UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE FÍSICA DE SÃO CARLOS

ANTONIO MARCHI NETTO

ANÁLISE DA INFLUÊNCIA DOS PARÂMETROS ESPECTRAIS DA
RMN-CWFP EM MEDIDAS QUANTITATIVAS EM FLUXO

SÃO CARLOS

2009

Antonio Marchi Netto

***ANÁLISE DA INFLUÊNCIA DOS PARÂMETROS ESPECTRAIS DA RMN-CWFP EM
MEDIDAS QUANTITATIVAS EM FLUXO***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Física do Instituto de Física de São Carlos da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Física Aplicada
Orientador: Prof. Dr. Luiz Alberto Colnago

São Carlos

2009

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Ficha catalográfica elaborada pelo Serviço de Biblioteca e Informação IFSC/USP

Marchi Netto, Antonio.

Análise da influência dos parâmetros espectrais da RMN-CWFP em medidas quantitativas em fluxo./ Antonio Marchi Netto; orientador Luiz Alberto Colnago.-- São Carlos, 2009.

111 p.

Dissertação (Mestrado em Ciência - Área de concentração: Física Aplicada – Instituto de Física de São Carlos da Universidade de São Paulo.

1. RMN em fluxo. 2. CWFP. 3. Sementes oleaginosas. 4. Plug-flow.
I.Título.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Antonio Marchi Netto

Dissertação apresentada ao Instituto de Física de São Carlos da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências. Área de Concentração: Física Aplicada.

Aprovado em: 17/09/2009

Comissão Julgadora

Prof. Dr. Luiz Alberto Colnago

Instituição: EMBRAPA

Assinatura

Prof. Dr. José Daniel Figueroa Villar

Instituição: IME

Assinatura

Prof. Dr. Tito José Bonagamba

Instituição: IFSC/USP

Assinatura

Dedicatória

A minha mãe Valderez, meu pai Waldecir, minhas irmãs Viviani e Vanessa pela confiança, pela presença e pelo imenso apoio, foram essenciais.

Ao meu amigo e orientador, Dr. Luiz Alberto Colnago, pelo estímulo, confiança e apoio, não só para esse trabalho, mas para a continuidade da minha vida, foi fundamental.

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Colnago, pelo extremo incentivo, apoio, amizade e confiança prestada desde sempre.

Aos meus amigos de grupo pelo carinho com que fui recebido, pelas horas de brincadeira durante o serviço, Poliana, Fabiana, Allan, Luíza, Paulo, Lúcio, Gabriela, Cátia, Fayene, Mateus, Roberta, Giovani, Lucimar, Maiara, Cabeça, Lucinéia (obrigado por contribuir nessa escrita) e vou destacar o árduo trabalho prestado pelo Thiago, que na maioria das vezes foram às mãos que dominavam a esteira.

Aos funcionários e demais estagiários da EMBRAPA Instrumentação Agropecuária, por tornar tudo factível.

Aos amigos que me acompanham desde primórdios da graduação, Zé Maria, Bonelli, Tsutaaaaae e também Narizinho (em outras palavras, respectivamente Sebastião, Anderson, Fernando e Gustavo), um muito obrigado por todo auxílio, convívio e amizade, vocês fazem parte da minha formação.

Ao Instituto de Física de São Carlos, CG, CPG, biblioteca, professores, entre vários, pelo altíssimo nível da graduação e pós-graduação prestadas.

Aos amigos que sempre estão comigo, Natália, Allam, Bárbara, Vítor, Madruga, entre muitos.

À toda a turminha Choc Center.

Aos meus avôs e avós, em memória.

Aos meus tios e tias que sempre acreditaram em mim.

Ao glorioso DFC que sempre me empolga: Neto, Alexandre e Bonani. *“Anywhere, anyway, we are the D.F.C. (20/02/2009)”*

A Elaine, pelas maravilhosas horas que passamos junto, pelo carinho e pela presença nessa reta final de trabalho.

A meu pai, pela companhia todas as noites, a minha irmã Vanessa pela confiança, a minha irmã Viviani pela forte amizade e carinho, a minha mãe pelo amor, afeto, auxílio, confiança e principalmente por serem as principais pessoas a aturar meu humor em dias bons, mas também em dias maus.

A FAPESP pela aprovação do processo 2007/06119-9.

Ich kann echt immer auf sie zählen.

"O estudo, a busca da verdade e da beleza são domínios em que nos é consentido sermos
crianças por toda a vida."

Albert Einstein

RESUMO

A seqüência de pulsos RMN-CWFP (Ressonância Magnética Nuclear – Precessão Livre de Onda Contínua) tem encontrado diversas aplicações na ciência. O presente trabalho analisa a grande sensibilidade dessa seqüência em relação a variações de seus parâmetros espectrais, exclusivamente em uma caracterização teórico-experimental da RMN-CWFP em fluxos do tipo *plug-flow*, exemplificados por medidas online através do transporte de sementes por uma esteira sob um campo magnético constante no tempo. Foram feitas simulações e medições em várias condições, variando os fatores que influenciam as medidas, como ângulo de nutação (α), ângulo de offset (ψ), tempo entre pulsos (T_p), gradiente (G), velocidade (v) e tempos de relaxação longitudinal (T_1) e transversal (T_2). Em determinadas condições fixas de ângulo de nutação, precessão, tempo entre pulsos, gradiente e velocidade, foi observado que poderia existir um ponto nulo com dependência entre T_1 e T_2 . Esse fenômeno foi estudado e algumas aplicações foram sugeridas. O trabalho também validou a seqüência de pulsos CWFP em fluxo como ferramenta para análises quantitativas da massa de óleo em sementes.

Palavras-chave: RMN em fluxo. CWFP. Sementes oleaginosas. *Plug-flow*.

ABSTRACT

The NMR-CWFP pulse sequence (Nuclear Magnetic Resonance – Continuous Wave Free Precession) has met several applications in the science. The present work analyses the high sensibility of this sequence to its spectral parameters variation, exclusively in a theoretical and experimental characterization of the flow NMR-CWFP of the kind *plug-flow*, exemplified by online measures by seeds transport through a mat under a magnetic field constant in time. Simulations and measurements were made on several conditions, varying the factors that have measurement influence, like flip angle (α), offset angle (ψ), time between pulses (T_p), gradient (G), velocity (v) and longitudinal and transversal relaxation times (T_1 and T_2). Under certain conditions of flip angle, precession, time between pulses, gradient and velocity, it was noticed that there might be a null point with T_1 and T_2 dependence. This phenomenon was studied and some applications have been suggested. The work has also validated the CWFP pulse sequence as a quantitative tool to quantitative analysis of seeds oil mass.

Keywords: Flow NMR. CWFP. Oilseeds. Plug flow.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Variação dos tempos de relaxação (T_1 e T_2) com o tempo de correlação (τ_c) (7)	28
Figura 2 -	Componentes da magnetização $\mathbf{x}$ (em cinza), $\mathbf{y}$ (em preto), no plano xy (em verde), no eixo z (em azul) e seu módulo total (em vermelho), num tempo até $5T_1$	33
Figura 3 -	Representação dos pulsos da seqüência Inversão-Recuperação (IR).....	34
Figura 4 -	Representação dos pulsos da seqüência CPMG	35
Figura 5 -	Montagem experimental descrita por Grover e Singer para medidas Spin Echo em fluxo (13)	38
Figura 6 -	Seqüência de pulsos do estado estacionário (SSFP).....	41
Figura 7 -	Seqüência de pulsos para o Eco de Hahn (19)	42
Figura 8 -	Modelo vetorial de Hahn para o fenômeno Eco de dois pulsos de 90° , também conhecido por <i>Eco de Hahn</i> (19)	42
Figura 9 -	Magnetização de ^1H em um trem de pulsos de 90° (22)	43
Figura 10 -	Resultados simulados por Freeman e Hill para diversas não homogeneidades de campo magnético estático. Note o estado de onda contínua no primeiro espectro superior (21)	45
Figura 11 -	Simulações de estado estacionário para diferentes períodos de pulso (25)	47
Figura 12 -	Dependência CWFP entre a amplitude do sinal sobre o ângulo de offset ψ para diversos pulsos de rotação α obtidos para óleo vegetal ($T_1=0.071\text{s}$ e $T_2=0.038\text{s}$, (a) experimental e (b) teórico) (30)	48
Figura 13 -	Magnetização medida e calculada para água em fluxo laminar num tubo de raio $\alpha=0.4\text{cm}$ como função da velocidade para offset $\psi=5\pi$, representado por bolas, e $23\pi/4$, representado por triângulos. As linhas contínuas são os resultados teóricos calculados para fase ϕ menor que zero e gradiente $G=0.097\text{G/cm}$ 36)	52
Figura 14 -	Montagem experimental utilizada por Colnago e colaboradores para análise de sementes em fluxo (2)	53
Figura 15 -	Sinais de CWFP obtidos por análises de RMN em fluxo para fragmentos de noz macadâmia (2)	53
Figura 16 -	Comparação entre a amplitude CWFP e a quantidade de óleo presente na amostra (2)	54

Figura 17 -	(a) Esteira em funcionamento no imã de 2.1T, (b) Tela do software de programação do sistema de movimentação das amostras, (c) Mensagem de aviso ao entrar na área de acesso restrito, (d) Tela de configuração dos parâmetros do motor, (e) Mensagem de erro na comunicação via RS 232	62
Figura 18 -	(a) Circuito de capacitores e bobina tipo Helmholtz utilizados para aquisição experimental, (b) Circuito LC sintonizável e (c) Circuito LC construído.....	64
Figura 19 -	a) Visão interna da bobina, esteira e guia montados. b) Guia de PVC suportado por duas placas de acrílico nas dimensões do tomógrafo.....	65
Figura 20 -	Montagem experimental da esteira com as sementes de mamona, baru e linhaça.....	66
Figura 21 -	Seqüência CWFP utilizada para medidas em fluxo	67
Figura 22 -	Espectro de semente de manona, com o motor (a) desligado e (b) ligado.....	69
Figura 23 -	Sinal CWFP adquirido nas seguintes condições: a) motor desligado, b) motor ligado, esteira parada, c) esteira funcionando em velocidade 8 cm/s, d) velocidade 13 cm/s e e) velocidade 18 cm/s	70
Figura 24 -	Sinal CWFP obtido para 3 amostras de mamona, 3 de baru e 3 de linhaça, em velocidade 8 cm/s, offset 3π e pulsos de 90° : a) adquirido e b) suavizado	71
Figura 25 -	Sinal CWFP para algumas amostras de amendoim moído (seis amostras em duplicata variando de 100% de amendoim até 50% de 10 em 10%) submetidas a pulsos de 45° , velocidade de 15,8 cm/s, e alguns valores de offset (0, 0.75π , π e 1.5π respectivamente em verde, preto, azul e vermelho, as curvas em azul e preto são aproximadamente iguais)	72
Figura 26 -	(a) Comparação entre a intensidade dos sinais para o offset π , mostradas na figura 25 com a massa das amostras. (b) Comparação entre a área das gaussianas com as mesmas massas	72
Figura 27 -	Resultados da seqüência IR (a) e CPMG (b) para sementes de mamona (preto), baru (vermelho) e linhaça (verde)	73
Figura 28 -	CWFP estático simulado	76
Figura 29 -	Amplitudes CWFP estático nas condições anteriores com sua magnitude (em preto), parte real (em azul) e parte imaginária (em vermelho)	77

Figura 30 -	Simulação do sinal CWFP em fluxo para $T_1= 600\text{ms}$, $T_2= 300\text{ms}$, $T_p= 300\mu\text{s}$, pulsos de 90° , em offset ímpar (máxima amplitude para o caso estacionário), nas fases ϕ com valores 0.00025 (em preto), 0.00050 (em vermelho), 0.00075 (em verde) e 0.001 (em azul)	78
Figura 31 -	Magnitude (em preto), componentes real (em azul) e imaginária (em vermelho) para o sinal CWFP em fluxo nas mesmas condições anteriores com fases ϕ : (a) +0.001, (b) +0.002	78
Figura 32 -	Componentes real (vermelha para fase ϕ positiva, azul para negativa), imaginária (cinza) e magnitude (preta) do sinal CWFP em fluxo nas condições da figura 31a, fixado em um só período, facilitando a distinção entre as componentes e visualizando sua correlação	79
Figura 33 -	Esteira em execução com as indicações do sentido do fluxo (em azul) e do gradiente (em vermelho) para descrever o sinal da fase ϕ	80
Figura 34 -	Resultado teórico para CWFP em fluxo, em alguns offsets (4π na cor preta, 4.5π na cor vermelha, 5π na cor azul e 5.5π na cor azul claro), das integrações para parte real com fase negativa (a), positiva (b) e parte imaginária, igual tanto para fase positiva quanto negativa. As linhas finas indicam os pulsos descartados, enquanto as seguintes linhas grossas indicam os pontos acumulados. Foram assumidos $T_1= 600\text{ms}$, $T_2= 300\text{ms}$, $\phi= 0.0025$, $\alpha = 90^\circ$, $T_p= 300\mu\text{s}$, $l= 0.4\text{ cm}$, $v= 15\text{ cm/s}$. Note que aqui se aguardou 2 ciclos de $2\pi/\Delta\phi$ pulsos até o número de pulsos ser maior de $5T_1/T_p$	81
Figura 35 -	Resultados teóricos para o óleo de mamona sob a seqüência CWFP em fluxo, sob offsets $2n\pi$ (preto), $(2n+1/4)\pi$ (vermelho), $(2n+1/2)\pi$ (verde), $(2n+3/4)\pi$ (azul escuro), $(2n+1)\pi$ (azul claro), $(2n+5/4)\pi$ (rosa), $(2n+3/2)\pi$ (cinza), $(2n+7/4)\pi$ (amarelo escuro), com n um número inteiro qualquer, gradiente de 0.097 G/cm e pulsos de 90° , (a) fase positiva na e (b) fase negativa	83
Figura 36 -	Resultados teóricos para substância tipo óleo de baru (a) e linhaça (b) sob a seqüência CWFP em fluxo, em offsets $2n\pi$ (preto), $(2n+1/4)\pi$ (vermelho), $(2n+1/2)\pi$ (verde), $(2n+3/4)\pi$ (azul escuro), $(2n+1)\pi$ (azul claro), $(2n+5/4)\pi$ (rosa), $(2n+3/2)\pi$ (cinza), $(2n+7/4)\pi$ (amarelo escuro), com n um número inteiro qualquer, gradiente de 0.097 G/cm e pulsos de 90° , fase negativa ($\phi<0$).....	84
Figura 37 -	Componentes real (tracejada) e imaginária (pontilhada), também a magnitude (contínua), para os exemplos de offset $(2n+1/4)\pi$ (vermelho), $(2n+1)\pi$ (azul claro) e $(2n+7/4)\pi$ (amarelo escuro) presentes na figura 36a	85
Figura 38 -	Resultado teórico da variação do ângulo de nutação (18° em preto, 36° em vermelho, 63° em verde, 90° em azul, 126° em azul claro) sob a seqüência CWFP em fase de módulo positivo (a) e negativo (b)	86

Figura 39 -	Influência do gradiente do campo magnético G no sinal CWFP em fluxo para fase ϕ (a) positiva e (b) negativa, para gradiente 0.022 (em preto), 0.036 (em vermelho), 0.097 (em verde), 0.160 (em azul) e 0.435 (em azul claro) e 0.717 G/cm (em rosa)	88
Figura 40 -	Influência do intervalo entre pulsos T_p (150 μ s em preto, 300 μ s em vermelho, 600 μ s em verde e 900 μ s em azul) no sinal CWFP em fluxo para fase ϕ (a) positiva e (b) negativa	89
Figura 41 -	Influência do isótopo dado pela variação do parâmetro γ no sinal CWFP em fluxo para ^1H (preto), ^{13}C (vermelho), ^{15}N (verde) e ^{31}P (azul) para fase ϕ (a) positiva e (b) negativa	90
Figura 42 -	Efeito da variação do comprimento da bobina (0.4 cm em preto, 2.4 cm em vermelho e 4.4 cm em verde) para fluxos de fase ϕ positiva (a) e negativa (b)	91
Figura 43 -	Partes reais (linha sólida) e imaginárias (linha tracejada) do CWFP em fluxo, com variações do comprimento da bobina em 0.4 (em preto), 2.4 (em vermelho) e 4.4 cm (em verde).....	92
Figura 44 -	Amplitude dos sinais experimentais de CWFP em fluxo para sementes de mamona (quadrados cheios), baru (quadrados vazios) e linhaça (estrelas), em offsets 2.25π (preto), 3π (vermelho) e 3.75π (azul), em região de baixo gradiente.....	93
Figura 45 -	Amplitude dos sinais experimentais de CWFP em fluxo para sementes de mamona (quadrados cheios), baru (quadrados vazios) e linhaça (estrelas), em offsets 2.25π (azul), 3π (vermelho) e 3.75π (preto), em região de alto gradiente	94
Figura 46 -	Amplitude dos sinais experimentais de CWFP em fluxo para sementes de mamona (quadrado cheio), baru (quadrado vazio) e linhaça (estrela), com pulsos de ângulo 20° (preto), 40° (vermelho), 60° (verde) e 90° (azul) em offset $2,25\pi$ (a) e $3,75\pi$ (b), note que a escala vertical da figura b é o dobro da figura a	95
Figura 47 -	Amplitude dos sinais experimentais de CWFP em fluxo para sementes de mamona (quadrado cheio), baru (quadrado vazio) e linhaça (estrela), com intervalos de pulsos de 300 μ s (preto), 500 μ s (vermelho), 700 μ s (azul) e 900 μ s (rosa) em offset 2.25π (a) e 3.75π (b).....	98
Figura 48 -	Imagem obtida com a seqüência de tempo ao eco com tempo ao eco de 142 ms em intervalo de 5 s: a) macaúba b)ovo de galinha comercial	100
Figura 49 -	Resultados Inversão-Recuperação (IR) para medidas de T_1 de macaúba: somente amêndoa (em preto), polpa (em vermelho) e da macaúba intacta inteira (em azul)	101
Figura 50 -	Resultados de CPMG para medidas de T_2 de macaúba: somente do caroço interno (em preto), somente da casca externa (em vermelho), da macaúba intacta inteira (em azul).....	102

Figura 51 - Resultado teórico das amplitudes da seqüência CWFP para um intervalo de velocidades para spins tipo hidrogênio da amêndoa (em preto) e da casca (em vermelho) da macaúba, e da clara (em verde) e gema (em azul) de um ovo. As condições simuladas foram: $T_p=300\mu s$, $G=0.097G/cm$, $\alpha=90^\circ$ e $\psi=3.9\pi$, com uma bobina de 2 cm, ajuste mono-exponencial em a e c e bi-exponencial em b e d. 104

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resultados para T_1	74
Tabela 2 - Resultados para T_2	75
Tabela 3 - Correlação das amplitudes do sinal CWFP em fluxo para fases de módulo positivo e negativo, conforme a figura 34 (em azul), usando simetria trigonométrica (em vermelho) e generalizadas (em preto)	84
Tabela 4 - Constante magnetogírica de alguns isótopos (39)	90
Tabela 5 - Ângulos ótimos para cada tempo de relaxação utilizado.....	96
Tabela 6 - Valores de tempos de relaxação longitudinal obtidos para as partes da macaúba.....	101
Tabela 7 - Valores de tempos de relaxação transversal obtidos para as partes da macaúba.....	102
Tabela 8 - Resultados para T_2 e T_1 para as partes do ovo	103
Tabela 9 - Influência dos parâmetros experimentais no sinal CWFP em fluxo	105

LISTA DE SIGLAS

CPMG – Carr Purcell Meibom Gil

CWFP – *Continuous Wave Free Precession* (Precessão Livre de Onda Contínua)

