



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE FÍSICA – CCEN
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FÍSICA

VALDYSTER SHIRLEY SANTOS DUARTE

**RELAXAÇÃO E AUTODIFUSÃO DA ÁGUA NO GEL DE ALGINATO DE
CÁLCIO POR RMN**

Recife
2015

VALDYSTER SHIRLEY SANTOS DUARTE

**RELAXAÇÃO E AUTODIFUSÃO DA ÁGUA NO
GEL DE ALGINATO DE CÁLCIO POR RMN**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Física da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestra em Física.

Orientador:
Prof. Dr. Wilson Barros Júnior
Universidade Federal de Pernambuco

Co-Orientador:
Prof. Dr. Ricardo Emmanuel de Souza
Universidade Federal de Pernambuco

Recife
2015

Catálogo na fonte
Bibliotecária Joana D'Arc Leão Salvador CRB 4-572

D812r Duarte, Valdyster Shirley Santos.
Relaxação e auto difusão da água no gel de alginato de cálcio por RMN
/ Valdyster Shirley Santos Duarte. – Recife: O Autor, 2015.
117 f.: fig., tab.

Orientador: Ricardo Emmanuel de Souza.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCEN.
Física, 2015.
Inclui referências e apêndices.

1. Ressonância magnética nuclear. 2. Relaxação (Física nuclear).
I. Souza, Ricardo Emmanuel de (Co-orientador). II. Título.

538.368 CDD (22. ed.) UFPE-FQ 2016-07

VALDYSTER SHIRLEY SANTOS DUARTE

**RELAXAÇÃO E AUTODIFUSÃO DA ÁGUA NO GEL DE
ALGINATO DE CÁLCIO POR RMN**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Física da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestra em Física.

Data da Defesa: 26/01/2015

Data da Aprovação: 21/04/2015

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Ricardo Emmanuel de Souza (Co-Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Antonio Azevedo da Costa (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. André Galembeck (Examinador Externo)
Universidade Federal de Pernambuco

Resumo

Neste trabalho investigamos a relaxação e a autodifusão dos prótons da água no hidrogel alginato de cálcio através de técnicas de Ressonância Magnética Nuclear (RMN). A síntese do alginato de cálcio foi realizada através do sistema alginato de sódio - íons de cálcio, por dois diferentes métodos de preparação: gelificação interna e gelificação por difusão. Foram estudadas a autodifusão e a relaxação da água no hidrogel como função das variáveis: método de preparação, concentração de alginato de sódio e concentração de íons de cálcio. Foi possível explicar, de forma semiquantitativa, o comportamento das taxas relaxação T_1 através da Teoria Bloemberg, Purcell e Pound (BPP). Embora os valores das taxas de relaxação indiquem um afastamento incompleto do regime descrito pela clássica teoria BPP, ele ainda pode fornecer uma compreensão qualitativa do processo de gelificação, onde os resultados indicam mudanças locais das interações entre os spins de acordo com o número e distribuição das caixas de ovos. Além disso, observaram-se indícios da formação de estruturas macroscópicas (na escala microscópica) no interior do hidrogel, dependendo dos valores das variáveis utilizadas no estudo.

Palavras-chaves: Alginato de cálcio. Ressonância Magnética Nuclear. Relaxação e Autodifusão.

Abstract

In this work we investigate relaxation and self-diffusion of water molecules in the calcium alginate hydrogel by Nuclear Magnetic Resonance (NMR) techniques. The synthesis of calcium alginate was performed using the system sodium alginate - calcium ion, two different methods were come out: internal gelation and gelation by diffusion. It was studied the self-diffusion and relaxation of water in the hydrogel as a function of the variables: the method of preparation, the concentration of sodium alginate and calcium ion concentration. It was possible to explain, in a semi quantitative manner, the relaxation rate behavior of T_1 by Bloember, Purcell and Pound theory (BPP). Although the values of the relaxation rates indicate an incomplete removal of the regime described by the classic BPP model, it can still provide a qualitative understanding of the gelation process, where the results indicate local changes of interactions between the spins according to the number and distribution of egg boxes. Furthermore, there were indications of the formation of macroscopic structures (in the micrometer scale) within the hydrogel, depending on the values of the variables used in the study.

Keywords: Calcium Alginate. Nuclear Magnetic Resonance. Relaxation and Self-Diffusion.

Lista de Figuras

2.1	Exemplo de monômero e polímero. A figura a) mostra dois monômeros diferentes, a molécula do fenol e a molécula do formol. Quando esses dois monômeros ligam-se entre si, ocorre a polimerização, nesse processo alguns elementos são liberados, que nesse exemplo os elementos liberados formam a molécula da água. A figura b) mostra o copolímero baquelite formado por n monômeros.	23
2.2	Representação esquemática da classificação polimérica de acordo com a estrutura molecular(figura adaptada da referência [1])	25
2.3	Esquema genérico de preparação de hidrogéis. (Figura adaptada da referência [2])	26
2.4	Estrutura molecular do alginato comercial.(a) M: $\beta - D$ -manurônico; G: $\alpha - L$ -gulurônico. (b) A cadeia de alginato, formação cadeia. (c) Representação simbólica da cadeia de alginato em termos de blocos M e G . (Figura adaptada da referência [3])	29
2.5	Ilustração do gel de alginato dissolvido, à esquerda, e do alginato em forma de gel, à direita.	31
2.6	a) Interação específica do cálcio com caixas de blocos de ácido gulurônico. Quanto mais íons de cálcio presentes na solução, maior a interação. b) Especificação da estrutura química do esquema.	32
2.7	O lado esquerdo mostra a representação esquemática do modelo caixa de ovos da associação entre as sequências do ácido gulurônico do alginato com o íon de cálcio. O lado direito mostra a formação da ligação cruzada entre as moléculas.	34

2.8	Configurações para o método de gelificação por difusão do alginato. a) mostra o método por banho de sal de cálcio, através do gotejamento da solução de alginato no sal. b) método feito por pulverização ou <i>spray</i> de sal de cálcio na solução de alginato.	36
2.9	Principais reações durante a formação do gel de alginato usando <i>D</i> -glucono- γ -lactona e $CaCO_3$. 1 - <i>GDL</i> libera prótons; 2 - os prótons interagem com o $CaCO_3$; 3 - liberação do cátion de cálcio na solução de alginato; 4 - formação do ânion HCO_3 ; 5 - interação do cálcio com o alginato; 6 - interação do próton liberado pelo <i>GDL</i> com o ânion formando água e liberando dióxido de carbono. Figura adaptada da referência [3]	37
2.10	Ilustração da difusão de dois líquidos dentro de um cilindro contendo iodo na metade inferior e na metade superior contendo água pura colocada de forma cuidadosa e lenta para que não haja corrente de convecção. a) No primeiro momento durante a adição da água, o iodo está nitidamente separado da água, tendo entre os dois uma separação bem definida. b) Após passado um tempo que os dois líquidos estão em contato, a água começa a ficar escura e o iodo começa a ficar mais claro, ou seja as moléculas de iodo começam a se movimentar para a parte superior do cilindro e as moléculas da água para a parte inferior. c) Após passado tempo o suficiente as duas metades do cilindro possui a mesma tonalidade.	39
2.11	a) Esquema de difusão de dois líquidos dentro do cilindro, sendo que o líquido vermelho representa o iodo e o azul representa a água pura. C_a indica a concentração da água e C_b a concentração do iodo. b) Gráfico da concentração dos líquidos versus a posição x , revelando o perfil da concentração no meio.	40
2.12	a) Esquema de fluxo de difusão, cujas concentrações dos líquidos em ambas as bordas do cilindro estão variando com o tempo. b) Gráfico da concentração das moléculas de água versus a distância tomados em quatro tempos diferentes, mostrando o perfil da concentração no meio para uma difusão em andamento.	42
2.13	Ilustração núcleo de hidrogênio, o qual possui spin. Portanto, possui momento magnético associado.	48

2.14	Ilustração de núcleos de hidrogênio, visto como esferas. a) ilustração da distribuição aleatória dos momentos magnéticos dos átomos de hidrogênio na ausência de um campo magnético externo. b) Ilustração dos momentos magnéticos dos átomos de hidrogênio na presença de um campo magnético externo. Os núcleos se distribuem em dois níveis de energia, sendo que o número de núcleos que ocupam o estado de menor energia é maior do que o número de núcleos que ocupam o estado de maior energia.	48
2.15	a) Representação dos spins alinhados paralelamente e anti-paralelamente ao campo magnético externo aplicado, e o movimento de precessão realizado pelos spins ao redor do campo. b) Ilustração do momento magnético total no eixo z	49
2.16	Ilustração do Decaimento Livre de Indução gerado pelo retorno da magnetização total à posição de equilíbrio com o campo $\vec{B}_0$ após a retirada de um pulso de RF que causou uma mudança na magnetização de 90° . O sinal é gerado pela bobina posicionada perpendicularmente ao campo $\vec{B}_0$	50
2.17	Ilustração da magnetização resultante com a aplicação de um pulso de RF perpendicular ao campo $\vec{B}_0$. Da esquerda para a direita da figura, é apresentada a magnetização total após um pulso de 90° , 180° e α . O pulso de 180° é também conhecido como pulso de inversão	51
2.18	Gráficos que mostram os processos de relaxação.a) mostra a característica do retorno da magnetização para a direção longitudinal, onde T_1 está relacionado com o tempo de recuperação de 63% do valor inicial da magnetização total. b) mostra a característica da relaxação transversal, onde T_2 está relacionada com o tempo necessário para que a magnetização transversal atinja 37% da magnetização inicial.	53
2.19	Comparação do análogo gravitacional (a) com o efeito magnético (b), pois assim como um pião precessionando sob a influência da gravidade, o momento magnético também realiza um movimento similar na presença de um campo magnético $\vec{B}_0$	53
2.20	Gráfico ilustrando a magnetização longitudinal assim que o campo B_0 é ligado. Esse gráfico é obtido a partir da equação (2.30).	56

- 2.21 Ilustração de uma sequência de pulsos spin eco. Na topo da imagem é mostrado a sequência de pulsos aplicados no sistema. (A) refere-se à direção da magnetização sob a ação do campo uniforme B_0 . (B) refere-se ao sistema após a aplicação de um pulso de RF na direção x' . (C) é o sistema após decorrido um tempo τ do primeiro pulso. (D) mostra o sistema após a aplicação do segundo pulso de 90° no sistema. Após decorrido um tempo $\tau/2$ após o segundo pulso, o sistema relaxa e recupera a direção inicial da magnetização e entra em fase após decorrido um tempo τ após o segundo pulso, é onde aparece o sinal de eco, o qual é coletado o sinal, é o chamado Tempo de Eco (TE). A sequência tem o tempo de repetição (TR) com o intervalo dependendo do caso.(Figura retirada de [4]). 62
- 2.22 Ilustração da técnica de IR. a) Magnetização de equilíbrio. b) Aplica-se um pulso RF de 180° na direção x , no sistema sob a influência do campo magnético estático. c) A magnetização total da rede sofre uma inversão de seu sentido. c) e d) Após passado um tempo τ , a direção inicial da magnetização é recuperada, se o T_1 for curto. Se o T_1 for longo, o vetor M estará na direção $-z$, mas em tamanho menor. Então é aplicado um pulso de 90° de mesma fase que o pulso anterior, e) levando a magnetização para a direção transversal, onde o sinal começa a ser obtido. 63
- 2.23 Representação da ordem de pulsos da sequência Inversão-Recuperação. Inicialmente um pulso de 180° é aplicado sobre a amostra, após um tempo τ do primeiro pulso é aplicado um segundo pulso de 90° para que a magnetização recuperada seja direcionada para o eixo de detecção da bobina de recepção. Após este segundo pulso é feita a aquisição do sinal. 63

- 2.24 Ilustração da sequência CPMG. a) Aplica-se um pulso RF de 90° na direção x , no sistema sob a influência do campo magnético estático. b) A magnetização total sofre uma alteração na direção. c) Após passado um tempo τ , a perda de fase entre os spins está acontecendo no momento em que é aplicado um pulso de 180° transversal ao campo estático d), levando a uma inversão de fase, fazendo com que os spins que antes estavam defasados entrem em fase, uns com os outros, formando assim, um magnetização transversal inversa e), ou seja, um sinal de eco no sentido contrário. A partir daí, f) e g), começa a repetir a sequência de acontecimentos da parte c) em diante, mas com o sinal contrário e sob o efeito da relaxação T_2 , e após o pulso 180° , inverte novamente o sinal e assim sucessivamente, todos sob a influência de T_2 , o que gera sinais cada vez menores. 66
- 2.25 Representação da ordem de pulsos da sequência CPMG. Primeiramente um pulso de 90° é aplicado, espera-se um tempo τ , então aplica-se um pulso de 180° transversal ao campo e ao primeiro pulso. Após um tempo τ igual ao anterior, o sistema forma um eco. É aguardado um período de tempo τ , de mesmo valor que os anteriores, e o pulso de 180° é novamente aplicado. Essa repetição é feita n vezes para que haja a formação de sucessivos ecos. 66
- 2.26 Ilustração da dinâmica de spins ao longo da sequência de Stejskal-Tanner. a) Como na sequência CPMG, aplica-se um pulso RF de 90° na direção x , no sistema sob a influência do campo magnético estático. b) A magnetização total sofre uma alteração na direção de 90° . c) Após passado um tempo τ , a perda de fase entre os spins está acontecendo no momento em que é aplicado um gradiente de campo transversal ao pulso anterior e ao campo estático, d) após um tempo τ aplica-se um pulso de 180° levando a uma inversão de fase da magnetização, e) mas fazendo com que os spins que antes estavam defasados entrem em fase, uns com os outros, mas "experimentando" diferentes intensidades de campo a depender da posição em que se encontrem, f) após um tempo τ os spins entram todos em fase gerando um pico no sinal obtido, e a sequência continua a partir da figura c), porém com direção contrária. 69

2.27	Representação da ordem de pulsos de RF e gradientes aplicados na sequência Stejskal-Tanner para medição do ADC. Após cada pulso, primeiro o de 90° depois de 180° , aplica-se um gradiente (G) do campo estático.	70
3.1	Materiais utilizados para preparação das amostras. a) AlgNa-1; b) AlgNa-2; c) Cloreto de cálcio; d) Carbonato de cálcio; e) GDL.	72
3.2	Equipamentos que auxiliaram na preparação das amostras. a) Balança analítica; b) Agitador magnético utilizado para dissolver as amostras; c) Banho ultrassônico utilizado para retirar bolhas das soluções de alginato de sódio.	73
3.3	Aparelho de Ressonância Magnética Nuclear com frequência de ressonância de $400MHz$ ($9,4T$) para frequência de um átomo de hidrogênio, utilizado na realização das imagens e das medições das dinâmicas de relaxação e difusão das amostras.	73
3.4	Lado esquerdo da figura mostra as seringas e os pequenos recipientes (tampas) utilizados para fabricação das esferas de alginato de cálcio. Lado direito da figura exemplificam a forma final de algumas das esferas feitas com essas tampas de frascos químicos, que possuíam, aproximadamente, 1,5 cm de diâmetro.	75
3.5	Ilustração de alguns parâmetros de medição. O ângulo de visão está com o sentido do corte na direção do y, isto é, sagital. Os retângulos laranjas "S" representam os <i>slices</i> ou fatias. A distância "G" entre uma fatia e outra é denominado <i>gap</i> . O parâmetro <i>Read</i> , representado na figura pela letra "R", determina qual o tamanho da fatia na direção x, enquanto que <i>Phase</i> , representado pela letra "P" na figura, determina a espessura da fatia.	78
4.1	Medidas de T_1 dos hidrogênios da água no gel alginato de cálcio preparado a partir do método de difusão, em função das concentrações de sal $CaCl_2$ e do alginato de sódio.	80
4.2	Medidas de T_2 dos hidrogênios da água no gel de alginato de cálcio preparado a partir do método de difusão, em função das concentrações de sal $CaCl_2$ e do alginato de sódio.	81

4.3	Medidas de Coeficiente de Difusão Aparente (ADC) dos hidrogênios da água no gel de alginato de cálcio preparado a partir do método de difusão, em função das concentrações de sal $CaCl_2$ e do alginato de sódio.	82
4.4	Medidas de T_1 dos hidrogênios da água no gel alginato de cálcio produzido pelo método de gelificação interna, em função das concentrações do sal $CaCO_3$ com GDL e do alginato de sódio, feitas em aparelho de RMN. . . .	82
4.5	Medidas de T_2 dos hidrogênios da água no gel alginato de cálcio produzido pelo método de gelificação interna, em função das concentrações do sal $CaCO_3$ com GDL e do alginato de sódio, feitas em aparelho de RMN. . . .	83
4.6	Coeficiente de difusão aparente dos hidrogênios da água medido através do aparelho de RMN do gel alginato de cálcio produzido pelo método de gelificação interna, em função das concentrações do sal $CaCO_3$ com GDL e do alginato de sódio.	83
4.7	Medidas da relaxação T_1 dos hidrogênios da água em géis de alginato de cálcio produzidos pelo método de difusão e géis produzidos por gelificação interna, em função das concentrações dos sais e do alginato de sódio. . . .	85
4.8	Medidas de T_2 dos hidrogênios da água em géis de alginato de cálcio produzidos pelo método de difusão e géis produzidos por gelificação interna, em função das concentrações dos sais e do alginato de sódio.	86
4.9	Coeficiente de autodifusão do hidrogênio da água no gel de alginato de sódio preparado com $CaCl_2$ comparados com os coeficientes de difusão do hidrogênio da água livre de obstáculos.	87
4.10	Coeficiente de autodifusão do hidrogênio da água no gel de alginato de sódio preparado com $CaCO_3$ comparados com os coeficientes de difusão do hidrogênio da água livre de obstáculos.	88
4.11	Gráfico apresentando os pontos obtidos experimentalmente e os pontos obtidos através do modelo R1 para solução de cloreto de cálcio.	91
4.12	Gráfico apresentando os pontos obtidos experimentalmente e os pontos obtidos através do modelo R1 para a solução de carbonato de cálcio. . . .	92

