrt ((x1+x2));
    FFT_MODULO[i]=(int)x3; } }

/* ***** */

void SIMULA_SINAL (void)   // Simula um sinal de FID com ruído
{ int i, ofs; double aux, aten;

  ofs=random(200);
  for(i=0; i<NP_T; i++)
  { aux=(i*PI*20.)/DWELL_TIME; aten=1/*exp(-i/35.)*/;
    PARTE_REAL[i]=FFT_REAL[i]=(sin(aux+PI/3.)*random(2000)*aten)+ofs;
    PARTE_IMAG[i]=FFT_IMAG[i]=(cos(aux)*random(2000)*aten)+ofs; } }

/* ***** */

char far *texto[] =
{
  "Taxa de amostragem (uS): %4.1f      ",
  "Numero de pontos: %d      ",
  "Tempo morto (pontos): %d      ",
  "Numero de canais: %d      ",
  "Correcao da linha de base: %s      ",
  "Smooth: %s      ",
  "Normalizacao: %s      ",
  "Promediacao: %d      ",
  "Auto-save: %s      ",
  "Pulso 1 (uS): %4.1f      ",
  "Pulso 2 (uS): %4.1f      ",
  "Espacamento (mS): %3.2f      ",
  "Tempo de repeticao (mS): %d.0      ",
  "Angulo (graus): %d      ",
  "Passo (graus): %d      ",
  "Angulo maximo (graus): %d      "};

/* ***** */

void INICIO_PRM (void)     // Inicializa parametros
{ int i;

  // Posicoes na vertical dos textos na apresentacao dos parametros

  PRM[DWT].sty   = 20; /* Dwell_time */
  PRM[NPT].sty   = 30; /* Numero de pontos */
  PRM[MORTO].sty = 40; /* Tempo morto */
  PRM[CANAIS].sty = 50; /* Numero de canais de entrada */
  PRM[LINB].sty  = 70; /* Correcao da linha de base */
  PRM[SMTH].sty  = 80; /* Smooth */
  PRM[NORM].sty  = 90; /* Normalizacao da plotagem */
  PRM[MEDIA].sty = 100; /* Promediacao */
  PRM[AUTO_S].sty = 110; /* Auto salvamento da aquisicao */
  PRM[PULSO1].sty = 130; /* Pulso 1 */
  PRM[PULSO2].sty = 140; /* Pulso 2 */

```

```

PRM[TAW].sty      = 150; /* Espaçamento */
PRM[TR].sty       = 160; /* Tempo de repetição */
PRM[ANG].sty      = 180; /* Angulo do motor */
PRM[ANGP].sty     = 190; /* Passo do angulo de giro do motor */
PRM[ANGM].sty     = 200; /* Angulo maximo de giro do motor */

```

// Valores iniciais dos parametros

```

PRM[DWT].val      = 1000; /* Dwell_time */
PRM[NPT].val      = 128; /* Numero de pontos */
PRM[MORTO].val    = 0; /* Tempo morto */
PRM[CANAIS].val   = 2; /* Numero de canais de entrada */
PRM[LINB].val     = 0; /* Correcao da linha de base */
PRM[SMTH].val     = 0; /* Smooth */
PRM[MEDIA].val    = 0; /* Promediacao */
PRM[NORM].val     = 0; /* Normalizacao da plotagem */
PRM[PULSO1].val   = 150; /* Pulso 1 */
PRM[PULSO2].val   = 300; /* Pulso 2 */
PRM[TAW].val      = 10000; /* Espaçamento */
PRM[TR].val       = 500; /* Tempo de repetição */
PRM[AUTO_S].val   = 0; /* Auto salvamento da aquisicao */
PRM[ANG].val      = 0; /* Angulo do motor */
PRM[ANGP].val     = 6; /* Passo do angulo de giro do motor */
PRM[ANGM].val     = 360; /* Angulo maximo de giro do motor */

```

// Valores minimos dos parametros

```

PRM[DWT].min      = 300; /* Dwell_time */
PRM[NPT].min      = 64; /* Numero de pontos */
PRM[MORTO].min    = 0; /* Tempo morto */
PRM[CANAIS].min   = 1; /* Numero de canais de entrada */
PRM[LINB].min     = 0; /* Correcao da linha de base */
PRM[SMTH].min     = 0; /* Smooth */
PRM[MEDIA].min    = 0; /* Promediacao */
PRM[NORM].min     = 0; /* Normalizacao da plotagem */
PRM[PULSO1].min   = 1; /* Pulso 1 */
PRM[PULSO2].min   = 1; /* Pulso 2 */
PRM[TAW].min      = 10; /* Espaçamento */
PRM[TR].min       = 10; /* Tempo de repetição */
PRM[AUTO_S].min   = 0; /* Auto salvamento da aquisicao */
PRM[ANG].min      = 0; /* Angulo do motor */
PRM[ANGP].min     = 0; /* Passo do angulo de giro do motor */
PRM[ANGM].min     = 0; /* Angulo maximo de giro do motor */

```

// Valores maximos dos parametros

```

PRM[DWT].max      = MAXVAL; /* Dwell_time */
PRM[NPT].max      = MAX_NPT; /* Numero de pontos */
PRM[MORTO].max    = MAX_MORT; /* Tempo morto */
PRM[CANAIS].max   = 2; /* Numero de canais de entrada */
PRM[LINB].max     = 1; /* Correcao da linha de base */
PRM[SMTH].max     = 1; /* Smooth */
PRM[MEDIA].max    = MAXVAL; /* Promediacao */
PRM[NORM].max     = 1; /* Normalizacao da plotagem */
PRM[PULSO1].max   = MAXVAL; /* Pulso 1 */
PRM[PULSO2].max   = MAXVAL; /* Pulso 2 */
PRM[TAW].max      = MAXVAL; /* Espaçamento */
PRM[TR].max       = MAXVAL; /* Tempo de repetição */
PRM[AUTO_S].max   = 1; /* Auto salvamento da aquisicao */
PRM[ANG].max      = 1080; /* Angulo do motor */
PRM[ANGP].max     = 360; /* Passo do angulo de giro do motor */
PRM[ANGM].max     = 720; /* Angulo maximo de giro do motor */

```

// Passo para ajuste

```

PRM[DWT].passo    = 10; /* Dwell_time */
PRM[NPT].passo    = 1; /* Numero de pontos */
PRM[MORTO].passo  = 1; /* Tempo morto */
PRM[CANAIS].passo = 1; /* Numero de canais de entrada */
PRM[LINB].passo   = 1; /* Correcao da linha de base */
PRM[SMTH].passo   = 1; /* Smooth */
PRM[MEDIA].passo  = 10; /* Promediacao */
PRM[NORM].passo   = 1; /* Normalizacao da plotagem */
PRM[PULSO1].passo = 10; /* Pulso 1 */
PRM[PULSO2].passo = 10; /* Pulso 2 */
PRM[TAW].passo    = 1000; /* Espaçamento */
PRM[TR].passo     = 100; /* Tempo de repetição */
PRM[AUTO_S].passo = 1; /* Auto salvamento da aquisicao */
PRM[ANG].passo    = 3; /* Angulo do motor */
PRM[ANGP].passo   = 3; /* Passo do angulo de giro do motor */
PRM[ANGM].passo   = 3; /* Angulo maximo de giro do motor */

```

```

// Tipo de parametro (uso interno)
// DIRETO - valor direto
// DECIMO - primeiro digito do valor e' decimo. Ex: 105 = 10.5
// BOOLEAN - Valor e' SIM ou NAO
// STRING - cadeias Ex: nomes de arquivos

PRM[DWT].tipo = DECIMO; /* Dwell_time */
PRM[NPT].tipo = POTENC; /* Numero de pontos */
PRM[MORTO].tipo = DIRETO; /* Tempo morto */
PRM[CANAIS].tipo = DIRETO; /* Numero de canais de entrada */
PRM[LINB].tipo = BOOLEAN; /* Correcao da linha de base */
PRM[SMTH].tipo = BOOLEAN; /* Smooth */
PRM[MEDIA].tipo = DIRETO; /* Promediacao */
PRM[NORM].tipo = BOOLEAN; /* Normalizacao da plotagem */
PRM[PULSO1].tipo = DECIMO; /* Pulso 1 */
PRM[PULSO2].tipo = DECIMO; /* Pulso 2 */
PRM[TAW].tipo = DECIMO; /* Espaçamento */
PRM[TR].tipo = DIRETO; /* Tempo de repetição */
PRM[AUTO_S].tipo = BOOLEAN; /* Auto salvamento da aquisicao */
PRM[ANG].tipo = DIRETO; /* Angulo do motor */
PRM[ANGP].tipo = DIRETO; /* Passo do angulo de giro do motor */
PRM[ANGM].tipo = DIRETO; /* Angulo maximo de giro do motor */