DC – *Direct Current* (Corrente Contínua)

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

FID – *Free Induction Decay* (Decaimento Induzido Livre)

IR – Inversão Recuperação

NMR – *Nuclear Magnetic Resonance* (Ressonância Magnética Nuclear)

RF – Rádio Frequência

RMN – Ressonância Magnética Nuclear

SSFP – *Steady State Free Precession* (Estado Estacionário de Precessão Livre)

LISTA DE SÍMBOLOS

B - campo magnético

B_0 - campo magnético do imã

B_1 - campo magnético gerado pela RF

B_{eff} - campo magnético efetivo

D - coeficiente de difusão

E - energia

G - gradiente

$\hbar$ - constante de Planck dividida por 2π

h - constante de Planck

$\hat{\mathcal{H}}$ - operador hamiltoniano

I_z - spin na direção z

K - constante determinada pelas condições iniciais

K_b - constante de Boltzmann

L - momento angular

M - magnetização

M_0 - magnetização do equilíbrio térmico

M_x - magnetização componente x ou real

M_y - magnetização componente y ou imaginária

M_z - magnetização componente z ou longitudinal

r - coordenada radial

T - temperatura

T_1 - Tempo de relaxação longitudinal

T_2 - Tempo de relaxação transversal

T_p - tempo entre pulsos

V - energia potencial

v - velocidade

ΔE - variação entre níveis de energia

$\Delta\omega$ - variação entre a frequência de Larmor e a do referencial rotativo

Ω - frequência do referencial rotativo

α - ângulo de rotação de nutação

γ - fator giromagnético

μ_n - momento magnético nuclear

ν - frequência linear

τ - torque ou intervalo de tempo

τ_c - tempo de correlação

ω - frequência angular

ω_0 - frequência de Larmor

ω_1 - frequência de rotação da RF

ψ - ângulo de precessão de offset

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	22
2	CONCEITOS BÁSICOS DE RMN.....	25
2.1	Relaxação.....	27
2.1.1	Relaxação Longitudinal	27
2.1.2	Relaxação Transversal.....	28
2.2	Equações de Bloch.....	28
2.3	Seqüências de pulso para a determinação dos tempos de relaxação	33
2.3.1	IR (Inversão-Recuperação).....	33
2.3.2	CPMG (Carr Purcell Meiboom Gill)	34
3	A RMN EM FLUXO	36
4	A TÉCNICA DO ESTADO ESTACIONÁRIO	41
4.1	A RMN-CWFP em baixa resolução	46
4.2	O efeito do fluxo no SSFP/CWFP.....	48
5	OBJETIVOS	56
5.1	Objetivos específicos.....	56
6	MATERIAIS E MÉTODOS	57
6.1	Procedimentos teóricos	57
6.2	Procedimentos experimentais	60
6.2.1	Implementação do sistema online.....	60
6.2.2	Medidas experimentais com sementes.....	65
6.2.3	Aquisição e processamento das medidas online.....	67
6.2.4	Medidas de tempos de relaxação (T_1 e T_2)	68
7	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	69
7.1	A RMN CWFP em fluxo como ferramenta quantitativa	69
7.2	Medidas de Relaxação.....	73
7.3	Análise teórico-experimental dos parâmetros espectrais da RMN-CWFP usando as equações de Bloch	75
7.3.1	Resultados teóricos.....	75
7.3.1.1	Influência dos tempos de relaxação (T_1 e T_2) e ângulo de offset (ψ)	82

7.3.1.2	Influência do ângulo de nutação (α).....	86
7.3.1.3	Variações na fase (ϕ) devido a alterações do gradiente (G), intervalo de pulsos (T_p) e do isótopo analisado (γ).....	87
7.3.1.4	Influência do comprimento da bobina (l)	91
7.3.2	Resultados experimentais	92
7.3.2.1	Verificação experimental numa região de campo magnético homogêneo.....	92
7.3.2.2	Verificação experimental do aumento do gradiente (G) e da influência do ângulo de precessão de offset (ψ).....	93
7.3.2.3	Verificação experimental da influência do ângulo de nutação (α)	94
7.3.2.4	Verificação experimental da influência do intervalo entre pulsos (T_p).....	97
8	APLICAÇÕES E PROPOSTAS FUTURAS.....	99
9	CONCLUSÕES	105
	REFERÊNCIAS.....	107

1 INTRODUÇÃO

Em 1922, Otto Stern e Walther Gerlach realizaram um experimento que buscava observar se partículas elementares, tal como um elétron, possuíam algum momento angular de spin. Para isso, trataram a partícula como uma distribuição dipolar de cargas, com pólos diferentes, que, ao aplicar-se um campo magnético, induzir-se-ia um torque, realizando uma precessão a esse dipolo. Porém, utilizando um campo magnético uniforme, as forças induzidas seriam contrárias e de módulos iguais, tornando o fenômeno imperceptível. Por isso, usaram um campo magnético gradiente, tornando possível a visualização de momentos magnéticos quantizados apresentados em dois níveis distintos, levando ao descobrimento do spin (no caso, spin $1/2$), que é o mesmo, tanto para os elétrons, como prótons e nêutrons.

Sendo associado a um momento angular, uma descrição clássica simples indicou que se esse momento angular fosse associado a movimento de rotação e essa rotação teria valores maiores que a velocidade da luz. Por isso, esse momento foi associado a um momento angular intrínseco a partícula, porém erroneamente ficou conhecido como *spin*, palavra latina de significado giro.

A suposição que os núcleos atômicos seriam supostamente pequenos ímãs foi feita por Wolfgang Pauli, em 1924, tão logo momentos magnéticos nucleares puderam ser medidos.

Em 1939, Isidor Isaac Rabi e colaboradores observaram a absorção em certas raías de radio frequência (RF) por núcleos de hidrogênio em alto vácuo e gradiente de campo magnético. Historicamente esse trabalho marca a primeira observação de ressonância magnética nuclear (RMN) e por ela Rabi foi congratulado com o prêmio Nobel da física de 1944.

Entre 1945 e 1946, dois grupos independentes de pesquisadores, nas universidades de Stanford, liderados por Felix Bloch, e Harvard, liderados por Edward Mills Purcell, observaram a absorção de RF de núcleos de hidrogênio enquanto tentavam aprimorar as

medidas de seu momento magnético nuclear. Tal feito foi considerado por muitos o nascimento da RMN e levou ambos a dividirem o prêmio Nobel da física de 1952.

Em 1953, Martin Packard e colaboradores substituíram a amostra de água por álcool, e observaram três sinais em frequências diferentes, dando origem ao fenômeno denominado de deslocamento químico. Como consequência, em 1953 os primeiros espectrômetros de ressonância magnética nuclear com alta resolução e sensibilidade em onda contínua já começaram a ser comercializados (1).

Um grande avanço foi conquistado com o advento da RMN pulsada e o uso da transformada de Fourier, proposto por Ernst e Anderson em 1965. Isso facilitou a obtenção de espectros de núcleos menos sensíveis como o ^{13}C , e posteriormente espectros multidimensionais, proporcionando a Ernest e Wüthrich os prêmios Nobel de Química de 1991 e 2002, respectivamente. Também possibilitou a aquisição de imagens por RMN, uma poderosa ferramenta para diagnóstico médico, onde se destacaram Peter Mansfield e Paul Lauterbur, e por isso a eles foi dado o quinto prêmio Nobel conquistado pela RMN, o da medicina de 2003.

Hoje em dia, a RMN vem sendo utilizada nas mais diversas áreas da ciência, como, por exemplo, física, química, farmácia, medicina, e mais recentemente, biofísica e bioquímica, tanto para materiais sólidos, líquidos ou gasosos. Porém, a maioria dos experimentos de RMN usa principalmente as diferenças no deslocamento químico das moléculas e é popularmente conhecido como RMN de alta resolução.

Contudo, ultimamente outra área da RMN vem se sobressaindo, a RMN de baixa resolução. Esta técnica usualmente utiliza campo magnético inferiores (menores que dois teslas), não muito homogêneos como no caso anterior, normalmente tem menor custo e o sinal obtido com alguma técnica de pulsos é analisado no domínio do tempo, sem a necessidade da transformação de Fourier. Em essência, enquanto a RMN de alto campo estuda características nanoscópicas, como deslocamento químico e acoplamentos, relacionadas à estrutura molecular do sistema, a RMN de baixo campo toma o estudo a um nível dimensional maior, onde o tamanho molecular e suas interações físico-químicas são analisados.

Recentemente, a RMN de baixa resolução tem demonstrado ser uma ferramenta bastante útil para análises em fluxo, de produtos industriais, levando a novas aplicações da RMN ao setor produtivo (2).

2 CONCEITOS BÁSICOS DE RMN

A RMN é um fenômeno puramente quântico, e assim como em qualquer outra forma de espectroscopia, envolve a interação de energia eletromagnética com a matéria. Essa interação é tanto dipolar quanto quadrupolar, pode-se dar através de acoplamentos, etc, para fins de simplificação, porém suficiente, será abordado um hidrogênio (spin 1/2, interação dipolar) livre de acoplamento, cujo hamiltoniano da interação em questão é mostrado na equação 1:

$$\hat{\mathcal{H}} = -\vec{\mu}_n \cdot \vec{B} \quad (1)$$

onde $\vec{B}$ é o campo magnético aplicado e $\vec{\mu}_n$ é o momento magnético nuclear. Esse momento magnético é proporcional a componente z do operador de spin, I_z , da partícula e pode ser substituído conforme a equação 2:

$$\vec{\mu}_n = \gamma \hbar \vec{I}_z \quad (2)$$

e γ indica o fator giromagnético, característico de cada isótopo, valendo $2,675 \cdot 10^4 \text{ s}^{-1} \text{G}^{-1}$ para o ^1H (3), $\hbar$ a constante de Planck (h) dividida por 2π . Substituindo a equação 2 na equação 1 obtêm a equação 3:

$$\hat{\mathcal{H}} = -\gamma \hbar \vec{I}_z \cdot \vec{B} \quad (3)$$

Definindo o campo magnético paralelo a direção z , os autovalores fornecerão uma energia de transição entre os níveis da forma descrita na equação 4:

$$\Delta E = -\gamma \hbar B \quad (4)$$

A população dos spins nos dois níveis de energia pode ser calculada pela estatística de Boltzmann, onde as populações nos níveis são preenchidas de tal forma que a razão entre as populações do nível excitado N_α em relação ao nível fundamental N_β é satisfeita conforme a equação 5:

$$\frac{N_{\alpha}}{N_{\beta}} = \exp\left(\frac{-\gamma\hbar B}{K_b T}\right) \quad (5)$$

E fazendo referência a condição de Bohr, chega-se a equação 6:

$$\omega = \frac{E}{\hbar} = -\gamma B \quad (6)$$

deduzindo a tão utilizada frequência de Larmor, que para campos usuais da ordem de Teslas, estará na faixa das ondas de rádio. Por exemplo, um ímã supercondutor de 2,1 Teslas, tem necessidade de ondas de rádio de aproximadamente 85 MHz.

Essa escala de baixa frequência utilizada gera características que só a espectroscopia por RMN possui. A radiação eletromagnética das ondas de radio é gerada por eletrônica simples e de alta precisão. Como consequência, a incerteza na variação da frequência da radiação será obrigatoriamente menor que a largura $\Delta E/2\hbar$ dos níveis de transição induzidos. As baixas energias $h\nu$ de cada próton ($\nu=\omega/2\pi$) e a estreita largura de banda espectral $\Delta\nu$ obtida fazem com que uma baixa potência seja suficiente para gerar um número astronômico de fótons (aproximadamente 10^{17}) por unidade de frequência (4).

Da teoria quântica da radiação, um grande número de fótons se relaciona com uma emissão induzida e absorção muito maiores que a emissão espontânea, tornando esta última um fenômeno desprezível. A descrição por emissão induzida, ou absorção (contrariamente a emissão espontânea) não requer uma descrição quântica do campo de radiação (4).

Outra característica importante da radiação produzida por geradores eletrônicos é a sua coerência. Uma descrição clássica do campo eletromagnético pode ser simplesmente realizada baseando-se no fato de cada componente do campo eletromagnético comporta-se como uma senoidal no tempo, com fase bem definida. Uma fase bem definida pode, pelo princípio de incerteza, ser relacionada ao número total de fótons, de acordo com a mecânica quântica, pela relação $\Delta n \Delta \phi \approx 1$ entre a fase ϕ da onda eletromagnética e o número de fótons n dessa onda. Tratando-se de radiofrequência, onde n é muito grande, é possível definir simultaneamente com grande precisão tanto o número de fótons (amplitude) quanto a fase, sem contradizer essa relação de incerteza (4).

Embora todos os aspectos da RMN só possam ser compreendidos pela mecânica quântica, conclui-se que em espectroscopia por radiofrequência é convencional e legítimo descrever o campo eletromagnético como um campo quantitativamente clássico, onde muitas dessas propriedades podem ser muito mais facilmente visualizadas. Uma descrição desse tipo doravante será descrita, que invés de calcular energias através do operador hamiltoniano (interação campo magnético – momento magnético quântico, equação 1), utilizará um formalismo clássico da descrição da RMN, baseado nas equações fenomenológicas primeiramente deduzidas por Felix Bloch em 1946 (5).

2.1 Relaxação

Uma visão mais aprofundada da RMN clássica exige a explicação de outro fenômeno físico concorrente à aplicação do campo magnético, a relaxação, que ocorre em duas formas extremamente diferentes, a relaxação longitudinal (T_1) e a relaxação transversal (T_2):

2.1.1 Relaxação Longitudinal

O tempo de relaxação longitudinal é a característica temporal de dissipação de energia do sistema de spins e é responsável pelo retorno da magnetização paralela ao campo magnético. É também conhecida por relaxação spin-rede e sua constante de decaimento exponencial é denominada T_1 . Esse fenômeno é um fenômeno entálpico pois envolve perda de energia para o meio (6).

2.1.2 Relaxação Transversal

O tempo de relaxação transversal é a constante temporal responsável pelo desaparecimento da componente da magnetização ortogonal ao campo magnético. Chamada também de relaxação spin-spin, é um processo entrópico que possui constante de decaimento exponencial T_2 . T_2 é necessariamente maior que T_1 . Em líquidos (tempos de correlação τ_c menores, movimentos rápidos), T_2 está bem próximo a T_1 , enquanto que em sólidos (tempos de correlação τ_c maiores, movimentos lentos), a variação pode ser ordens de magnitude menor, como mostra a figura 1 (7).

Figura 1- Variação dos tempos de relaxação (T_1 e T_2) com o tempo de correlação (τ_c) (7)

2.2 Equações de Bloch

A abordagem clássica do fenômeno da RMN inicia tomando o núcleo atômico como um pequeno ímã, que conforme já citado, irá precessionar quando este estiver num campo

magnético. Sendo o ímã nada mais que um momento magnético, a equação do potencial clássico dessa situação é explicitado na equação 7:

$$V = -\vec{\mu}_n \cdot \vec{B} \quad (7)$$

E o torque produzido por essa interação, segundo a mecânica clássica, é mostrado na equação 8:

$$\vec{\tau} = -\vec{\mu}_n \times \vec{B} \quad (8)$$

que tenderá a alinhá-lo paralelamente, associado a um momento angular tal como na equação 9:

$$\frac{d\vec{L}}{dt} = -\vec{\mu}_n \times \vec{B} \quad (9)$$

Esse momento angular é proporcional ao momento magnético de cada spin ($\mu_n = \gamma L_n$), mas não há sentido trabalhar com momentos magnéticos microscópicos μ_n individuais, logo sim com a magnetização macroscópica ($\sum_n \vec{\mu}_n = \vec{M}$), não quantizada, que ao acrescentar empiricamente o fenômeno da relaxação, surge finalmente a equação diferencial de Bloch no referencial de laboratório (equação 10):

$$\frac{d\vec{M}}{dt} = \gamma(\vec{M} \times \vec{B}) - \left(\frac{M_x \vec{x} + M_y \vec{y}}{T_2} + \frac{M_z - M_0}{T_1} \vec{z} \right) \quad (10)$$

Onde os termos M_x e M_y dizem respeito às componentes da magnetização transversal, M_z a magnetização no eixo longitudinal e M_0 é a magnetização em seu equilíbrio térmico, na direção do campo magnético aplicado.

Para facilitar a compreensão é conveniente a inserção de um novo referencial, o referencial de coordenadas girantes, baseado na variação temporal da magnetização, cujo principal resultado é posto na equação 11:

$$\frac{d\vec{M}_{\text{fixo}}}{dt} = \frac{\partial \vec{M}}{\partial t} + \vec{\Omega} \times \vec{M} \quad (11)$$

onde a derivada total representa o movimento da magnetização num referencial fixo ao laboratório, enquanto a derivada parcial se relaciona a variação da magnetização no referencial rotativo de frequência Ω .

Substituindo as equações 10 e 11, chega-se na equação 12:

$$\frac{d\vec{M}_{rot}}{dt} = \gamma \vec{M} \times \left(\vec{B} + \frac{\vec{\Omega}}{\gamma} \right) \quad (12)$$

E se nota a aparição de um campo fictício, Ω/γ , provocando o surgimento de um campo efetivo total $B_{eff} = B + \Omega/\gamma$, muito interessante para frequências desse novo referencial da ordem da frequência de Larmor.

Portanto, a equação a ser resolvida é a equação 13, a Equação de Bloch no referencial de coordenadas girantes (8):

$$\frac{d\vec{M}_{rot}}{dt} = \gamma (\vec{M} \times \vec{B}_{eff}) - \left(\frac{M_x \vec{x} + M_y \vec{y}}{T_2} + \frac{M_z - M_0}{T_1} \vec{z} \right) \quad (13)$$

Além do campo magnético estático B_0 constante (ao menos no tempo) gerado pelo imã, também será utilizado um campo magnético de componentes B_1 , gerado pela radiofrequência, tornando o campo efetivo representado na equação 14:

$$\vec{B}_{eff} = B_1 \vec{x} + B_0 \vec{z} \quad (14)$$

E também são feitas as substituições das equações 15 e 16:

$$\Delta\omega = \gamma \left(B_0 - \frac{\Omega}{\gamma} \right) = \omega_0 - \Omega \quad (15)$$

$$\omega_1 = \gamma B_1 \quad (16)$$

Tornando a equação 13 na equação vetorial 17, e essa sim será resolvida:

$$\frac{d\vec{M}}{dt} = \hat{D} \vec{M} + \frac{\vec{M}_0}{T_1} \quad (17)$$

Onde os vetores são dados pelas representações 18 e 19:

$$\vec{M} = \begin{bmatrix} M_x \\ M_y \\ M_z \end{bmatrix} \quad (18)$$

$$\vec{M}_0 = \begin{bmatrix} 0 \\ 0 \\ M_0 \end{bmatrix} \quad (19)$$

E a matriz pela representação 20:

$$\hat{D} = \begin{bmatrix} -1/T_2 & \Delta\omega & 0 \\ -\Delta\omega & -1/T_2 & \omega_1 \\ 0 & -\omega_1 & -1/T_1 \end{bmatrix} \quad (20)$$

que pode ser dividida em componentes exclusivas a relaxação , conforme equação 21, offset e RF , semelhantemente a equação 22, resultando em matrizes independentes, cuja solução geral colocada na equação 23 é suficiente para descrever qualquer fenômeno dependente apenas dos tempos de relaxação, radiofrequência e offset, como, por exemplo, relaxação e deslocamento químico (8).

$$\hat{T} = \begin{bmatrix} -1/T_2 & 0 & 0 \\ 0 & -1/T_2 & 0 \\ 0 & 0 & -1/T_1 \end{bmatrix} \quad (21)$$

$$\hat{A} = \begin{bmatrix} 0 & \Delta\omega & 0 \\ -\Delta\omega & 0 & \omega_1 \\ 0 & -\omega_1 & 0 \end{bmatrix} \quad (22)$$

$$\vec{M}(t) = \exp(\hat{A}t)\exp(\hat{T}t)\vec{M}(0) + \vec{M}_0(1 - \vec{E}_1(t)) \quad (23)$$

Novamente, por simplicidade, serão abordados pulsos considerados muito mais curtos que os períodos dados a relaxação, havendo simplificações na equação 23, como dividir a matriz **A** em duas matrizes independentes, a de pulso **R_x** dada pela equação 24, com $\alpha = \omega_1 T_w$ onde T_w é o tempo de duração dos pulsos, e a de defasamento por offset dado pela equação 25, que ocorre juntamente com a relaxação, simplificando a equação 21 na equação 26:

$$\hat{R}_x = \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 \\ 0 & \cos(\alpha) & \sin(\alpha) \\ 0 & -\sin(\alpha) & \cos(\alpha) \end{bmatrix} \quad (24)$$

$$\hat{R}_z(t) = \begin{bmatrix} \cos(\Delta\omega t) & \sin(\Delta\omega t) & 0 \\ -\sin(\Delta\omega t) & \cos(\Delta\omega t) & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{bmatrix} \quad (25)$$

$$\hat{E}(t) = \begin{bmatrix} E_2 & 0 & 0 \\ 0 & E_2 & 0 \\ 0 & 0 & E_1 \end{bmatrix} \quad (26)$$

E as abreviações E_1 e E_2 são os decaimentos exponenciais das constantes de relaxação ($E_1 = \exp(-t/T_1)$ e $E_2 = \exp(-t/T_2)$) (8).