4.13	Evolução da concentração de caixa de ovos no sistema em função do tempo e da concentração de alginato de sódio. Curva obtida através da solução da equação 4.9, para $k_R = k_G = 1$, $N_S = 4$, $C_S^0 = 10mM$ e $C_{Alg}^0 = 1\%$, 2% e 3%	94
4.14	Valores finais das concentrações de caixa de ovos em função da concentração inicial de sal, para diferentes concentrações de alginato de sódio.	95
4.15	Foto obtida utilizando o auxílio de um microscópio óptico das amostras que apresentaram capilares. A imagem da esquerda corresponde amostra contendo 1% de alginato de sódio em contato com $CaCl_2$ a $0,5M$ durante 11 dias. A imagem da direita apresenta a amostra contendo 2% de alginato de sódio em contato com $CaCl_2$ a $1M$. O campo de visão de cada amostra é aproximadamente $2,5\text{ mm} \times 2,5\text{ mm}$	96
4.16	Foto obtida utilizando o auxílio de um microscópio óptico das amostras que apresentaram comportamento similar à presença de capilares. No lado esquerdo é a foto da amostra contendo 2% de alginato de sódio em contato com $CaCl_2$ a $1M$ durante 11 dias. A imagem do lado direito corresponde à amostra contendo 3% de alginato de sódio em contato com $CaCl_2$ a $1,5M$. O campo de visão de cada amostra é aproximadamente $2,5\text{ mm} \times 2,5\text{ mm}$	97
4.17	Microscópio óptico utilizado para captação das imagens dos possíveis capilares formados nas amostras de alginato de cálcio.	97
B.1	A figura mostra imagens da amostra feitas através da sequência Sems, cujos parâmetros estão descritos na Tabela B.1. As partes mais amareladas representam locais onde a difusão está menos intensa no momento da medição. As imagens contidas na linha superior da figura corresponde á amostra contendo 1% de alginato de sódio e 5 mM de $CaCl_2$. As imagens da linha central da figura corresponde á amostra contendo 2% de alginato de sódio e 5 mM de $CaCl_2$. As imagens da linha inferior da figura corresponde á amostra contendo 3% de alginato de sódio e 5 mM de $CaCl_2$. As amostras foram produzidas como descrito na Secção 3.3.1	109

B.2	A figura mostra imagens da amostra feitas através da sequência Sems, cujos parâmetros estão descritos na Tabela B.1. As partes mais amareladas representam locais onde a difusão está menos intensa no momento da medição. As imagens contidas na linha superior da figura corresponde á amostra contendo 1% de alginato de sódio e 50 mM de $CaCl_2$. As imagens da linha central da figura corresponde á amostra contendo 2% de alginato de sódio e 50 mM de $CaCl_2$. Já as imagens da linha inferior da figura corresponde á amostra contendo 3% de alginato de sódio e 50 mM de $CaCl_2$. As amostras foram produzidas como descrito na Secção 3.3.1	110
B.3	Valores para o coeficiente de difusão do gel alginato de cálcio em função da concentração do alginato de sódio e do cloreto de cálcio.	111
B.4	A figura mostra imagens da amostra feitas através da sequência Sems, cujos parâmetros estão descritos na Tabela B.2. As partes mais amareladas representam locais onde a difusão está menos intensa no momento da medição. As imagens contidas na linha superior da figura corresponde á amostra contendo 1% de alginato de sódio e 5 mM de $CaCO_3$ e 10 mM de GDL. Já as imagens da linha inferior da figura corresponde á amostra contendo 3% de alginato de sódio e 5 mM de $CaCO_3$ e 10 mM de GDL. Ambas as amostras foram produzidas como descrito na Secção 3.3.2.	112
B.5	A figura mostra imagens da amostra feitas através da sequência Sems, cujos parâmetros estão descritos na Tabela B.2. As partes mais amareladas representam locais onde a difusão está menos intensa no momento da medição. As imagens contidas na linha superior da figura corresponde á amostra contendo 1% de alginato de sódio e 50 mM de $CaCO_3$ e 100 mM de GDL. Já as imagens da linha inferior da figura corresponde á amostra contendo 3% de alginato de sódio e 50 mM de $CaCO_3$ e 100 mM de GDL. Ambas as amostras foram produzidas como descrito na Secção 3.3.2.	113
B.6	Valores para o coeficiente de difusão do gel alginato de cálcio em função da concentração do alginato de sódio e do carbonato de cálcio, utilizando os parâmetros mostrados na Tabela B.2.	114

Lista de Tabelas

2.1	Alguns isótopos nucleares, com seus respectivos spins nucleares, que podem ser utilizados na técnica de ressonância magnética nuclear.	46
3.1	Parâmetros utilizados para a geração de imagens das amostras.	77
B.1	Parâmetros utilizados para a geração da sequência de imagens Sems mostradas nas Figuras B.1 e B.2	108
B.2	Parâmetros utilizados para a geração da sequência de imagens Sems mostradas nas Figuras B.4 e B.5.	111

Sumário

1	Introdução	18
2	Conceitos	22
2.1	Polímeros	22
2.2	Hidrogéis	26
2.3	Alginatos	27
2.3.1	Viscosidade de Soluções Aquosas de Alginatos	28
2.3.2	Géis de Alginato de Cálcio	33
2.4	Difusão	38
2.4.1	Fatores que Influenciam a Difusão	43
2.4.2	Autodifusão	43
2.5	Ressonância Magnética Nuclear	44
2.5.1	Processos de Relaxação	51
2.5.2	Equações de Bloch	53
2.5.3	Constante T_2 vs T_2^*	57
2.5.4	Teoria de Bloembergen, Purcell e Pound (BPP)	58
2.5.5	Técnicas de Detecção de Sinal	60
2.5.6	Sequências de Pulsos para a Detecção e Sinais	61
3	Materiais e Métodos	71
3.1	Materiais	71
3.2	Equipamentos	72
3.3	Síntese de hidrogéis	74
3.3.1	Método 1	74
3.3.2	Método 2	75

3.3.3	Método 3	76
3.4	Medições	77
4	Resultados e Discussões	79
4.1	Relaxação e Autodifusão da Água em Gel de Alginato de Cálcio	79
4.2	Discussão dos Resultados	84
4.3	Proposta de Modelamento do Comportamento das Taxas de Relaxação 1/ T_1 e 1/ T_2	89
4.4	Indícios de Formação de Capilares em Alginato de Cálcio	95
5	Conclusões e Perspectivas	98
	Referências	100
	Apêndice A Equações Fundamentais da Ressonância Magnética	105
	Apêndice B Imagens das amostras feitas por RMN	108
	Apêndice C Programação Utilizada no Matlab	115

Capítulo 1

Introdução

Os biopolímeros estão apresentando uma importância cada vez maior nas indústrias médicas, de alta tecnologia e alimentar. Entre os biopolímeros, os polissacarídeos compreendem uma das mais abundantes e diversificadas famílias. A sua estrutura primária varia em composição, sequência, massa molar, posição de ligação e densidade de carga. Essas variações podem dar origem à quase infinitas formas de estruturas químicas e de conformações às quais se refletem em diferentes propriedades, que direcionam muitas de suas aplicações. As de interesse comercial, por exemplo, são bastante diversificadas e cobrem o espectro de produtos químicos corriqueiros até especialidades químicas lucrativas para usos médicos e de alta tecnologia. De todos os polissacarídeos, há um maior uso comercial de alginatos por causa da sua grande facilidade de gelificar e da sua alta biocompatibilidade.

Nas indústrias alimentar, médica, farmacêutica, agrícola, dentre outras, o alginato possui grande importância, sendo amplamente utilizado. Nessas indústrias, elementos com o alginato de sódio são produzidos por meio da mistura do alginato de sódio com determinados materiais de interesse, dependendo da aplicação. Alguns exemplos de aplicações do alginato de sódio são, para a indústria alimentícia o alginato é misturado com polpa de comida para modificar a viscosidade do alimento, nas indústrias médicas e farmacêuticas mistura-se o alginato com medicação para tratamento de doenças e ferimentos através da liberação controlada do medicamento, já para a agricultura mistura-se o alginato com nutrientes e algumas soluções para cuidados com a terra.

O pH da solução final de alginato é de extrema importância para o desempenho da função desejada. Na maior parte das aplicações, a mistura com alginato de sódio é feita em ambiente de pH neutro, para que as propriedades do material não sejam modificadas, mas na indústria alimentícia, por exemplo, a mistura do alginato com determinados materiais é usualmente feita em ambiente de pH ácido, pois alguns alimentos são melhores processados nesse tipo de ambiente.

Além do pH, a propriedade de transporte de massa pode também ser influenciada pela concentração, composição e nível de impureza do alginato, pelo processo de fabricação e pelo tipo e concentração dos íons gelificantes e não gelificantes.

Martinsen *et al* [5] analisaram as propriedades e características químicas e físicas de diferentes tipos de alginatos e as modificações sofridas quando misturados à diferentes soluções de cloreto de cálcio ($CaCl_2$) e cloreto de sódio ($NaCl$) através da reologia e da obtenção do espectro obtido através da técnica de RMN.

Draget *et al* [6] estudaram as propriedades do alginato de sódio em ambientes ácidos, através da reologia do material. O resultado obtido por Draget *et al* foi que em meios onde o pH é ácido, o alginato demora mais tempo que o habitual para gelificar, esse tempo chega a ser de 24 h. Em meios onde o pH é neutro, o alginato gelifica em até 5 minutos. O estudo demonstra que em meios cujo pH é básico, o gel de alginato pode ter características favoráveis para o uso de materiais biológicos e podem ser dissolvidos novamente, sem prejudicar o material biológico embebido no gel de alginato.

Martinsen *et al* constataram que a a força mecânica e a estabilidade do volume das cadeias do gel, estão correlacionados com o ácido *L* - gulurônico contido e o comprimento médio dos blocos *G*. Quanto maior a presença desses dois fatores, mais forte é o gel e menor será a sua contração. Esses resultados são de suma importância, pois foram fundamentais para a aplicação do alginato de sódio, principalmente na medicina e agricultura, para liberação controlada de substâncias.

Motivados por esses resultados e pela importância do conhecimento para entender como as propriedades físicas macroscópicas se relacionam com os parâmetros microscópicos de relaxação e autodifusão obtidos por RMN. Com base nos resultados obtidos por Martinsen *et al* e Draget *et al*, esse trabalho tem o objetivo de investigar, tentar entender e explicar a influência de dois diferentes métodos de preparação do alginato de cálcio nos

processos de relaxação e autodifusão. Para isso, estudamos e analisamos as características do alginato de sódio e suas modificações na presença de íons de cálcio em diferentes concentrações. O entendimento desses resultados, pode ajudar a aprimorar métodos de preparação das soluções de gel de alginato de cálcio de acordo com as aplicações desejadas. Como resultado, obtivemos as variações das características de relaxação e autodifusão do hidrogênio da água nas amostras de alginato de cálcio, de acordo com parâmetros como, a concentração de íons de cálcio, método de preparação da amostra e concentração de alginato de sódio. Foi possível explicar qualitativamente e quantitativamente essas variações com base em teorias já aceitas pela literatura.

Em trabalhos recentes, Maneval *et al* (2011) [7] e Schuster *et al* (2014) [8], relataram uma nova característica do alginato de sódio na presença de íons de cálcio, que é a formação de capilares. Os dois trabalhos utilizaram métodos de fabricação diferentes para a preparação das amostras, contudo obtiveram o mesmo resultado: a formação de capilares nas amostras. Apesar de existirem algumas teorias a respeito desse comportamento, este não é totalmente explicado. A teoria mais aceita, atualmente, é a de que quando amostras de alginato de sódio são estressadas por uma grande quantidade de íons de cálcio, há a formação de capilares.

Ao final deste trabalho, com base nos resultados desses dois últimos trabalhos, foram preparadas amostras de alginato de cálcio, com um modo de preparação diferente dos que foram publicados na literatura, afim de provocar estresse o suficiente para acarretar na formação de capilares. Os resultados obtidos não foram analisados por nenhum método eficaz para comprovar, se houve realmente a formação dos capilares, apenas foram analisadas a olho nu e tiradas fotos com microscópio analógico.

No presente trabalho, realizaram-se medições através de Ressonância Magnética Nuclear. Com as análises e resultados esperamos contribuir efetivamente com ideias e experimentos para aprimoramento de técnicas de preparação dessas amostras.

Esta dissertação está dividida em capítulos de revisão teórica e experimental e de capítulos que discutem os resultados obtidos neste trabalho, assim como perspectivas para trabalhos futuros.

No capítulo 2 iremos abordar algumas das teorias relevantes para a compreensão e análises dos resultados, tais como: (i) estrutura do alginato de sódio e seu comportamento

na presença de íons de cálcio; (ii) mecanismos de difusão; (iii) mecanismos de relaxação; (iv) métodos de ressonância magnética nuclear.

No capítulo 3, iremos descrever, na seção 3.1, os equipamentos e materiais usados para a obtenção dos dados experimentais. Na seção 3.3 descrevemos os métodos de preparação das amostras utilizadas nas medições. Finalizando esse capítulo especificando os parâmetros, equipamentos e técnicas utilizadas para obtenção dos resultados.

No capítulo 4, analisaremos e discutiremos os resultados obtidos, com investigação das influências das dinâmicas do alginato de cálcio tanto com relação às concentrações do alginato de sódio e de sal quanto com relação aos métodos de gelificação utilizados.

Finalmente, no capítulo 5, apresentaremos as conclusões e perspectivas. Apresentaremos as considerações finais dos resultados obtidos e mostraremos também que há muito trabalho a ser feito para a caracterização desses materiais, pelos efeitos discutidos nessa dissertação, e também pelo que pode se pensar para a utilização destes resultados em futuras aplicações.

Capítulo 2

Conceitos

Neste capítulo apresentaremos o conceito básico sobre polímeros e hidrogel. Trataremos também sobre alginato de sódio e suas definições, métodos e formação de géis de alginato de cálcio.

Ainda neste capítulo abordaremos, superficialmente, os conceitos físicos e matemáticos da difusão, mencionaremos alguns fatores que influenciam na difusão e falaremos sobre autodifusão.

E por último trataremos do conceito básico sobre ressonância magnética nuclear (RMN)², quais os dados que podem ser obtidos através de técnicas que utilizam esse fenômeno e algumas técnicas que utilizam RMN.

2.1 Polímeros

Polímeros são estruturas químicas compostas por unidades moleculares relativamente simples, denominadas meros, ligadas entre si por ligações covalentes e que se repetem duas ou mais vezes, formando moléculas maiores. O nome polímero vem do grego *poli* = muito e *mero* = parte, logo o significado, em tradução livre, da palavra polímero é "muitas partes". [9]

Polímeros, normalmente, envolvem uma vasta faixa de valores de massa molar e muitas propriedades físicas são dependentes da sua massa molar. Por se tratar de um conjunto de macromoléculas, pode-se fazer alterações nas estruturas dos polímeros que

acarretarão em mudanças nas suas propriedades que, a depender do número de monômeros unidos, podem ser drásticas ou sutis [10, 11].

Nem todos os compostos de baixa massa molar formam polímeros. Para que o polímero seja formado, cada monômero tem que ser capaz de se combinar com no mínimo outros dois monômeros. O número de combinações que cada monômero pode fazer é chamado de funcionalidade (f). O processo de formação de polímeros denomina-se polimerização. [10]

Polímeros formados pela mesma unidade de repetição, ou seja, mesmo mero, em sua cadeia polimérica, são chamados de homopolímero. Já os polímeros que possuem, em sua cadeia principal, dois meros diferentes, são denominados copolímeros. [10]

Um exemplo é apresentado na Figura 2.1, para demonstrar a diferença entre monômero e polímero.