// Programacao inicial dos parametros

outportb (0x30f,0x76); /* prescaler do gerador de pulsos */
outportb (0x30d,0x10); /* divide o clock de 10 Mhz por */
outportb (0x30d,0x27); /* 10000 para chegar a 1 Khz */

for(i=0;i<NPRM;i++)
{ PRM[i].stx = (MAX_X/2)+10; /* Posicao na horizontal
  PRM[i].endx = MAX_X;
  PRM[i].hl = BLACK; } // Sem high-light
for(i=0;i<NPRM;i++) { PROG_PRM(i); }
PARAM=DWT; PRM[DWT].hl=WHITE; PROG_PRM(DWT); }

/* ***** */

int AJUSTE (void) // Le o teclado e executa a opcao escolhida
{ int key,keyh,keyl; char str[80];

if(bioskey(1))
{ key=bioskey(0); keyh=(key>>8)&0xff; keyl=key&0xff;
  switch(keyh)
  { case PGUP :
    if((PARAM==ANG) || (PARAM==ANGP) || (PARAM==ANGM))
    { if(PRM[PARAM].passo==0) PRM[PARAM].passo += 3;
      else PRM[PARAM].passo *= 3;
      if(PRM[PARAM].passo>PRM[PARAM].max)
        PRM[PARAM].passo=PRM[PARAM].max; break; }
    if(PRM[PARAM].tipo==DIRETO || PRM[PARAM].tipo==DECIMO )
    { PRM[PARAM].passo *= 10;
      if(PRM[PARAM].passo > 1000) PRM[PARAM].passo = 1000; } break;
    case PGDN :
    if((PARAM==ANG) || (PARAM==ANGP) || (PARAM==ANGM))
    { PRM[PARAM].passo /= 3;
      if(PRM[PARAM].passo<PRM[PARAM].min)
        PRM[PARAM].passo=PRM[PARAM].min; break; }
    if(PRM[PARAM].tipo==DIRETO || PRM[PARAM].tipo==DECIMO)
    { PRM[PARAM].passo /= 10;
      if(PRM[PARAM].passo < 1) PRM[PARAM].passo = 1; } break;
    case F1 : HELP(); break;
    case F5 :
      PRM[ANG].val=0; sprintf(str,texto[ANG+1],PRM[ANG].val);
      SHOW_PRM(ANG,str); break;
    case F6 : CONT_SAVE=0; break;
    case F9 : SIMULTANEO = SIMULTANEO ? 0 : 1; break;
    case F10: SUSPENSO = SUSPENSO ? 0 : 1; break;
    case SR : INC_PRM(PARAM); PROG_PRM(PARAM); break;
    case SL : DEC_PRM(PARAM); PROG_PRM(PARAM); break;
    case SD :
      PRM[PARAM].hl=BLACK; PROG_PRM(PARAM); if(++PARAM >= NPRM) PARAM=0;
      PRM[PARAM].hl=WHITE; PROG_PRM(PARAM); break;
    case SU :
      PRM[PARAM].hl=BLACK; PROG_PRM(PARAM); if(--PARAM < 0) PARAM=NPRM-1;
      PRM[PARAM].hl=WHITE; PROG_PRM(PARAM); break;
    case HOME :
      PRM[PARAM].val=PRM[PARAM].min; PROG_PRM(PARAM); break;
    case END :
      PRM[PARAM].val=PRM[PARAM].max; PROG_PRM(PARAM); break;
    default : break; } }

```

```

return (key1); }

/* ***** */

void DEC_PRM (int i)          // Decrementa parametro i (tecla: LEFT)
{
    if(PRM[i].tipo==POTENC) { PRM[i].val /= 2; }
    else { PRM[i].val -= PRM[i].passo; } }

/* ***** */

void INC_PRM (int i)          // Incrementa parametro i (tecla RIGHT)
{
    if(PRM[i].tipo==POTENC) { PRM[i].val *= 2; }
    else { PRM[i].val += PRM[i].passo; } }

/* ***** */

void PROG_PRM (int i)          // Programa parametro i e atualiza a tela
{ char buff[40],aux[40];

    if(PRM[i].val < PRM[i].min ) PRM[i].val = PRM[i].min;
    if(PRM[i].val > PRM[i].max ) PRM[i].val = PRM[i].max;
    switch(PRM[i].tipo)
    { case DIRETO:
      case POTENC: sprintf(buff,texto[i+1],PRM[i].val); break;
      case DECIMO:
        if(i==TAW) { sprintf(buff,texto[i+1],PRM[i].val/10000.); }
        else { sprintf(buff,texto[i+1],PRM[i].val/10.); } break;
      case STRING: break;
      case BOOLEAN:
        sprintf(buff,texto[i+1],PRM[i].val == 0 ? "Nao" : "Sim" ); break;
      default: break; }
    switch (i)
    { case DWT : PROG_DWT(); DWELL_TIME=PRM[DWT].val; break;
      case MEDIA : AVERG=CONT_AVER=PRM[MEDIA].val; break;
      case PULSO1:
        PROG_PULSO1 ();
        if(SIMULTANEO)
        { PRM[PULSO2].val=2*PRM[PULSO1].val;
          sprintf(aux, texto[PULSO2+1],PRM[PULSO2].val/10.);
          PROG_PULSO2(); SHOW_PRM (PULSO2, aux); } break;
      case PULSO2: PROG_PULSO2(); break;
      case TAW : PROG_TAL(); break;
      case TR : PROG_TR(); break;
      default : break; }
    NP_T=PRM[NPT].val; CORTE=PRM[MORTO].val; NP_T4=((NP_T+CORTE)*4)-1;
    NORMALIZA=PRM[NORM].val; LINHA_BASE=PRM[LINB].val; SMOOTH=PRM[SMTH].val;
    DUPLO=PRM[CANAIS].val-1; AUTO_SAVE=PRM[AUTO_S].val;
    ESCALA_TEMPO(); ESCALA_FREQU(); SHOW_PRM(i,buff); }

/* ***** */

void PROG_DWT (void)
{ union { unsigned word; struct { char l; char h; } byte; } p;

    p.word=PRM[DWT].val; if(!SIMULACAO)
    { outportb(0x30F,0x34); outportb(0x30C,p.byte.l);
      outportb(0x30C,p.byte.h); } }

/* ***** */

void PROG_PULSO1 (void)
{ union { unsigned word; struct { char l; char h; } byte; } p;

    p.word=PRM[PULSO1].val; if(!SIMULACAO)
    { outportb(0x313,0x32); outportb(0x310,p.byte.l);
      outportb(0x310,p.byte.h); } }

/* ***** */

void PROG_PULSO2 (void)
{ union { unsigned word; struct { char l; char h; } byte; } p;

    p.word=PRM[PULSO2].val; if(!SIMULACAO)
    { outportb(0x313,0x72); outportb(0x311,p.byte.l);
      outportb(0x311,p.byte.h); } }

/* ***** */

void PROG_TAL (void)          // Programa separacao entre pulsos 1 e 2

```

```

{ union { unsigned word; struct { char l; char h; } byte; } p;

p.word=PRM[TAW].val; if(!SIMULACAO)
{ outportb (0x313,0xBA); outportb (0x312,p.byte.l);
  outportb (0x312,p.byte.h); } }

/* ***** */

void PROG_TR (void) // Programa periodo de repeticao
{ union { unsigned word; struct { char l; char h; } byte; } p;

p.word=PRM[TR].val; if(!SIMULACAO)
{ outportb(0x30F,0xB4); outportb(0x30E,p.byte.l);
  outportb(0x30E,p.byte.h); } }