O exemplo mais simples a ser dado é o de um simples decaimento induzido livre (FID, do inglês, free induction decay), gerado por um pulso de um ângulo qualquer α , seguido por relaxação sob influência de alguma frequência variada $\Delta\omega$ da frequência de ressonância. O vetor de evolução temporal, para esse caso, é expresso na equação 27:

$$\vec{M}(t) = \hat{R}_z(\Delta\omega t) \hat{E}(t) \hat{R}_x(\alpha) \vec{M}(0) + \vec{M}_0 (1 - \vec{E}_1(t)) \quad (27)$$

que depois de feita as devidas substituições e multiplicações fornece a solução 28:

$$\begin{bmatrix} M_x(t) \\ M_y(t) \\ M_z(t) \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} M_0 e^{-t/T_2} \sin(\Delta\omega t) \sin(\alpha) \\ M_0 e^{-t/T_2} \cos(\Delta\omega t) \sin(\alpha) \\ M_0 \left[e^{-t/T_2} \cos(\alpha) + (1 - e^{-t/T_1}) \right] \end{bmatrix} \quad (28)$$

Sendo somente as componentes do plano detectáveis pela RMN, o módulo do FID terá valor dado na equação 29:

$$M_{FID}(t) = \sqrt{M_x^2 + M_y^2} = M_0 e^{-t/T_2} \sin(\alpha) \quad (29)$$

Contudo, na prática, o decaimento acaba sendo mais rápido, pois sempre será acompanhado de outros fatores como a não homogeneidade de campo (ΔB_0) e difusão (D), encurtando o valor real de T_2 , para um valor T_2^* , onde esses fatores exercem influência.

Supondo $T_1=0.174s$, $T_2=0.099s$, offset ($\Delta\omega$) de 20Hz e pulso (α) de 90°, as equações 28 e 29 revelam as componentes **x** (em cinza), **y** (em preto), o módulo no plano (em verde), a recuperação da magnetização no eixo **z** (em azul), assim como o módulo total (em vermelho) da magnetização desse FID variando no tempo, até $5T_1$. O resultado está presente na figura 2, onde pode ser observado o decaimento das componentes do plano ao mesmo tempo em que há recuperação da componente longitudinal:

Figura 2- Componentes da magnetização x (em cinza), y (em preto), no plano xy (em verde), no eixo z (em azul) e seu módulo total (em vermelho), num tempo até $5T_1$

Ainda nesse contexto, a seção 2.3 seguinte expressa teoricamente às seqüências de pulsos para medidas dos tempos de relaxação a serem utilizadas nessa dissertação.

2.3 Seqüências de pulso para a determinação dos tempos de relaxação

2.3.1 IR (Inversão-Recuperação)

A seqüência de pulsos Inversão-Recuperação (IR) é a seqüência mais utilizada para medir o tempo de relaxação longitudinal T_1 . Baseia-se em um pulso de 180° , levando a magnetização à $-z$. Após um tempo τ variável, aplica-se um pulso de 90° , de mesma fase (x), para retornar a magnetização ao plano transversal, conforme mostra a figura 3, possibilitando a sua leitura.

Figura 3- Representação dos pulsos da seqüência Inversão-Recuperação (IR)

Utilizando a equação 27 na seqüência de pulsos descrita, o módulo do vetor magnetização no plano no instante da leitura será:

$$M_{IR}(\tau) = M_0 \left(1 - 2e^{-\tau/T_1} \right) \quad (30)$$

Sendo, portanto, a magnetização final somente proporcional ao tempo de relaxação T_1 .

2.3.2 CPMG (Carr Purcell Meiboom Gill)

Para a medida do tempo de relaxação transversal T_2 , usualmente utiliza-se a seqüência CPMG (Carr Purcell Meiboom Gill), a mais conhecida e utilizada das técnicas de eco de spin, pois além de ser rápida, apresenta alta precisão e é pouco sensível aos efeitos de difusão e não homogeneidade de campos (B_0 e B_1). Essa seqüência baseia-se em um pulso de 90° e fase **x** aplicada ao equilíbrio térmico, seguido por um tempo de espera τ , sempre muito curto, e repetitivos pulsos (n) de 180° e fase **y** intercalados por um mesmo tempo τ para a formação de um eco e um novo tempo τ para reinício do ciclo pulso 180° , conseqüentemente gerando sucessivos ecos. Essa seqüência é exibida na figura 4:

Figura 4- Representação dos pulsos da sequência CPMG.

E novamente a aplicação das equações de Bloch, para aquisição no instante do máximo do eco, resulta numa componente de magnetização transversal conforme a equação 31:

$$M_{CPMG}(\tau) = M_0 e^{-\tau/T_2} \quad (31)$$

que por sua vez é somente proporcional ao tempo de relaxação T_2 .

Um detalhe experimental é que apenas os ecos pares são adquiridos, amenizando possíveis problemas de calibração dos pulsos de 180° .

3 A RMN EM FLUXO

Tão logo as primeiras observações de RMN foram publicadas, experimentos envolvendo propriedades de difusão e fluxo foram desenvolvidos. O fenômeno da difusão foi o mais estudado, pois a difusão é intrínseco a quase (se não a todas) substâncias químicas, ao contrário do fluxo, que necessariamente deve ser induzido.

Tentativas de medidas em fluxo por ressonância magnética foram feitas por muitos pesquisadores. Suryan em 1950 (9), utilizou-se de um aparato experimental extremamente simples, basicamente um tubo no qual escorriam líquidos diversos seguindo a força da gravidade e conseguiu observar um aumento da magnitude e alargamento do sinal de RMN. A explicação apresentada foi que com elevados tempos de relaxação longitudinal (T_1), a amostra em fluxo não teria tempo suficiente dentro do magneto para alcançar total magnetização dentro da bobina de RF. A sugestão apresentada foi à utilização de ímãs maiores ou velocidades menores para amostras com T_1 maiores.

Enquanto analisava estudos de difusividade através de técnicas de spin eco de Hahn e Carr e Purcell feitos por Woessner, Stejkal, em 1965, sugeriu uma nova técnica para medida de coeficientes de difusão (D) através de gradientes de campos magnéticos pulsados e do uso da técnica de ecos estimulados, obtendo um aumento da precisão em suas medidas (10). Essa nova abordagem foi estendida também às condições de fluxo, com teoria desenvolvida a partir da equação de Bloch-Torrey, colocada na equação 32:

$$\frac{d\vec{M}}{dt} = \gamma(\vec{M} \times \vec{B}) - \left(\frac{M_x \vec{x} + M_y \vec{y}}{T_2} + \frac{M_z - M_0}{T_1} \vec{z} \right) - \vec{\nabla} \cdot v \vec{M} + \vec{\nabla} \cdot D \cdot \vec{\nabla} \vec{M} \quad (32)$$

Onde os termos adicionados a equação 10 são discriminados por *termos de "movimento" de Torrey*. Supondo desprezível o efeito da difusão e considerando um campo magnético gradiente, essas equações desenvolvidas no sistema de coordenadas girantes fornecem as equações 33, 34 e 35:

$$\frac{\partial M_x}{\partial t} = \gamma \vec{G}(t) \cdot \vec{r} M_y - (\vec{v}(\vec{r}, t) \cdot \vec{\nabla}) M_x - \frac{M_x}{T_2} \quad (33)$$

$$\frac{\partial M_y}{\partial t} = \gamma \vec{G}(t) \cdot \vec{r} M_z + \gamma B_1(t) M_z - (\vec{v}(\vec{r}, t) \cdot \vec{\nabla}) M_y - \frac{M_y}{T_2} \quad (34)$$

$$\frac{\partial M_z}{\partial t} = \gamma \vec{G}(t) \cdot \vec{r} M_y - (\vec{v}(\vec{r}, t) \cdot \vec{\nabla}) M_z - \frac{M_0 - M_z}{T_1} \quad (35)$$

onde B_1 é o campo gerado pela RF, assumida estar no eixo x do sistema de coordenadas girantes, $G(t)$ é o gradiente de campo magnético e $v(r, t)$ é a velocidade do fluxo (11).

Supondo movimento somente na direção z e um gradiente G constante, as equações da magnetização 33, 34 e 35 se simplificam nas 36, 37 e 38:

$$\frac{\partial M_x}{\partial t} = \gamma G_z z M_y - v \frac{\partial M_x}{\partial z} - \frac{M_x}{T_2} \quad (36)$$

$$\frac{\partial M_y}{\partial t} = \gamma G_z z M_x + \gamma B_1(t) M_z - v \frac{\partial M_y}{\partial z} - \frac{M_y}{T_2} \quad (37)$$

$$\frac{\partial M_z}{\partial t} = \gamma G_z z M_y - v \frac{\partial M_z}{\partial z} - \frac{M_0 - M_z}{T_1} \quad (38)$$

O desenvolvimento dessas equações diferenciais (equações 36 a 38) relata que o efeito da difusão no eco é a atenuação de sua amplitude, enquanto o efeito do fluxo é o deslocamento de sua fase. Todavia, essas equações não possuem solução analítica e são de muito difícil interpretação, sendo necessários métodos numéricos utilizados para resolução de equações diferenciais acopladas (11).

Packer, em 1969, estudou o efeito de escoamentos uniformes sobre um campo magnético estático com gradiente através de seqüência 90° - τ - 180° - τ -eco, de mesma fase, e também após sucessivas continuações τ - 180° - τ -eco, onde uma nova fase ϕ seria adicionada aos spins entre cada eco, e assim permitiu a observação de efeitos de fluxo em um experimento simples (12). Essa fase foi deduzida através da compreensão do gradiente como expansão de Taylor do campo magnético estático B_0 , deduzida na equação 39:

$$\phi = \phi_{\tau \rightarrow 2\tau} - \phi_{0 \rightarrow \tau} = \int_{\tau}^{2\tau} \gamma G v t dt - \int_0^{\tau} \gamma G v t dt = \gamma G v \tau^2 \quad (39)$$

correspondente ao ganho de fase durante os primeiro e segundo intervalos τ (12).

Já o primeiro trabalho sobre uso médico de medida de fluxo por RMN tem autoria de Grover e Singer (13). Esse trabalho foi baseado em medidas de fluxo sanguíneo com a

seqüência de pulsos eco de spin. O esquema experimental utilizado está na figura 5 e é semelhante ao utilizado no presente trabalho:

Figura 5 - Montagem experimental descrita por Grover e Singer para medidas Spin Echo em fluxo (13)

Nesse mesmo trabalho, Grover e Singer assumem simplificações também assumidas nas simulações deste trabalho:

1. A bobina transmissora fornece um campo de radiofrequência uniforme sobre o volume a ser analisado (B_1 super-homogêneo).
2. O campo magnético contínuo pode ser representado por um gradiente linear G , paralelo a direção do fluxo, pelo menos na região de análise.
3. A velocidade de fluxo de interesse é muito maior que a velocidade de difusão do líquido em questão, logo o espaço percorrido por um grupo de isocromatas entre dois ecos tem valor dado pela equação 40:

$$\vec{z}(2\tau) = \vec{z}(0) + 2v\tau\vec{z} \quad (40)$$

onde v é a velocidade do grupo de isocromatas e z é a direção do fluxo e a difusão pode ser desprezada.

4. O líquido permanece no campo contínuo por um tempo muito maior que T_1 (para um sinal ótimo, maior que $5T_1$), alcançando a magnetização de equilíbrio térmico.
5. $2v\tau$ é muito menor que as dimensões da bobina receptora, de modo a haver um incremento na fase de cada grupo de isocromatas, 2τ após o primeiro pulso, conforme calculado por Packer, de $\phi = \gamma G v \tau^2$, existindo da ordem de três mil grupos de isocromatas com fases diferentes sobre a bobina receptora.

Também deduziram que a relação entre a amplitude do eco e a velocidade para um fluxo laminar, após um tempo τ , seria conforme a equação 41:

$$A(2\tau) = K \frac{\sin(\gamma G v \tau^2)}{\gamma G v \tau^2} \quad (41)$$

onde K é uma constante de proporcionalidade dependente da geometria, ganho etc.

Nesse mesmo contexto, no ano de 1971, Deville e Landesman estudaram a mesma técnica de eco de spin, porém buscando diferenciar escoamento laminar e turbulento, também na presença de gradiente laminar (14).

Hayward e colaboradores, em 1972, estudaram diversos efeitos de vários tipos de fluxo na forma e amplitude dos ecos, na presença de gradientes tanto pulsados quanto estáticos, e contribuíram propondo um modelo vetorial para a magnetização transversal em um experimento de spin eco com gradiente pulsado sob fluxo laminar em um tubo circular (15). Afirmaram que o efeito do fluxo era atrasar ou adiantar de uma fase ϕ a formação do eco no plano xy .

Finalizando a discussão sobre a história da RMN em fluxo, serão citados trabalhos de RMN onde envolvem fluxo, mas em alta resolução.

Uma melhora da razão sinal/ruído em espectros de RMN de alta resolução demanda um aumento número de aquisições (proporcional a raiz quadrada do número de aquisições). Porém núcleos que possuem T_1 longo (por exemplo ^{13}C) exigem também um tempo muito longo entre cada espectro adquirido, principalmente se as análises forem quantitativas e com pulsos de 90° , cuja espera deve ser $5T_1$. Laude e colaboradores (16) buscaram um método de reduzir aparentemente o valor de T_1 simultaneamente para todos os núcleos de spin $1/2$ de uma amostra, independentes de seu ambiente químico. O método foi desenvolvido baseado no trabalho com amostras em movimento. Simplificadamente, assumindo a pré-magnetização completa do núcleo, pode-se entender os tempos de relaxação aparentes conforme as equações 42 e 43 (16):

$$\frac{1}{T_1^{\text{fluxo}}} = \frac{1}{T_1^{\text{estático}}} + \frac{1}{T} \quad (42)$$

$$\frac{1}{T_2^{\text{fluxo}}} = \frac{1}{T_2^{\text{estático}}} + \frac{1}{T} \quad (43)$$

onde T indica o tempo de residência do núcleo na região do detector. Essas equações sugerem que para fluxos rápidos (baixos tempos de residência), tanto os tempos de relaxação spin-rede (T_1) e spin-spin decrescerão (T_2). Contudo, permaneceu impossibilitada a aquisição rápida de espectros quantitativos devido a amostra não ser totalmente magnetizada.

4 A TÉCNICA DO ESTADO ESTACIONÁRIO (SSFP)

Em 1958, buscando o aprimoramento de métodos de obtenção de medidas de tempos de relaxação e coeficiente de difusão, Carr propôs e analisou a técnica do estado estacionário, SSFP (do inglês, steady state free precession, figura 6) como um método de melhoria da razão sinal/ruído (17), sendo o sinal independente da não homogeneidade do campo magnético estático utilizado (ΔB_0).

Figura 6- Seqüência de pulsos do estado estacionário (SSFP)

Seguindo o proposto por Carr, Ernst e Anderson, em 1966, através da transformada de Fourier, conseguiram espectros em alta resolução com ganhos de aproximadamente dez vezes em intensidade, em tempos cem ou mais vezes menores que os obtidos com as técnicas padrões da época, já prevendo as dificuldades a ser encontradas utilizando amostras de estruturas mais complexas (18). Além disso, Ernst e Anderson também abordaram as características teóricas da seqüência trabalhada. O sinal SSFP constitui-se de duas componentes de magnetização independentes: a componente FID e a componente Eco. A componente FID deriva da relaxação provocada pelo pulso de RF, enquanto que a componente Eco surge da refocalização da magnetização restante no plano xy . Essas componentes podem estar em interferência destrutiva (offset par), ou construtiva (offset ímpar), podendo apresentar mínimos ou máximos de sinal.

Para dois pulsos, a seqüência do estado estacionário recai a seqüência $90^\circ - \tau - 90^\circ - \tau - \text{eco}$, também conhecida como Eco de Hahn (19), mostrado na figura 7:

Figura 7- Sequência de pulsos para o Eco de Hahn (19)

Hahn também sugeriu um sistema em 3 dimensões para exemplificar o comportamento da magnetização no fenômeno de eco: o primeiro pulso de 90° desloca o equilíbrio térmico (A) ao plano xy do referencial de coordenadas girantes, que passará o primeiro tempo τ se desfocalizando tanto por offset quanto pela não homogeneidade de campo (B a C), quando um segundo pulso de 90° é aplicado (C), levando a magnetização ao plano xz do mesmo referencial, fazendo que no mesmo tempo τ [E] a magnetização dispersa precesione ao redor do eixo z e se refocalize no plano xy , gerando o fenômeno do eco [F]. O modelo vetorial proposto é esquematizado na figura 8:

Figura 8- Modelo vetorial de Hahn para o fenômeno Eco de dois pulsos de 90° , também conhecido por *Eco de Hahn* (19)

Pelo desenho projetado pelas isocromatas na figura acima, essa sequência também é comumente designada por “Sequência bola 8”.

Em 1967, J. Kaufmann e A. Schwenk utilizaram várias técnicas, inclusive a do estado estacionário, para detectar sinais estreitos e muito fracos de RMN, em núcleos como Os no tetróxido de ósmio (20).

Contudo, um estudo teórico mais aprofundado foi feito somente em 1971, por Freeman e Hill (21), onde estudaram espectros de alta resolução de ^{13}C no estado estacionário. Eles observaram que para um intervalo entre pulsos menor que o tempo de relaxação spin-spin a magnitude da magnetização macroscópica atingia um verdadeiro estado estacionário. Nessa seqüência, um pulso após outro fazia uma nova refocalização da magnetização, e assim por diante, até sucessivos n pulsos, n ecos interfeririam com n FIDs causando amplitude constante após atingir o estado estacionário. Estudaram também as anomalias de fase geradas e propuzeram um método para sua eliminação. Um possível diagrama para exemplificar a interferência entre as componentes FID e Eco é mostrado na figura 9:

Figura 9- Magnetização de ^1H em um trem de pulsos de 90° (22).