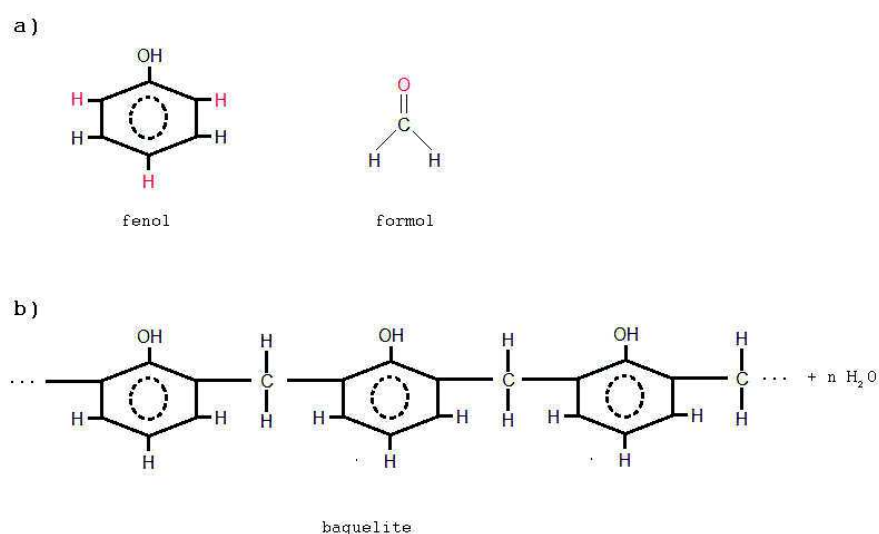


Figura 2.1: Exemplo de monômero e polímero. A figura a) mostra dois monômeros diferentes, a molécula do fenol e a molécula do formol. Quando esses dois monômeros ligam-se entre si, ocorre a polimerização, nesse processo alguns elementos são liberados, que nesse exemplo os elementos liberados formam a molécula da água. A figura b) mostra o copolímero baquelite formado por n monômeros.

Dependendo do tipo de monômero, do tipo de ligação covalente e do número mé-

dio de meros por cadeia, pode-se dividir os polímeros em três grande classes, segundo Canevarolo em seu livro "Ciência dos polímeros":

1. Plásticos - são polímeros de alta massa molar, cujo produto final resulta em um material sólido, que pode ser subdividido em:
 - Termoplásticos - São plásticos que podem ser amolecidos e moldados com o aumento da temperatura e da pressão. Quando retiradas essas condições, o produto solidifica-se conforme o molde. Podem ser moldados várias vezes aumentando a temperatura e a pressão quantas vezes forem necessárias, pois sofrem apenas mudanças físicas. Exemplos: polietileno, poliestireno e poliamida (Nailon);
 - Termofixos - São plásticos que podem ser moldados com o aumento da temperatura, mas essa alteração pode somente ser feita uma única vez, pois sofrem alterações químicas irreversíveis, tornando-se rígidos, infusíveis e insolúveis. Exemplos: baquelite e resina epóxi.
2. Borrachas - Polímeros que, quando submetidos à forças mecânicas, em temperatura ambiente, se deformam em até duas vezes o seu comprimento inicial, mas quando retiradas as forças, recuperam rapidamente sua forma. Podem ser de origem natural ou sintética.
3. Fibras - termoplástico, cuja orientação com a direção principal das cadeias poliméricas é paralela ao eixo maior (sentido longitudinal), tendo que satisfazer a condição geométrica, onde comprimento tem que ser, no mínimo, cem vezes maior que o diâmetro.

Uma cadeia polimérica pode se apresentar com tais formas e arquiteturas, mostrados na Figura 2.2:

- Linear - formado pelas ligações dos monômeros em um comprimento único e contínuo;
- Ramificado - são subdivididos em 3 categorias:
 - Tipo A - estrutura tipo pente, com longas ramificações;
 - Tipo B - estrutura tipo pente com curtas ramificações;

- Tipo C - estrutura dendrítica com ramificações que também apresentam outras ramificações.
- Em rede ou reticulada - formados por estruturas que apresentam cadeias poliméricas ligadas entre si, formando uma rede ou retículo.

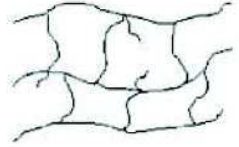
Estrutura da molécula	Designação do Polímero
	Linear
	Ramificado Tipo A
	Ramificado Tipo B
	Ramificado Tipo C
	Em rede ou Reticulado

Figura 2.2: Representação esquemática da classificação polimérica de acordo com a estrutura molecular(figura adaptada da referência [1])

Polímeros tem grande importância industrial e comercial, já que podem ser utilizados em aplicações distintas como por exemplo na construção, vestuário, medicina e biomateriais. Um polímero que é muito usado na área comercial para aplicações, principalmente medicianis, é o hidrogel.

2.2 Hidrogéis

Hidrogéis são polímeros que possuem redes tridimensionais, isto é, são formados por monômeros com $f \geq 3$, e são altamente hidrófilos, ou seja, capazes de absorver grandes quantidades de água ou fluidos biológicos [12]. A Figura 2.3 apresenta um esquema de diferentes formas de preparação de tipos de hidrogéis, que estruturalmente são classificados em:

- Hidrogéis permanentes ou químicos - formados por cadeias macromoleculares interligadas por ligações covalentes (reticulações);
- Hidrogéis reversíveis ou físicos - formados por cadeias macromoleculares interligadas por interações físicas, isto é, se mantêm por interações a nível intra ou intermolecular como, por exemplo, ligações iônicas, força de Van Der Waals e ligações de hidrogênio [2].

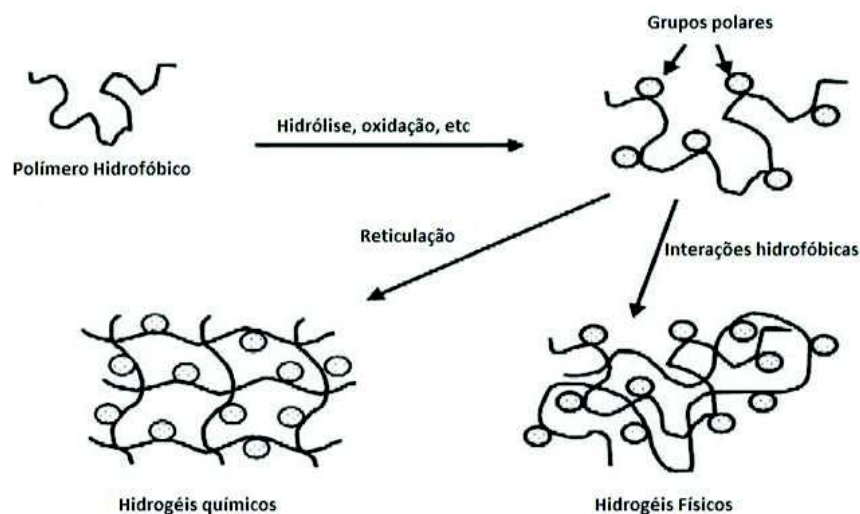


Figura 2.3: Esquema genérico de preparação de hidrogéis. (Figura adaptada da referência [2])

Os hidrogéis são utilizados em vários campos desde a agricultura até em biomateriais, uma área em grande desenvolvimento. Desde a década de 60 que os hidrogéis vêm sendo estudados como biomateriais. Nos anos 80, Lim e Sun [13] demonstraram a

aplicação de microcápsulas de alginato de sódio no encapsulamento de células. Em um outro trabalho foi demonstrado a possibilidade de inclusão de polímeros naturais e de cartilagens de tubarão em hidrogéis para aplicações em queimaduras [14]. Atualmente, existe uma vastidão de materiais que podem ser utilizados como base para um hidrogel com finalidade de aplicação como biomaterial.

Hidrogéis podem ser preparados a partir de polímeros naturais ou sintéticos. Dentre os polímeros de origem natural, os sacarídeos tem tido bastante destaque devido às suas propriedades, principalmente devido ao seu baixo custo e à sua alta hidrofilia. Um açúcar que as indústrias tem interesse é o polissacarídeo, porque além de ser altamente hidrofílico e de ser biocompatível, a partir dele é fácil de produzir hidrogéis. Os alginatos são os mais utilizados dentre os polissacarídeos, pois possuem uma grande biocompatibilidade e uma alta facilidade em gelificar.

2.3 Alginatos

Alginatos são biopolímeros abundantes na natureza e são produzidos por bactérias do solo e por algas marinhas marrons. Apesar de existir a possibilidade de cultivar bactérias para a produção de alginato em escala industrial, todo o alginato comercializado é proveniente das algas [3].

Em termos de estrutura molecular, alginatos são da família dos copolímeros¹ binários não ramificados formados por unidades de ácido *D*-manurônico e de ácido *L*-gulurônico, podendo variar a sequência e a composição ao longo da cadeia. A proporção do ácido *L*-gulurônico depende da origem do alginato.

O alginato comercializado é constituído por ligações de copolímeros não ramificados de ácido β - *D*-manurônico (*M*) e resíduos α - *L*-gulurônico (*G*) (Ver Figura 2.4 (a) e (b)). A figura 2.4 (c) mostra de forma muito simplificada a sequência estrutural

¹Copolímero é um polímero composto por diferentes monômeros.

do alginato comercial publicado por Haug *et al* [15, 16, 17, 18, 19]. Nesse trabalho os autores separaram o alginato em três frações diferentes, onde a primeira fração continha homopolímeros de moléculas gulurônicas, a segunda homopolímeros de ácido manurônico e a terceira fração continha aproximadamente iguais proporções dos dois monômeros. Disso concluiu-se que o alginato é composto por copolímeros de blocos, que chamamos de Bloco-*G*, Bloco-*M* e Bloco-*MG* as regiões onde contém, respectivamente, homopolímeros *G*, homopolímeros *M* e monômeros alternados.

Em trabalhos posteriores, utilizando novas técnicas, como por exemplo espectro de Ressonância Magnética Nuclear (RMN), mostrou-se que além da sequência já conhecida, o alginato possui blocos de sequências alternadas *GGM* e *MMG* [3].

A composição, o tamanho dos blocos e a massa molecular são fatores que determinam as propriedades físico-químicas do alginato. A sequência dos monômeros e a massa molecular são os principais fatores determinantes das propriedades físicas de um gel² formado pelo polissacarídeo. Por exemplo, quanto menor a massa molecular dos fragmentos contendo apenas blocos-*G*, menor a sua contribuição na formação da rede do gel [3].

Géis poliméricos são formados através da interação das longas cadeias poliméricas lineares [20].

2.3.1 Viscosidade de Soluções Aquosas de Alginatos

As aplicações do alginato de sódio dependem da sua capacidade de aumentar a viscosidade de sistemas aquosos utilizando concentrações relativamente baixas. Por exemplo, quando se hidrata um sal de ácido algínico solúvel em água, a viscosidade do meio aumenta, dependendo do tamanho da molécula de alginato usada.

Na maioria das aplicações, nas concentrações usadas, uma solução de alginato tem características pseudo-plásticas, isto é, a solução flui mais rápido quando agitada, como resultado do comprimento e da rigidez das moléculas de alginato hidratadas na mistura [21].

Vários fatores influenciam a viscosidade da solução aquosa do alginato, tais como

²Gel pode ser definido como o sistema formado por estruturas rígidas coloidais (gel coloidal) ou por cadeias poliméricas (gel polimérico) que imobiliza a fase líquida no espaço entre as moléculas [20].

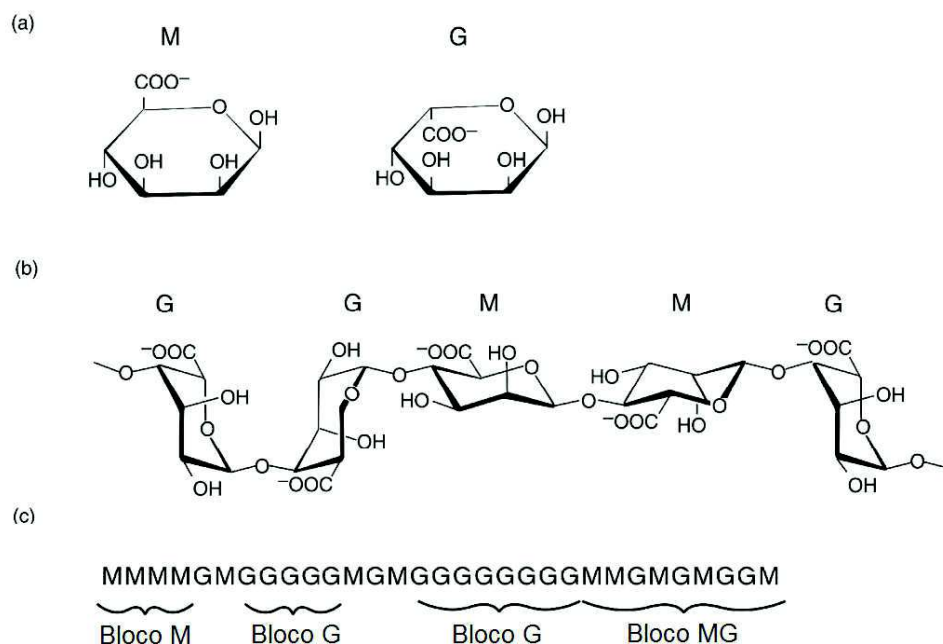


Figura 2.4: Estrutura molecular do alginato comercial. (a) M: β -D-manurônico; G: α -L-gulurônico. (b) A cadeia de alginato, formação cadeia. (c) Representação simbólica da cadeia de alginato em termos de blocos M e G. (Figura adaptada da referência [3])

[21, 22]:

- Massa molar - Quanto maior a massa molecular de um alginato solúvel, maior a viscosidade da solução;
- Temperatura - Quanto maior a temperatura menor a viscosidade. A redução da temperatura na solução de alginato aumenta a viscosidade, mas não forma gel;
- pH - Quanto menor a massa molecular do alginato maior a estabilidade da solução em pH baixos. A viscosidade da solução não é afetada no intervalo de pH entre 5 e 10. Para $\text{pH} > 10$ não há estabilidade da solução a longo prazo, pois há uma despolimerização e perda da viscosidade nessas condições. Para $\text{pH} < 5$ há um aumento da viscosidade, pois há uma redução dos íons na cadeia e das repulsões eletrostáticas e há formação de pontes de hidrogênio;
- Íons de cálcio - Em baixas concentrações, a presença de íons de cálcio em uma solução de alginato aumentará a viscosidade da solução. Em altas concentrações os

íons irão provocar a formação de um gel. À medida que a concentração de cálcio e a viscosidade aumentam, as soluções mudam de pseudo-plásticas para tixotrópicas, isto é, perdem a viscosidade quando agitadas e levam um certo tempo para recuperar sua viscosidade original após a agitação;

- Sais monovalentes - O efeito dos sais na solução de alginato varia de acordo com a fonte do alginato, o grau de polimerização, a concentração em solução e o tipo de sal monovalente usado. A viscosidade da solução, normalmente, diminui com a adição de sais monovalentes porque o polímero de alginato se contrai à medida que a força iônica da solução aumenta. Mas, à medida em que a concentração dos sais aumenta a viscosidade da solução pode aumentar (este efeito é mais evidente em armazenamentos prolongado). Numa solução de alginato com cálcio, esse pode ser substituído por sódio, se o sal de sódio estiver mais concentrado.

Íons monovalentes formam sais solúveis de alginato. Na presença de íons divalentes e multivalentes, o alginato de sódio pode trocar íons de sódio de sua estrutura por íons divalentes, através de processo de ligação cruzada, e tornar gel o meio em que se encontra. A figura 2.5 ilustra a estrutura do alginato dissolvido e do alginato gel. A rigidez do gel de alginato está diretamente relacionado com a quantidade de pontos de ligação, ou seja, quanto maior a quantidade de Blocos- G mais rígido será o gel [23].

As afinidades dos alginatos para cátions multivalentes depende da sua composição. Stephen e Phillips [3] demonstraram que as características de afinidade são propriedade exclusiva dos blocos- G , e que os blocos- M e - MG praticamente não tem seletividade. Algumas pesquisas afirmam que o íon Mg^{2+} adicionado numa solução de alginato forma gel [24], já outras pesquisas afirmam que quando esses íons são adicionados à solução de alginato, não há aumento da viscosidade da solução e nem há formação de gel [25].

Em um trabalho, Smidsrod *et al* mostraram que o alginato possui um coeficiente de seletividade maior para o Ca^{2+} do que para o Mg^{2+} e esse coeficiente aumenta de acordo com a afinidade e com a proporção de cada íon contido no polímero. Resultados posteriores reforçaram o resultado, comprovando que quanto maior a concentração do Ca^{2+} mais viscoso é o gel, e consequentemente, maior é a afinidade para o Ca^{2+} , como mostrado na Figura 2.6 [26].

A afinidade do alginato com metais alcalinos aumenta na ordem $Mg \ll Ca <$

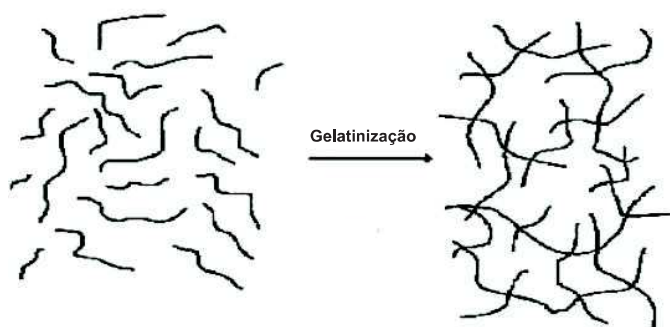


Figura 2.5: Ilustração do gel de alginato dissolvido, à esquerda, e do alginato em forma de gel, à direita.