/* ***** */

void SHOW_PRM (int i,char *buff)
{
  setfillstyle(SOLID_FILL,PRM[i].hl);
  bar(PRM[i].stx,PRM[i].sty,PRM[i].endx,PRM[i].sty+9);
  setcolor(PRM[i].hl==BLACK ? WHITE : BLACK );
  outtextxy(PRM[i].stx,PRM[i].sty,buff);
  setcolor(WHITE); ERRORCODE=graphresult();
  if(ERRORCODE!=grOk) /* an error occurred */
  { textmode(); printf("Graphics error: %s\n",grapherrormsg(ERRORCODE));
    printf("Press any key to halt:"); getch();
    exit(1); /* terminate with an error code */ } }

/* ***** */

void FFTINT(int parte_real[],int parte_imag[],int dim )
{ double arg,co,si,sin(),cos();
  int i,ir,j,k,kdim2,l2dim,l2dim1,dim2,tmp,tmpr,tmpr;

  // Esta rotina faz a transformada de fourier rapida de dados inteiros
  // complexos. O metodo utilizado calcula a transformada "in place"; os
  // vetores calculados sao armazenados nas mesmas posicoes de memoria ja'
  // alocadas para os vetores de entrada.
  // Versao original desenvolvida por: Mateus Jose Martins (IFQSC-USP)

  dim2=dim; l2dim=l2dim1=LOG2(dim);
  for(j=0;j<l2dim;j++)
  { l2dim1--; dim2 >= 1; ir=k=0;
    do
    { arg=TWOPI*ir/dim; co=cos(arg); si=sin(arg);
      for(i=0;i<dim2;i++,k++)
      { kdim2=k+dim2;
        tmpr=parte_real[kdim2]*co+parte_imag[kdim2]*si;
        tmpr=parte_imag[kdim2]*co-parte_real[kdim2]*si;
        parte_real[kdim2]=(parte_real[k]-tmpr) >> 1;
        parte_imag[kdim2]=(parte_imag[k]-tmpr) >> 1;
        parte_real[k] = (parte_real[k]+tmpr) >> 1;
        parte_imag[k] = (parte_imag[k]+tmpr) >> 1; }
      k += dim2; ir=BITREV(k>>l2dim1,l2dim); }
    while(k<dim); }
  for(i=0;i<dim;i++)
  if((ir=BITREV(i,l2dim))>i)
  { CHGDATA(&parte_real[i],&parte_real[ir]);
    CHGDATA(&parte_imag[i],&parte_imag[ir]); } }

/* ***** */

void CHGDATA (int *pr,int *pi)
{ int tmp;

  tmp=*pr; *pr=*pi; *pi=tmp; }

/* ***** */

int BITREV (int j,int nu)
{ int bitrv,i,j1;

  for(bitrv=i=0;i<nu;i++)
  { j1=j >> 1; bitrv <= 1; bitrv += j - ( j1 << 1 ); j = j1; }
  return(bitrv); }

/* ***** */

int LOG2 (int val)
{ int ct=0;

```

```

while(!(val&1)) { val >>= 1; ct++; } return(ct); }

/* ***** */

..... Arquivo RMN.HLP .....

F1      Aciona esta tela

F5      Inicializa valor do angulo de rotacao da amostra em zero graus
F6      Inicializa nome do arquivo em 'rmn00.dat'
F9      Cancela/Aciona programacao simultanea dos pulsos
F10     Suspende/Reinicia a aquisicao

↑,↓     Seleciona parametro
→       Incrementa parametro
←       Decrementa parametro
PGUP    Aumenta passo de ajuste
PGDN    Diminui passo de ajuste
HOME    Atribui valor minimo para o parametro
END     Atribui valor maximo para o parametro

[CTRL]ESC Fim do programa

```

APÊNDICE II

PROGRAMA DE GERAÇÃO DE IMAGENS PELO MÉTODO DE RETROPROJEÇÃO FILTRADA.

```

/* ***** */
/*
/*          IMAGE - V 1.0
/*      Este programa gera a imagem a partir dos dados obtidos
/*          pelo programa RMN V2.0
/*
/*          - 1993/94 -
/*
/*          Claudio Jose Magon (IFQSC-USP)
/*          Clovis I. Biscegli (EMBRAPA-NPDIA)
/* ***** */

#include <stdio.h>      // Biblioteca Borland C++ 2.0
#include <stdlib.h>
#include <graphics.h>
#include <conio.h>
#include <process.h>
#include <math.h>
#include <time.h>
#include <io.h>
#include <alloc.h>
#include <fcntl.h>
#include <sys\stat.h>
#include <dir.h>
#include <dos.h>
#include <ctype.h>
#include <string.h>

#define LEFT    75      // Teclas especiais
#define RIGHT   77
#define UP      72
#define DOWN    80
#define ESC     27
#define F1      59
#define F2      60
#define F3      61
#define F4      62
#define F5      63
#define F6      64
#define F7      65
#define F8      66
#define F9      67
#define F10     68
#define DELETE  83
#define INSERT  82
#define BACK    8
#define HOME    71

#define PI      3.141592654
#define TWOPI   6.283185307

int    NPT;          // numero de pontos experimentais
int    ZER;          // zero do sinal a ser transformado
int    *SIG_REAL;    // parte real do sinal
int    *SIG_IMAG;    // parte imag do sinal
int    *FFT_REAL;    // parte real da transformada
int    *FFT_IMAG;    // parte imag da transformada
double *CO;          // tabela de cossenos para fft
double *SI;          // tabela de senos para fft

/* ***** */

void CONVBK (float *,int,int,float,int,int);    // funcoes
void PLOT_IMAGE (int);
void FFT (int);
void CHGDATA (int *,int *);
int BITREV (int,int);
int LOG2 (int);
void POINT_SHIFT (int *,int,int);

/* ***** */

int main(void)

```

```

{ float *float_data, conv_range, ang, max, norma;
  double center, area, aux1, aux2;
  int *int_data, i, j, k, ndata, nproj, preal, pimag, icenter, zoom, dtype;
  int nx=100, ny=100;
  double arg;
  char str[80];
  FILE *dat, *cmp;

  printf("\n\nPlot image (0) Make/Plot image (1) : ");
  gets(str); if(strlen(str)==0) exit(1); j=atoi(str);
  switch(j)
  { case 0:
    printf("\n\nImage enhancement Yes (1) No (0) : ");
    gets(str); if(strlen(str)==0) exit(1);
    i=atoi(str); if((i==0)|| (i==1)) PLOT_IMAGE(i); return(0);
  case 1:
    printf("\n\nData type Normal(0) Compact (1): ");
    gets(str); if(strlen(str)==0) exit(1);
    dtype=atoi(str); break;
  default:
    return(1); }
  switch(dtype)
  { case 0:
    nproj=0; NPT=128; ang=6.0; // valores iniciais

    // determina no. de projecoes, fator de normalizacao, convolution
    // range e a dimensao do vetor cnv_data:

    norma=-1.0;
    for(;;)
    { sprintf(str, "c:\\image\\dat\\rmn%02d.dat", nproj);
      if((dat=fopen(str, "r"))==NULL) break;
      else
      { nproj=nproj+1;
        for(j=0; j<NPT; j++)
        { if(fscanf(dat, "%d%d", &preal, &pimag)!=2)
          { printf("\nErro de formatacao no arquivo '%s'", str);
            fclose(dat); exit(1); }
          if(((float)abs(preal))>norma) norma=((float)abs(preal));
          if(((float)abs(pimag))>norma) norma=((float)abs(pimag)); }
        fclose(dat); } }
    ndata=NPT*nproj; conv_range=ang*(float)(nproj-1); norma=16000.0/norma;
    if(conv_range<180.0)
    { printf("\nConvolution range must be greater than 180 degrees !");
      return(0); }