Esse trabalho foi o primeiro a trazer as equações de Bloch propriamente voltadas ao estado estacionário. Para isso, bastou executar a multiplicação das matrizes de Bloch (equação 10) para a seqüência do estado estacionário, dado na equação 44:

$$\vec{M}_n = \hat{R}_z(\psi) \hat{S} \hat{R}_x(\alpha) \vec{M}_{n-1} + (1 - E_1) \vec{M}_0 \quad (44)$$

Onde M_n indica o vetor magnetização, componente FID, após o n -ésimo ciclo pulso-relaxação-precessão aplicado sob o $(n-1)$ -ésimo vetor de magnetização, já no estado estacionário, ou a componente Eco , M_- . Como no estado estacionário $M_n = M_{n-1}$, revolve-se o sistema e obtêm-se as equações 45 a 48 para a componente Eco :

$$M_x^- = \frac{M_0(1-E_1)[E_2 \sin(\alpha) \sin(\psi)]}{D} \quad (45)$$

$$M_y^- = \frac{M_0(1-E_1)[E_2 \sin(\alpha) \cos(\psi) - E_2^2 \sin(\alpha)]}{D} \quad (46)$$

$$M_z^- = \frac{M_0(1-E_1)[1 - E_2 \cos(\psi) - E_2 \cos(\alpha)(\cos(\psi) - E_2)]}{D} \quad (47)$$

$$D = (1 - E_1 \cos(\alpha))(1 - E_2 \cos(\psi)) - (E_1 - \cos(\alpha))(E_2 - \cos(\psi))E_2 \quad (48)$$

Basta uma nova multiplicação pela matriz que represente o pulso de RF $R_x(\alpha)$, para conseguir as componentes da magnetização FID, M^+ , mostradas nas equações 49 a 51:

$$M_x^+ = M_x^- \quad (49)$$

$$M_y^+ = \frac{M_0(1-E_1)[(1 - E_2 \cos(\psi)) \sin(\alpha)]}{D} \quad (50)$$

$$M_z^+ = \frac{M_0(1-E_1)[E_2(E_2 - \cos(\psi)) + (1 - E_2 \cos(\psi)) \cos(\alpha)]}{D} \quad (51)$$

Sendo todas essas equações dependentes de equações trigonométricas, oscilarão no tempo, atingindo por diversas vezes o mesmo estado, logo estado estacionário.

Outra informação importante trazida pelo trabalho de Freeman e Hill (21) foi o conceito de um novo estado estacionário, o estado de precessão livre de onda contínua (CWFP), um caso particular de SSFP onde o intervalo entre os pulsos é muito menor que o tempo de meia altura do espectro lorentziano obtido, e tanto a componente FID quanto a componente Eco passam a ter mesmo valor, constantes durante o experimento, facilmente notado em seu resultado da figura 10:

Figura 10- Resultados simulados por Freeman e Hill para diversas não homogeneidades de campo magnético estático. Note o estado de onda contínua no primeiro espectro superior (21).

Freeman e Hill notaram também que os espectros de alta resolução teriam mais alta sensibilidade se obtidos com certo ângulo ótimo, que maximiza as equações M_x^+ e M_y^+ , é ele (21):

$$\cos(\alpha_{opt}) = \frac{E_1 + E_2(\cos(\psi) - E_2) / (1 - E_2 \cos(\psi))}{1 + E_1 E_2 (\cos(\psi) - E_2) / (1 - E_2 \cos(\psi))} \quad (52)$$

Finalmente, em 1971, Schwenk publica uma abordagem sobre o problema das anomalias de fase, propondo que uma aquisição em quatro frequências distintas poderia corrigi-las (23). Relatou também algumas vantagens conseguidas pela técnica de SSFP utilizado na detecção de sinais de baixa intensidade ou longos tempos de relaxação, especialmente longa relaxação longitudinal quando comparada a transversal. Tão logo o

mesmo Schwenk divulga um extenso artigo de revisão, explicando detalhadamente diversas características dessa seqüência de pulsos (24).

4.1 A RMN-CWFP em baixa resolução

Azeredo e colaboradores, em meados do ano 2000, demonstraram que a seqüência de precessão livre no estado estacionário (SSFP-CWFP) poderia ser empregada na melhoria da razão sinal/ruído em medidas quantitativas de RMN de baixa resolução (25). Para isso utilizaram um trem de pulsos RF de 90° , separados por um intervalo T_p menor que $2T_2^*$, onde $1/(2\pi T_2^*)$ seria a meia largura de linha do espectro de RMN em um campo magnético não homogêneo. Com isso puderam utilizar um grande número n de pulsos e aquisições, num intervalo T_1 . Como a razão sinal/ruído é proporcional a $n^{1/2}$, para o caso da água foi possível obter um aumento de sensibilidade considerável de até 40 vezes.

A figura 11 apresenta diversas simulações de estado estacionário SSFP e CWFP obtidos em períodos T_p (ms) diferentes, (A) 500.1, (B) 108.3, (C) 56.1, (D) 29.1, (E) 15.5, (F) 2.7, (G) 0.9, (H) 0.3, num valor de offset múltiplo ímpar de π (5π), para tempos de relaxação $T_1=138\text{ms}$, $T_2=53\text{ms}$ sob distribuição Lorentziana com T_2^* de 0.5 ms (25):

Figura 11- Simulações de estado estacionário para diferentes períodos de pulso (25)

O sinal de onda contínua está presente no espectro *H*. Esse sinal demonstra magnitude constante, tanto antes quanto após o pulso de RF, e somente para pulsos de ângulo de nutação $\pi/2$ calibrados em offsets múltiplos ímpares de π , teria amplitude conforme a equação 53 (26):

$$|M_y^+| = |M_y^-| = |M_0| \frac{T_2}{T_1 + T_2} \quad (53)$$

Em outras palavras, Azeredo e colaboradores buscaram aquela condição particular já presente no trabalho de Freeman e Hill (21), mas até então pouco exploradas, numa abordagem de medidas analíticas quantitativas, abrindo as portas para diversos trabalhos, dissertações e teses prncialmente no grupo de RMN da EMBRAPA Instrumentação Agropecuária em São Carlos (22, 27, 28, 29, 30, 31).

Também advém desses trabalhos o classicismo em utilizar T_p em 300 μ s, bastando adiantar (assim como atrasar) o referencial de coordenadas girantes em 5 KHz para um máximo de sinal, causado pelo offset ímpar demonstrado na equação 54:

$$|\psi| = |\Delta\omega T_p| = 2\pi \cdot 5 \cdot 10^3 \cdot 300 \cdot 10^{-6} = 3\pi \quad (54)$$

Em outro trabalho (32), Azeredo e colaboradores exploram a condição CWFP, do inglês Continuous Wave Free Precession, em medições em RMN de baixo campo e demonstraram a variação da amplitude do sinal com a frequência de offset, apresentada na figura 12:

Figura 12 - Dependência CWFP entre a amplitude do sinal sobre o ângulo de offset ψ para diversos pulsos de rotação a obtidos para óleo vegetal ($T_1 = 0.071$ s e $T_2 = 0.038$ s, (a) experimental e (b) teórico) (32).

Continuando a abordagem, Venâncio e colaboradores estenderam o método CWFP a medidas rápidas e simultâneas de T_1 e T_2 através de um único experimento, baseado nas fases transientes do sinal CWFP não estacionária, quase-estacionária e estacionária (26).

Um trabalho semelhante foi desenvolvido por Venâncio e colaboradores em 2006, voltado ao monitoramento de cinética de processos de troca em processos de relaxação, como, por exemplo, difusividade térmica em borracha (33).

4.2 O efeito do fluxo no SSFP/CWFP

A literatura apresenta as primeiras medidas em fluxo obtidas com a seqüência do SSFP em meados da década de 1980, quando Patz e Hawkes tentaram melhorar as medidas de imagens por ressonância magnética (MRI) de fluxo sanguíneo, em diversos gradientes, velocidades e intervalo de pulsos, onde notaram a alta sensibilidade do sinal SSFP ao fluxo (34).

Seguindo esse raciocínio, três anos mais tarde Patz divulga um trabalho descrevendo e caracterizando por completo as características do SSFP em fluxo (35). Neste trabalho foi observado que na presença de um gradiente estacionário (G) surgiria uma magnetização

espacialmente periódica, de comprimento λ , com a amplitude da magnetização máxima não ocorrendo mais na frequência de Larmor, mas sim dependendo de condições experimentais como o ângulo de rotação causado pelo pulso de radiofrequência (α), o ângulo de offset (ψ), intervalo entre pulsos (T_p), velocidade (v) e o isótopo em questão (γ).

O parâmetro λ está relacionado com as diferentes magnitudes do campo magnético local, impondo uma fase de offset ϕ diferente em cada lugar do espaço, através do qual o spin precessiona durante o intervalo T_p entre os pulsos de RF. A magnetização do estado estacionário dependeria do resto da divisão desse ângulo de fase por 2π , ou seja, 2π periódica. Então, quando o grupo de isocromatas se move num tempo nT_p entre a posição velha e a nova, deslocando sua fase 2π , seria movido por uma distância λ . Em outras palavras, a troca de frequência (ν) que um spin experimentaria quando movesse uma distância λ seria $\Delta\nu = 1/\tau$, como mostrado na equação 55:

$$\Delta\nu = \frac{1}{\tau} = \gamma G \lambda \quad (55)$$

onde G seria a amplitude do gradiente. Resolvendo para λ , obtém a equação 56:

$$\lambda = \frac{1}{\gamma G \tau} \quad (56)$$

Pela periodicidade espacial da magnetização e pelo tempo finito que o estado estacionário demora a se estabelecer, Patz notou uma inerente sensibilidade ao fluxo de interesse nessa técnica. Spins movimentando-se claramente tentam estabelecer um estado estacionário diferente em resposta a cada avanço espacial, tal como a magnetização varia no espaço. Mais adiante, quão mais rápido um spin se move menos tempo ele leva a atingir um novo estado estacionário. Por esse tempo de resposta finito, seria esperado que o estado de magnetização correspondesse a uma queda como função do incremento da velocidade dos spins na direção da periodicidade espacial.

Para quantificar essa sensibilidade ao fluxo, Patz considerou um spin se movendo a velocidade v , que no intervalo T_p se deslocaria uma distância $\Delta u = vT_p$. Se Δu é pequeno, o estado estacionário da magnetização que o spin tenta estabelecer não muda muito. De fato, desde que a onda espacial λ é um comprimento característico onde a magnetização está variando, Δu tem que ser comparado com λ . Para essa finalidade, foi definido um parâmetro

de defasamento adimensional ϕ para parametrizar a sensibilidade ao fluxo, colocado na equação 57:

$$\phi = \frac{\Delta u}{\lambda} = \frac{vT_p}{\lambda} \quad (57)$$

Ou, pela substituição da equação 56, consegue-se novamente a equação 39:

$$\phi = \gamma G v T_p^2 \quad (39)$$

e a fase anteriormente citada foi, de outro modo, demonstrada.

Se durante o tempo T_p o spin viaja exatamente $n\lambda$, onde n é um número inteiro, o estado de magnetização estacionário não mudaria, entretanto, isso é apenas um caso particular. Contudo, se restringir Δu a valores menores que $\lambda/2$, um incremento em ϕ se refletiria em uma diferença cada vez maior entre as respostas e o spin e o estado alcançado antes e após T_p .

Claramente, ficou justificado que a sensibilidade ao fluxo varia com a mudança no comprimento de onda espacial λ .

Em 1995, Gudbjartsson e Patz continuam o estudo dando ênfase a simulações rápidas que previam tanto efeitos de difusão quanto fluxo em análises feitas no estado estacionário (36). Foi utilizado um método por partição, onde primeiro foi resolvido o caso de fluxo seguido pela resolução do caso de difusão, centrado apenas no estudo do eco, devido a este ser muito mais sensível ao fluxo e a difusão.

Através do exaustivo desenvolvimento teórico presente em seu apêndice, Gudbjartsson e Patz observaram que o estado estacionário possui uma dependência complexa com o fluxo e a atenuação por difusão apareceria em diferentes potências causadas pelo fato do sinal ser composto por diferentes spins com diferentes tempos. A dependência com o fluxo seria obviamente periódica, pois também é baseada somente em funções trigonométricas.

Suas simulações iniciais eram baseadas tanto nos métodos de Monte-Carlo e das diferenças finitas, mas se demonstraram usualmente muito vagarosas (36). Por isso, Gudbjartsson e Patz desenvolveram seu próprio modelo, baseado num modelo de caminhos randômicos condicionais, capaz de correlacionar difusão e fluxo sem velocidades

computacionais excessivas. Concluíram que com o aumento da razão T_2/T_p , efeitos de difusão seriam desprezíveis quando comparados a efeitos de fluxo (36).

A condição de onda contínua do estado estacionário em fluxo já foi desenvolvida por Azeredo e colaboradores, em um experimento onde o escoamento laminar de água foi estudado (37). O escoamento laminar é simplesmente um escoamento formado pela soma (integração) de várias velocidades, seguindo a lei de Poiseuille (37).

A caracterização teórica desse trabalho foi baseada nas equações de Bloch (equações 23 a 26), que devido às condições do SSFP, passam a ter um truncamento da defasagem relativa ao offset, pois a precessão é trancada no intervalo T_p , surgindo o ângulo de offset $\psi = \Delta\omega T_p$ que também será incrementado da fase ϕ já definida por maneiras diferentes, que nesse caso também se restringirá ao intervalo T_p ($\phi = \gamma G v T_p^2$), sugerindo que para o SSSP-CWFP em fluxo as equações de Bloch serão conforme a equação 58, com o operador rotação conforme a equação 59 (37), semelhante a que se usará nessa dissertação, onde os parâmetros M_x e M_y são as componentes real e imaginária da magnetização no plano, M_z a componente longitudinal, M_0 a magnetização no equilíbrio térmico, E_1 e E_2 os decaimentos exponenciais dos tempos de relaxação, α , ψ e ϕ os ângulos relativos ao nutação, offset e defasagem do fluxo, conforme já descrito anteriormente.

$$\begin{bmatrix} M_x \\ M_y \\ M_z \end{bmatrix}_{n+1} = R(n, \phi, \psi) \begin{bmatrix} M_x \\ M_y \\ M_z \end{bmatrix}_n + (1 - E_1) \begin{bmatrix} 0 \\ 0 \\ M_0 \end{bmatrix} \quad (58)$$

$$R(n, \phi, \psi) = \begin{bmatrix} \cos(\psi + n\phi) & \sin(\psi + n\phi) & 0 \\ -\sin(\psi + n\phi) & \cos(\psi + n\phi) & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{bmatrix} \times \begin{bmatrix} E_2 & 0 & 0 \\ 0 & E_2 & 0 \\ 0 & 0 & E_1 \end{bmatrix} \times \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 \\ 0 & \cos \alpha & \sin \alpha \\ 0 & -\sin \alpha & \cos \alpha \end{bmatrix} \quad (59)$$

Como as equações 58 e 59 são basicamente definidas por senos e cossenos, funções 2π -periódicas, Azeredo e colaboradores também notaram o ciclo de repetição desse sinal conforme as equações 60 e 61 (37):

$$\cos(\psi) = \cos\left(\psi + \frac{2\pi}{\phi} \phi\right) \quad (60)$$

$$\sin(\psi) = \sin\left(\psi + \frac{2\pi}{\phi}\phi\right) \quad (61)$$

E concluíram que o número de pulsos necessário para a repetição da magnetização SSFP-CWFP em fluxo é dada conforme a equação 62:

$$\Delta n = \frac{2\pi}{\phi} = \frac{2\pi}{\gamma G v T_p^2} \quad (62)$$

A interação do fluxo com a fase através das equações 58 e 59 foi tão espetacular que um ponto de magnitude nula, para baixas velocidades, foi explorado experimentalmente, nas condições de ângulo de nutação α de 90° , $T_1 = 2.85$ s, $T_2 = 2.76$ s, $T_2^* = 20$ ms e $T_p = 0.3$ ms, em dois ângulos de offset, 5π e $23\pi/4$, conforme mostra a figura 13 :

Figura 13 - Magnetização medida e calculada para água em fluxo laminar num tubo de raio $a=0.4$ cm como função da velocidade para offset $\psi=5\pi$, representado por bolas, e $23\pi/4$, representado por triângulos. As linhas contínuas são os resultados teóricos calculados para fase ϕ menor que zero e gradiente $G=0.097$ G/cm (37).

Como consequência da possibilidade de aquisição de vários espectros por unidade de tempo, Colnago e colaboradores desenvolveram um sistema para análise de sementes oleaginosas de diversas espécies em fluxo, com potencial de análise de mais de vinte mil amostras por hora, especificadamente voltados a análise de biodiesel (2).

Esse experimento foi executado de modo semelhante ao da presente dissertação, aliás, esse trabalho serviu como idéia base a presente dissertação. Colnago e colaboradores utilizaram um imã supercondutor Oxford de 30 cm de bore, com 2.1 T, e uma bobina tipo sela de 18x18 mm. O console utilizado foi um CAT100 e um pré amplificador Miteq 1054, sob seqüência CWFP com intervalo de pulsos T_p de 300 μ s, e ângulo de nutação α de 90° (equivalente a 10 μ s), também aplicado um offset ψ de 3π . As amostras foram alojadas em um tubo de PVC de 16 mm, no qual havia furos de 13 mm de diâmetro, movido a uma velocidade de 13 cm/s por um motor DC, conforme o esquema da figura 14, com d sendo a distância percorrida pela amostra no interior da região de campo magnético, antes de entrar na região da bobina. Para melhorar a razão sinal ruído e para obter resultados quantitativos, as amostras devem permanecer um tempo da ordem de $5T_1$, ou $V=d/5T_1$, assim estabelecendo o equilíbrio térmico da magnetização M_0 . Com os 30 cm de bore utilizados, na velocidade de 13 cm/s, a distância mínima necessária seria 13 cm, contudo a distância utilizada foi maior que 20 cm.

Figura 14 - Montagem experimental utilizada por Colnago e colaboradores para análise de sementes em fluxo (2)

O resultado conquistado com 95 fragmentos de noz macadâmia, nas condições descritas acima está na figura 15:

Figura 15 - Sinais de CWFP obtidos por análise de RMN em fluxo para fragmentos de noz macadâmia (2).

Na figura 15 pode ser observada a falta proposital de sinal na lacuna não preenchida com semente indicado pela seta. O sinal foi completamente coletado em 14 segundos e as massas estavam entre 0.1 e 0.7 gramas. A correlação entre as amplitudes dos resultados CWFP e as massas, diretamente proporcional a massa de óleo, das sementes de pinhão manso, soja e amendoim obtida é mostrada na figura 16, onde se pode ver um alto coeficiente de regressão linear, r^2 de 0.96, demonstrando a potencialidade do sistema para análises quantitativas de óleo em sementes hábil a ser usado no programa de melhoramento genético para produção de biodiesel.

Figura 16 - Comparação entre a amplitude CWFP e a quantidade de óleo presente na amostra (2)

Seguindo a mesma idéia de análises rápidas online, porém qualitativas, Prestes e colaboradores (38) usaram um sistema “Stop and Flow”, o qual utilizou a seqüência CPMG e

as constantes de decaimento transversal adquiridas para correlação com a qualidade do óleo presente em cada semente (índice de cetano, índice de iodo e viscosidade). Com essa técnica foi possível análises da ordem de 1000 amostras por hora. Esse método também foi usado por Correa e colaboradores para medida do teor de gordura intramuscular de carne bovina pelas técnicas CPMG e CWFP (39).