$Sr < Ba$ [3]. Íons como Pb^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} e Mn^{2+} possuem uso limitado por apresentarem toxicidade.

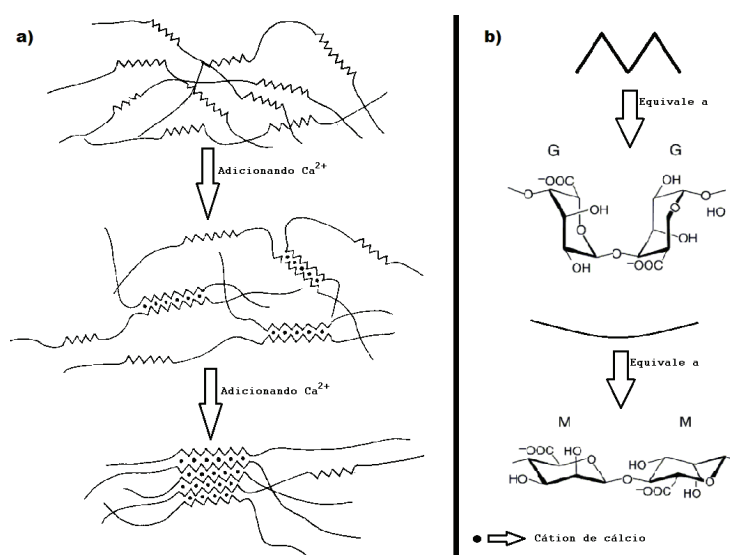


Figura 2.6: a) Interação específica do cálcio com caixas de blocos de ácido gulurônico. Quanto mais íons de cálcio presentes na solução, maior a interação. b) Especificação da estrutura química do esquema.

2.3.2 Géis de Alginato de Cálcio

Formação do gel

Como dito anteriormente, para reagir com metais di- ou polivalentes o alginato tem que conter uma certa proporção de ácido gulurônico e esses monômeros devem estar em série. A capacidade de formar gel está diretamente relacionada com a quantidade e o tamanho dos blocos- G .

O mecanismo de formação de gel é, atualmente explicado, pelo modelo da caixa de ovos (*egg-box*). O modelo descreve que o cátion divalente de cálcio, por exemplo, encaixa-se nas estruturas dos resíduos de ácido gulurônico. Essa formação, semelhante a uma caixa de ovos, envolve a interação do cálcio com diferentes átomos de oxigênio de duas unidades de ácido gulurônico vizinhas, em ambas as cadeias envolvidas na ligação do cálcio, como mostrado na Figura 2.7. Por isso o mecanismo de formação do gel baseia-se nas reações inter³- e intramoleculares⁴ do cátion de cálcio, formando ligações cruzadas entre as moléculas [27](Ver lado direito da Figura 2.7).

Após a formação do gel, as moléculas de água estão fisicamente aprisionadas pela rede de alginato, mas continuam livres para se movimentarem dentro da mesma.

Métodos para formação do gel

Se introduzirmos cloreto de cálcio em uma solução de alginato de sódio, um gel ou precipitado é formado instantaneamente. Por causa da rápida e forte formação de junções no gel e sua alta taxa de gelificação, é difícil produzir géis homogêneos e livres de caroços não dissolvidos de sal, mesmo com alta agitação da solução, exceto para pequenos

³Trata-se de interações entre duas ou mais moléculas, iguais ou diferentes, como as forças dipolo-dipolo, dipolo-induzido e ligações de hidrogênio

⁴São as interações que ocorre no interior da molécula, como as ligações químicas iônicas, covalentes e metálicas.

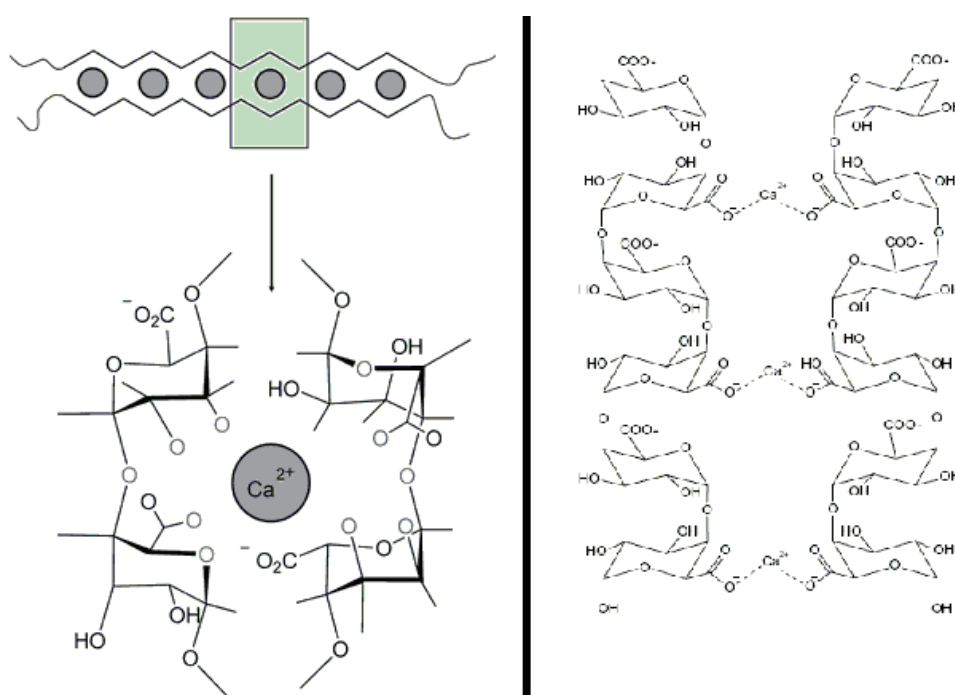


Figura 2.7: O lado esquerdo mostra a representação esquemática do modelo caixa de ovos da associação entre as sequências do ácido gulurônico do alginato com o íon de cálcio. O lado direito mostra a formação da ligação cruzada entre as moléculas.

volumes de alginato. Para contornar esse problema existem essencialmente, dois métodos para a preparação do gel de alginato:

1. Método de gelificação por difusão

É o mais simples. Esse método consiste em gotejar a solução de alginato ou uma mistura contendo alginato, numa solução líquida de sal de cálcio (pode-se também pulverizar a solução de alginato com a solução desse cátion), como mostrado na Figura 2.8. Esse método tem sido utilizado para produção de géis de alginato na indústria alimentícia, por exemplo, para fazer grãos artificiais ou reestruturar um alimento [28], e na biotecnologia, por exemplo, para fabricação de esferas de alginato com propósitos de imobilização de células ou enzimas [29].

Essa técnica, normalmente, produz heterogeneidade nas concentrações, já que as concentrações de cálcio apresentadas no polímero são menores no centro do gel que nas bordas. Quando os íons de metal divalente difundem para dentro da gota de solução de alginato, a rápida ligação iônica e a formação da rede servem de barreiras que dificultam a difusão dos íons livres de cálcio para o meio da solução, provocando uma inomogeneidade.

No geral, o que provoca uma grande heterogeneidade é o baixo peso molecular do alginato, baixa concentração de íons ligados e a ausência de íons livres, já o aumento da homogeneidade é provocado pelo alto peso molecular do alginato e pelas altas concentrações de íons ligados e de íons livres. Logo, pode-se controlar a homogeneidade do gel através da seleção cuidadosa do peso molecular do alginato e das concentrações tanto de íons livres quanto ligados. Este fato está melhor descrito nos trabalhos de Mikkelsen *et al* [30] e Thu *et al* [31].

2. Método de gelificação interna

Geralmente esse método utiliza uma forma inativa da ligação cruzada ou uma ligação através de um agente quelante como os fosfatos, os citratos e os ácidos etilenodiamino

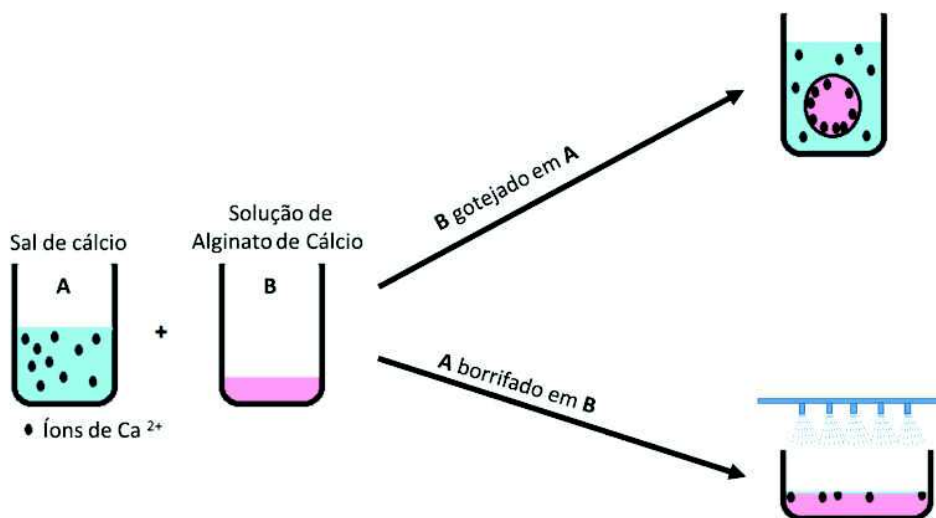


Figura 2.8: Configurações para o método de gelificação por difusão do alginato. a) mostra o método por banho de sal de cálcio, através do gotejamento da solução de alginato no sal. b) método feito por pulverização ou *spray* de sal de cálcio na solução de alginato.

tetra-acético (EDTA- *Ethylenediamine tetraacetic acid*) [32] ou um sal insolúvel, como o sulfato de cálcio e o carbonato de cálcio [33].

Normalmente é adicionada uma solução de lactona lentamente hidrolisável, normalmente usa-se o *GDL* (*D-Glucono- γ -Lactona*), na mistura de alginato com uma forma inativa de ligação cruzada iônica. A hidrólise libera lentamente os íons de hidrogênio que interagem com o íon de carbonato, liberando assim os íons de cálcio que irão se ligar ao alginato. Esse processo, mostrado na Figura 2.9, é governado pela propriedade ácida do agente quelante (no caso do sistema $Ca - EDTA - GDL$, o pH final do gel é aproximadamente 4, que é um ácido fraco). Quando o carbonato de cálcio é usado no lugar de complexos de íons de cálcio. O pH pode ser ajustado para qualquer valor pré-determinado, simplesmente ajustando as proporções relativas de *GDL* e sais de cálcio [34].

Essa técnica, geralmente, forma um gel homogêneo. Contudo pode-se observar uma pequena heterogeneidade nos géis de $CaCO_3 - GDL$ quando o sal $CaCO_3$ em alta molaridade é combinado com um alginato de baixa viscosidade [34]. Isso ocorre porque parte do sal de cálcio sedimenta antes de configurar o gel.

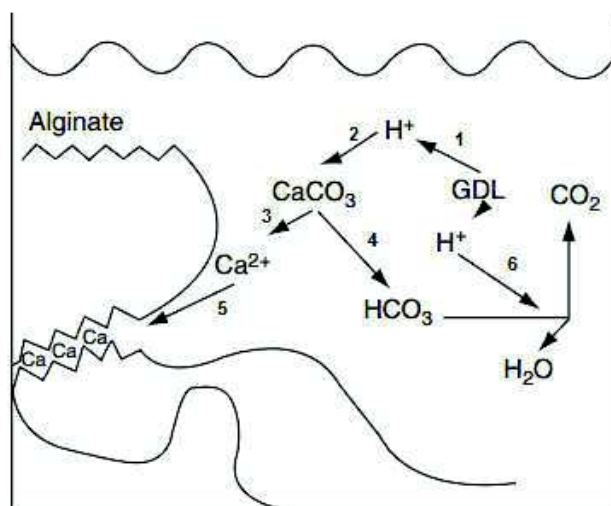


Figura 2.9: Principais reações durante a formação do gel de alginato usando *D*-glucono- γ -lactona e CaCO_3 . **1** - *GDL* libera prótons; **2** - os prótons interagem com o CaCO_3 ; **3** - liberação do cátion de cálcio na solução de alginato; **4** - formação do ânion HCO_3^- ; **5** - interação do cálcio com o alginato; **6** - interação do próton liberado pelo *GDL* com o ânion formando água e liberando dióxido de carbono. Figura adaptada da referência [3]

2.4 Difusão

De maneira geral a difusão descreve a dinâmica de partículas, átomos e moléculas através do movimento atômico de uma região de alta concentração para uma região de baixa concentração [35].

O fenômeno da difusão pode ser mostrado utilizando como exemplo dois diferentes líquidos dentro de um cilindro sendo que a metade inferior do cilindro preenchida com iodo (I) e outra metade preenchida cuidadosamente com água (H_2O), como mostrado na Figura 2.10. Com o passar do tempo, a parte superior torna-se escura e a parte inferior torna-se mais clara, até que as duas partes ficam com a mesma tonalidade. Ou seja, as moléculas de iodo movimentaram-se da parte inferior para a parte superior, assim como as moléculas de água movimentaram-se da parte superior para a inferior, ficando distribuídas por todo o cilindro uniformemente. Desse processo pode-se dizer que as moléculas do iodo (ou da água) difundiram-se para dentro da água (ou do iodo) [36].

O conceito de difusão surgiu da física, cujos trabalhos pioneiros foram:

- Jean Baptiste Joseph Fourier com o trabalho *Théorie analytique de la chaleur* [37] publicado em francês em 1822 e traduzido para o inglês em 1878 [38];
- Adolf Fick com o trabalho *Ueber diffusion* publicado em alemão [39] em 1855 e traduzido para o inglês em 1995 [40];
- Albert Einstein com o trabalho *On the movement of small particles suspended in stationary liquids required by the molecular-kinetic theory of heat* [41] publicado em 1905 em inglês.

A difusão é um fenômeno que depende do tempo. Geralmente é preciso saber o quão rápido ocorre a difusão ou a taxa de transferência de massa. Essa taxa é chamada de fluxo de difusão (F) e é definida pela massa ou número de átomos (M) que difunde perpendicularmente através de uma área (A) por unidade de tempo (t), representado pela expressão:

$$F = \frac{1}{A} \frac{dM}{dt} \quad (2.1)$$

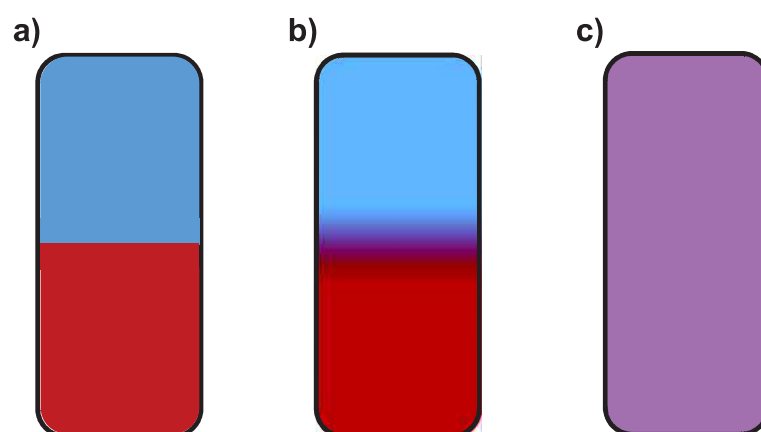


Figura 2.10: Ilustração da difusão de dois líquidos dentro de um cilindro contendo iodo na metade inferior e na metade superior contendo água pura colocada de forma cuidadosa e lenta para que não haja corrente de convecção. a) No primeiro momento durante a adição da água, o iodo está nitidamente separado da água, tendo entre os dois uma separação bem definida. b) Após passado um tempo que os dois líquidos estão em contato, a água começa a ficar escura e o iodo começa a ficar mais claro, ou seja as moléculas de iodo começam a se movimentar para a parte superior do cilindro e as moléculas da água para a parte inferior. c) Após passado tempo o suficiente as duas metades do cilindro possui a mesma tonalidade.

A unidade de F no Sistema Internacional (**SI**) é dada por kilogramas por metro quadrado e por segundo (kg/m^2s ou $atomos/m^2s$) [35].