    // aloca memoria, constroi as tabelas de seno e cosseno para fft
    // e abre arquivo cmp:

    int_data=calloc(ndata, sizeof(int));
    if(!int_data)
    { printf("\nMemory allocation error - int_data - MAIN"); exit(1); }
    SIG_REAL=calloc(NPT, sizeof(int));
    if(!SIG_REAL)
    { printf("\nMemory allocation error - SIG_REAL - MAIN");
      free(int_data); exit(1); }
    SIG_IMAG=calloc(NPT, sizeof(int));
    if(!SIG_IMAG)
    { printf("\nMemory allocation error - SIG_IMAG - MAIN");
      free(int_data); free(SIG_REAL); exit(1); }
    FFT_REAL=SIG_REAL; FFT_IMAG=SIG_IMAG;
    SI = calloc(NPT/2, sizeof(double));
    if(SI==NULL)
    { printf("\nMemory allocation error - SI - MAIN");
      free(int_data); free(SIG_REAL); free(SIG_IMAG); exit(1); }
    CO = calloc(NPT/2, sizeof(double));
    if(CO==NULL)
    { printf("\nMemory allocation error - CO - MAIN");
      free(int_data); free(SIG_REAL); free(SIG_IMAG); free(SI); exit(1); }
    for(i=0; i<NPT/2; i++) { arg=TWOPI*i/NPT; CO[i]=cos(arg); SI[i]=sin(arg); }

    if((cmp=fopen("c:\\image\\cmp\\image.cmp", "wb"))==NULL)
    { printf("\nOutput file 'image.cmp' cannot be open - MAIN");
      free(int_data); free(SIG_REAL); free(SIG_IMAG); free(CO);
      free(SI); exit(1); }
    if((fwrite(&nproj, sizeof(int), 1, cmp))!=1)
    { printf("\nWriting error at file 'image.cmp' (nproj) - MAIN");
      fclose(cmp); free(int_data); free(SIG_REAL); free(SIG_IMAG);
      free(CO); free(SI); exit(1); }
  }
}

```



```

if((fwrite(&NPT,sizeof(int),1,cmp))!=1)
{ printf("\nWritting error at file 'image.cmp' (NPT) - MAIN");
  fclose(cmp); free(int_data); free(SIG_REAL); free(SIG_IMAG);
  free(CO); free(SI); exit(1); }
if((fwrite(&conv_range,sizeof(float),1,cmp))!=1)
{ printf("\nWritting error at file 'image.cmp' (conv_range) - MAIN");
  fclose(cmp); free(int_data); free(SIG_REAL); free(SIG_IMAG);
  free(CO); free(SI); exit(1); }
if((fwrite(&norma,sizeof(float),1,cmp))!=1)
{ printf("\nWritting error at file 'image.cmp' (norma) - MAIN");
  fclose(cmp); free(int_data); free(SIG_REAL); free(SIG_IMAG);
  free(CO); free(SI); exit(1); }

/* constroi o vetor int_data e salva as transformadas no arquivo cmp */

for(i=0;i<nproj;i++)
{ sprintf(str,"c:\\image\\dat\\rmn%02d.dat",i);
  printf("\nReading %s",str);
  if((dat=fopen(str,"r"))==NULL)
  { printf("\nError openning data file '%s'",str); free(int_data);
    free(SIG_REAL); free(SIG_IMAG); free(SI); free(CO); exit(1); }
  for(j=0;j<NPT;j++)
  { fscanf(dat,"%d%d",&preal,&pimag);
    SIG_REAL[j]=(int)(norma*((float)preal));
    SIG_IMAG[j]=(int)(norma*((float)pimag)); }
  fclose(dat);
  if((fwrite(SIG_REAL,sizeof(int),NPT,cmp))!=NPT)
  { printf("\nWritting error at file 'image.cmp' (SIG_REAL) - MAIN");
    fclose(cmp); free(int_data); free(SIG_REAL); free(SIG_IMAG);
    free(CO); free(SI); exit(1); }
  if((fwrite(SIG_IMAG,sizeof(int),NPT,cmp))!=NPT)
  { printf("\nWritting error at file 'image.cmp' (SIG_IMAG) - MAIN");
    fclose(cmp); free(int_data); free(SIG_REAL); free(SIG_IMAG);
    free(CO); free(SI); exit(1); }
  ZER=0; FFT(1);
  for(j=0;j<NPT;j++)
  { aux1 = ((float)FFT_REAL[j])*((float)FFT_REAL[j]);
    aux1 = aux1 + ((float)FFT_IMAG[j])*((float)FFT_IMAG[j]);
    int_data[i*NPT+j]=(int)sqrt(aux1); } }
  free(SIG_REAL); free(SIG_IMAG); free(CO); free(SI); free(cmp); break;

case 1:

// Abre arquivo 'image.cmp'

if((cmp=fopen("c:\\image\\cmp\\image.cmp","rb"))==NULL)
{ printf("\nInput file 'image.cmp' cannot be open - MAIN"); exit(1); }

// Le cabecalho

if((fread(&nproj,sizeof(int),1,cmp))!=1)
{ printf("\nReading error at file 'image.cmp' (nproj) - MAIN");
  fclose(cmp); exit(1); }
if((fread(&NPT,sizeof(int),1,cmp))!=1)
{ printf("\nReading error at file 'image.cmp' (NPT) - MAIN");
  fclose(cmp); exit(1); }
if((fread(&conv_range,sizeof(float),1,cmp))!=1)
{ printf("\nReading error at file 'image.cmp' (conv_range) - MAIN");
  fclose(cmp); exit(1); }
if((fread(&norma,sizeof(float),1,cmp))!=1)
{ printf("\nReading error at file 'image.cmp' (norma) - MAIN");
  fclose(cmp); exit(1); }
ang=conv_range/((float)(nproj-1));

/* aloca memoria para dados */

ndata=NPT*nproj;
int_data=calloc(ndata,sizeof(int));
if(!int_data)
{ printf("\nMemory allocation error - int_data - MAIN");
  fclose(cmp); exit(1); }
SIG_REAL=calloc(NPT,sizeof(int));
if(!SIG_REAL)
{ printf("\nMemory allocation error - SIG_REAL - MAIN");
  free(int_data); fclose(cmp); exit(1); }
SIG_IMAG=calloc(NPT,sizeof(int));
if(!SIG_IMAG)
{ printf("\nMemory allocation error - SIG_IMAG - MAIN");
  free(int_data); free(SIG_REAL); fclose(cmp); exit(1); }
FFT_REAL=SIG_REAL; FFT_IMAG=SIG_IMAG;

```

```

SI = calloc(NPT/2, sizeof(double));
if(SI==NULL)
{ printf("\nMemory allocation error - SI - MAIN");
  free(int_data); free(SIG_REAL); free(SIG_IMAG);
  fclose(cmp); exit(1); }
CO = calloc(NPT/2, sizeof(double));
if(CO==NULL)
{ printf("\nMemory allocation error - CO - MAIN");
  free(int_data); free(SIG_REAL); free(SIG_IMAG); free(SI);
  fclose(cmp); exit(1); }
for(i=0; i<NPT/2; i++)
{ arg=TWOPI*i/NPT; CO[i]=cos(arg); SI[i]=sin(arg); }

// Le dados

for(i=0; i<nproj; i++)
{ if((fread(SIG_REAL, sizeof(int), NPT, cmp))!=NPT)
  { printf("\nReading error at file 'image.cmp' (SIG_REAL) - MAIN");
    free(int_data); free(SIG_REAL); free(SIG_IMAG);
    free(CO); free(SI); fclose(cmp); exit(1); }
  if((fread(SIG_IMAG, sizeof(int), NPT, cmp))!=NPT)
  { printf("\nReading error at file 'image.cmp' (SIG_IMAG) - MAIN");
    free(int_data); free(SIG_REAL); free(SIG_IMAG);
    free(CO); free(SI); fclose(cmp); exit(1); }
  ZER=0; FFT(1);
  for(j=0; j<NPT; j++)
  { aux1 = ((float)FFT_REAL[j])*((float)FFT_REAL[j]);
    aux1 = aux1 + ((float)FFT_IMAG[j])*((float)FFT_IMAG[j]);
    int_data[i*NPT+j]=(int)sqrt(aux1); }
  free(SIG_REAL); free(SIG_IMAG); free(CO); free(SI); fclose(cmp); break;
}

// Elimina linha de base

for(i=0; i<nproj; i++)
{ j=i*NPT+NPT/2; /* zero frequency */
  aux1=((float)int_data[j-3]) + 2.0*((float)int_data[j-2]) +
    2.0*((float)int_data[j+2]) + ((float)int_data[j+3]);
  int_data[j]=(int)(aux1/6.0);
  aux1=((float)int_data[j-4]) + 2.0*((float)int_data[j-3]) +
    3.0*((float)int_data[j-2]);
  int_data[j-1]=(int)(aux1/6.0);
  aux1=((float)int_data[j+4]) + 2.0*((float)int_data[j+3]) +
    3.0*((float)int_data[j+2]);
  int_data[j+1]=(int)(aux1/6.0); }