5 OBJETIVOS

O objetivo dessa dissertação é a implementação, o desenvolvimento e a avaliação de um sistema de RMN online, desenvolvido na Embrapa Instrumentação Agropecuária, para análises quantitativas de óleo em sementes oleaginosas guiados por motor de passo. Além disso, também foi objetivo a análise teórica da influência dos parâmetros espectrais clássicos (ângulo de nutação (α), ângulo de precessão do offset (ψ), tempos de relaxação longitudinal (T_1) e transversal (T_2), gradiente do campo magnético (G), velocidade da amostra (v), intervalo de pulsos (T_p) e isótopo (γ)) nessas medidas quantitativas em fluxo e sua verificação experimental.

5.1 Objetivos específicos

- Desenvolvimento e implementação do sistema de medidas RMN em fluxo
- Análise teórico-experimental dos parâmetros espectrais clássicos da RMN-CWFP usando as equações de Bloch.

6 MATERIAIS E MÉTODOS

6.1 Procedimentos teóricos

Os resultados teóricos foram obtidos por iterações das matrizes de Bloch definidas na seção 2.2, sob as condições experimentais para o estado estacionário em fluxo. Para isso, um algoritmo de multiplicação de matrizes e aquisições de vetores foi desenvolvido e implementado em plataforma Maple 12®:

Algoritmo para [RMN SSFP em fluxo]

```
> restart: (comando padrão utilizado para reinício de rotina, limpando toda a memória do programa)

> l:=0.4: (tamanho da bobina a ser utilizada, em centímetros)

> Tp:=300e-6: (intervalo de tempo entre os pulsos, em segundos)

> T1:=0.174: (tempo de relaxação longitudinal, em segundos)

> E1:=exp(-Tp/T1): (decaimento exponencial no tempo, adimensional)

> T2:=0.099: (tempo de relaxação transversal, em segundos)

> E2:=exp(-Tp/T2): (decaimento exponencial no tempo, adimensional)

> G:=0.097: (gradiente do campo magnético, em Gauss por cm, suposto constante)

> alpha:=Pi/2: (ângulo de nutação, em radianos)

> gama:=2.675e4: (constante magnetogírica do núcleo 1H (ou próton, em Hertz/Gauss)

> fd := fopen( "teste.txt", WRITE ): (abre um arquivo txt onde os resultados serão armazenados, se não especificado o local, será na mesma pasta onde está o arquivo mws, do maple)

> fprintf(fd, " %s %s %s %s %s %s %s\n ", "offset", "velocidade", "N", "U", "real", "imaginario", "magnitudo"):
(escreve na primeira linha do programa, as constantes na ordem que serão arquivadas, nesse
```

caso, a primeira variável será o offset, seguido pela velocidade, número de iterações descartadas, número de iterações utilizadas, parte real, imaginária e magnitude)

> **for w from 0 by 1 to 3 do** (abertura de laço *for*, permite variar o parâmetro em questão de uma forma mais simplificada)

> **psi:=(4+w*0.5)*Pi;** (variável onde a variável *w* do laço *for* atuará, no caso, as mesmas condições serão executadas para diversos offsets)

> **mx(0):= 0;** (componente x)

> **my(0):= 0;** (componente y)

> **mz(0):= 1;** (componente z)

> **M0:=Vector([0,0,(1-exp(-Tp/T1))]);** (vetor de recuperação da magnetização no eixo z)

> **fprintf(fd, " %g %g %g %g %g %g \n ", psi/Pi, 0, 0, 0, mx(0), my(0), sqrt((mx(0))^2+(my(0))^2));** (aquisição do ponto de velocidade zero, no arquivo txt externo)

> **print(psi/Pi, 0, 0, 0, evalf(mx(0)), evalf(my(0)), evalf(sqrt((mx(0))^2+(my(0))^2));** (aquisição do ponto de velocidade zero, no arquivo txt externo)

> **for v from 1 by 1 to 100 do** (abertura do laço para iteração nas velocidades onde as magnetizações CWFP serão calculadas)

> **phi:=gama*G*v*Tp^2;** (incremento de fase gerado pelo fluxo)

> **m1:=mx(0); m2:=my(0);** (variáveis onde serão acumuladas as partes real e imaginária)

> **k := 0;** (valor inicial atribuído a variável *k*)

N := 0; (valor inicial atribuído a variável *N*)

for k from 0 by 1 while N < 5*T1/Tp do (laço para cálculo do valor de *N*, executado até encontrar um valor de *N* maior que $5T_1/T_p$)

N:=ceil(evalf(2*Pi*k/phi)); (essa operação permitirá *N* ser múltiplo de $2\pi/\phi$)

end do; (encontrado o valor de *N*)

> **U:=ceil(evalf(gama*l*G*Tp/phi));** (definição do valor de *U*)

> **Rx := Matrix([[1,0,0],[0,cos(alpha),sin(alpha)],[0,-sin(alpha),cos(alpha)]]);** (declaração da matriz de pulso)

```

>      E := Matrix([[E2,0,0],[0,E2,0],[0,0,E1]]): (declaração da
matriz de relaxação)

>      m[0] := Vector([mx(0),my(0),mz(0)]): (declaração do vetor
magnetização em 3 dimensões no instante zero)

>      for p from 0 by 1 to N do (laço para cálculo da magnetização em cada
instante de tempo, designado pela variável p. Aqui os valores obtidos serão descartados.)

>      Rz := Matrix([[cos(psi-p*phi),sin(psi-p*phi),0],[-
sin(psi-p*phi),cos(psi-p*phi),0],[0,0,1]]): (declaração da matriz de
offset, diferente para cada instante de tempo, aqui já está sendo considerado que o fluxo é
contrário ao gradiente)

>      SS:=Rz.E.Rx: (definição completa da matriz do estado estacionário)

>      m[p+1] := evalf(SS.m[p]+M0): (iteração necessária para
obtenção da magnetização em cada instante de tempo)

>      #print(i,sqrt(m[p](1)^2+m[p](2)^2); (impressão da
magnetização na tela, para acompanhamento)

>      #fprintf(fd, " %g %g \n ", p,
sqrt(m[p](1)^2+m[p](2)^2)): (impressão da magnetização no arquivo, para
acompanhamento)

>      end do: (fim das aquisições descartadas)

>      for p from N by 1 to N+U do (laço para obtenção das U magnetizações
que serão acumuladas)

>      Rz := Matrix([[cos(psi-p*phi),sin(psi-p*phi),0],[-
sin(psi-p*phi),cos(psi-p*phi),0],[0,0,1]]): (novamente, a matriz de
offset)

>      SS:=Rz.E.Rx: (novamente a matriz do estado estacionário)

>      m[p+1] := evalf(SS.m[p]+M0): (novamente as iterações)

>      m1:=m1+m[p](1); (acúmulo das partes reais das U magnetizações)

>      m2:=m2+m[p](2); (acúmulo das partes imaginárias das U
magnetizações)

>      #print(p,m1/p,m2/p); (impressão parcial dos resultados na tela)

>      end do: (fim das aquisições acumuladas)

>      fprintf(fd, " %g %g %g %g %g %g %g\n ", psi/Pi, v, N, U,
m1/U, m2/U, sqrt((m1/U)^2+(m2/U)^2)): (escreve no arquivo txt os resultados

```

necessários da mesma forma que os resultados da velocidade zero, como offset (dividido por π , por facilitar a leitura), velocidade, N , U , parte real calculada, parte imaginária calculada e módulo total da magnetização calculada)

```
>      print(psi/Pi, v, N, U, evalf(m1/U), evalf(m2/U),
evalf(sqrt((m1/U)^2+(m2/U)^2))); ( escreve as mesmas coisas que a função
anterior, porém na tela, facilitando o acompanhamento da execução do programa)
> end do: (finaliza as velocidades)
> end do: (finaliza a variável w)
> fclose(fd): (fecha o arquivo txt, possibilitando sua leitura num ambiente externo ao
maple)
>
```

O estado inicial foi considerado normalizado(0,0,1), representando a normalização dos demais valores pelo valor do FID inicial.

A aquisição do ponto de velocidade zero teve que ser feita independentemente, pois a fase ϕ é nula, implicando em N infinito. As demais aquisições foram iniciadas em velocidade 1 cm/s com passo 1 até 100 cm/s, na condição de gradiente 0.097 G/cm, um valor apropriado segundo a literatura (37). Nessas condições, a execução completa do programa foi de aproximadamente 4 horas. Contudo devem-se levar em conta as condições de hardware e software disponíveis.

6.2 Procedimentos experimentais

6.2.1 Implementação do sistema online

Para a determinação rápida e automatizada tanto da qualidade quanto da quantidade de óleo em sementes intactas, por RMN de baixa resolução, através das seqüências de pulso CPMG e CWFP, foi desenvolvido na Embrapa Instrumentação Agropecuária um sistema de fluxo, baseado em uma esteira mecânica de poliacetal, formada por 105 gomos de 65 mm, o qual comporta o mesmo número de portas-amostras (figura 17a). Essa esteira é impulsionada por um motor de passo (com *drive* e fonte de alimentação da marca *Parker*TM, de corrente contínua) e controlada pelo software *NMR Automation* (figura 17b-e), também desenvolvido pelo grupo, em linguagem *Visual Basic*® (40). Para o controle da velocidade, aciona-se o botão “*Setup do motor*” da figura 17b, que quando acionado, apresenta uma mensagem de atenção (figura 17c) ao usuário antes de receber o comando, por esses comandos serem de fundamental importância para o bom funcionamento do motor. Se houver defeito de comunicação entre o computador e o motor pela porta RS232, uma mensagem de texto também é exibida (figura 17e).

Continua

continuação

Figura17 - (a) Esteira em funcionamento no imã de 2.1T, (b) Tela do software de programação do sistema de movimentação das amostras, (c) Mensagem de aviso ao entrar na área de acesso restrito, (d) Tela de configuração dos parâmetros do motor, (e) Mensagem de erro na comunicação via RS 232

Basicamente, os botões do software *NMR Automation* funcionam modo:

1. Acesso aos parâmetros da figura 17d. Ao acioná-lo, a mensagem da figura 17c é exibida.
2. O próximo passo é selecionar se o sincronismo será óptico (automático) ou manual. Nesse trabalho apenas o sincronismo manual foi utilizado, porém o sincronismo óptico não traria outras complicações.
3. Também se deve escolher entre modos de operação contínuo ou descontínuo. A escolha pelo modo contínuo leva à janela “operação em modo contínuo”, enquanto a escolha por operação em modo descontínuo leva à janela “operação em modo descontínuo”. O modo descontínuo é também conhecido como “*stop and flow*”.
4. Se escolhido sincronismo manual da esteira, esses são os comandos para acioná-la e desligá-la.
5. Modo de parada do motor pode ser realizado tanto após uma distância ou um número de voltas pré-determinadas.
6. Distância a ser percorrida pelo motor.
7. Aciona e pára o modo contínuo.
8. Distância de separação entre as amostras: geralmente a distância entre os gomos da esteira, no caso, 65 mm.
9. Número de amostras a serem analisadas pelo método descontínuo.
10. Controle das aquisições no modo descontínuo. Pode ser tanto guiado pelo Apollo, onde uma distância de separação automaticamente será percorrida após cada aquisição, ou por latência, onde após um tempo determinado uma distância de separação será percorrida.
11. Entrada do tempo de latência a ser executado.
12. Aciona e pára o método descontínuo.

Como pode ser observado na figura 17a, a esteira foi desenvolvida para atravessar um tomógrafo de RMN *Oxford*, de 2.1 T (85 MHz para núcleos de hidrogênio), com *bore* de 30 cm de diâmetro. A parte eletrônica de excitação e aquisição foi realizada por um console *CAT100* da *Tecmag*, controlado pelo software *NT-NMR*.

A aquisição dos dados de RMN para as análises em fluxo não pode ser realizada por bobinas solenóides simples, uma vez que a bobina deve ser atravessada pela esteira e que o campo B_1 deve ser perpendicular a B_0 . Assim, foram utilizadas bobinas do tipo Helmholtz (41) na forma de sela (figura 18a), onde espirais paralelas guiam corrente no mesmo sentido, gerando um campo magnético homogêneo em torno do seu centro de simetria. Uma malha de capacitores foi construída para o casamento e sintonia dessa bobina em frequência de 85 MHz e impedância em 50 Ohms (figuras 18 b e c).

Figura 18 - (a) Circuito de capacitores e bobina tipo Helmholtz utilizados para aquisição experimental, (b) Circuito LC sintonizável e (c) Circuito LC construído.

Além da sonda, sistemas para atenuação das vibrações mecânicas tiveram que ser construídos, como suporte para a bobina (figura 19a), um guia feito de cano de PVC (figura 19b), entre outros, contudo ainda é necessário aperfeiçoar mais o sistema para completa eliminação de ruídos mecânicos e eletromagnéticos advindos do funcionamento do motor e da esteira.

Figura 19 - a) Visão interna da bobina, esteira e guia montados. b) Guia de PVC suportado por duas placas de acrílico nas dimensões do tomógrafo.

O sistema de aquisição foi montado na região de saída da esteira, onde o sentido do gradiente é contrário ao sentido do fluxo. Como a amostra deve ficar a pelo menos $5T_1$ dentro do campo magnético para ser polarizada, sendo T_1 aproximadamente 500 ms (típico de óleos) e a distância viajada pelas amostras antes de atingir a bobina é de aproximadamente 60 cm, a velocidade limite onde haverá completa magnetização será conforme a equação 63:

$$v_{max} = \frac{60 \text{ cm}}{5 \times 0.5 \text{ s}} = 24 \text{ cm/s} \quad (63)$$

Conforme a esteira circula, um sinal de RMN é gerado quando amostras de semente atravessam a bobina, logo nas regiões sem amostras o sinal deverá ser nulo. Portanto, a intensidade CWFP indicará a quantidade de hidrogênios presente na amostra. Essa intensidade também dependerá das condições a qual a RMN vem sendo aplicada, como os tempos de relaxação (amplitudes CWFP dos óleos da mamona são menores que os do baru que por sua vez são menores que os da linhaça), o ângulo de nutação α e precessão de offset ψ , e, para o caso exclusivo do fluxo, da velocidade v , do intervalo entre pulsos T_p e do gradiente G , além do isótopo γ .

6.2.2 Medidas experimentais com sementes

Nos experimentos com sementes moídas de amendoim manteve-se o volume das amostras constante. Para isso, massas de 5.93, 6.19, 5.48, 5.73, 4.85, 4.39, 3.65, 3.53, 3.07, 3.14, 2.31 e 2.21 gramas de amendoim moído, nessa ordem, foram misturados em amido de milho (suposto sem sinal de RMN) até volume de 1 ml. Foi possível realizar uma correlação entre massa e amplitude do sinal CWFP e também entre área (gaussiana) e a amplitude do sinal.

Para análises das demais sementes oleaginosas, usaram-se nove portas amostras, com três quantidades distintas de sementes moídas de mamona (1.70, 1.34 e 1.63 g, respectivamente, com média aritmética 1.56 g), baru (2.10, 1.68 e 1.31 g, respectivamente, com média aritmética 1.70 g) e linhaça (0.98, 1.74, 1.66 g, respectivamente, com média aritmética 1.46 g), conforme o esquema da figura 20.

Figura 20 - Montagem experimental da esteira com as sementes de mamona, baru e linhaça.

Por diversas vezes a esteira foi acionada, com condições distintas, porém todas as sementes foram sujeitas as mesmas condições experimentais e o resultado final apresentado é a média aritmética das amplitudes geradas por cada amostra, em unidades arbitrárias. A variação dos tempos entre cada pico também foi utilizada, mas somente para uma medição mais precisa da velocidade da esteira.

6.2.3 Aquisição e processamento das medidas online

Para a aquisição experimental das análises CWFP online, a seqüência programada no software NT-NMR (figura 21) foi tipicamente um laço com o respectivo tempo de pulso RF (pw) proporcional ao ângulo de nutação (α), um intervalo de tempo (τ) ajustado para se fixar o T_p , ($T_p = pw + 2\tau + Aq$) um tempo de aquisição de 32 μs (adquirindo 32 pontos com *dwell time* de 1 μs , os quais forão feitos médias), e novamente o mesmo tempo (τ), semelhante a janela do software mostrada na figura 21. Observe que foram feitas somente aquisições ímpares (circulada em verde na figura 21), somente para diminuir o número de aquisições pela metade. O número de vezes que o ciclo foi acionado variou conforme a velocidade, desde 33 mil para velocidades baixas, até 12 mil para velocidades mais altas.

Figura 21- Seqüência CWFP utilizada para medidas em fluxo

O sinal CWFP experimental foi processado com as ferramentas de subtração de linha reta e suavização de curvas, realizado pelo software *Microcal Origin® 8.0 Pro*, ferramentas de *Subtract - Straight Line* e *Smoothing - Adjacent Averaging* (51 pontos), respectivamente.

6.2.4 Medidas de tempos de relaxação (T_1 e T_2)

Os tempos de relaxação (T_1 e T_2) foram levantados pelas seqüências Inversão-Recuperação (IR) (T_1) e CPMG (T_2), sob mesmos equipamentos utilizados no sistema de aquisição online. A não homogeneidade de B_0 utilizada causou uma largura de linha de aproximadamente 300 Hz. A largura do pulso de RF de 90° foi calibrada em 25 μ s.

A seqüência Inversão-Recuperação foi executada com intervalo de pulsos de 0.005, 0.025, 0.0375, 0.05, 0.0625, 0.075, 0.0875, 0.1, 0.125, 0.25, 0.375, 0.5, 0.675, 0.75, 0.875, 1, 1.125, 1.25, 1.5, 1.75, 2, 3.5, 5 e 8 s, com 4 varreduras, enquanto a CPMG teve tempo de repetição τ de 371 μ s, aquisição de 64 pontos, somente nos ecos pares e 8 varreduras. Ambas as seqüências foram executadas com 3 s de espera para relaxação completa da magnetização entre cada experimento (tempo maior que $5T_1$), tornando a aquisição total de um experimento CPMG em aproximadamente 20 segundos e a IR em 13 minutos.

Todas as regressões lineares e correlações foram obtidas também da plataforma *Microcal Origin® 8.0 Pro*, regressão para decaimento exponencial nas análises CPMG e regressão não linear nas análises IR. Pela sua relativa dificuldade, as análises IR partiram dos pesos conseguidos para os decaimentos CPMG com supostos valores de T_1 três vezes maiores que T_2 obtidos anteriormente, alcançando convergência.

7 RESULTADOS E DISCUSSÕES

7.1 A RMN CWFP em fluxo como ferramenta quantitativa

Neste trabalho usou-se uma esteira cuja tração é realizada com um motor de passos, diferentemente da esteira guiada por motor DC utilizada anteriormente por Colnago e colaboradores (2). O motor de passo apresenta a vantagem de melhor controle em uma ampla faixa de velocidades e com maior reprodutibilidade. No entanto, após alguns testes iniciais verificou-se que o sinal obtido com esse sistema apresentava um ruído muito intenso. Para exemplificar esse problema fizeram-se alguns testes com o motor desligado, ligado mas sem rotação e com rotação. Na figura 22, tem-se um espectro de semente de mamona obtido com único pulso (transformada de Fourier de um FID), obtido com o motor desligado (a) e motor ligado sem rotação (b), centrado na frequência 85.05560 MHz. Com pode-se ver na figura 22b, o ruído observado no sinal com motor ligado não é o ruído branco e é bem maior que o observado com o motor desligado. Com isso, fica evidente que ele é uma grande fonte de ruídos neste sistema.