Em um sistema fechado, como no exemplo do cilindro contendo água e iodo, a quantidade de moléculas dos dois líquidos permanece constantes. Traçando um gráfico da concentração (C) *vs* posição x dentro do cilindro, teremos um perfil da concentração, como mostrado na Figura 2.11. A inclinação em um ponto particular da curva nos dá o gradiente de concentração (G_c), expressado por:

$$G_c = \frac{dC}{dx} \quad (2.2)$$

Considerando que o perfil da concentração seja linear, a equação (2.2) torna-se:

$$G_c = \frac{\Delta C}{\Delta x} \quad (2.3)$$

$$= \frac{C_A - C_B}{x_A - x_B} \quad (2.4)$$

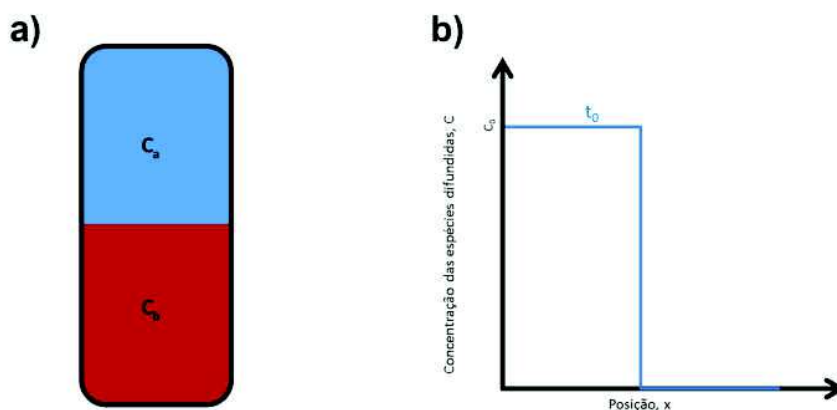


Figura 2.11: a) Esquema de difusão de dois líquidos dentro do cilindro, sendo que o líquido vermelho representa o iodo e o azul representa a água pura. C_a indica a concentração da água e C_b a concentração do iodo. b) Gráfico da concentração dos líquidos versus a posição x , revelando o perfil da concentração no meio.

Em 1855 Fick apresentou, pela primeira vez, o fenômeno da difusão em termos matemáticos. Ele formulou uma equação análoga à equação de transferência de calor

definida anteriormente por Fourier, adaptando-a para o fenômeno da difusão. A teoria matemática desenvolvida por Fick baseia-se na hipótese de que a taxa da transferência de uma substância isotrópica⁵ difundindo-se perpendicularmente através de uma área é proporcional ao seu gradiente de concentração na direção normal à secção medida, dada pela expressão:

$$F = -D \frac{dC}{dx}, \quad (2.5)$$

onde F é a taxa de transferência por unidade de área, C é a concentração da substância difundida e a constante de proporcionalidade D é chamada de coeficiente de difusão, cuja unidade é metros quadrados por segundo (m^2/s) [36]. Convenientemente, a concentração (C) é expressa em termos da massa difundida por unidade de volume (kg/m^3). A equação (2.5) é a Primeira Lei de Fick da difusão, onde o sinal negativo da expressão indica que a difusão tem sentido contrário ao gradiente de concentração, cujo sentido vai de uma região de alta para uma de baixa concentração.

Quando o fluxo da difusão e o gradiente de concentração variam com o tempo, como por exemplo quando há um aumento das partículas de iodo na parte superior do cilindro da figura 2.11, então a difusão entre os dois meios está em andamento. Retomando o exemplo dos átomos de iodo fluindo através do cilindro, mas desta vez consideraremos três tempos diferentes. Podemos plotar o gráfico dessa situação para três diferentes tempos, assim teremos um perfil de concentração diferente do mostrado na Figura 2.11 b), como mostrado na Figura 2.12. Para essa condição, onde o fluxo da difusão varia com o tempo, é tomado a diferencial parcial temporal da concentração, para o caso de difusão unidimensional:

$$\frac{\partial C}{\partial t} = \frac{\partial F}{\partial x} \quad (2.6)$$

Por (2.5), (2.6) torna-se:

⁵Uma substância isotrópica possui as mesmas características independente da direção considerada.

$$\frac{\partial C}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial x} \left(D \frac{\partial C}{\partial x} \right) \quad (2.7)$$

A equação acima é conhecida como a Segunda Lei de Fick.

Considerando que o coeficiente de difusão é constante na direção de x , a equação (2.7) pode ser resumida em:

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D \frac{\partial^2 C}{\partial x^2} \quad (2.8)$$

A solução para a expressão da concentração em termos tanto do tempo quanto da posição, só são possíveis quando as condições de contorno são especificadas. Mais detalhes sobre essas condições e como calcular coeficientes de difusão em meios anisotrópicos, isto é, em meios não isotrópicos podem ser encontrados nas referências [36, 42].

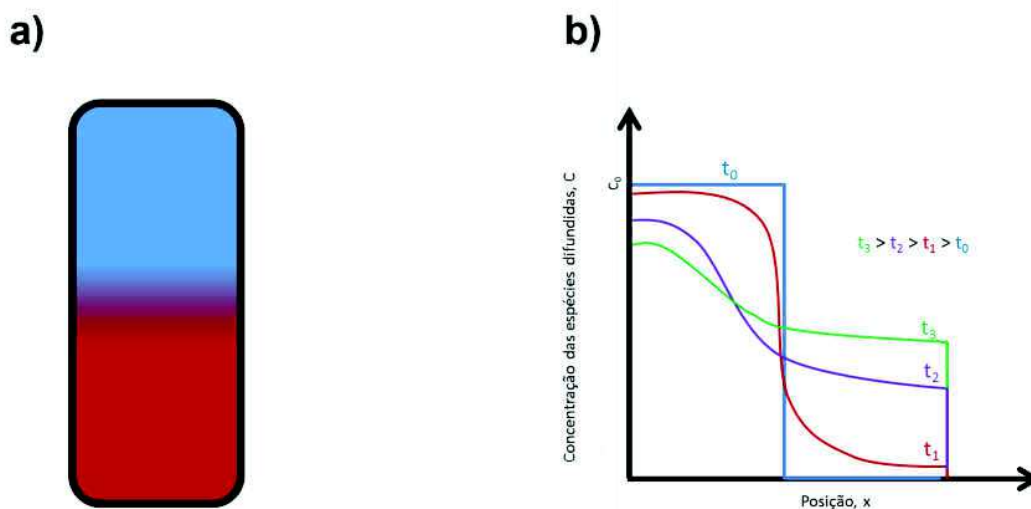


Figura 2.12: a) Esquema de fluxo de difusão, cujas concentrações dos líquidos em ambas as bordas da cilindro estão variando com o tempo. b) Gráfico da concentração das moléculas de água versus a distância tomados em quatro tempos diferentes, mostrando o perfil da concentração no meio para uma difusão em andamento.

2.4.1 Fatores que Influenciam a Difusão

Alguns fatores tanto internos quanto externos, podem modificar o coeficiente e a taxa de difusão de um sistema. Os dois principais fatores, são [35]:

Espécies Difundidas - A espécie difundida assim como o material em que esses átomos se difundem influenciam o coeficiente de difusão (D). A taxa pela qual os átomos do sistema se difundem, determina a magnitude do coeficiente de difusão;

Pressão - A pressão é um dos parâmetros capaz de modificar a taxa da difusão e o seu fluxo também. Quanto maior a diferença de pressão entre os dois sistemas envolvidos no processo de difusão, mais rapidamente essa ocorrerá;

Temperatura - A temperatura é o fator que mais influencia tanto no coeficiente quanto na taxa de difusão.

2.4.2 Autodifusão

Retomando o exemplo dos dois diferentes fluidos, citado anteriormente, quando estes estão uniformemente distribuídos por todo o cilindro (Figura 2.10 c)) ou antes dos dois líquidos se misturarem, as moléculas estão em constante movimento, devido à sua agitação térmica. Isso faz com que elas se choquem o tempo inteiro umas com as outras e se movimentem por todo o espaço disponível. Esse fenômeno é chamado de autodifusão. Logo a autodifusão é semelhante à difusão, mas não há variação na concentração da substância, quando considerado o conjunto todo.

Em 1905, Einstein em seu trabalho publicado [41], apresentou uma expressão para o coeficiente de difusão de partículas, em função da sua mobilidade e da temperatura, dada por:

$$D = \mu k_B T, \quad (2.9)$$

onde D é a constante de difusão, μ é a mobilidade da partícula, ou seja, é a razão da velocidade terminal de deriva da partícula, a uma força aplicada; k_B é a constante de Boltzmann, e T é a temperatura absoluta.

Quando o fluido escoar, movendo-se seguindo linhas de fluxo, formando camadas ou lâminas que não se misturam, a mobilidade μ é igual ao inverso do coeficiente de arrasto ζ . Para partículas esféricas de raio r , a lei de Stokes fornece:

$$\zeta = m\gamma = 6\pi\eta r, \quad (2.10)$$

onde η é a viscosidade do meio e γ a constante de amortecimento. Então a equação de Einstein, para o coeficiente de difusão de partículas esféricas em um fluido no regime supracitado, torna-se:

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\eta r} \quad (2.11)$$

Que é a chamada equação de Einstein-Stokes.

2.5 Ressonância Magnética Nuclear

Desde que se começou a utilizar a ressonância magnética nuclear (RMN), a técnica de espectroscopia e imagens por RMN tem se tornado excelentes técnicas para determi-

nação da estrutura de materiais orgânicos. Das diversas vantagens que essa técnica traz, podemos citar:

- É uma técnica não destrutiva e não invasiva;
- Pode-se extrair dados de amostras com massa de alguns quilogramas até amostras com menos de um grama, graças aos modernos aparelhos;
- Pode-se completamente analisar e interpretar todo o espectro obtido.

A ressonância magnética nuclear tem tido um importante papel nos estudos das estruturas de moléculas complexas, tais como polímeros e proteínas. Possui aplicações em diversas áreas, como por exemplo na física, química, medicina, biologia e mais recentemente na computação quântica [43].

O fenômeno da ressonância ocorre em vários sistemas. Todo sistema que apresenta uma frequência natural de vibração, pode ser excitado por um agente externo que esteja em ressonância com essas vibrações naturais. Já a ressonância magnética nuclear ocorre da interação do momento magnético do núcleo de um átomo com um campo magnético externo, isto é, os átomos que possuem núcleos cujos momento angular ($\vec{J}$) e momento magnético ($\vec{\mu}$) totais diferentes de zero, quando se aplica um campo magnético estático externo (B_0), ocorre a interação do momento magnético nuclear com o campo. Esta interação provoca a precessão dos momentos magnéticos em torno da direção do campo magnético. A frequência de precessão é dada por:

$$w_0 = \gamma_n B_0, \quad (2.12)$$

onde w_0 é a frequência de precessão de Larmor dada em rad/s e γ_n é o fator giromagnético do núcleo.

É importante destacar que, segundo a mecânica quântica, $\vec{J}$ e $\vec{\mu}$ são definidos por:

$$\vec{J} = \hbar \vec{I} \quad (2.13)$$

$$\vec{\mu} = \gamma_n \vec{J}, \quad (2.14)$$

onde $\vec{I}$ é o momento angular do núcleo.

Como a RMN é um fenômeno que ocorre através da interação com o núcleo do átomo, nem todos os átomos podem ser usados para essa técnica. Os núcleos de maior uso para a técnica de ressonância magnética são 1H , ^{13}C , ^{19}F e ^{31}P e todos esses núcleos possuem spin(I) semi-inteiro, mais especificamente, todos possuem $I = 1/2$. Alguns núcleos utilizados na RMN possuem spin inteiro, a Tabela 2.1 mostra alguns isótopos nucleares utilizados em ressonância [44]. Para a realização desse trabalho, o átomo escolhido foi o do hidrogênio, por isso iremos limitar a discussão das técnicas de RMN à esse átomo cujo spin nuclear é $1/2$.

Tabela 2.1: Alguns isótopos nucleares, com seus respectivos spins nucleares, que podem ser utilizados na técnica de ressonância magnética nuclear.

Símbolo do Isótopo	Elemento Químico	Número Quântico de Spin
1H	Hidrogênio	$1/2$
^{11}B	Boro	$3/2$
^{13}C	Carbono	$1/2$
^{14}N	Nitrogênio	1
^{17}O	Oxigênio	$5/2$
^{19}F	Flúor	$1/2$
^{23}Na	Sódio	$3/2$
^{29}Si	Silício	$1/2$
^{31}P	Fósforo	$1/2$
^{39}K	Potássio	$3/2$

O átomo de hidrogênio tem o núcleo formado por um próton, que é uma partícula carregada positivamente. Como as partículas possuem spin, isso gera um momento magnético proporcional a ele (como mostrado no esquema da Figura 2.13)⁶, que segundo a equação 2.13 e 2.14, é dado por:

$$\vec{\mu} = \hbar\gamma_n\vec{I} \quad (2.15)$$

Na ausência de um campo magnético externo, os átomos têm seus momentos magnéticos direcionados de forma aleatória, como ilustrado na Figura 2.14 a). Quando se

⁶A ilustração é apenas para visualização da relação entre o momento angular $\vec{J}$ e o momento magnético $\vec{\mu}$. Este modelo não tem significado físico.

aplica o campo magnético externo ocorre uma interação entre o momento magnético da partícula e o campo aplicado, essa interação é descrita pelo hamiltoniano:

$$H = -\vec{\mu} \cdot \vec{B} \quad (2.16)$$

Os momentos magnéticos dos spins se alinham com esse campo, podendo estar em dois estados possíveis (para partículas de spin ($I = 1/2$), um estado o spin está alinhado paralelamente ao campo e o outro ele está alinhado anti-paralelamente, como ilustrado na Figura 2.14 b). No equilíbrio térmico, a distribuição dos momentos magnéticos dos spins nesses estados, é dada pela mecânica estatística, seguindo a equação de distribuição de Boltzmann, dada por [45]:

$$\frac{N_{AP}}{N_P} = e^{-\frac{E}{kT}} \quad (2.17)$$

onde N_P é o número de spins alinhados paralelamente ao campo, N_{AP} é o número de spins alinhados anti-paralelamente, k é a constante de Boltzmann e T é a temperatura absoluta dada em kelvin.

A energia da interação da partícula com o campo magnético é dada por:

$$E = -\vec{\mu} \cdot \vec{B}_0 \quad (2.18)$$

Substituindo a equação (2.15) na equação acima, tem-se:

$$E = -\hbar\gamma_n\vec{I} \cdot \vec{B}_0 \quad (2.19)$$

Os núcleos apresentarão uma frequência de precessão natural em torno do campo magnético externo, conhecida como frequência de Larmor (w_0), (Figura 2.15). Se considerarmos que o campo aplicado esteja na direção z ($\vec{B}_0 = B_0\hat{z}$), as componentes do momento angular na direção z (I_z) serão dados pelas projeções do momento magnético total na direção z . Portanto, de acordo com as equações (2.12) e (2.19), a energia de um determinado estado é dada por:

$$E = -\hbar\omega_0 I_z \quad (2.20)$$

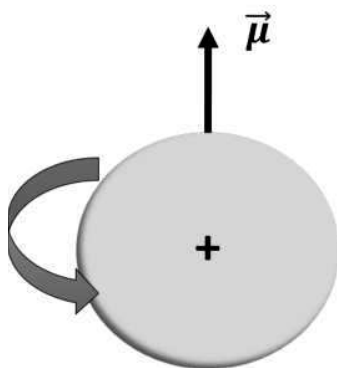


Figura 2.13: Ilustração núcleo de hidrogênio, o qual possui spin. Portanto, possui momento magnético associado.

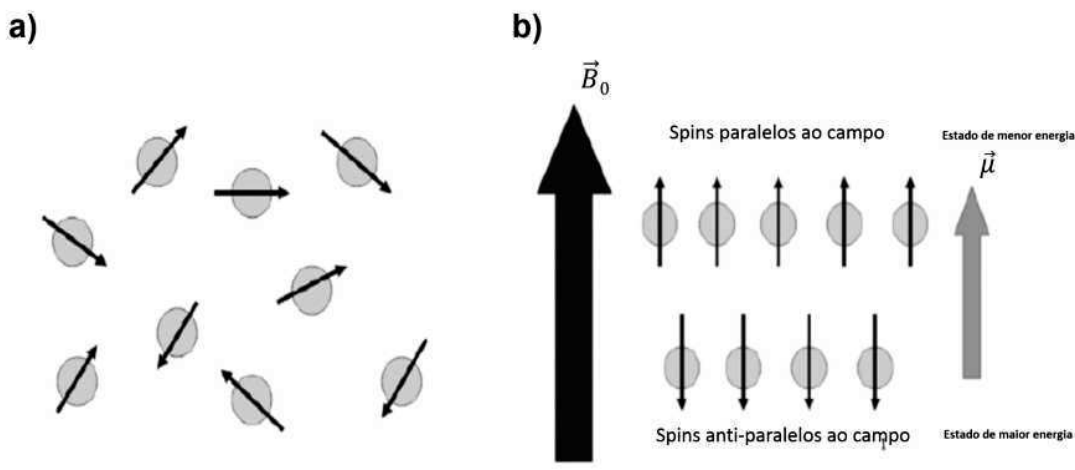


Figura 2.14: Ilustração de núcleos de hidrogênio, visto como esferas. a) ilustração da distribuição aleatória dos momentos magnéticos dos átomos de hidrogênio na ausência de um campo magnético externo. b) Ilustração dos momentos magnéticos dos átomos de hidrogênio na presença de um campo magnético externo. Os núcleos se distribuem em dois níveis de energia, sendo que o número de núcleos que ocupam o estado de menor energia é maior do que o número de núcleos que ocupam o estado de maior energia.