/* determina o baricentro das projecoes 0 a 180 graus */
center=0.0; k=((int)(180.0/ang))+1;
for(i=0; i<k; i++)
{ aux2=0.0; area=0.0; max=0.0;
  for(j=0; j<NPT; j++)
  if((float)int_data[i*NPT+j]>max) max=(float)int_data[i*NPT+j];
  for(j=0; j<NPT; j++)
  { aux1=((float)int_data[i*NPT+j])-max/4;
    if(aux1>0.0) { area=area+aux1; aux2=aux2+aux1*((float)j); } }
  aux2 = aux2/area; center=center+aux2; }
center=center/((float)k); icenter=((int)(center+0.5));

// Faz o deslocamento dos dados para que a projecao
// fique no centro do espectro.

for(i=0; i<nproj; i++) POINT_SHIFT(&int_data[i*NPT], NPT, (NPT/2)-icenter);

// Imprime os dados

printf("\n\nConvolution range      = %f", conv_range);
printf("\nAngle of shift          = %f", ang);
printf("\nNumber of projections      = %d", nproj);
printf("\nProjection size            = %d", NPT);
printf("\nNormalization factor      = %f", norma);
printf("\nAutomatic shift            = %d", icenter+1);

// Seleciona deslocamento e zoom

printf("\n\nAdditional shift (...-2,-1,0,1,2...) : ");
gets(str); if(strlen(str)==0) { free(int_data); exit(1); } j=atoi(str);
if((j<=(-NPT)) || (j>=NPT)) { free(int_data); exit(1); }
for(i=0; i<nproj; i++) POINT_SHIFT(&int_data[i*NPT], NPT, -j);

```

```

printf("\nZoom (1,2,4,8,16) : ");
gets(str); if(strlen(str)==0) { free(int_data); exit(1); } zoom=atoi(str);
if((zoom!=1)&&(zoom!=2)&&(zoom!=4)&&(zoom!=8)&&(zoom!=16))
{ free(int_data); exit(1); }

/* constroi o vetor float_data */

float_data=calloc(ndata/zoom,sizeof(float));
if(!float_data)
{ printf("\nMemory allocation error - float_data - MAIN");
  free(int_data); exit(1); }
for(i=0;i<nproj;i++)
{ k=0;
  for(j=(zoom-1)*NPT/(2*zoom);j<(zoom+1)*NPT/(2*zoom);j++)
  { float_data[(i*NPT/zoom)+k]=(float)int_data[i*NPT+j]; k=k+1; } }
free(int_data);

/* calcula, salva e mostra a imagem */

CONVBACK(float_data,NPT/zoom,nproj,conv_range,nx,ny); PLOT_IMAGE(0);

/* final do programa */

free(float_data); return(0); }

/* ***** */

void CONVBACK
(float *cnv_data,int hdim,int vdim,float conv_range,int nx,int ny)
{
  int i,j,k,kabs,kx,ky,rad_int;
  float minv,c2,*phi,pin,sinpinh,wstpr,wstpi,cosjpin,sinjpin;
  float delta_x,delta_y,aux_1,aux_2,aux_3,cosdeloa,sendeloa;
  float rad_x,rad_y,delta_rad,zmax,*conv,*out_array,tempr;
  unsigned int n;
  FILE *pac;
  unsigned char *z;

  // Esta subrotina processa a convolucao das projecoes com a funcao
  // filtro de Sheep & Logan PHI e faz a retro-projecao e acumulacao
  // sobre uma matriz retangular.

  // original em FORTRAN por Alberto Tannus
  // Sao Carlos, outubro-1985
  // versao em C por Claudio Jose Magon e Clovis I. Biscegli
  // Sao Carlos, setembro-1993

  // Alocacao de memoria
  phi=calloc(hdim,sizeof(float));
  if(!phi)
  { printf("\nMemory allocation error - phi - CONVBACK"); return; }
  conv=calloc(hdim,sizeof(float));
  if(!conv)
  { printf("\nMemory allocation error - conv - CONVBACK");
    free(phi); return; }
  out_array=calloc(nx*ny,sizeof(float));
  if(out_array==NULL)
  { printf("\nMemory allocation error - out_array - CONVBACK");
    free(phi); free(conv); return; }
  phi=phi-1; conv=conv-1; out_array=out_array-1; cnv_data=cnv_data-1;

  // Inicializacao

  minv=2.0/(float)hdim; c2=-1.0/(2.0*PI*minv*(float)vdim);
  phi[1]=2.0/(PI*minv*(float)vdim);
  pin=conv_range*PI/(180.0*(float)vdim); sinpinh=sin(pin/2.0);
  wstpr=-2.0*sinpinh*sinpinh; wstpi=sin(pin); cosjpin=1.0; sinjpin=0.0;
  delta_x=((float)hdim)*0.99/(float)nx; delta_y=((float)hdim)*0.99/(float)ny;
  aux_1=(float)(-nx/2-1); aux_2=(float)(-ny/2); aux_3=(float)(hdim/2);
  for(n=1;n<=((nx*ny);n++) out_array[n]=0.0;

  // Geracao da funcao S&L PHI

  for(k=1;k<=hdim-1;k++) phi[k+1]=c2/(((float)k)*((float)k)-0.25);

  // Processo de convolucao

  for(i=0;i<=((vdim-1)*hdim;i=i+hdim)
  { printf("\nProjecao : %d",(i/hdim)+1);

```

```

for(j=1;j<=hdim;j++)
{ conv[j]=0.0;
  for(k=1;k<=hdim;k++)
  { kabs=abs(j-k)+1;
    conv[j]=conv[j]+cnv_data[i+k]*phi[kabs]; } }

// Processo de retro-projecao

cosdeloa=cosjpin*delta_x; sendeloa=sinjpin*delta_y;
rad_y=aux_1*cosdeloa+aux_2*sendeloa+aux_3;
for(ky=1;ky<=ny;ky++)
{ rad_y=rad_y+sendeloa; rad_x=rad_y;
  for(kx=1;kx<=nx;kx++)
  { n=(ky-1)*nx+kx;
    rad_x=rad_x+cosdeloa; rad_int=(int)rad_x;
    if((rad_int>0)&&(rad_int<hdim))
    { delta_rad=rad_x-(float)rad_int;
      out_array[n]=out_array[n]+(1.0-delta_rad)*conv[rad_int]+
        delta_rad*conv[rad_int+1]; } } }
tempr=cosjpin; cosjpin=tempr+tempr*wstpr-sinjpin*wstpi;
sinjpin=sinjpin+sinjpin*wstpr+tempr*wstpi; }

// gerar saida (formato *.pac)

phi=phi+1; conv=conv+1; free(phi); free(conv);

if((pac=fopen("c:\\image\\pac\\image.pac","wb"))==NULL)
{ printf("\nOutput file 'image.pac' cannot be open - CONVBACK");
  out_array=out_array+1; free(out_array); return; }

nx=nx-1; ny=ny-1;
if((fwrite(&nx,sizeof(int),1,pac))!=1)
{ printf("\nWritting error at file 'image.pac' (nx) - CONVBACK");
  free(out_array); fclose(pac); return; }
if((fwrite(&ny,sizeof(int),1,pac))!=1)
{ printf("\nWritting error at file 'image.pac' (ny) - CONVBACK");
  free(out_array); fclose(pac); return; }
nx=nx+1; ny=ny+1;

z=(unsigned char *) out_array;

zmax=0.0;
for(ky=1;ky<=ny;ky++)
{ for(kx=1;kx<=nx;kx++)
  { n=(ky-1)*nx+kx;
    if(out_array[n]<0.0) out_array[n]=0.0;
    else if(out_array[n]>zmax) zmax=out_array[n]; } }
for(ky=1;ky<=ny;ky++)
{ for(kx=1;kx<=nx;kx++)
  { n=(ky-1)*nx+kx; tempr=out_array[n]*255.0/zmax;
    z[n]=(unsigned char)tempr; } }

if((fwrite(z,sizeof(unsigned char),nx*ny,pac))!=nx*ny)
{ printf("\nWritting error at file 'image.pac' (z) - CONVBACK"); }

fclose(pac); out_array=out_array+1; free(out_array); return; }

/* ***** */

void FFT (int n)          // n >= 0 : fft direta (SIG -> FFT)
{ double co,si;          // n < 0 : fft inversa (FFT -> SIG)

  int *parte_real, *parte_imag;
  int i,ir,j,k,kdim2,l2dim,l2dim1,dim2,tmpi,shift;