Figura 22- Espectro de semente de manona, com o motor (a) desligado e (b) ligado

Na figura 23 são mostrados os resultados da análise do sinal CWFP no domínio do tempo, sem os porta-amstras, com o motor desligado (figura 23a), ligado, mas sem rotação (figura 23b), a esteira funcionando em velocidades de 8 cm/s (figura 23c), 13 cm/s (figura 23d) e de 18 cm/s (figura 23e). Como se vê, ao comparar as figuras a e b nota-se que o maior problema do ruído nas medidas em fluxo não é do motor estar ligado ou não ligado, como demonstrado na figura 22, pois em ambos os casos da figura 23, os sinais CWFP a e b apresentaram um nível de ruído similar. No entanto, quanto o motor e a esteira são acionados, mesmo em baixa velocidade (8cm/s) o ruído aumenta muito (figura 23c) se comparado com o motor e a esteira estática. Para velocidades maiores o ruído aumenta um pouco (figura 23d e e) indicando que a principal fonte de ruído tem origem nos pulsos usados para girar o eixo do motor e movimentar a esteira. Quando os portas-amstras e amostras são adicionados a esteira, o nível do ruído pode aumentar ainda mais, pois a bobina é também vibrada.

Figura 23- Sinal CWFP adquirido nas seguintes condições: a) motor desligado, b) motor ligado, esteira parada, c) esteira funcionando em velocidade 8 cm/s, d) velocidade 13 cm/s e e) velocidade 18 cm/s

Para exemplificar a influência desses ruídos nas aquisições dos sinais CWFP em fluxo, são mostrados na figura 24a espectros de CWFP obtidos para 3 amostras de mamona, 3 de baru e 3 de linhaça, em velocidade 8 cm/s, offset 3π e pulsos de 90° . Como pode-se ver nesta

figura o ruído gerado pelo motor/esteira é muito grande que dificulta a clara identificação dos 9 sinais das amostras. No entanto, a suavização do sinal pela média dos 51 pontos adquiridos vizinhos, conforme a figura 24b, reduz os ruídos de alta frequência, levando a uma razão sinal/ruído alta.

Figura 24 - Sinal CWFP obtido para 3 amostras de mamona, 3 de baru e 3 de linhaça, em velocidade 8 cm/s, offset 3π e pulsos de 90° : a) adquirido e b) suavizado.

Também se observou nestas medidas que a velocidade programada para esteira de 8 cm/s, foi de 8.09 cm/s, calculado pela divisão do tamanho dos portas-amostra pelo tempo entre picos. Neste caso velocidade calculada conteve um erro de aproximadamente 1%, em alguns experimentos chegou até 2%, desprezível para a maioria dos experimentos.

Para demonstrar a capacidade de quantificação das medidas por CWFP em fluxo, mesmo com esse ruído, fez-se alguns experimentos com amostras de amendoim moído. As amostras de amendoim moído (seis amostras em duplicata variando de 100% em massa de amendoim até 50% de 10 em 10%, todas em um mesmo volume) utilizadas para análises quantitativas por CWFP em fluxo foram submetidas a um trem de pulsos de 45° , velocidade de 15.8 cm/s e alguns valores de offset entre 0 e 1.5π (figura 25). Como pode-se ver, para a maioria dos offsets as amplitudes foram proporcionais a concentração. Somente no caso do offset nulo o sinal não apresentou correlação com a quantidade de amendoim. Para uma avaliação quantitativa dessa análise fez-se uma correlação entre a amplitude do sinal (figura

26a) e área do sinal (figura 26b) com a massa de amendoim das amostras. Nestas figuras obteve-se uma alta correlação tanto com a intensidade do sinal CWFP, $r > 0,99$, quanto com a sua área, ajustada como função gaussiana cujo $r > 0,97$. Também se fez a correlação entre a área das gaussianas e a amplitude do sinal CWFP, obtendo-se um $r > 0,99$.

Com isso, conclui-se que as análises quantitativas por CWFP on-line podem ser tanto pela amplitude quanto pela área do sinal adquirido e que mesmo com o ruído induzido pelo motor/esteira às análises são bem reproduzíveis.

Figura 25 - Sinal CWFP para algumas amostras de amendoim moído (seis amostras em duplicata variando de 100% de amendoim até 50% de 10 em 10%) submetidas a pulsos de 45° , velocidade de 15,8 cm/s, e alguns valores de offset (0, $0,75\pi$, π e $1,5\pi$ respectivamente em verde, preto, azul e vermelho, as curvas em azul e preto são aproximadamente iguais)

Figura 26- Comparação entre a intensidade dos sinais para o offset π , mostradas na figura 25 com a massa das amostras. (b) Comparação entre a área das gaussianas com as mesmas massas.

Como se pode ver na figura 25, os parâmetros espectrais podem interferir na capacidade de quantificação do método. Para avaliar o efeito de todos os parâmetros experimentais envolvidos na quantificação do teor de óleo em sementes por CWFP em fluxo, optou-se por um estudo teórico, baseado nas equações de Bloch. Para isso, foi necessário determinar os tempos de relaxação T_1 e T_2 de algumas sementes oleaginosas de óleos com tempos de relaxação bastante distintos, como mamona, baru e linhaça.

7.2 Medidas de Relaxação

Para a determinação dos tempos de relaxação T_1 e T_2 utilizou-se as seqüências IR e CPMG, cujos dados são apresentados na figura 27. Como estas figuras mostram, a mamona tem os menores tempos de relaxação e a linhaça os maiores. Para as medidas dos tempos de relaxação fez-se ajuste mono e bi exponencial, que são apresentados nas tabelas 1 (T_1) e 2 (T_2).

Figura 27 - Resultados da seqüência IR (a) e CPMG (b) para sementes de mamona (preto), baru (vermelho) e linhaça (verde)

Tabela 1 - Resultados para T_1

	M_{11}	$T_{11}(s)$	M_{12}	$T_{12}(s)$	r^2
Mamona	0,76	0,090	0,24	0,294	0,98
	1,00	0,117			0,98
Baru	0,50	0,091	0,50	0,340	0,99
	1,00	0,174			0,98
Linhaça	0,57	0,111	0,34	0,468	0,99
	1,00	0,206			0,98

Na tabela 1 os valores de T_1 em verde e vermelho são relativos às bi-exponenciais tipo a equação 68:

$$M_{IR}(\tau) = M_{11} \left(1 - 2e^{-\tau/T_{11}}\right) + M_{12} \left(1 - 2e^{-\tau/T_{12}}\right) \quad [68]$$

com pesos normalizados, e os parâmetros em azul a mono-exponencial semelhantes a equação 69:

$$M_{IR}(\tau) = M_{11} \left(1 - 2e^{-\tau/T_{11}}\right) \quad [69]$$

Para os valores de T_2 , colocados na tabela 2, os valores em verde e vermelho também são relativos às bi-exponenciais normalizadas, segundo a equação 70:

$$M_{CPMG}(\tau) = A_{21}e^{-\tau/T_{21}} + A_{22}e^{-\tau/T_{22}} \quad [70]$$

E os parâmetros em azul também a mono-exponencial, pela equação 71:

$$M_{CPMG}(\tau) = M_{21} \left(1 - 2e^{-\tau/T_{21}}\right) \quad [71]$$

Tabela 2 - Resultados para T_2

	A_{21}	$T_{21}(s)$	A_{22}	$T_{22}(s)$	r^2
Mamona	0,76	0,010	0,24	0,072	0,99
	0,77	0,024			0,91
Baru	0,50	0,043	0,50	0,151	0,99
	0,86	0,099			0,94
Linhaça	0,57	0,070	0,43	0,253	0,98
	0,85	0,148			0,95

Esses resultados demonstraram os diferentes valores de relaxação para as três amostras. A mamona com seus tempos de relaxação curtos, a linhaça com seus tempos mais longos e o baru com comportamento intermediário, podendo representar bem todas as demais sementes oleaginosas.

7.3 Análise teórico-experimental dos parâmetros espectrais clássicos da RMN-CWFP usando as equações de Bloch

7.3.1 Resultados teóricos

A quantificação do teor de óleo em sementes por CWFP em fluxo depende de diversos fatores experimentais, como o ângulo de pulso α , o ângulo de precessão de offset ψ , o tempo entre os pulsos T_p , o gradiente de campo magnético G , a velocidade de fluxo v , além dos tempos de relaxação da amostra. Como descrito na seção 7.1, não é necessário um profundo domínio desses parâmetros para a utilização da sequência CWFP em medidas quantitativas, porém um estudo detalhado desses fatores auxilia o usuário a aperfeiçoar suas medidas e a compreender os fenômenos envolvidos.

Para avaliações da influência dos parâmetros espectrais no sinal CWFP, foram usadas as equações de Bloch, acrescidas as condições de fluxo, já citadas nas equações 58 e 59:

$$\begin{bmatrix} M_x \\ M_y \\ M_z \end{bmatrix}_{n+1} = R(n, \phi, \psi) \begin{bmatrix} M_x \\ M_y \\ M_z \end{bmatrix}_n + (1 - E_1) \begin{bmatrix} 0 \\ 0 \\ M_0 \end{bmatrix} \quad (58)$$

$$R(n, \phi, \psi) = \begin{bmatrix} \cos(\psi + n\phi) & \sin(\psi + n\phi) & 0 \\ -\sin(\psi + n\phi) & \cos(\psi + n\phi) & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{bmatrix} \times \begin{bmatrix} E_2 & 0 & 0 \\ 0 & E_2 & 0 \\ 0 & 0 & E_1 \end{bmatrix} \times \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 \\ 0 & \cos \alpha & \sin \alpha \\ 0 & -\sin \alpha & \cos \alpha \end{bmatrix} \quad (59)$$

No caso sem fluxo ($\phi=0$, pois $v=0$), o sinal também pode ser simulado com as equações 58 e 59, e está presente na figura 27. Nesta figura simulou-se a magnitude do sinal de RMN, a partir do equilíbrio térmico, sob a ação de um trem de pulsos de 90° de fase α , a intervalo T_p de 0.3 ms, offset ímpar, tempos de relaxação longitudinal de 600 ms e transversal de 300 ms. O sinal está simulado até $5T_1$, equivalente a um número de pulsos $n = 5T_1/T_p$, e nota-se uma região que não se encontra no estado estacionário e oscila a cada novo pulso (aproximadamente entre 0 e 2.5s). Assim, essa parte do sinal é desprezada nas simulações da influência dos parâmetros espectrais. Na ausência de fluxo, o sinal CWFP atinge o estado estacionário, com amplitude constante, por volta de 3 s ($5T_1$). Contudo, evidências experimentais mostram que esse tempo é bem menor e dependente de T_2^* , mas como sempre $T_1 > T_2 > T_2^*$, esperar $5T_1$ garante que $5T_2^*$ foi alcançado (26).

Figura 28 - CWFP estático simulado

Na figura 29 está a amplitude simulada dos sinais real, imaginário e magnitude no estado estacionário, em função de valores de offsets, onde se pode ver que a magnitude (linha preta) é mínima para valor pares e máxima para valores impares de π , nas condições mostradas na figura 29. A parte imaginária (linha vermelha) tem comportamento positivo e similar à magnitude enquanto que a parte real (linha azul) oscila entre valores negativos e positivos.

Figura 29 - Amplitudes CWFP estático nas condições anteriores com sua magnitude (em preto), parte real (em azul) e parte imaginária (em vermelho)

Para o caso de amostras em fluxo, o sinal de RMN além de depender dos parâmetros do caso estático, passa também a depender da fase ϕ , pois esta será diferente de zero, e do número de pulsos (n) que a amostra está sujeita (equações 58 e 59). Na figura 30 está simulado o efeito do fluxo no sinal CWFP para $\phi=0.00025$, 0.0005 , 0.00075 e 0.001 , do equilíbrio térmico até um tempo maior que $5T_1$. Como mostra esta figura, o sinal CWFP não atinge uma amplitude constante no estado estacionário, como no caso sem fluxo (figura 25), mas passa a oscilar com uma frequência proporcional a mudança da fase ϕ (0.00025 (em preto), 0.00050 (em vermelho), 0.00075 (em verde) e 0.001 (em azul)) e do número de pulsos n .

Figura 30 - Simulação do sinal CWFP em fluxo para $T_1 = 600\text{ms}$, $T_2 = 300\text{ms}$, $T_p = 300\mu\text{s}$, pulsos de 90° , em offset ímpar (máxima amplitude para o caso estacionário), nas fases ϕ com valores 0.00025 (em preto), 0.00050 (em vermelho), 0.00075 (em verde) e 0.001 (em azul).

Essas oscilações nada mais são do que a variação da amplitude com os offsets incrementados em ϕ presentes nos gráficos da figura 29, porém com uma amplitude menor quanto maior a fase, pois o fluxo faz com que a amplitude dos máximos do sinal também diminua, e frequência dada pela equação 62. Todavia, a aquisição do sinal CWFP em fluxo não se dá com o módulo da magnetização presente na figura 29, e sim com as componentes real e imaginária do sinal, mostradas na figura 31. Nesta figura pode-se ver que os sinais em magnitude e real e imaginários para $\phi = +0.001$ (a) e $+0.002$ (b).

Figura 31 - Magnitude (em preto), componentes real (em azul) e imaginária (em vermelho) para o sinal CWFP em fluxo nas mesmas condições anteriores com fases ϕ : (a) $+0.001$, (b) $+0.002$

Já a influência do sinal de ϕ no CWFP é mostrada na figura 32. Nesta figura pode-se ver que a diferença entre uma fase positiva e negativa gera uma alteração na parte real, onde a fase positiva gera o sinal azul e a fase negativa gera o sinal vermelho. Já o sinal imaginário e magnitude são insensíveis a essa mudança no sinal da fase. Essa simetria pode ser representada conforme equações 64, 65 e 66, por função ímpar em relação à troca do sinal de ϕ para a parte real da magnetização, e função par para a parte real e magnitude:

$$Re(\phi) = -Re(-\phi) \quad (64)$$

$$Im(\phi) = Im(-\phi) \quad (65)$$

$$Mag(\phi) = Mag(-\phi) \quad (66)$$

Figura 32 - Componentes real (vermelha para fase ϕ positiva, azul para negativa), imaginária (cinza) e magnitude (preta) do sinal CWFP em fluxo nas condições da figura 31a, fixado em um só período, facilitando a distinção entre as componentes e visualizando sua correlação.

Essa variação no sinal da fase ϕ , possui explicação experimental e trará conseqüências ao resultado da magnetização total por interferirem nas partes real e imaginária calculadas pelas equações de Bloch: a fase será positiva quando o gradiente e a velocidade estiverem no mesmo sentido e negativa se tiverem sentido contrário. Experimentalmente, o sistema de aquisição de dados foi montado na região de saída da esteira, onde o sentido do gradiente é contrário ao sentido do fluxo (figura 33), assim a fase ϕ será sempre negativa nas medidas experimentais deste trabalho, contudo ainda se pode considerar essa fase positiva para o desenvolvimento da teoria.

Figura 33 - Esteira em execução com as indicações do sentido do fluxo (em azul) e do gradiente (em vermelho) para descrever o sinal da fase ϕ .

O ângulo de offset também será importante na aquisição desses dados (figura 29 e 31), interferindo no ponto de aquisição inicial, podendo ser mínimo (offset múltiplo par de π), ou máximo (offset múltiplo ímpar de π). Essa informação será satisfeita pela multiplicidade da condição de alcance do estado estacionário, $5T_1/T_p$ junto do fator da equação 62, $2\pi/\phi$, garantindo estar novamente no mesmo offset.

Finalizando, o número de pulsos a ser adquirido (U), obviamente dependerá da velocidade da esteira, sendo muitos para velocidades lentas e poucos para velocidades altas, e também dependerá do tamanho da bobina utilizada. Sendo v uma velocidade qualquer, para uma bobina de tamanho l , a cada vT_p percorridos, a amostra sofrerá mais um pulso, logo o número total de pulsos que serão a amostra aplicados será $l/(vT_p) = \gamma l G T_p / \phi = U$, para fluxos lentos U é aproximadamente 600 (velocidade 2 cm/s em bobina de 0.4 cm) e para fluxos rápidos U é aproximadamente 20 (velocidades da ordem de 100 cm/s em mesma bobina). Exemplificando esse somatório, a figura 33 traz situações, depois de alcançado o estado estacionário, para o somatório da parte real onde a fase ϕ é positiva (a) e negativa (b), e a parte imaginária (c). E novamente nota-se que as semelhanças e diferenças na sua simetria, que poderão trazer simetria no resultado final.

Figura 34 - Resultado teórico para CWFP em fluxo, em alguns offsets (4π na cor preta, 4.5π na cor vermelha, 5π na cor azul e 5.5π na cor azul claro), das integrações para parte real com fase negativa (a), positiva (b) e parte imaginária, igual tanto para fase positiva quanto negativa. As linhas finas indicam os pulsos descartados, enquanto as seguintes linhas grossas indicam os pontos acumulados. Foram assumidos $T_1 = 600\text{ms}$, $T_2 = 300\text{ms}$, $\phi = 0.0025$, $\alpha = 90^\circ$, $T_p = 300\mu\text{s}$, $l = 0.4\text{ cm}$, $v = 15\text{ cm/s}$. Note que aqui se aguardou 2 ciclos de $2\pi/\Delta\phi$ pulsos até o número de pulsos ser maior de $5T_1/T_p$.

Sucintamente, os resultados teóricos serão obtidos por iterações das equações 58 e 59, onde serão desprezados pulsos múltiplos de $2\pi/\phi$ maior que $5T_1/T_p$ iterações (10054, na figura 33), e acumulado por U pulsos (89, na figura 33), habilitando o estudo teórico da amplitude do sinal CWFP como função de diversos fatores. Sendo N esses pulsos desprezados, o módulo da magnetização resultante será, portanto:

$$M_{xy} = \sqrt{\left(\frac{\sum_{N+U}^{N+U} M_{x_i}}{U}\right)^2 + \left(\frac{\sum_{N+U}^{N+U} M_{y_i}}{U}\right)^2} \quad (67)$$

Analisando a equação 67, nota-se que o sinal de RMN para uma amostra qualquer em fluxo somente será nulo se forem nulos simultaneamente ambos os somatórios sobre as parte real e a parte imaginária, ocorrendo somente com uma bobina de comprimento infinitesimal, de modo à somente um ponto ser adquirido, pois o imediatamente anterior, ou posterior, deverá entrar na magnetização resultante. Todavia, esses sinais anteriores ou posteriores ao ponto nulo têm magnitudes muito pequenas, tornando a magnetização quase nula para bobinas suficientemente estreitas em algumas condições de offset.

Com essas considerações iniciais passamos a analisar teoricamente a influência dos fatores como o ângulo de pulso α , o ângulo de precessão de offset ψ , o tempo entre os pulsos T_p , o gradiente G , a velocidade de fluxo v , além dos tempos de relaxação da amostra nas medidas quantitativas de CWFP em fluxo.

7.3.1.1 Influência dos tempos de relaxação (T_1 e T_2) e ângulo de offset (ψ)

Para as simulações do efeito dos tempos de relaxação usou-se os valores mono-exponenciais de tempos de relaxação de óleos vegetais das tabelas 2 e 3, para as bi-exponenciais bastaria traçar as curvas para cada par de tempos de relaxação e ponderá-las, contudo as mono-exponenciais exemplificam bem as curvas. Relembrando, os valores a serem usados são $T_1 = 117$ ms e $T_2 = 24$ ms, para a mamona, representando o óleo mais viscoso, o baru, com $T_1 = 174$ ms e $T_2 = 99$ ms, óleo com viscosidade intermediária e a linhaça, com $T_1 = 206$ ms e $T_2 = 148$ ms, óleo de menor viscosidade.

Na figura 35 estão simulações dos sinais CWFP em fluxo (fase positiva a e negativa b), para o caso da amostra de óleos típicos da mamona, em alguns valores de offset, em um campo magnético de gradiente linear de 0.097G/cm, um valor experimental aproximado, pulsos de 90° e razão magnetogirica de núcleos de hidrogênio, em uma bobina de 0.4cm de comprimento. Nestas figuras pode-se ver que até para 100 cm/s as intensidades dos sinais

quase não varia para os vários offsets analisados. Também nota-se que para os valores pares e ímpares de π , os sinais são os mesmos, independente do sinal de fase. Para os outros valores nota-se uma simetria entre os sinais com fase positiva e negativa de acordo com a tabela 1, em função da semelhança da integração do sinal da figura 30, generalizados para um offset $2\pi + \theta$ qualquer.