De maneira simplificada, a ressonância magnética nuclear estuda as transições nucleares entre diferentes níveis de energia magnética separados por uma diferença energética, o qual será um múltiplo inteiro de:

$$\Delta E = -\hbar\omega_0 \quad (2.21)$$

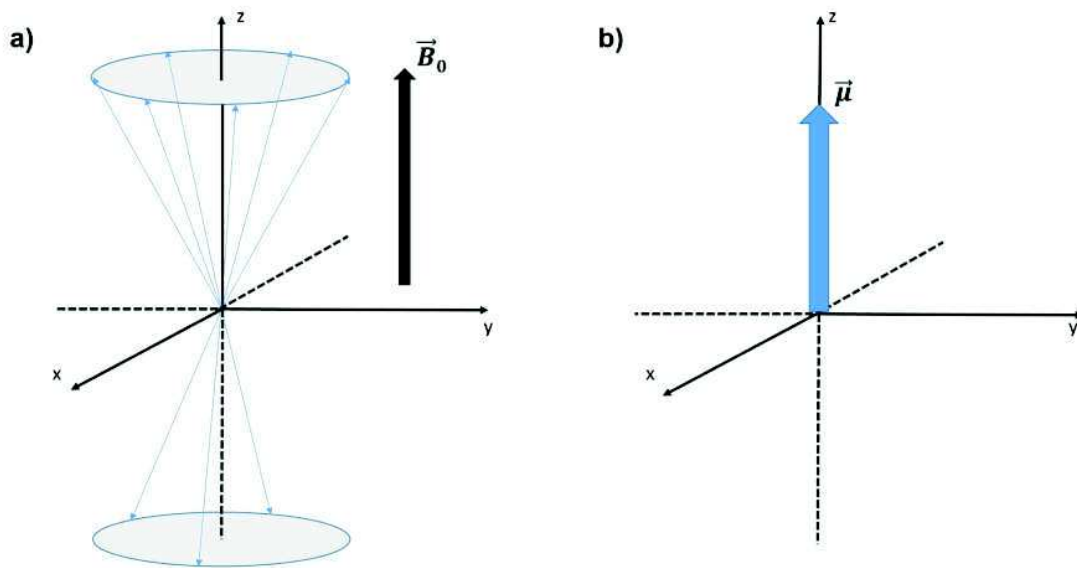


Figura 2.15: a) Representação dos spins alinhados paralelamente e anti-paralelamente ao campo magnético externo aplicado, e o movimento de precessão realizado pelos spins ao redor do campo. b) Ilustração do momento magnético total no eixo z .

Por isso é fundamental, em RMN, que se conheça a orientação da magnetização resultante. Olhando para a Figura 2.15, vê-se o eixo de coordenadas e a direção da magnetização resultante, para um sistema em equilíbrio. Como o campo está orientado na direção do eixo z , chamamos plano formado pelos eixos xz de plano longitudinal e o plano formado pelos eixos xy de plano transversal. Logo podemos afirmar que a magnetização total está apontado perpendicularmente ao plano transversal, pois apesar de os spins precessionarem em torno do campo $\vec{B}_0$ com frequência angular igual a ω_0 , não existe coerência de fase entre eles tornando assim, nula a magnetização total no plano transversal.

Mas para que a ressonância magnética seja utilizada nesse caso, é necessário causar transições nos estados dos spins, pois como dito anteriormente a técnica de RMN detecta essas transições. Essas transições podem ser geradas com a aplicação de um segundo campo ($\vec{B}_1$) de curta duração (pulso) perpendicular a $\vec{B}_0$ e em ressonância com a frequência de precessão [45].

Para que essas transições sejam detectadas é necessário a colocação de uma bobina metálica com seu eixo paralelo ao plano transversal. Quando só o campo $\vec{B}_0$ está sendo

aplicado no sistema, a bobina não detecta nenhum sinal, já que não há alterações no fluxo magnético. Já quando o pulso $\vec{B}_1$ é aplicado, os spins passam a ter coerência de fase no plano transversal, fazendo com que a magnetização total tenha componente nesse plano, gerando assim uma corrente elétrica na bobina, que será transformado em sinal de radiofrequência (RF) por um receptor conectado à bobina, gerando com isso um Decaimento Livre de Indução (DLI), como mostrado na Figura 2.16.

Se o pulso aplicado causar uma mudança na direção da magnetização total igual a 90° (chamados pulsos de 90°), então o sinal gerado na bobina será máximo. Outros pulsos podem e são utilizados em RMN, a Figura 2.17 mostra alguns pulsos, por exemplo um pulso de 180° , os chamados pulso de inversão. Quando o pulso de RF $\vec{B}_1$ é retirado, o sinal gerado pela bobina diminui gradualmente por causa do processo de relaxação, ou seja, o retorno da magnetização total à posição de equilíbrio com o campo $\vec{B}_0$.

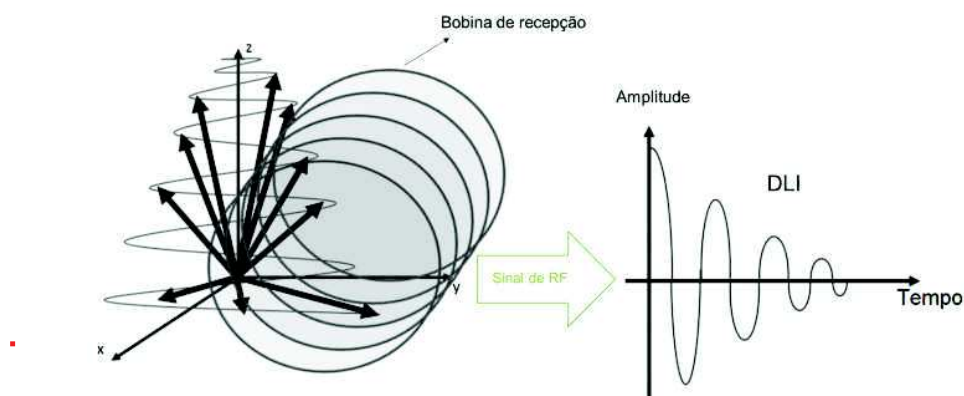


Figura 2.16: Ilustração do Decaimento Livre de Indução gerado pelo retorno da magnetização total à posição de equilíbrio com o campo $\vec{B}_0$ após a retirada de um pulso de RF que causou uma mudança na magnetização de 90° . O sinal é gerado pela bobina posicionada perpendicularmente ao campo $\vec{B}_0$.

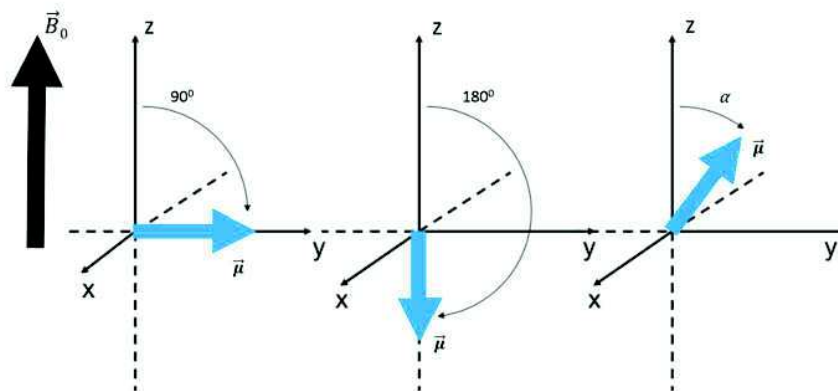


Figura 2.17: Ilustração da magnetização resultante com a aplicação de um pulso de RF perpendicular ao campo $\vec{B}_0$. Da esquerda para a direita da figura, é apresentada a magnetização total após um pulso de 90° , 180° e α . O pulso de 180° é também conhecido como pulso de inversão

2.5.1 Processos de Relaxação

Após a retirada do pulso de RF, a magnetização total muda sua direção a depender do ângulo em que o pulso de RF for aplicado, como mostrado na Figura 2.17.

Pelas equações (2.16) e (2.18) observa-se que a magnetização tende a retornar à sua posição de menor energia, ou seja, paralela ao campo externo aplicado. Assim sendo, a relaxação é o comportamento da magnetização no reestabelecimento de sua posição inicial.

Por exemplo, se o pulso de radiofrequência aplicado for de 90° , os spins que agora produzem uma magnetização total projetada no plano transversal ao campo $\vec{B}_0$, começam a trocar energia com os spins com a sua vizinhança (ou rede) ou com outros spins até retornarem a posição de equilíbrio. Esses fenômenos são chamados, respectivamente de relaxação spin-rede e relaxação spin-spin. Essas duas formas de relaxação apesar de apresentarem a mesma origem, tem respostas extremamente diferentes uma da outra, e para caracterizá-las foram criadas duas constantes temporais, T_1 e T_2 .

Muitos são os fatores que influenciam nos processos de relaxação, tais como estrutura do composto, interação entre spins, homogeneidade do campo externo e do gradiente de campo aplicados.

T_1 ou Relaxação Longitudinal

O processo de relaxação longitudinal envolve perda de energia para o meio. O tempo de relaxação longitudinal é responsável pelo retorno da magnetização total para a posição de equilíbrio com o campo aplicado, ou seja, paralela ao campo $\vec{B}_0$ e é caracterizado pela dissipação de energia do sistema de spin com a rede. É a chamada relaxação spin-rede, cuja constante temporal de decaimento exponencial é o T_1 e é definida como o tempo necessário para que a projeção da magnetização no plano longitudinal recupere 63% do seu valor inicial, isto é, do valor que possuía antes da aplicação do pulso RF, como mostrado na Figura 2.18 a) [45].

T_2 ou Relaxação Transversal

O processo de relaxação transversal envolve a perda de coerência de fase dos spins. O tempo de relaxação transversal é responsável pelo desaparecimento da projeção da magnetização total no eixo xy . É chamada de relaxação spin-spin, com constante temporal de decaimento exponencial T_2 , definida como o tempo necessário para que a projeção da magnetização no plano transversal atinja 37% do valor que possuía antes da aplicação do pulso, mostrada na Figura 2.18 b) [45]. Em geral, T_2 tem um valor menor ou igual a T_1 , em líquidos $T_2 \approx T_1$ e em sólidos $T_2 \ll T_1$.

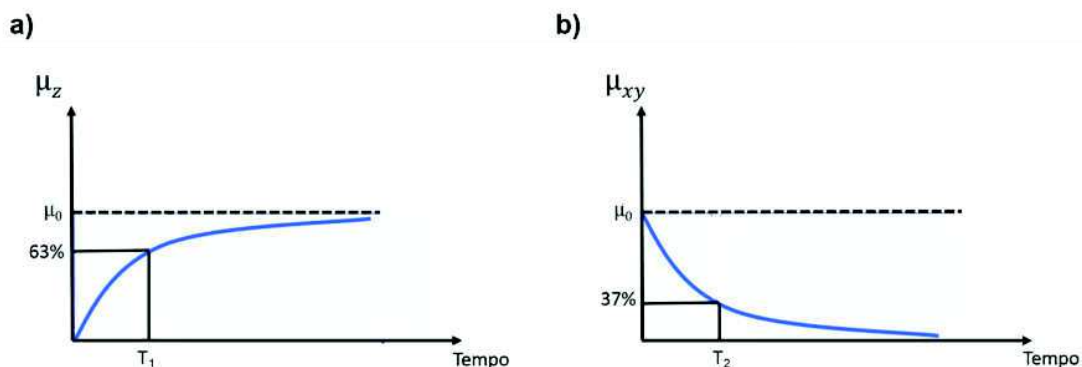


Figura 2.18: Gráficos que mostram os processos de relaxação. a) mostra a característica do retorno da magnetização para a direção longitudinal, onde T_1 está relacionado com o tempo de recuperação de 63% do valor inicial da magnetização total. b) mostra a característica da relaxação transversal, onde T_2 está relacionada com o tempo necessário para que a magnetização transversal atinja 37% da magnetização inicial.

2.5.2 Equações de Bloch

A abordagem clássica do fenômeno de RMN começa fazendo uma analogia do movimento de precessão do momento magnético do núcleo do átomo, de hidrogênio por exemplo, em torno do campo magnético externo com o de um pião precessionando em torno da direção do campo gravitacional, como mostrado na Figura 2.19.

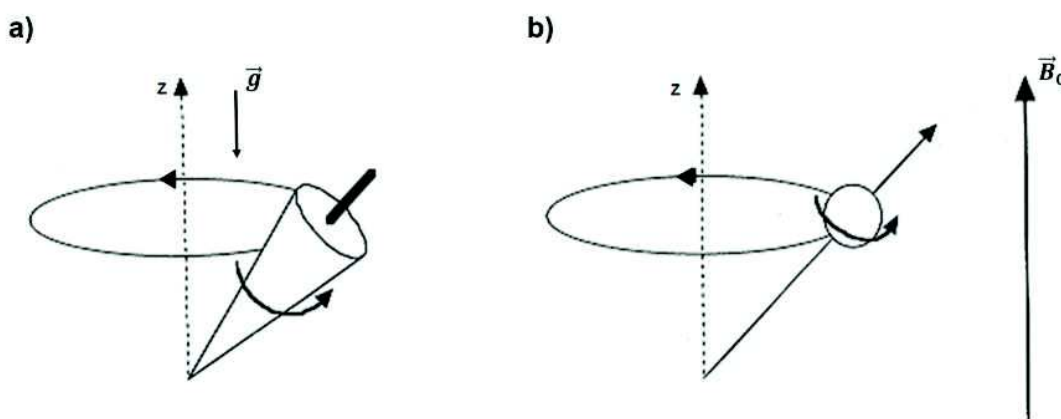


Figura 2.19: Comparação do análogo gravitacional (a) com o efeito magnético (b), pois assim como um pião precessionando sob a influência da gravidade, o momento magnético também realiza um movimento similar na presença de um campo magnético $\vec{B}_0$.

O campo magnético $\vec{B}_0$ atua sobre o momento magnético $\vec{\mu}$ gerando um torque $\vec{\tau}$ descrito pela equação:

$$\vec{\tau} = \vec{\mu} \times \vec{B}_0 \quad (2.22)$$

Na mecânica clássica o torque pode ser descrito como a taxa de variação do momento angular, dado por:

$$\vec{\tau} = \frac{d\vec{J}}{dt} \quad (2.23)$$

A partir das equações (2.22), (2.23) e (2.15), obtemos a equação do torque [46]:

$$\frac{1}{\gamma} \frac{d\vec{\mu}}{dt} = (\vec{\mu} \times \vec{B}_0) \quad (2.24)$$

Ao invés de lidarmos somente com o momento magnético individual (μ_n), podemos lidar com a magnetização, isto é:

$$\vec{M} = \Sigma \vec{\mu}_{ni}$$

(por unidade de volume)(2.25)

Logo, a equação (2.24) torna-se, para esse caso:

$$\frac{d\vec{M}}{dt} = \gamma \vec{M} \times \vec{B} \quad (2.26)$$

Apesar da equação acima ter sido obtida de um caso clássico, ela também é válida para o caso quântico. Ela é solução para o caso estático, quando o sistema está submetido ao campo estático $\vec{B}_0$ e seu momento magnético por volume terá magnitude:

$$M_z = M_0 = \chi_0 B_0, \quad (2.27)$$

onde χ é a susceptibilidade magnética nuclear [47].

Agora consideremos que o sistema está submetido a um campo que age nas três coordenadas, mas não é estático em todas as direções, como por exemplo:

$$\begin{cases} B_x = B_1 \cos wt \\ B_y = -B_1 \sin wt \\ B_z = B_0 \end{cases} \quad (2.28)$$

onde as componentes B_x e B_y juntas representam a amplitude de um outro campo de radiofrequência (B_1) no plano xy . Se o valor de γ for negativo, então o sinal de B_y tem que mudar, pois, por convenção, é considerado um campo B_1 rotacionando no plano normal a B_0 no mesmo sentido da precessão do núcleo com γ positivo.

É importante ressaltar que quando liga-se o campo magnético $\vec{B}_0$ os spins saem do equilíbrio e não se alinham instantaneamente com o campo, eles demoram um certo intervalo de tempo para retornar ao equilíbrio. Logo, quando o campo estático é ligado ou desligado, o valor do momento magnético no sentido do campo (por exemplo, $\vec{B}_0 = B_0 \hat{z}$) sofrerá instantaneamente uma mudança que se aproximará de M_0 exponencialmente de acordo com a relaxação T_1 , que se moverá de acordo com:

$$\frac{dM_z}{dt} = \frac{M_0 - M_z}{T_1}, \quad (2.29)$$

onde assume-se que o campo magnético estático está na direção z [46, 47]. Quando o sistema está em equilíbrio na ausência do campo estático, ou seja, $\vec{B}_0 = 0$ e aplica-se o campo nesse sistema [47], temos:

$$M_z = M_0(1 - e^{-\frac{t}{T_1}}) \quad (2.30)$$

Quando o campo $\vec{B}_0$ é desligado, a magnetização decai exponencialmente através da equação:

$$M_z = M_0 e^{-\frac{t}{T_1}} \quad (2.31)$$

A equação 2.31 é válida para um intervalo de tempo pequeno quando comparado a T_1 .

Pelas equações de Bloch para o caso estático, percebe-se que a magnetização se alinha com o campo em um intervalo de tempo que é múltiplo de T_1 , como mostrado na Figura 2.20.