  // Faz a transformada rapida direta (SIG -> FFT) se n>=0.
  // Faz a transformada rapida inversa (FFT -> SIG) se n<0.
  // Variaveis externas :
  // NPT      : numero de pontos (int)
  // SIG_REAL : ponteiro (int*) da parte real do sinal
  // SIG_IMAG : ponteiro (int*) da parte imaginaria do sinal
  // FFT_REAL : ponteiro (int*) da parte real da transformada
  // FFT_IMAG : ponteiro (int*) da parte imaginaria da transformada
  // ZER      : zero do sinal a ser tranformado (0,1,2...NPT-1)
  // CO       : ponteiro (double *) da tabela de cosenos.
  // SI       : ponteiro (double *) da tabela de senos.
  // Observacao:
  // SIG_REAL e FFT_REAL podem apontar para o mesmo endereco, assim
  // como SIG_IMAG e FFT_IMAG.

```

```

if(n>=0)
{ shift=1; parte_real=FFT_REAL; parte_imag=FFT_IMAG; // direta
  for(i=0;i<NPT;i++)
  { parte_real[i]=SIG_REAL[i]; parte_imag[i]=SIG_IMAG[i]; }
  POINT_SHIFT(parte_real,NPT,NPT-ZER);
  POINT_SHIFT(parte_imag,NPT,NPT-ZER); }

if(n<0)
{ shift=0; parte_real=SIG_REAL; parte_imag=SIG_IMAG; // inversa
  for(i=0;i<NPT;i++) /* inverte o sinal */
  { parte_real[i]=FFT_REAL[NPT-i-1]; parte_imag[i]=FFT_IMAG[NPT-i-1]; }
  POINT_SHIFT(parte_real,NPT,NPT/2+1);
  POINT_SHIFT(parte_imag,NPT,NPT/2+1); }

dim2=NPT; l2dim=l2dim1=LOG2(NPT); // fft
for(j=0;j<l2dim;j++)
{ l2dim1--; dim2 >= 1; ir=k=0;
  do
  { co=CO[ir]; si=SI[ir];
    for(i=0;i<dim2;i++,k++)
    { kdim2=k+dim2;
      tmpr=(int) ( ((float)parte_real[kdim2])*co
        + ((float)parte_imag[kdim2])*si );
      tmpi=(int) ( ((float)parte_imag[kdim2])*co
        - ((float)parte_real[kdim2])*si );
      parte_real[kdim2]=(parte_real[k]-tmpr) >> shift;
      parte_imag[kdim2]=(parte_imag[k]-tmpi) >> shift;
      parte_real[k]      =(parte_real[k]+tmpr) >> shift;
      parte_imag[k]      =(parte_imag[k]+tmpi) >> shift; }
      k += dim2; ir=BITREV(k>>l2dim1,l2dim); }
    while(k<NPT); }
  for(i=0;i<NPT;i++)
  if((ir=BITREV(i,l2dim))>i)
  { CHGDATA(&parte_real[i],&parte_real[ir]);
    CHGDATA(&parte_imag[i],&parte_imag[ir]); }

if(n>=0)
{ POINT_SHIFT(parte_real,NPT,NPT/2); POINT_SHIFT(parte_imag,NPT,NPT/2); }
if(n<0)
{ POINT_SHIFT(parte_real,NPT,ZER); POINT_SHIFT(parte_imag,NPT,ZER); }
return;
}

/* ***** */

void CHGDATA (int *pr,int *pi)
{ int tmp;

  tmp=*pr; *pr=*pi; *pi=tmp; }

/* ***** */

int BITREV (int j,int nu)
{ int bitrv,i,j1;

  for(bitrv=i=0;i<nu;i++)
  { j1=j >> 1; bitrv <= 1; bitrv += j - ( j1 << 1 ); j = j1; }
  return(bitrv); }

/* ***** */

int LOG2 (int val)
{ int ct=0;

  while(!(val&1)) { val >>= 1; ct++; } return(ct); }

/* ***** */

void POINT_SHIFT(int *data,int ndata,int n)
{ unsigned int k;
  int i,j,r1,r2;

  // Esta funcao faz uma rotacao ciclica do vetor data, de ndata elementos,
  // de n enderecos para a direita (se 0<n<ndata) ou de n enderecos para
  // a esquerda (se -ndata<n<0). A rotacao e' feita "in place".
  // Observacao: em fft esta funcao e' utilizada para fazer o folding.
  // Folding e' o mesmo que fazer um deslocamento de (ndata-n) pontos para
  // a direita, onde n (0,1,2...ndata-1) e' o centro do folding.

  if((n<=-ndata)|| (n>=ndata)|| (n==0)) return; if(n<0) n=ndata+n;

```

```

if(n%2!=0)
{ r1=data[0];
  for(i=1;i<=ndata;i++)
  { k=i*n; j=k%ndata; r2=data[j]; data[j]=r1; r1=r2; } }
else
{ n=n-1; r1=data[0];
  for(i=1;i<=ndata;i++)
  { k=i*n; j=k%ndata; r2=data[j]; data[j]=r1; r1=r2; }
  n=1; r1=data[0];
  for(i=1;i<=ndata;i++)
  { k=i*n; j=k%ndata; r2=data[j]; data[j]=r1; r1=r2; } }
return; }

/* ***** */

void PLOT_IMAGE(int enh) /* enh=1 -> image enhancement */
{ int gdriver=VGA,gmode=VGAHI,errorcode; /* 640x480-16 cores-1 pagina */
  char str[80];
  FILE *pac;
  struct palettetype pal;
  int i,j,x,y,x1,x2,y1,y2,scale,nx,ny,cor;
  unsigned char *z;

  if((pac=fopen("c:\\image\\pac\\image.pac","rb"))==NULL)
  { printf("\nFile 'image.pac' cannot be open - PLOT_IMAGE"); return; }

  if((fread(&nx,sizeof(int),1,pac))!=1)
  { printf("\nReading error at 'image.pac' (nx) - PLOT_IMAGE");
    fclose(pac); return; }
  if((fread(&ny,sizeof(int),1,pac))!=1)
  { printf("\nReading error at 'image.pac' (ny) - PLOT_IMAGE");
    fclose(pac); return; }
  nx=nx+1; ny=ny+1;

  z=malloc(nx*ny*sizeof(unsigned char));
  if(!z)
  { printf("\nMemory allocation error (z) - PLOT_IMAGE");
    fclose(pac); return; }
  if((fread(z,sizeof(unsigned char),nx*ny,pac))!=nx*ny)
  { printf("\nReading error at 'image.pac' (z) - PLOT_IMAGE");
    free(z); fclose(pac); return; }
  fclose(pac);

  initgraph(&gdriver,&gmode,""); errorcode = graphresult();
  if(errorcode!=0)
  { strcpy(str,"Graphics error (main): ");
    strcat(str,grapherrormsg(errorcode));
    printf("\n%s",str); free(z); return; }

  scale=3; /* no. of pixels / point */
  x1=getmaxx()/2-scale*nx/2; x2=getmaxx()/2+scale*nx/2;
  y1=getmaxy()/2-scale*ny/2; y2=getmaxy()/2+scale*ny/2;
  setlinestyle(SOLID_LINE,0,THICK_WIDTH); setcolor(WHITE);
  rectangle(x1-scale,y1-scale,x2+scale,y2+scale); settextstyle(0,0,1);
  sprintf(str,"hor : %d          vert : %d          pixel : %d          levels : 16",
          nx,ny,scale);
  outtextxy(10,10,str);
  outtextxy(10,getmaxy()-10,"Press any key to quit");

  getpalette(&pal);
  for(i=0;i<pal.size;i++)
  { if(enh==0) j=(int)(4.2*((float)i));
    else      j=(int)(0.28*((float)i)*((float)i));
    setrgbpalette(pal.colors[i],j,j,j); }