Figura 35 - Resultados teóricos para o óleo de mamona sob a seqüência CWFP em fluxo, sob offsets $2n\pi$ (preto), $(2n+1/4)\pi$ (vermelho), $(2n+1/2)\pi$ (verde), $(2n+3/4)\pi$ (azul escuro), $(2n+1)\pi$ (azul claro), $(2n+5/4)\pi$ (rosa), $(2n+3/2)\pi$ (cinza), $(2n+7/4)\pi$ (amarelo escuro), com n um número inteiro qualquer, gradiente de 0.097 G/cm e pulsos de 90° , (a) fase positiva na e (b) fase negativa

Tabela 3 - Correlação das amplitudes do sinal CWFP em fluxo para fases de módulo positivo e negativo, conforme a figura 34 (em azul), usando simetria trigonométrica (em vermelho) e generalizadas (em preto)

$\phi < 0$		$\phi > 0$	
$2n\pi$	$2n\pi$	$=$	$2n\pi$
$(2n-7/4)\pi$	$(2n+1/4)\pi$	$=$	$(2n+7/4)\pi$
$(2n-3/2)\pi$	$(2n+1/2)\pi$	$=$	$(2n+3/2)\pi$
$(2n-5/4)\pi$	$(2n+3/4)\pi$	$=$	$(2n+5/4)\pi$
$(2n-1)\pi$	$(2n+1)\pi$	$=$	$(2n+1)\pi$
$(2n-3/4)\pi$	$(2n+5/2)\pi$	$=$	$(2n+3/4)\pi$
$(2n-1/2)\pi$	$(2n+3/2)\pi$	$=$	$(2n+1/2)\pi$
$(2n-1/4)\pi$	$(2n+7/4)\pi$	$=$	$(2n+1/4)\pi$
$2n\pi + \theta$		$=$	$2n\pi - \theta$

Nas figuras 36a e b estão as simulações para valores negativos de fase para os óleos nas sementes de baru e linhaça, respectivamente. As simulações para a fase positiva não são apresentadas, pois apresentam a mesma relação de simetria da tabela 1.

Como se pode ver nas figuras 35 e 36 há uma correlação inversa entre os valores dos tempos de relaxação e a sensibilidade ao fluxo, ou seja, a linhaça (figura 36b) que tem os maiores tempos de relaxação é mais sensível do que o baru (figura 36a) e esse por sua vez é mais sensível do que a mamona (figura 35), que tem os menores tempos de relaxação. Essa informação é muito importante, pois se deve tomar muito cuidado para amostras com tempos de relaxação mais longos, uma vez que um pequeno erro de ajuste de offset e de velocidade pode levar a valores completamente diferentes e até nulos para alguns casos. Já no caso da mamona (figura 34) um pequeno erro na velocidade pouco altera a intensidade do sinal CWFP.

Figura 36 Resultados teóricos para substância tipo óleo de baru (a) e linhaça (b) sob a sequência CWFP em fluxo, em offsets $2n\pi$ (preto), $(2n+1/4)\pi$ (vermelho), $(2n+1/2)\pi$ (verde), $(2n+3/4)\pi$ (azul escuro), $(2n+1)\pi$ (azul claro), $(2n+5/4)\pi$ (rosa), $(2n+3/2)\pi$ (cinza), $(2n+7/4)\pi$ (amarelo escuro), com n um número inteiro qualquer, gradiente de 0.097 G/cm e pulsos de 90° , fase negativa ($\phi < 0$)

Nas figuras 35 e 36 nota-se também uma semelhança nas curvas de $(2n+1)\pi$, $(2n+5/4)\pi$ e $(2n+3/2)\pi$, pois ambas são monotonicamente decrescentes, enquanto $(2n+3/4)\pi$, $(2n+1/2)\pi$ e $(2n+1/4)\pi$ iniciam crescendo até chegar numa velocidade máxima e a partir dessa decrescem, e também entre as curvas $(2n)\pi$ e $(2n+7/4)\pi$, que decrescem atingindo uma

velocidade mínima para depois crescerem. Conforme a figura 36b, a variação dos tempos de relaxação altera o agrupamento dessas curvas, como, por exemplo, a curva do offset $(2n+3/2)\pi$ que se torna decrescente até um mínimo e depois crescente.

Essas características ficam mais facilmente visualizadas analisando as componentes da equação 67, individualmente. A figura 37 mostra as componentes real, imaginária e magnitude das magnetizações mostradas na figura 36a, para somente um representante de cada caráter de tonicidade. O offset $(2n+1/4)\pi$ tem sua parte real aumentada até uma velocidade de aproximadamente 55cm/s, e após um leve decaimento, como sua parte imaginária é aproximadamente constante, a parte real guiará o crescimento da magnitude. Já o offset $(2n)\pi$ representa as curvas que somente decaem, explicados por seguir sua parte imaginária somente decaindo, enquanto que a real é basicamente zero (só não é zero porque a bobina possui um comprimento finito) não causando grandes modificações no resultado. Por fim, o offset $(2n+7/4)\pi$ representa as curvas que diminuem e crescem, pois tanto sua parte real quanto imaginária começam de valores negativos, cruzando o zero em velocidades idênticas (44.5 cm/s), para assim haver seu crescimento.

Figura 37 - Componentes real (tracejada) e imaginária (pontilhada), também a magnitude (contínua), para os exemplos de offset $(2n+1/4)\pi$ (vermelho), $(2n+1)\pi$ (azul claro) e $(2n+7/4)\pi$ (amarelo escuro) presentes na figura 36a.

Para a influência dos outros parâmetros no sinal CWFP serão utilizados os valores de relaxação do baru, por este representar melhor as sementes oleaginosas, e será apresentado os valores de offset ψ de $(2n-1/4)\pi$ (com $n=2$, logo ψ igual 3.75π) e $(2n+1/4)\pi$ (com n igual a 1, logo ψ igual 2.25π), pela semelhança entre si com os offsets de fase oposta ($2n\pm 1/4$), representando melhor as características da figura 37.

7.3.1.2 Influência do ângulo de natação (α)

Para as simulação da influência do ângulo de natação, os tempos de relaxação foram mantidos em T_1 a 174 ms e T_2 a 99 ms, em fluxo sob offset 3.75π , fase positiva (figura 38a) e negativa (figura 38b) e campo magnético com gradiente de 0.097 G/cm numa bobina de 0.4 cm de comprimento.

Figura 38 - Resultado teórico da variação do ângulo de natação (18° em preto, 36° em vermelho, 63° em verde, 90° em azul, 126° em azul claro) sob a seqüência CWFP em fase de módulo positivo (a) e negativo (b)

Da figura 38a se pode concluir que as curvas apresentam um comportamento diferente até o ângulo ótimo, que nas condições de tempos de relaxação e offset aplicados, a equação

52 sugere que são pulsos de 32.2° (na figura anterior mais aproximado pela condição de 36°) mostrando o máximo de sinal nessa condição para após ir sofrendo deslocamentos de fase que farão com que o máximo do sinal não seja mais em velocidade zero e também não com o ângulo ótimo.

Pelo resultado 38b novamente se observa que pulsando em ângulos de nutação menores ou maiores que o ótimo o comportamento das curvas são um pouco distintos. Contudo, o ponto de inversão se mantém constante em relação ao pulso dado, algo que já poderia ter sido deduzido ao analisar que a matriz de Bloch das equações 58 e 59, onde o ângulo de nutação influencia, independente do tempo e dos outros fatores relativos ao fluxo.

Devido a essa não variação do sinal CWFP com relação ao ângulo de nutação, os próximos resultados serão feitos com pulsos de 90° , pois são tecnicamente mais difundidos e mais fáceis de obter.

7.3.1.3 Variações na fase (ϕ) devido a alterações do gradiente (G), intervalo de pulsos (T_p), e do isótopo analisado (γ)

Nesse caso, a discussão geral baseia-se na variação da fase, pois conforme já foi demonstrado, nela está à influência das variáveis G , T_p e γ , pela equação 39:

$$\phi = \gamma G v T_p^2 \quad (39)$$

Assim, a variação da constante magnetogírica é semelhante à variação do gradiente que é semelhante à variação quadrática do intervalo de pulsos, que por fim é semelhante às variações da velocidade. Como já mostrado, além do comportamento do sinal CWFP, essa fase também implica em alterações da amplitude do sinal RMN CWFP (figura 30).

Simulando tempo de relaxação longitudinal T_1 de 0.174 s e transversal T_2 de 0.099s, tempo de pulsos de 90° de $300\mu\text{s}$, num offset 3.75π , a variação do sinal CWFP pela variação do gradiente com valores 0.022, 0.036, 0.097, 0.160, 0.435 e 0.717 G/cm resultou nos gráficos da figura 39:

Figura 39 - Influência do gradiente do campo magnético G no sinal CWFP em fluxo para fase ϕ (a) positiva e (b) negativa, para gradiente 0.022 (em preto), 0.036 (em vermelho), 0.097 (em verde), 0.160 (em azul) e 0.435 (em azul claro) e 0.717 G/cm (em rosa)

Portanto, a variação do gradiente G gera alterações significativas no sinal de RMN CWFP gerado, como em sua amplitude e pontos de inflexão. Desse modo, assumindo G em 0.097G/cm, o estudo fica bem demonstrado.

Já a variação do intervalo entre pulsos apresenta variação quadrática com a variação da fase, cujo resultado, novamente para T_1 de 0.174s e T_2 de 0.099 s, isótopos de ^1H , bobina de 0.4 cm de comprimento, gradiente de 0.097G/cm, pulsos de 90° e offset de 3.75π , seria a figura 40:

Figura 40 - Influência do intervalo entre pulsos T_p (150 μ s em preto, 300 μ s em vermelho, 600 μ s em verde e 900 μ s em azul) no sinal CWFP em fluxo para fase ϕ (a) positiva e (b) negativa

Assim vê-se que a alteração da fase causada pela variação do intervalo de pulsos T_p é praticamente uma mudança nas amplitudes com alta amplitude de magnetização, e essa variação, por ser quadrática, decai rapidamente. Por isso, pode-se continuar com o classicismo de usar T_p em 300 μ s, sem perda de generalização.

Finalizando, a alteração da razão magnetogírica para diferentes isótopos faz com que a fase ϕ varie de forma aleatória, seguindo a relação da variação de γ relativo a cada isótopo, conforme a tabela 4. O sinal negativo indicaria que para aquele isótopo a fase teria sinal oposto, seria positiva quando a amostra saísse do magneto e negativa quando entrasse.

Tabela 4 - Constante giromagnética de alguns isótopos (42)

Isótopo	$\gamma(10^4 \text{s}^{-1} \text{G}^{-1})$
^1H	2,675
^2H	0,411
^3He	-2,04
^7Li	1,04
^{13}C	0,673
^{14}N	0,193
^{15}N	-0,271
^{17}O	-0,363
^{23}Na	0,708
^{31}P	1,083
^{129}Xe	-0,74

Por exemplo, na figura 41 estão simulados isótopos de ^1H , ^{13}C , ^{15}N e ^{31}P influenciando na fase ϕ , todos com mesmo T_1 de 0.174 s e T_2 de 0.099 s, bobina de 0.4 cm, em gradiente de 0.097 G/cm, pulsos de 90° e offset de 3.75π :

Figura 41 - Influência do isótopo dado pela variação do parâmetro γ no sinal CWFP em fluxo para ^1H (preto), ^{13}C (vermelho), ^{15}N (verde) e ^{31}P (azul) para fase ϕ (a) positiva e (b) negativa

Nota-se que são sinais com fases ϕ distintas e que o comportamento do isótopo com razão magnetogirica negativa (^{15}N) é completamente distinto. Contudo, exceto para ^1H , não passam de simulações meramente teóricas, pois para se obter um sinal RMN seria necessária uma quantidade enorme de isótopos presente na amostra, o que não acontece principalmente com o ^{13}C , a não ser em amostras enriquecidas.

7.3.1.4 Influência do comprimento da bobina (l)

Na figura 42 está o resultado das simulações da influência do comprimento da bobina (l em 0,4 ; 2,4 e 4,4 cm) no sinal CWFP em fluxo. A variação no comprimento da bobina implica na quantidade dos pontos adquiridos (sempre $l/(vT_p)$), assim, possivelmente acarretando em poucas conseqüências ao sinal CWFP em fluxo, sendo as maiores nos pontos de mínimo. Para as simulações usou-se $T_1 = 0.174$ s, $T_2 = 0.099$ s, $T_p = 300$ μs , $G = 0.097$ G/cm, isótopos de ^1H num offset de 3.75π e pulsos de 90° . Simulou se fase ϕ positiva (figura 42a) e negativa (figura 42b).

Figura 42 - Efeito da variação do comprimento da bobina (0.4 cm em preto, 2.4 cm em vermelho e 4.4 cm em verde) para fluxos de fase ϕ positiva (a) e negativa (b)

Com esses resultados, conclui-se que o tamanho da bobina influenciará o sinal CWFP em fluxo em sua amplitude, sendo mais sensível para bobinas pequenas e nos valores máximos e mínimos. Aumentando o tamanho da bobina o ponto onde se tem valor máximo ou nulo do sinal é diferente para as partes real e imaginária, principalmente nos pontos de inversão de fase (amplitude nula), conforme pode ser visto na condição de fase ϕ negativa na figura 43, abaixando a sensibilidade em relação ao fluxo:

Figura 43 - Partes reais (linha sólida) e imaginárias (linha tracejada) do CWFP em fluxo, com variações do comprimento da bobina em 0.4 (em preto), 2.4 (em vermelho) e 4.4 cm (em verde)

7.3.2 Resultados experimentais

7.3.2.1 Verificação experimental numa região de campo magnético homogêneo

As amostras de mamona, baru e linhaça utilizadas para medidas de relaxação e simulações teóricas forão também empregadas na análise experimental. Inicialmente as aquisições foram feitas na região central do imã, onde o campo magnético é

aproximadamente homogêneo, logo com um baixo gradiente. Na figura 44 estão os dados experimentais para fase negativa, como nos outros experimentos a serem realizados, usando pulsos de 90° , tempo de repetição de $300 \mu\text{s}$, e offsets 2.25π , 3π e 3.75π .

Figura 44 - Amplitudes dos sinais experimentais de CWFP em fluxo para sementes de mamona (quadrados cheios), baru (quadrados vazios) e linhaça (estrelas), em offsets 2.25π (preto), 3π (vermelho) e 3.75π (azul), em região de baixo gradiente

Como se pode ver na figura 44, o efeito do fluxo na intensidade do sinal CWFP para as três sementes e três offsets não foi muito pronunciado devido ao baixo gradiente utilizado. Uma observação a ser feita é que a magnitude das curvas não pode ser utilizada para comparar amostras diferentes, pois além dos tempos de relaxação diferente, a massa de amostras também foi diferente, gerando quantidades de óleo diferentes.

Assim, o efeito do fluxo ficaria mais bem visualizado em regiões com maior gradiente de campo magnético, gerando maior fazer ϕ , para isso, a sonda (bobina) foi deslocada para 11 cm do centro do ímã. Essa configuração será usada em todos os experimentos a seguir.

7.3.2.2 Verificação experimental do aumento do gradiente (G) e da influência do ângulo de precessão de offset (ψ)

Na figura 45 estão os resultados da dependência do sinal CWFP em fluxo para as sementes de mamona, baru e linhaça em relação aos valores de offset , $2,25\pi$; 3 e $3,75\pi$, usando pulsos de 90° e intervalo T_p de $300\ \mu\text{s}$.

Figura 45 - Amplitudes dos sinais experimentais de CWFP em fluxo para sementes de mamona (quadrados cheios), baru (quadrados vazios) e linhaça (estrelas), em offsets $2,25\pi$ (azul), 3π (vermelho) e $3,75\pi$ (preto), em região de alto gradiente

Esses resultados mostram o início semelhante aos resultados teóricos das figuras 34 e 35, uma região de crescimento para os offsets $2,25\pi$ e 3π , e uma região próxima a pontos de inversão para o offset $3,75\pi$. Se a esteira atingisse velocidades maiores e também houvesse possibilidade de maior pré-magnetização, certamente os decaimentos e a inversão de fase poderiam ser vistos.

7.3.2.3 Verificação experimental da influência do ângulo de nutação (α)

A influência do ângulo de natação α foi observada mantendo os parâmetros como intervalo de pulsos, T_p , fixados em 300 μ s, e os resultados são mostrados na figura 46:

(a)

(b)

Figura 46 - Amplitudes dos sinais experimentais de CWFP em fluxo para sementes de mamona (quadrado cheio), baru (quadrado vazio) e linhaça (estrela), com pulsos de ângulo 20° (preto), 40° (vermelho), 60° (verde) e 90° (azul) em offset 2,25π (a) e 3,75π (b), note que a escala vertical da figura b é o dobro da figura a

Para melhor analisar esses últimos resultados, os ângulos ótimos de cada semente (note que $\alpha_{\text{ótimo}}(\psi=2,25) = \alpha_{\text{ótimo}}(\psi=3,75)$) devem ser analisados conforme tabelas 3 e 4 e equação 52, na condição de $T_p=300\mu\text{s}$, resultando na tabela 5:

Tabela 5 - Ângulos ótimos para cada tempo de relaxação utilizado

Semente	Peso	T_1 (s)	T_2 (s)	Ângulo ótimo (°)
Mamona (bi-exponencial)	0,76	0,090	0,010	14,54
	0,24	0,294	0,072	21,44
Mamona (mono-exponencial)	1,00	0,117	0,024	19,66
Baru (bi-exponencial)	0,50	0,340	0,151	28,61
	0,50	0,091	0,043	29,47
Baru (mono-exponencial)	1,00	0,174	0,099	32,2
Linhaça (bi-exponencial)	0,57	0,111	0,070	33,80
	0,43	0,468	0,253	31,42
Linhaça (mono-exponencial)	1,00	0,206	0,148	35,94

Ao analisar isoladamente os sinais das sementes de mamona da figura 46, vê-se que as amplitudes máximas estão para pulsos de 20°, seguidos por pulsos de 40°, 60° e o menor deles, 90°, em ambos os offsets analisados, concordando perfeitamente com os valores de nutação ótimos calculados pelas equações de Bloch.

Para as sementes de baru em offset 2.25π , a figura 46 mostra que as maiores amplitudes foram conseguidas com pulsos de 40°, seguidas pelas de pulsos de 20°, 60° e 90°, respectivamente, o que estaria em acordo com o ângulo ótimo conseguido para o ajuste mono-exponencial. Quando com valores bi-exponenciais são comparados, pode-se razoavelmente aceitar, já que o valor do ângulo ótimo teórico conseguido é intermediário aos analisados. Na condição de offset 3.75π , para baixas velocidades ainda consegue-se ver amplitudes maiores para pulsos de 40°, porém existe uma faixa onde pulsos de 60° são dominantes, certamente devidos a não homogeneidade excessiva de B_1 , contudo as amplitudes menores continuam sendo com pulsos de 90°.

Em relação aos sinais da linhaça, em offset 2.25π , a figura 46 exhibe que os pulsos de 40° continuam predominantemente maiores, mas a seguir, as amplitudes maiores são dos

pulsos de 60° para velocidades baixas e dos pulsos de 20° para velocidades mais altas, e as amplitudes dos conseguidos com pulsos de 90° ainda são as menores. Quando o offset foi 2.25π , os pulsos de 40° se confundem bastante com os de 60° , em desacordo com as equações de Bloch, porém os resultados conquistados com pulsos de 20° são menores, indicando sua alta distância em relação ao ângulo ótimo.