Quando, no sistema em equilíbrio com $\vec{B}_0$, aplicamos um outro campo $\vec{B}_1$, com um determinado ângulo com o campo $\vec{B}_0$, então sairemos do caso estático e passaremos para o caso dinâmico, onde:

$$\vec{B} = \vec{B}_0 + \vec{B}_1, \quad (2.32)$$

onde $\vec{B}_1$ é o campo de RF aplicado, tal que $|B_0| \gg |B_1|$.

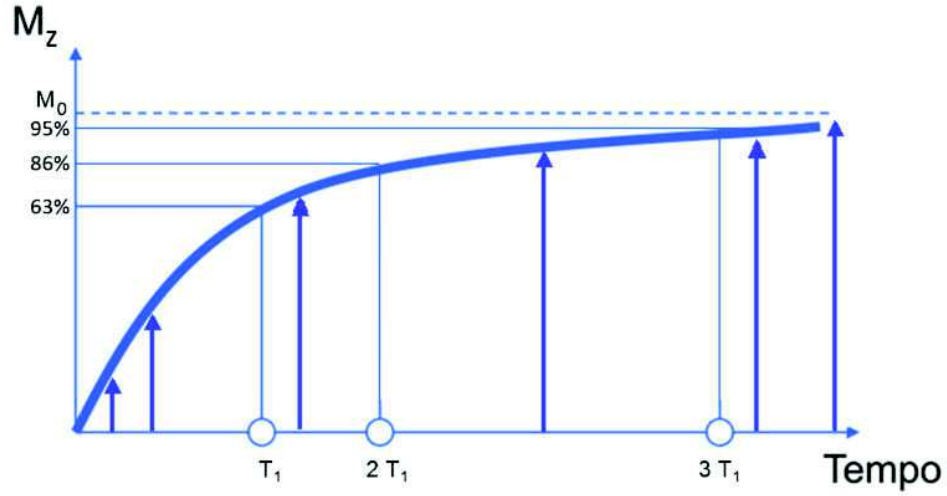


Figura 2.20: Gráfico ilustrando a magnetização longitudinal assim que o campo B_0 é ligado. Esse gráfico é obtido a partir da equação (2.30).

Adicionando os processos de relaxação às três componentes da equação de magnetização total da rede[47], temos:

$$\left. \begin{aligned} \frac{dM_x}{dt} &= \gamma(\vec{M} \times \vec{B})_x - \frac{M_x}{T_2} \\ \frac{dM_y}{dt} &= \gamma(\vec{M} \times \vec{B})_y - \frac{M_y}{T_2} \\ \frac{dM_z}{dt} &= \gamma(\vec{M} \times \vec{B})_z - \frac{M_z - M_0}{T_1} \end{aligned} \right\} \quad (2.33)$$

As componentes M_x e M_y foram assumidas por Bloch como sendo característica do tempo de relaxação T_2 [46],

$$\left. \begin{aligned} \frac{dM_x}{dt} &= -\frac{M_x}{T_2} \\ \frac{dM_y}{dt} &= -\frac{M_y}{T_2} \end{aligned} \right\} \quad (2.34)$$

Substituindo as equações (2.34), (2.29) e (2.32) em (2.26), as três componentes tornam-se:

$$\left\{ \begin{aligned} \frac{dM_x}{dt} &= \gamma(M_y B_0 + M_z B_1 \sin wt) - \frac{M_x}{T_2} \\ \frac{dM_y}{dt} &= \gamma(M_z B_1 \cos wt - M_x B_0) - \frac{M_y}{T_2} \\ \frac{dM_z}{dt} &= -\gamma(M_x B_1 \sin wt + M_y B_1 \cos wt) - \frac{M_z - M_0}{T_1} \end{aligned} \right., \quad (2.35)$$

onde as equações (2.35) são as chamadas equações de Bloch [46, 47]. A equação fundamental da Ressonância Magnética. Para o caso pulsado a descrição da equação de Bloch é demonstrada no Apêndice A.

2.5.3 Constante T_2 vs T_2^*

Alguns fatores podem influenciar na relaxação transversal da amostra. Pode-se citar:

- Vibração ou rotação molecular;
- A presença de um campo externo não uniforme;
- Estrutura da rede, como por exemplo a rede apresentar susceptibilidades magnéticas

(χ) diferentes.

Por essas razões é conveniente definir outra constante de tempo, o T_2^* , dada por:

$$\frac{1}{T_2^*} = \frac{1}{T_2} + \sum_i \left(\frac{1}{T_2}\right)_i, \quad (2.36)$$

onde $\sum_i \left(\frac{1}{T_2}\right)_i$ é a soma que descreve o decaimento no sinal causado pelas irregularidades do sistema, tais como inhomogeneidade do campo, diferença nas composições da amostra, imperfeições na máquina e nos ajustes do magneto.

2.5.4 Teoria de Bloembergen, Purcell e Pound (BPP)

Para o entendimento de estruturas, dinâmicas e estudos de moléculas grandes (como por exemplo, proteínas ácidos nucleicos e seus complexos), a RMN oferece grandes vantagens através de medidas de interações anisotrópicas e de movimentos de spins, para extrair essas informações.

A teoria de relaxação de spins nuclear é, na maior parte das vezes, descrita com foco nos limites dinâmicos das vizinhanças, onde a taxa de rotação devido ao movimento Browniano é muito mais rápida que a frequência de transição. O que é bem aplicável para pequenas moléculas, mas nem sempre é possível o uso direto das expressões dessa teoria para o bom entendimento de dados experimentais de macromoléculas. É necessário entender a teoria para inclusão de todos os regimes dinâmicos.

Em 1946, Bloch [48] foi o primeiro a apresentar a teoria de relaxação do spin baseada no conjunto de equações fenomenológicas, conhecidas como equações de Bloch (já apresentadas em secção anterior), que apresenta o comportamento do sistema de spin caracterizado pelas constantes T_1 e T_2 .

No método proposto por Bloembergen, Purcell e Pound [49], conhecido como Teoria BPP, os tempos e relaxação do spin nuclear foram derivados baseados em um rigoroso tratamento das interações spin-rede afetadas pelos movimentos nucleares.

As equações da teoria BPP foram derivadas da teoria geral de relaxação [50] podem ser descritos como:

$$\left. \begin{aligned} r_j(t) &= \frac{\langle \hat{Q}_j(t) \rangle}{\langle \hat{Q}_j | \hat{Q}_j \rangle} \\ \frac{d}{dt} r_j(t) &= - \sum_k \int_0^\infty dt' K_{jk}(t') (r_k(t) - r_0) \\ R_{jk} &= Re \left(\int_0^\infty K_{jk}(t') dt' \right) K_{jk}(t) \\ &= \frac{\langle \hat{Q}_j | \Delta \hat{H}_{int}(0) \Delta \hat{H}_{int}(t) | \hat{Q}_k \rangle}{\langle \hat{Q}_j | \hat{Q}_j \rangle} \Delta \hat{H}_{int}(t) \\ &= \exp^{i\hat{H}_0 t} \Delta \hat{H}_{int}(t) \exp^{-i\hat{H}_0 t} \end{aligned} \right\} \quad (2.37)$$

onde, r_j representa a relaxação devido a taxa de transição de fase; $\hat{Q}_j(t)$ é o operador de interesse R_{jk} representa a relaxação devido a mudança de frequência de precessão, assim r_j apresenta o comportamento do sistema e R_{ij} apresenta as transições do sistema; $\Delta \hat{H}_{int}(t)$ é o hamiltoniano de interação flutuante, que para um sistema de dois níveis ($I=1/2$) é dado por:

$$\left. \begin{aligned} \Delta \hat{H}_{int}(t) &= \Delta w_x(t) \hat{I}_x + \Delta w_y(t) \hat{I}_y + \Delta w_z(t) \hat{I}_z \\ &= \frac{1}{2} \Delta w_+(t) \hat{I}_- + \frac{1}{2} \Delta w_-(t) \hat{I}_+ + \frac{1}{2} \Delta w_z(t) \hat{I}_z \end{aligned} \right\} \quad (2.38)$$

sendo:

$$\left. \begin{aligned} \Delta w_a &= w_a - \langle w_a \rangle \\ \hat{I}_\pm &= \hat{I}_x \pm i \hat{I}_y \\ \Delta w_\pm &= \Delta w_x \pm i \Delta w_y \end{aligned} \right\} \quad (2.39)$$

então:

$$\hat{H}_{int}(t) = \frac{1}{2} \Delta w_+(t) \exp^{iw_0 t} \hat{I}_- + \frac{1}{2} \Delta w_-(t) \exp^{-iw_0 t} \hat{I}_+ + \Delta w_z(t) \hat{I}_z \quad (2.40)$$

Aplicando a teoria geral nas equações das relaxações longitudinal e transversal, temos:

$$\left. \begin{aligned}
r_z(t) &= \frac{\langle \hat{I}_z(t) \rangle}{\langle \hat{I}_z | \hat{I}_z \rangle} = \frac{\langle \hat{I}_z(t) \rangle}{Tr(\hat{I}_z^2)} \\
\frac{d}{dt} r_z(t) &= -R_z(r_z(t) - r_0) \\
R_z &= Re(\int_0^\infty K_{zz}(t') dt') \\
K_{zz}(t) &= \frac{\langle \hat{I}_z | \triangle \hat{H}_{int}(0) \triangle \hat{H}_{int}(t) | \hat{I}_z \rangle}{\langle \hat{I}_z | \hat{I}_z \rangle} \\
r_+(t) &= \frac{\langle \hat{I}_+(t) \rangle}{\langle \hat{I}_+ | \hat{I}_+ \rangle} = \frac{\langle \hat{I}_+(t) \rangle}{Tr(\hat{I}_+^2)} \\
\frac{d}{dt} r_+ &= -R_+(r_+(t) - r_0) \\
R_+ &= Re(\int_0^\infty K_{++}(t') dt') \\
K_{++}(t) &= \frac{\langle \hat{I}_+ | \triangle \hat{H}_{int}(0) \triangle \hat{H}_{int}(t) | \hat{I}_+ \rangle}{\langle \hat{I}_+ | \hat{I}_+ \rangle}
\end{aligned} \right\} \quad (2.41)$$

Aplicando a simples função de correlação com as relaxações T_1 e T_2 , temos:

$$\left. \begin{aligned}
\frac{1}{T_1} &= R_z = (\langle \triangle w_y(0)^2 \rangle + \langle w_y(0)^2 \rangle) J(w_0) \\
&\text{com } J(w_0) = \frac{\tau_c}{1 + w_0^2 \tau_0^2} \\
\frac{1}{T_2} &= R_+ = \frac{1}{2T_1} + \langle w_z(0)^2 \rangle J(w_0 = 0)
\end{aligned} \right\} \quad (2.42)$$

2.5.5 Técnicas de Detecção de Sinal

Os diferentes valores das constantes de relaxação e as suas variações para diferentes tipos de amostras são usadas para gerar contrastes nas imagens.

Um aspecto importante na coleta dos dados das amostras é a formação de ecos. Observado e descrito por Erwin L. Hahn em 1950, o fenômeno de eco de spin é caracterizado pela excitação de núcleos de hidrogênio através de um pulso inicial de RF e após passado um tempo τ , é aplicado um segundo pulso que resultará em um segundo sinal além do sinal surgido na bobina após o primeiro pulso, chamado de tempo de eco (TE). Esse segundo sinal será um eco do primeiro e aparecerá no intervalo de tempo igual a 2τ [4]. A sequência de pulsos é definida pela aplicação de um primeiro de pulso de RF de 90° , seguido de um pulso de 180° , e é chamado de sequência spin eco, mostrada na Figura 2.21. A voltagem induzida observada na bobina decorrente desses pulsos, segundo Hahn, é dada pela equação:

$$V(t) = \frac{M_0}{2} \left[\frac{\sin(\Delta\omega)(t - 2\tau)}{(\Delta\omega)(t - 2\tau)} - \frac{\sin(\Delta\omega)t}{(\Delta\omega)t} \right], \quad (2.43)$$

onde $V(t)$ é a voltagem induzida observada na bobina, M_0 é a magnetização sem o pulso aplicado, $\Delta\omega$ é flutuação na frequência de precessão após o pulso de 90° aplicado na magnetização resultante, t é o tempo de eco e 2τ é o tempo total entre os dois pulsos aplicados, ver Figura 2.21.

Essa sequencia é repetida, conforme o experimento, e essa repetição é chamada de tempo de repetição (TR). Cada tempo é crucial para a determinação dos coeficientes de relaxação. Enquanto TE determina o quanto de relaxação longitudinal estará presente no eco, TR estabelece o quanto de magnetização longitudinal foi recuperada entre os repetidos pulsos de 90° [45]. Ou seja, TR está relacionado com T_1 e TE com T_2 .

2.5.6 Sequências de Pulsos para a Detecção e Sinais

Inversão-Recuperação (IR)

Essa sequência é mais utilizada para medir o tempo de relaxação T_1 . Ela se caracteriza pela aplicação de um pulso de 180° que leva a magnetização total para a direção $-\hat{z}$ e após um intervalo de tempo τ quando a magnetização total do sistema está voltando para posição de equilíbrio, aplica-se um pulso de 90° para que haja a geração do sinal, como mostrado nas Figuras 2.22 e 2.23. Como o eixo z está perpendicular ao eixo da bobina de recepção de sinal, toda a magnetização alinhada com esse eixo não será detectada pela bobina e não haverá a geração de sinal. Por isso é necessário o pulso 90° , para que a magnetização que está no eixo z seja direcionada para o plano em que há a geração de um sinal elétrico através da flutuação da magnetização sobre o plano do eixo da bobina, ou seja, xy . Logo, nessa sequência, quando aplicado o pulso de 90° , o sinal detectado equivalerá à magnetização recuperada no eixo z , que corresponderá ao tempo de relaxação longitudinal (T_1).

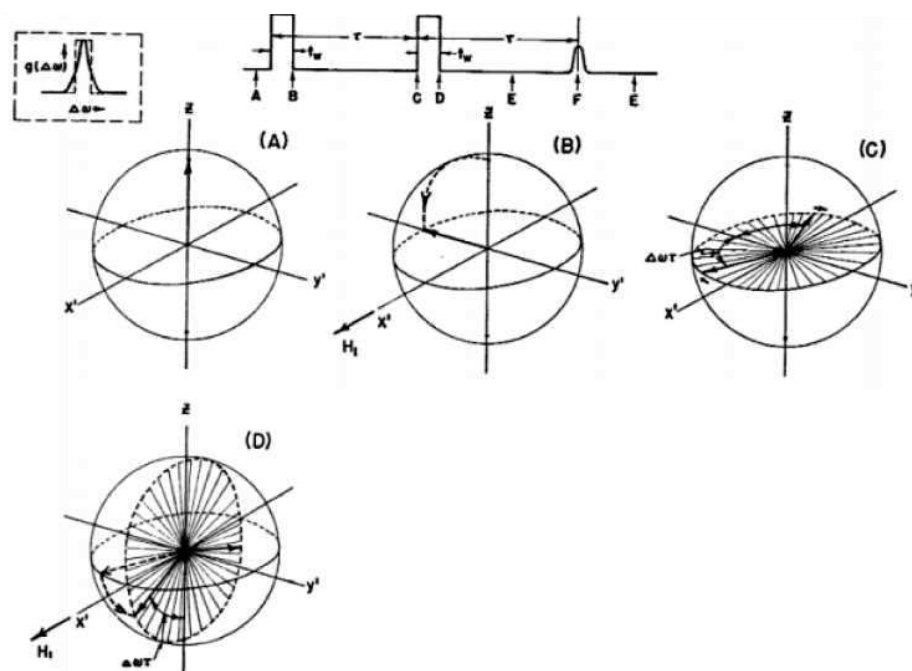


Figura 2.21: Ilustração de uma sequência de pulsos spin eco. Na topo da imagem é mostrado a sequência de pulsos aplicados no sistema. (A) refere-se à direção da magnetização sob a ação do campo uniforme B_0 . (B) refere-se ao sistema após a aplicação de um pulso de RF na direção x' . (C) é o sistema após decorrido um tempo τ do primeiro pulso. (D) mostra o sistema após a aplicação do segundo pulso de 90° no sistema. Após decorrido um tempo $\tau/2$ após o segundo pulso, o sistema relaxa e recupera a direção inicial da magnetização e entra em fase após decorrido um tempo τ após o segundo pulso, é onde aparece o sinal de eco, o qual é coletado o sinal, é o chamado Tempo de Eco (TE). A sequência tem o tempo de repetição (TR) com o intervalo dependendo do caso.(Figura retirada de [4]).