  setcolor(pal.size-1);
  for(i=0;i<pal.size;i++)
  { sprintf(str,"%02d",i+1); outtextxy(x2+80,116+16*i,str);
    setfillstyle(SOLID_FILL,i);
    bar(x2+8,112+16*i,x2+72,128+16*i); }

  for(i=0;i<ny;i++)
  { for(j=0;j<nx;j++)
    { cor=(int) ( 15.0*((float)z[i*nx+j]) / 255.0);
      if(cor>0)
      { x=x1+scale*i; y=y1+scale*j;
        setfillstyle(SOLID_FILL,cor); bar(x,y,x+scale-1,y+scale-1); } } }

  getch(); closegraph(); free(z); return; }

```

/ * *

A P Ê N D I C E I I I

ESQUEMA ELETRÔNICO DO SISTEMA DE AQUISIÇÃO.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. OVERHAUSER, A.W. - **Phys. Rev.**, **92**, 411, (1953).
2. CARVER, T.R. & SLICHTER, C. - **Phys. Rev.**, **102**, 975-980, (1956).
3. LURIE, D.J.; BUSSELL, D.M.; BELL, L.H. & MALLARD, J.R. - **J. Magn. Reson.**, **76**, 366-370, (1988).
4. LURIE, D.J.; HUTCHISON, J.M.S.; BELL, L.H.; NICHOLSON, I.; BUSSELL, D.M. & MALLARD, J.R. - **J. Magn. Reson.**, **84**, 431-437, (1989).
5. LURIE, D.J.; NICHOLSON, I.; FOSTER, M.A. & MALLARD, J.R. - **Phil. Trans. R. Soc. Lond.**, **A333**, 453-456, (1990).
6. LURIE, D.J.; MCLAY, J.; NICHOLSON, I. & MALLARD, J.R. - **J. Magn. Reson.**, **95**, 191-195, (1991).
7. LURIE, D.J.; NICHOLSON, I. & MALLARD, J.R. - **J. Magn. Reson.**, **94**, 405-409, (1991).
8. LURIE, D.J. & NICHOLSON, I. - Proton-electron double resonance imaging of exogenous and endogenous free radicals in-vivo. In: INTERNATIONAL SCHOOL OF PHYSICS ENRICO FERMI, 123, Varenna, Italy, 13-21 Oct. 1992. **Nuclear magnetic double resonance**. Varenna, 1992.
9. GRUCKER, D. - **Magn. Reson. Med.**, **14**, 140-147, (1990).
10. SINGEL, D.J.; SEIDEL, H.; KENDRICK, R.D. & YANNONI, C.S. - **J. Magn. Reson.**, **81**, 145-161, (1989).
11. CARRINGTON, A. & MCLACHLAN, A.D. - **Introduction to magnetic resonance: with applications to chemistry and chemical physics**. New York, Harper & Row, 1969.
12. SLICHTER, C.P. - **Principles of magnetic resonance**. 3.ed. Berlin, Springer-Verlag, 1990.
13. MÜLLER-WARMUTH, W. & MEISE-GRESCH, K. - **Adv. Magn. Reson.**, **2**, 1-45, (1983).
14. CRESTANA, S.; NIELSEN, D.R.; ORHUN, A. & BIGGAR, J.W. -X- and gama-ray, NMR and ultrasonic tomography: its capabilities and limitations for studying soil-water-plant related physical processes. In: WANTO COMPUTERIZED WORKSHOP, 2, Livermore-CA, USA, 1989. **Proceedings...** Livermore, Lawrence Livermore National Laboratory, 1989. p.32-33. (invited paper).
15. CRESTANA, S. & NIELSEN, D.R. - Investigações não-destrutivas de sistemas porosos multifásicos através de microtomografia de raios-x, gama e ressonância magnética nuclear (RMN). In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE MEIOS POROSOS, 18, Nova Friburgo-RJ, 23-25 out. 1990. **Anais...** Nova Friburgo, Colégio Anchieta, 1990. v.2, p.699-710.
16. CRESTANA, S. & NIELSEN, D.R. - **New instrumentation for measuring water and solute transport within the soil**. Riverside, University of California-Water Resources Center, 1990. 12p. (University of California. Water Resources Center. Report W-745).

17. CRESTANA, S.; BROWN, J.M. & NIELSEN, D.R. - Magnetic resonance imaging as a new opportunity for investigating freezing-thawing processes occurring in soil samples. In: New analytical methods for quantifying root and soil dynamics: a multidisciplinary conference, St. Louis-Miss., Aug. 13-15, 1990.
18. CRESTANA, S. & NIELSEN, D.R. - Possibilidades e limitações do emprego de tomografia por ressonância magnética nuclear (RMN) em investigações de sistemas particulados. In: ENCONTRO DE USUÁRIOS DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR, 3, Búzios-RJ, maio 1991. **Resumos...** Rio de Janeiro, AUREMN, 1991. p.37.
19. CRESTANA, S.; POSADAS, A.D. & NIELSEN, D.R. - Estudos da cinética de transição de fase da água através de microimagens de RMN. In: ENCONTRO DE USUÁRIOS DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR, 3, Búzios-RJ, maio 1991. **Anais...** Rio de Janeiro, AUREMN, 1991. p.377-382.
20. CRESTANA, S. - **Uso de imagens em física de solos: alguns resultados e perspectivas.** Trabalho apresentado na II ESCUELA LATINOAMERICANA DE FÍSICA DE SUELOS, Buenos Aires-Argentina, 16-27 mar. 1992.
21. CRESTANA, S. - Noninvasive measurements. In: SPOSITO, G. & REGINATO, R.J. ed. **Opportunities in basic soil science research.** Madison, Soil Science Society of America, 1992. p.83-85.
22. POSADAS DURAND, A.; TANNUS, A.; PANEPUCCI, H.C. & CRESTANA, S. - Magnetic resonance microscopy as a non-invasive technique for investigating 3-D preferential flow occurring within stratified soil samples. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON MAGNETIC RESONANCE MICROSCOPY (The Heidelberg Conference), 2, Heidelberg-Germany, Sept. 6-9, 1993. **Program...** Heidelberg, Leitz, 1993. p.139.
23. CRESTANA, S.; POSADAS DURAND, A.; NIELSEN, D.R.; KAUTEN, R. & BROWN, J.M. - One-dimensional heat flow model describing freezing-thawing processes occurring in a sand column validated by magnetic resonance imaging measurements. In: KELLEHER, M.D.; SHAH, R.K.; SREENIVASAN, K.R. & JOSHI, Y. ed. **Experimental heat transfer, fluid mechanics and thermodynamics 1993: proceedings of the Third World Conference on Experimental Heat Transfer, Fluid Mechanics and Thermodynamics**, Honolulu, Hawaii-USA, 31 Oct.-5 Nov. 1993. Amsterdam, Elsevier, 1993. v.2, p.1660-1665.
24. POSADAS DURAND, A.; TANNUS, A.; PANEPUCCI, H.C. & CRESTANA, S. - Aplicação de imagens por tomografia de RMN em raio X na caracterização do fenômeno "fingering" em um meio poroso. In: ENCONTRO NACIONAL DE FÍSICA DA MATÉRIA CONDENSADA, 16, Caxambú-MG, 18-22 maio 1993. **Programa e resumos...** São Paulo, Sociedade Brasileira de Física, 1993. p.283.
25. POSADAS DURAND, A.; TANNUS, A.; PANEPUCCI, H.C. & CRESTANA, S. - Estudo tridimensional do fenômeno "fingering" em solos através de imagens de RMN e Raios-X. In: ENCONTRO DE USUÁRIOS DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR, 5, Angra dos Reis-RJ, 11-15 maio 1993. **Resumos...** Rio de Janeiro, AUREMN, 1993. p.105.

26. CRESTANA, S.; KAUTEN, R. & NIELSEN, D.R. - In-vivo magnetic resonance microscopy for non-destructively investigating plants, fruits, vegetables and small animals. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON MAGNETIC RESONANCE MICROSCOPY (The Heidelberg Conference), 2, Heidelberg-Germany, Sep. 6-9, 1993. **Program...** Heidelberg, Leitz, 1993.