Portanto, a realização da variação do parâmetro ângulo de nutação α possibilitou a conclusão que as maiores amplitudes são obtidas próximas ao ângulo ótimo calculado pelas equações de Bloch.

7.3.2.4 Verificação experimental da influência do intervalo entre pulsos (T_p)

Para demonstrar a interferência experimental do intervalo de pulsos T_p , as condições fixadas foram pulsos de 90° e offset 3.75π , fluxo com fase positiva e negativa, e os resultados estão mostrados na figura 47.

(a)

continua

continuação

(b)

Figura 47 - Amplitudes dos sinais experimentais de CWFP em fluxo para sementes de mamona (quadrado cheio), baru (quadrado vazio) e linhaça (estrela), com intervalos de pulsos de 300 μ s (preto), 500 μ s (vermelho), 700 μ s (azul) e 900 μ s (rosa) em offset (a) 2.25π e (b) 3.75π

Para as fases menores (T_p menores), viram-se maiores sinais, para as fases maiores (T_p maiores), as amplitudes foram menores, independentemente se em fase positiva ou negativa.

8 APLICAÇÕES E PROPOSTAS FUTURAS

Como visto, o método de análises pela seqüência CWFP em fluxo mostrou-se muito sensível a variações de tempos de relaxação, logo há possibilidade de ser utilizado como diferenciador de amostras que tenham mais de um componente, com diferentes tempos de relaxação. Como exemplos citam-se ovos, que tem gema e clara e algumas sementes oleaginosas como sementes de palmeiras tipo dendê, macaúba e tucumã, formadas por polpas e amêndoas ricas em óleo de diferentes composições. Os métodos atuais, não destrutivos, de RMN para fazer a discriminação desses componentes são baseados em imagem, separação espacial ou métodos espectroscópicos usando-se as diferenças entre os tempos de relaxação T_1 e T_2 . A seguir, esses métodos serão discorridos e as vantagens da proposta seqüência serão citadas.

1 Imagem:

Processos de imagem por ressonância magnética nuclear são bastante conhecidos para análises *in vivo* devido a sua ampla área de atuação. As imagens apresentam uma alta resolução espacial, sendo possível usar a intensidade do sinal para determinar cada componente, por exemplo, polpa ou amêndoa em uma semente, possibilitando medir o teor de óleo (43) ou a quantidade de clara ou gema de forma invasiva. Na figura 51 está uma imagem de um fruto de macaúba e um ovo de galinha comercial, obtida pela técnica de eco de spin, 256 varreduras com tempo ao eco de 142 ms e tempo de repetição de 5s, onde se pode identificar facilmente a região da polpa e da amêndoa, ou da clara e da gema, e por contraste determinar a quantidade de hidrogênio. O uso de imagens por RMN tem sido usado para quantificação do teor de óleo em sementes de milho (43). É um método rápido

(4000 sementes por hora), contudo, trata-se de um método bastante caro, apresenta alta eficiência somente para sementes pequenas e preferencialmente achatadas (como milho).

Figura 48 - Imagem obtida com a seqüência de tempo ao eco com tempo ao eco de 142 ms em intervalo de 5 s : a) macaúba b) ovo de galinha comercial

2 Diferenciação por T_1 :

Quando as regiões da amostra têm grandes diferenças no tempo de relaxação é possível usar o ponto nulo da seqüência IR, de uma das regiões da amostra para a quantificação do outro componente.

Na figura 49 está os resultados para a seqüência IR da polpa e amêndoa da macaúba, assim como de uma macaúba intacta. Esses experimentos foram realizados num espectrômetro Spin Lock de 9 MHz para hidrogênio. Os valores mono e bi-exponenciais para a polpa e amêndoa estão na tabela 6.

Figura 49 - Resultados Inversão-Recuperação (IR) para medidas de T_1 de macaúba: somente amêndoa (em preto), polpa (em vermelho) e da macaúba intacta inteira (em azul).

Tabela 6 - Valores de tempos de relaxação longitudinal obtidos para as partes da macaúba

	M_{11}	T_{11}	M_{12}	T_{12}	r^2
Amêndoa	0,74	0,088	0,26	1,002	0,90
	1,00	0,163			0,81
Polpa	0,54	0,092	0,46	0,341	0,99
	1,00	0,166			0,98

Como se vê nesta figura os pontos onde as curvas da polpa e amêndoa cruzam o zero são muito próximos, impossibilitando uma separação entre eles. Isso pode ser mais bem observado se comparar com a curva de IR da fruta inteira, similar a observada para a polpa, demonstrando a baixa capacidade de discriminação por T_1 para esse tipo de semente.

3 Diferenciação por T_2 :

Para as discriminações por T_2 também é necessário que as regiões da amostra a serem analisadas tenham grandes diferenças no tempo de relaxação T_2 e assim é possível usar o decaimento do sinal CPMG do componente de maior tempo de relaxação para a quantificação de uma das regiões da amostra.

Na figura 50 estão os sinais CPMG para a polpa, amêndoa e fruto inteiro de macaúba. Como se pode ver existe diferença entre o T_2 da amêndoa, (linha preta) e a da polpa (linha vermelha). Os valores mono e bi-exponenciais para a amêndoa e polpa estão na tabela 7. No entanto é uma diferença muito pequena que praticamente inviabiliza a medida no fruto inteira cuja curva de T_2 é representada pela linha azul.

Figura 50 - Resultados de CPMG para medidas de T_2 de macaúba: somente do caroço interno (em preto), somente da casca externa (em vermelho), da macaúba intacta inteira (em azul).

Tabela 7 - Valores de tempos de relaxação transversal obtidos para as partes da macaúba

	M_{21}	T_{21}	M_{22}	T_{22}	r^2
Amêndoa	0,74	0,010	0,26	0,120	0,99
	0,62	0,044			0,91
Polpa	0,46	0,030	0,54	0,127	0,99
	0,82	0,087			0,99

4 Diferenciação por CWFP em fluxo:

Para as discriminações por CWFP em fluxo também é necessário que as regiões da amostra a serem analisadas tenham diferenças nos tempos de relaxação T_1 e T_2 . Com isso pode selecionar valores de fluxo sob condições pré-definidas da seqüência CWFP, de modo que uma delas possua ponto nulo detectável.

Os tempos de relaxação foram obtidos através das seqüências IR e CPMG, mono e bi-exponencial, nas amostras de macaúba e ovo, e estão presentes nas tabelas 4, 5 e 6, note que a gema apresentou dois deslocamentos químicos que resultaram em tempos diferentes para T_1 e semelhantes para T_2 , por serem muito curtos. E esses tempos aplicados nas equações de Bloch (equação 58 e 59), resultaram na figura 51, com pulsos de 90° e offset 3.9π , e houve condições onde a magnetização de uma componente pode se anular e a outra não.

Tabela 8 - Resultados para T_2 e T_1 para as partes do ovo

	CPMG					IR				
	M_{21}	T_{21}	M_{22}	T_{22}	r^2	M_{11}	T_{11}	M_{12}	T_{12}	r^2
Clara do Ovo	0,96	0,080	0,04	0,588	0,99	0,80	1,296	0,05	1,296	0,99
	0,77	0,089			0,98	1,00	1,298			0,99
Gema do Ovo	0,50	0,007	0,50	0,007	0,99	0,30	0,001	0,30	0,367	0,95
	1,15	0,007			0,99	0,60	0,087			0,66
						0,20	0,001	0,20	0,486	0,91
						0,400	0,116			0,56

Figura 51 - Resultado teórico das amplitudes da seqüência CWFP para um intervalo de velocidades para spins tipo hidrogênio da amêndoa (em preto) e da casca (em vermelho) da macaúba, e da clara (em verde) e gema (em azul) de um ovo. As condições simuladas foram: $T_p = 300\mu s$, $G = 0.097 G/cm$, $\alpha = 90^\circ$ e $\psi = 3.9\pi$, com uma bobina de 2 cm, ajuste mono-exponencial em a e c e bi-exponencial em b e d.

Note que as velocidades dos pontos de mínimo são perfeitamente atingíveis, como 10 cm/s para o sinal da casca da macaúba ou da clara do ovo no ajuste mono-exponencial. Basta escolher a parte da macaúba a qual se deseja analisar, tomar a velocidade com qual a outra se anula, que a amplitude da seqüência CWFP aplicada reproduzirá somente a componente desejada. Exemplificando, no ponto 1 poderia se analisar a quantidade de amêndoa enquanto no ponto 2, a quantidade de polpa, no ponto 3 a quantidade de gema e no ponto 4, a de clara.

Futuramente, as melhorias na parte experimental possibilitarão o levantamento experimental das curvas da figura 51.

9 CONCLUSÕES

A simulação dos resultados CWFP através das equações de Bloch possibilitou a elaboração do quadro da tabela 7:

Tabela 9 - Influência dos parâmetros experimentais no sinal CWFP em fluxo

Parâmetro	Influência nas matrizes de Bloch	Tipo de Influência
Tempos de relaxação (T_1 e T_2)	Matriz diagonal de relaxação	Mudança tanto na amplitude quanto no comportamento do sinal CWFP em fluxo
Ângulo de nutação (α)	Matriz de pulsos	Alteração somente da amplitude do sinal CWFP em fluxo
Ângulo de offset (ψ)	Matriz de offset	Alteração da geometria do sinal CWFP em fluxo
Fase ϕ , tanto pela variação do gradiente estático do campo magnético (G) Velocidade do fluxo (v), Intervalo entre pulsos (T_p) e Razão magnetogírica (γ)	Matriz de offset, porém esta variará no tempo ($\phi = \gamma G v T_p^2$)	Alteração total do sinal CWFP em fluxo. Seu valor absoluto influencia o sinal CWFP de um modo geral, sendo a principal componente de sensibilidade ao fluxo. A alteração de seu sinal gera variação do sinal CWFP em fluxo, como seus pontos de máximo ou inversão, gerando a simetria da tabela 1
Comprimento da bobina (l)	Aquisição dos dados	Influência na amplitude do sinal CWFP em fluxo e um leve deslocamento dos seus pontos de máximo ou mínimo

As medidas quantitativas foram realizadas com sucesso, sem necessidade de grande conhecimento dos parâmetros CWFP, usando-se, por exemplo, parâmetros padrões para medidas estáticas como ângulo de nutação (α) de 90 graus, ângulo de offset (ψ) ímpar, intervalo entre pulsos (T_p) de 300 μ s entre outros parâmetros.

O estudo teórico permitiu um amplo conhecimento do comportamento do sinal CWFP em fluxo, permitindo, por exemplo, ajuste dos melhores parâmetros para as medidas quantitativas e até propor métodos de análise em fluxo de amostras com mais de um componente. Fica sugerido ao utilizador que para a maior amplitude do sinal CWFP em fluxo para análises quantitativas deve usar a região homogênea do imã, e assim não se preocupar com a influência da fase ϕ , para velocidades entre 10 e 15 cm/s, com offset ímpar (semelhante ao estático), e pulsos calibrados para o ângulo ótimo, bem aproximado para 45° para a maioria das sementes oleaginosas.

O sistema experimental ainda deve ser melhorado, pois há muita coisa a ser desenvolvida, como blindagem e aterramento da antena, desacoplamento ótico entre o computador e o sistema de controle do motor de passos, suavização dos movimentos da esteira, e assim pontos de mínimo serão mais precisamente obtidos, podendo gráficos como da figura 51 ser gerados. Todos estes procedimentos são demorados, já que não é um experimento tão simples quanto o de fluxo laminar presente na literatura (37).

REFERÊNCIAS

1. NUCLEAR Magnetic Resonance, NMR: Ressonância magnética nuclear, RMN. Disponível em: <<http://en.wikipedia.org/wiki/NMR>>. Acesso em: 07 ago. 2009.
2. COLNAGO, L. A. et al. High-throughput non-destructive determination of oil content in intact seeds by continuous wave-free precession NMR. *Analytical Chemistry*, .v. 79, n. 3, p 1271-1274, 2007.
3. KITTEL, C. *Introduction to solid state physics*. California:Wiley, 2005. ISBN-047141526X.
4. ABRAGAM, A. *Principles of nuclear magnetism*. Oxford: Clarendon Press, 1961. ISBN: 019852014X.
5. BLOCH, F. Nuclear induction. *Physical Review*, v.70,n.7, p.460-474, 1946.
6. BLÜMICH, B. *NMR imaging of materials*. Oxford: Clarendon Press, 2004. ISBN-0198526768.
7. CLARIDGE, T. D. W. *High-resolution NMR techniques in organic chemistry*. Oxford: Elsevier, 2000. ISBN: 0080427987.
8. MANSFIELD, P; MORRIS, P. G. *NMR Imaging in biomedicine*. New York: Academic Press, 1982. ISBN: 0120255626.
9. SURYAN, G. Nuclear resonance in flowing liquids. *Proceedings of Indian Natural Science Academy*, v. 33, p. 107-111, 1951.

10. STEJSKAL, E. O. Use of spin echoes in a pulsed magnetic-field gradient to study anisotropic restricted diffusion and flow. *Journal of Chemical Physics*. v.43, n.10, p.3597-3603, 1965.
11. AZEVEDO, E. R. de. *Efeitos do movimento em imagens por RMN e Implementação das técnicas "Gradient Moment Nulling" e pré-saturação espacial para redução de artefatos relacionados ao movimento*. 1998. 116. Dissertação (Mestrado em Física) – Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1998.
12. PACKER, K. J. The study of slow coherent molecular motion by pulsed nuclear magnetic resonance. *Molecular Physics*. v. 17, n.4, p. 355-368, 1969.
13. GROVER, T.; SINGER, J.R. NMR spin-echo flow measurements. *Journal of Applied Physics*. v. 42, n.3, p 938-940, 1970.
14. DEVILLE, G.; LANDESMAN, G. D. Expériences d'échos de spins dans un liquide en écoulement. *Journal de Physique*, v. 32, p. 67-72, 1971. doi: 10.1051/jphys:0197100320106700.
15. HAYWARD, R. J. ; PACKER, K. J. ; TOMLINSON, D. J. Pulsed field-gradient spin echo N.M.R. studies of flow in fluids. *Molecular Physics*, v. 23, n.6, p 1083-1102, 1972.
16. LAUDE, J. R. D. ; LEE, R. W. K.; WILKINS, C. L. Signal enhancement of long-relaxing ^{13}C nuclei by flow NMR. *Journal of Magnetic Resonance*, v. 60, n.3, p.53-459, 1984.
17. CARR, H. Y. Steady-state free precession in nuclear magnetic resonance. *Physical Review*. v. 112, n.5, p 1693-1701, 1958.
18. ERNST, R. R.; ANDERSON, W. A. Application of Fourier transform spectroscopy to magnetic resonance. *Review of Scientific Instruments*. v. 37, n.1, p 93-102, 1966.
19. HAHN, E. L. Spin echoes. *Physical Review*, v. 10, n. 1, p 580-594, 1950.

20. SCHWENK, A. ; KAUFMANN, J. Measurement of the nuclear moment of ^{187}Os using a pulse-technique for the detection of very weak NMR-signals. *Physics Letters A*, v.24, n. 2, p 115-116, 1967.
21. FREEMAN, R.; HILL, H. D. W. Phase and intensity anomalies in Fourier transform NMR. *Journal of Magnetic Resonance*, v.4, n.3, p. 366-383, 1971.
22. VENÂNCIO, T. *Novas aplicações da precessão livre em onda contínua em ressonância magnética nuclear de baixa e e alta resolução*. 2006. 152. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006.
23. SCHWENK, A. NMR pulse technique with high sensitivity for slowly relaxing systems. *Journal of Magnetic Resonance*, v. 5. n.3, p. 376-389, 1971.
24. SCHWENK, A. Steady- state techniques for low sensitivity and slowly relaxing nuclei. *Progress in NMR Spectroscopy*, v. 17, n.1 ,p 69-140, 1985. doi:10.1016/0079-565(85)80006-6.
25. AZEREDO, R. B. V. ; COLNAGO, L. A. ; ENGELSBURG, M. Quantitative analysis using steady-state free precession nuclear magnetic resonance. *Analytical Chemistry*. v. 72, n.11, p 2401-2405, 2000.
26. VENÂNCIO, T. et al. Fast and simultaneous measurement of longitudinal and transverse NMR relaxation times in a single continuous wave free precession experiment. *Journal of Magnetic Resonance.*, v. 173, n.1, p 34-39, 2005.
27. AZEREDO, R. B. V. *Espectroscopia de RMN no estado estacionário*. 1999. 87p. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1999.
28. AZEREDO, R. B. V. *Espectroscopia da RMN-CWFP*. 2004. 85p. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2004.

29. CORRÊA, C. C. *Análise da qualidade de carne bovina por ressonância magnética de baixa resolução*. 2007. 101p. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2007.
30. RIBEIRO, F. Z. *Avaliação da qualidade interna de frutas in natura por RMN de baixa resolução*. 2008. 86p. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2008.
31. SANTOS, P. M. dos. *Desenvolvimento da técnica de precessão livre no estado estacionário para aumento da razão sinal ruído em espectros de RMN de alta resolução*. 2009. 107p. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química de São Carlos. Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009.
32. AZEREDO, R. B. V. et al. Continuous wave free precession practical analytical tool for low-resolution nuclear magnetic resonance measurements. *Analytica Chimica Acta*. v. 478, n.2, p 313-320, 2003.
33. VENÂNCIO, T. et al. Thermal diffusivity and nuclear spin relaxation: a continuous wave free precession NMR study. *Journal of Magnetic Resonance*., v. 181, n.1, p 29-34, 2006.
34. PATS, S.; HAWKES, R. C. The application of steady-state free precession to the study of very slow fluid flow. *Magnetic Resonance in Medicine*, v. 3, n.1, p 140-145, 1985.
35. PATS, S. Some factors that influence the steady state in steady-state free precession. *Magnetic Resonance Imaging*. v 6, n.4, p 405-413, 1988.
36. GUDBJARTSSON, H; PATS, S. Simultaneous calculation of flow and diffusion sensitivity in steady-state free precession imaging. *Magnetic Resonance in Medicine*. v. 34, n.4, p 567-579, 1995.
37. AZEREDO, R. B. V.; ENGELSBERG, M. ; COLNAGO, L. A. Flow sensitivity and coherence in steady-state free spin precession. *Physical Review E*. v. 64, n.1-2, p. 016309, 2001.
38. PRESTES, R. A. et al. A rapid and automated low resolution NMR method to analyze oil quality in intact oilseeds. *Analytica Chimica Acta*. v. 596, n.4, p. 325-329, 2007.

39. CORREA, C. C.; FORATO, L. A. ; COLNAGO, L. A. High-throughput non-destructive nuclear magnetic resonance method to measure intramuscular fat content in beef. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v.393, n.4, p. 1357-1360, 2009.
40. THEODORO, E. A. R. *Desenvolvimento do sistema de controle para RMN on-line para determinação da quantidade de óleo em sementes intactas*. São Carlos: EMBRAPA CNPDIA, 2007. 42p. Relatório de estágio.
41. ROBERT, R. Bobina de Helmholtz . *Revista Brasileira de Ensino de Física*. v. 25, n.1, p. 40-45, 2003.
42. GYROMAGNETICRATIO: Razão giromagnética. Disponível em: <http://en.wikipedia.org/wiki/Gyromagnetic_ratio>. Acesso em: 07 ago. 2009.
43. KOTYK, J. J. et al. High-throughput determination of oil content in corn kernels using nuclear magnetic resonance imaging. *Journal of the American Oil Chemists Society* . v. 82, n.12, p. 855-862 ,2005.