27. POSADAS DURAND, A.; TANNUS, A.; PANEPUCCI, H.C. & CRESTANA, S. - Estudo tridimensional do fenômeno "fingering" em solos através de imagens de RMN e raios-x. In: ENCONTRO DE USUÁRIOS DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR, 4, Búzios-RJ, 1992. **Resumos...** Rio de Janeiro, AUREMN, 1992. p.105.
28. TORRE NETO, A. - **Projeto e construção de um digitalizador e promediador de dois canais para tomografia por ressonância magnética nuclear.** São Carlos, USP-IFQSC. Depto. de Física e Ciências dos Materiais, 1988. Dissertação de Mestrado.
29. MARTINS, M.J. - **Projeto de um microcomputador de 8 bits para aplicações em pesquisa e ensino.** São Carlos, USP-IFQSC. Depto. de Física e Ciência dos Materiais, 1990. Dissertação de Mestrado.
30. TANNUS, A. - **Desenvolvimento da tecnologia de tomografia por ressonância magnética nuclear-TORM.** São Carlos, USP-IFQSC. Depto. de Física e Ciências dos Materiais, 1987. Tese de Doutorado.
31. BONAGAMBA, T.J. - **Espectroscopia de alta resolução em sólidos por ressonância magnética nuclear.** São Carlos, USP-IFQSC. Depto. de Física e Ciência dos Materiais, 1991. Tese de Doutorado.
32. FRARE JUNIOR, P.L. - **Seleção de múltiplos planos em tomografia por ressonância magnética nuclear.** São Carlos, USP-IFQSC. Depto. de Física e Ciência dos Materiais, 1990. Dissertação de Mestrado.
33. MUNIZ, B.A.T. - **Ensaio de aceitação para avaliação da performance de tomógrafos de ressonância magnética nuclear.** Ribeirão Preto, USP-FFCL, 1993. Dissertação de Mestrado.
34. BECKMANN, N. - **Geração de imagens por ressonância magnética nuclear.** São Carlos, USP-IFQSC, 1986. Dissertação de Mestrado.
35. BISCEGLI, C.I. - **Construção de um espectrômetro de ressonância magnética nuclear (RMN) de banda larga: duas aplicações tecnológicas dessa técnica.** São Carlos, USP-IFQSC, 1977. Dissertação de Mestrado.
36. MAGON, C.J. - **Ressonância paramagnética: teoria da medida. Relaxação eletrônica do hidrogênio atômico intersticial em CaF_2 : evidência da difusão espectral.** São Carlos, USP-IFQSC. Depto. de Física e Ciências dos Materiais, 1979. Dissertação de Mestrado.
37. MENDONÇA FILHO, C. - **Espectrômetro de endor de faixa larga.** São Carlos, USP-IFQSC. Depto. de Física e Ciência dos Materiais, 1973. Dissertação de Mestrado.

38. SOUZA, P.H. - **Ressonância paramagnética eletrônica em ferritas de cálcio e nióbio: $\text{Ca}_2\text{Fe}_{2-x}\text{Nb}_x\text{O}_{5+x}$** São Carlos, USP-IFQSC.Depto. de Física e Ciência dos Materiais, 1992. Dissertação de Mestrado.
39. SOUZA, R.R. de. - **Susceptômetro para medidas automáticas da susceptibilidade magnética AC.** São Carlos, USP-IFQSC.Depto. de Física e Ciência dos Materiais, 1992. Dissertação de Mestrado.
40. PAGNANO, M.A. de O. - **Automação de um espectrômetro por ressonância magnética nuclear pulsada.** São Carlos, USP-IFQSC.Depto. de Física e Ciência dos Materiais, 1993. Dissertação de Mestrado.
41. BISCEGLI, C.I.; COLNAGO, L.A. & PANEPUCCI, H.A. - Cavidade de RPE de frequência e acoplamento ajustáveis. In: ENCONTRO DE USUÁRIOS DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR, 3, Búzios-RJ, 14-18 maio 1991. **Anais...** (Rio de Janeiro), AUREMN, 1991. p.281-286.
42. BISCEGLI, C.I.; COLNAGO, L.A. & PANEPUCCI, H.A. - Cavidade de RPE de frequência e acoplamento ajustáveis. In: ENCONTRO DE USUÁRIOS DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR, 3, Búzios-RJ, 14-18 maio 1991. **Resumos...** (Rio de Janeiro), AUREMN, 1991. p.13
43. BISCEGLI, C.I.; COLNAGO, L.A. & MAGON, C.J. - Construção de um cabeçote para transferência de polarização elétron-núcleo (Efeito Overhauser). In: ENCONTRO NACIONAL DE FÍSICA DA MATÉRIA CONDENSADA, 16, Caxambú-MG, 18-22 maio 1993. **Programa e resumos...** São Paulo, SBF, 1993. p.286.
44. BISCEGLI, C.I.; COLNAGO, L.A. & PANEPUCCI, H.A. - Construção de um cabeçote para DNP. In: ENCONTRO DE USUÁRIOS DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR, 3, Búzios-RJ, 14-18 maio 1991. **Resumos...** (Rio de Janeiro), AUREMN, 1991. p.15.
45. TORRE NETO, A. & COLNAGO, L.A. - Cartão de aquisição de dados RMN. In: ENCONTRO DE USUÁRIOS DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR, 3, Búzios-RJ, 1991. **Anais...** Rio de Janeiro, AUREMN, 1991. p.197-307.
46. MANSFIELD, P.L. & MORRIS, P.G. - **NMR imaging in biomedicine.** Orlando, Academic Press, 1982. (Advances in Magnetic Resonance, 2).
47. ABRAGAM, A. - **The principles of nuclear magnetism.** Oxford, Clarendon, 1983.
48. BOTTOMLEY, P.A. - **Rev. Sci. Instr.**, 53, (9), 1319-1337, Sep. (1982).
49. CHO, Z.H.; NALCIOGLUT, O.; JEONG, J.C. & SONG, H.B. - Direct Fourier reconstruction techniques in NMR tomography. In: SELECTED topics in image science. Berlin, Springer-Verlag, 1984. p.128-149.
50. CHO, Z.H.; KIM, H.S.; OH, C.H.; PARK, H.W. & LEE, S.W. - NMR imaging: principles, algorithms and systems. In: SELECTED topics in image science. Berlin, Springer-Verlag, 1984. p.96-127.

51. PANEPUCCI, H.; DONOSO, J.P.; TANNUS, A.; BECKMAN, N. & BONAGAMBA, T. - **Ci. Hoje**, 4, (20), 46-50, (1985).
52. FUKUSHIMA, E. & ROEDER, S.B.W. - **Experimental pulse NMR: a nuts and bolts approach**. Reading, Addison-Wesley, 1981.
53. REITZ, J.R.; MILFORD, F.J. & CHRISTY, R.W. - **Fundamentos da teoria eletromagnética**. Rio de Janeiro, Campus, 1982.
54. POOLE JR., C.P. - **Electron spin ressonance: a comprehensive treatise on experimental techniques**. New York, Interscience, 1967.
55. JOHNSON, W.C. - **Linhas de transmissão e circuitos**. Rio de Janeiro, Guanabara, 1980.
56. HOULT, D.I. & RICHARDS, R.E. - **J. Magn. Reson.**, 24, 71-85, (1976).
57. SARTORI, J.C. - **Construção de um sistema para ressonância paramagnética eletrônica em baixa frequência: banda L e banda S**. São Carlos, USP-IFQSC. Depto. de Física e Ciência dos Materiais, 1990. Tese de Doutorado.
58. CARACELLI, I. - **Propriedades dosimétricas dos ossos**. São Carlos, USP-IFQSC. Depto. de Física e Ciências dos Materiais, 1982. Dissertação de Mestrado.
59. SINGER, L.S. - **J. Appl. Phys.**, 30, 1463, (1959).
60. PAKE, G.E. & ESTLE, T.L. - **The physical principles of electron paramagnetic resonance**. 2.ed. Reading, W.A. Benjamin, 1973.
61. WERTZ, J.E. & BOLTON, J.R. - **Electron spin resonance: elementary theory and practical applications**. New York, McGraw-Hill, 1972.
62. SYMON, K.R. - **Mechanics**. 3.ed. Reading, Addison-Wesley, 1972.
63. DWEK, R.A.; RICHARDS, R.E. & TAYLOR, D. - **Annu. Rev. NMR Spectros.**, 2, 293, (1969).
64. BROOKS, R.A.; DI CHIRO, G. - **Phys. Med. Biol.**, 21, (5), 689-732, (1976).