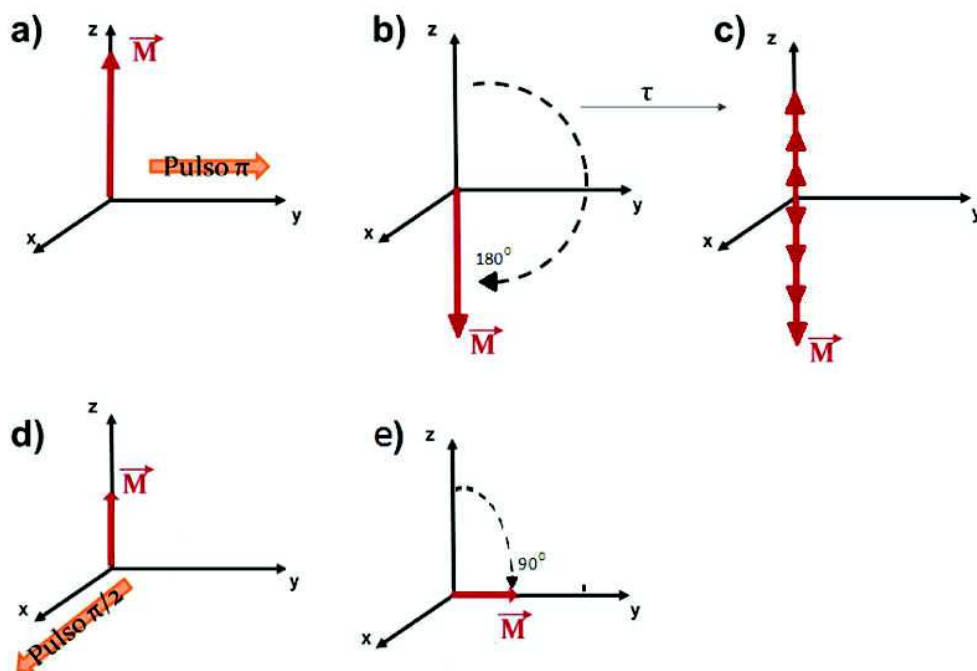


Figura 2.22: Ilustração da técnica de IR. a) Magnetização de equilíbrio. b) Aplica-se um pulso RF de 180° na direção x , no sistema sob a influência do campo magnético estático. c) A magnetização total da rede sofre uma inversão de seu sentido. c) e d) Após passado um tempo τ , a direção inicial da magnetização é recuperada, se o T_1 for curto. Se o T_1 for longo, o vetor M estará na direção $-z$, mas em tamanho menor. Então é aplicado um pulso de 90° de mesma fase que o pulso anterior, e) levando a magnetização para a direção transversal, onde o sinal começa a ser obtido.

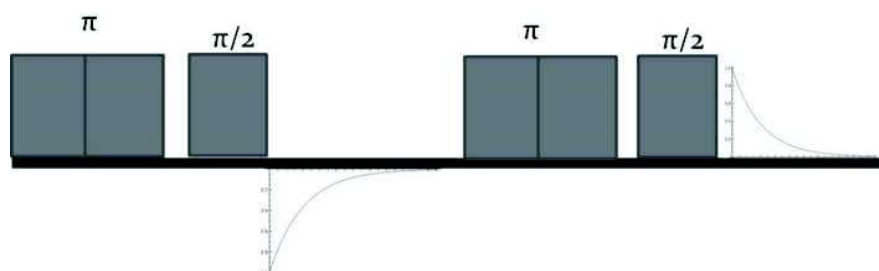


Figura 2.23: Representação da ordem de pulsos da sequência Inversão-Recuperação. Inicialmente um pulso de 180° é aplicado sobre a amostra, após um tempo τ do primeiro pulso é aplicado um segundo pulso de 90° para que a magnetização recuperada seja direcionada para o eixo de detecção da bobina de recepção. Após este segundo pulso é feita a aquisição do sinal.

Carr Purcell Meiboom Gill (CPMG)

Essa sequência é utilizada para obtenção de T_2 . A sequência CPMG é rápida e possui alta precisão, pois não sofre muita influência da difusão e da inomogeneidade dos campos. Hahn descreve a influência da inomogeneidade do campo aplicado H_0 na componente transversal à direção da magnetização como sendo:

$$M'_y = M_0 \int f(B_z) \cos \gamma(B_z - B_{z0}) t dB_z, \quad (2.44)$$

onde M'_y representa a magnetização no eixo y , resultante da inomogeneidade do campo fixo B_z aplicado na direção z , M_0 representa vetor do momento magnético em equilíbrio paralelo a esse campo aplicado, $f(B_z)dB_z$ é a flutuação ocorrida no campo aplicado na direção z , γ é o fator giromagnético do núcleo e $(B_z - B_{z0})$ é o desvio da normalização da função distribuição $f(B_z)$ centrada em $B_z = B_{z0}$ [51].

A sequência CPMG se caracteriza pela aplicação de um pulso de 90° (ou pulso $\pi/2$), levando a magnetização para a direção transversal em relação ao campo magnético estático, gerando um sinal com um pico de intensidade igual a magnetização de equilíbrio. Após a retirada do pulso $\pi/2$, os momentos magnéticos começam a interagir com o campo estático externo e com os campos causados pelos spins vizinhos, o que provoca uma distribuição dos momentos de spin, causando uma defasagem entre eles e uma diminuição na intensidade do sinal adquirido. Após passado um tempo τ depois do pulso $\pi/2$, aplica-se um pulso de 180° transversal ao campo estático e ao primeiro pulso aplicado, levando todos os momentos para o sentido contrário, fazendo assim com que os momentos de spins se realinhem e percam a influência de interações fixas (como por exemplo, variação do campo estático externo, interação com a rede), sofrendo influência somente dos spins vizinhos, que causa um aumento no sinal, mas o ápice deste será menor que o anterior, pois há a influência da relaxação transversal. O pulso de 180° é repetido n vezes em intervalos de tempo τ para que haja a formação de ecos, adquirindo sinais com picos de intensidades diferentes. São esses picos que determinam o tempo de relaxação T_2 . Essa sequência é mostrada nas Figuras 2.24 e 2.25.

A importância dessa sequência se deve ao fato de que quando aplicamos o pulso

de 180° , como mostrado na Figura 2.24, todos os momentos são reagrupados no plano transversal ao campo fixo aplicado. Isso faz com que a influência que os momentos reagrupados sofrerão será devido ao campo magnético local gerado pelos átomos e moléculas da vizinhança.

Hahn mostrou que, dessa forma o decaimento tem forma de exponencial, que para essa caso é descrita como:

$$M_{y'}(t) = M_0 \exp(-\gamma^2 \langle h^2 \rangle \tau_c t / 3), \quad (2.45)$$

Sendo:

$$\langle h^2 \rangle = \langle h_x^2 \rangle + \langle h_y^2 \rangle + \langle h_z^2 \rangle, \quad (2.46)$$

onde h é o campo local para um dado núcleo, que muda sua amplitude e direção randomicamente a cada τ_c segundos [51].

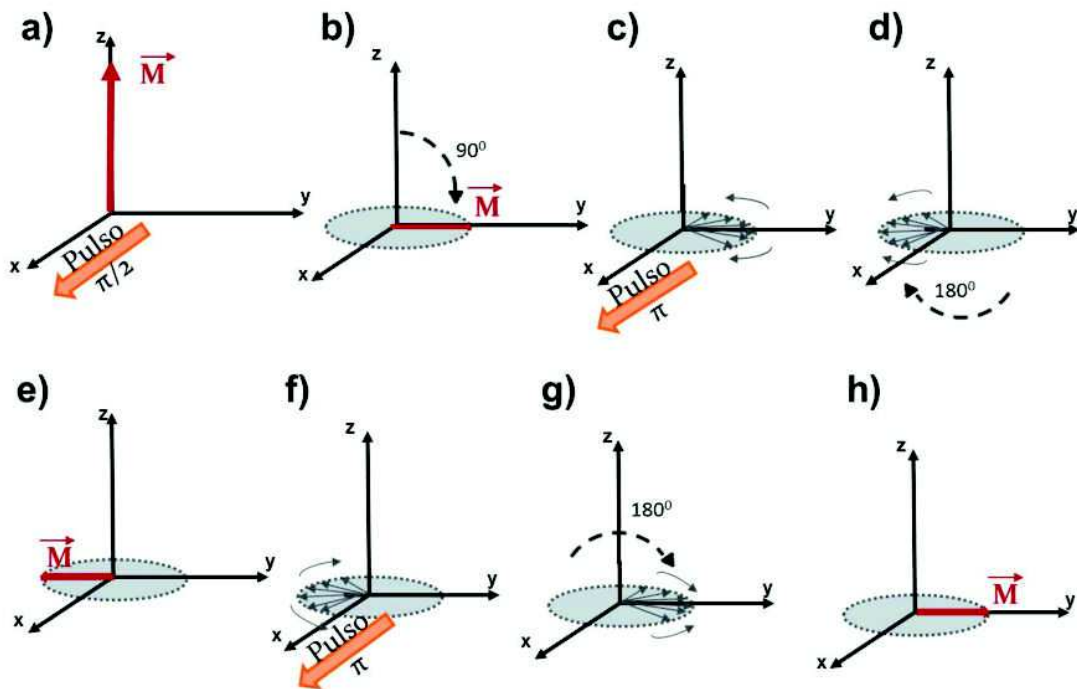


Figura 2.24: Ilustração da sequência CPMG. a) Aplica-se um pulso RF de 90° na direção x , no sistema sob a influência do campo magnético estático. b) A magnetização total sofre uma alteração na direção. c) Após passado um tempo τ , a perda de fase entre os spins está acontecendo no momento em que é aplicado um pulso de 180° transversal ao campo estático d), levando a uma inversão de fase, fazendo com que os spins que antes estavam defasados entrem em fase, uns com os outros, formando assim, um magnetização transversal inversa e), ou seja, um sinal de eco no sentido contrário. A partir daí, f) e g), começa a repetir a sequência de acontecimentos da parte c) em diante, mas com o sinal contrário e sob o efeito da relaxação T_2 , e após o pulso 180° , inverte novamente o sinal e assim sucessivamente, todos sob a influência de T_2 , o que gera sinais cada vez menores.

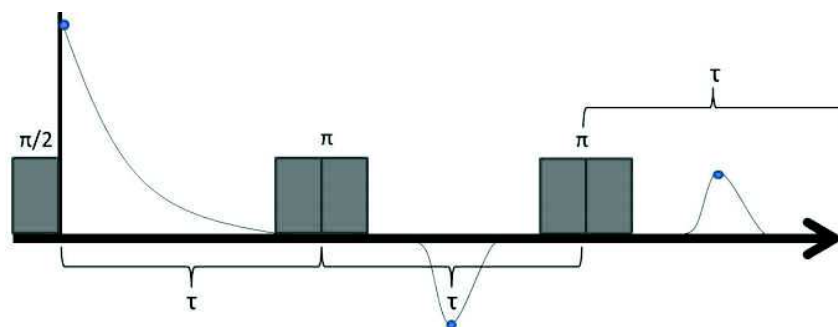


Figura 2.25: Representação da ordem de pulsos da sequência CPMG. Primeiramente um pulso de 90° é aplicado, espera-se um tempo τ , então aplica-se um pulso de 180° transversal ao campo e ao primeiro pulso. Após um tempo τ igual ao anterior, o sistema forma um eco. É aguardado um período de tempo τ , de mesmo valor que os anteriores, e o pulso de 180° é novamente aplicado. Essa repetição é feita n vezes para que haja a formação de sucessivos ecos.

Coeficiente de Difusão Aparente (*Apparent Diffusion Coefficient*(ADC))

Essa sequência de pulsos para obtenção de sinal é utilizada para medir o coeficiente de difusão através de imagens de ressonância magnética (IRM). Por causa das interações entre as moléculas que se difundem em sua vizinhança, a medida do coeficiente de difusão não é obtido de forma absoluta, por isso o coeficiente de difusão medido é chamado de coeficiente de difusão aparente (ADC). O ADC mede a magnitude da difusão das moléculas da água na amostra.

A geometria interna do meio, a presença de paredes impenetráveis ou obstáculos (como armadilhas, por exemplo) podem alterar ou até mesmo destruir a característica difusiva da dinâmica macroscópica do meio. O deslocamento médio quadrático das moléculas de água também é alterado por essas características, modificando o seu valor, mas permanecendo linear no tempo ou exibindo dependências complexas no tempo. Para esses casos, o valor do ADC pode ser expresso por:

$$D_{dyn}(t) = \frac{\sigma\{[r(t) - r(0)]^2\}}{6t}, \quad (2.47)$$

onde $\sigma\{[r(t) - r(0)]^2\}$ é o deslocamento médio quadrático das moléculas de água de uma posição inicial $r(0)$ para outra posição $r(t)$ em um determinado intervalo de tempo [52].

Nessa técnica além dos pulsos de RF, são aplicados gradientes de campo magnético para que haja uma variação na fase dos spins das moléculas que estão se difundindo, ver Figuras 2.26 e 2.27. A sequência usada nessa técnica é chamada de Stejskal-Tanner

$$V = V_0 \exp(-D_0 \gamma^2 g^2 t^3 / 12), \quad (2.48)$$

onde γ é o fator giromagnético, V_0 é o sinal de referência (sem o gradiente aplicado, $g = 0$) e D_0 é o coeficiente de difusão das moléculas da água em um meio estável [4, 51]. Stejskal e Tanner, a partir da equação (2.48), formularam uma que abrange para gradientes dependentes do tempo $gf(t)$, em campos magnéticos, que é dada por:

$$V = V_0 \exp[-D_0 \gamma^2 g^2 t^3 \langle (t_1 - t_2) \rangle_2], \quad (2.49)$$

onde $\langle (t_1 - t_2) \rangle_2$ é a notação para coeficientes que dependem somente ou do tempo efetivo ou da forma de aplicação do gradiente [53], $f(t)$ do campo magnético usado:

$$\langle (t_1 - t_2) \rangle_2 = \frac{1}{t^3} \int_0^t dt' \left(\int_0^{t'} dt'' f(t'') \right)^2 \quad (2.50)$$

Para a equação (2.49) em que o gradiente é constante, $\langle (t_1 - t_2) \rangle_2 = 1/12$. Mais detalhes sobre essa sequência encontra-se na referência [52].

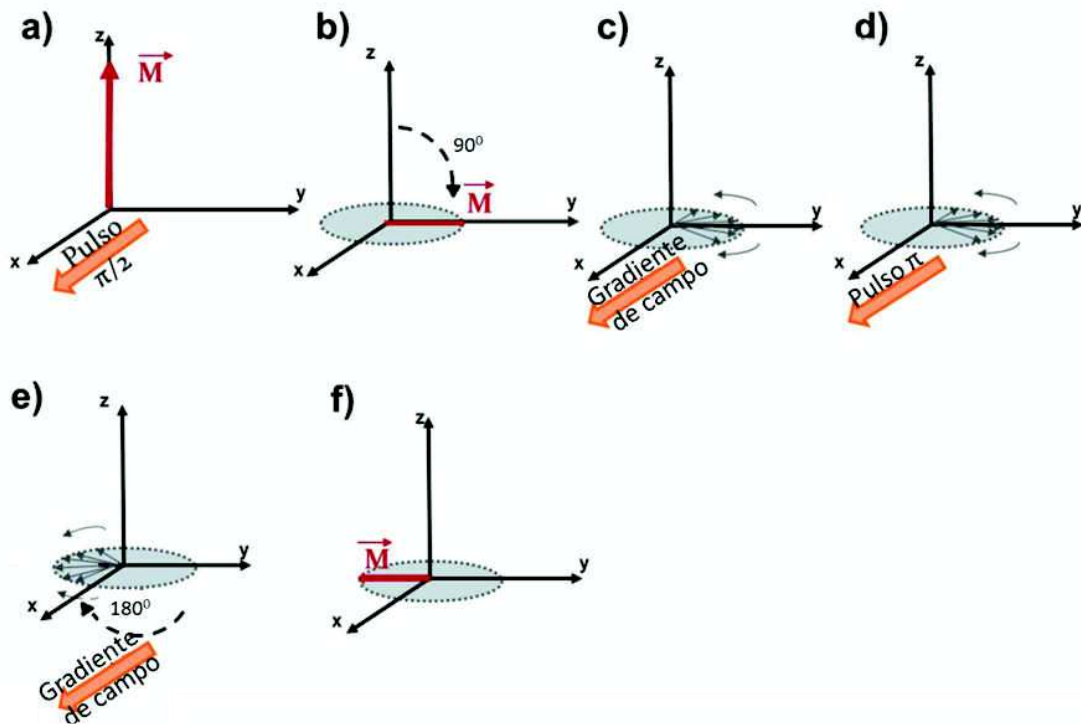


Figura 2.26: Ilustração da dinâmica de spins ao longo da sequência de Stejskal-Tanner. a) Como na sequência CPMG, aplica-se um pulso RF de 90° na direção x , no sistema sob a influência do campo magnético estático. b) A magnetização total sofre uma alteração na direção de 90° . c) Após passado um tempo τ , a perda de fase entre os spins está acontecendo no momento em que é aplicado um gradiente de campo transversal ao pulso anterior e ao campo estático, d) após um tempo τ aplica-se um pulso de 180° levando a uma inversão de fase da magnetização, e) mas fazendo com que os spins que antes estavam defasados entrem em fase, uns com os outros, mas "experimentando" diferentes intensidades de campo a depender da posição em que se encontrem, f) após um tempo τ os spins entram todos em fase gerando um pico no sinal obtido, e a sequência continua a partir da figura c), porém com direção contrária.

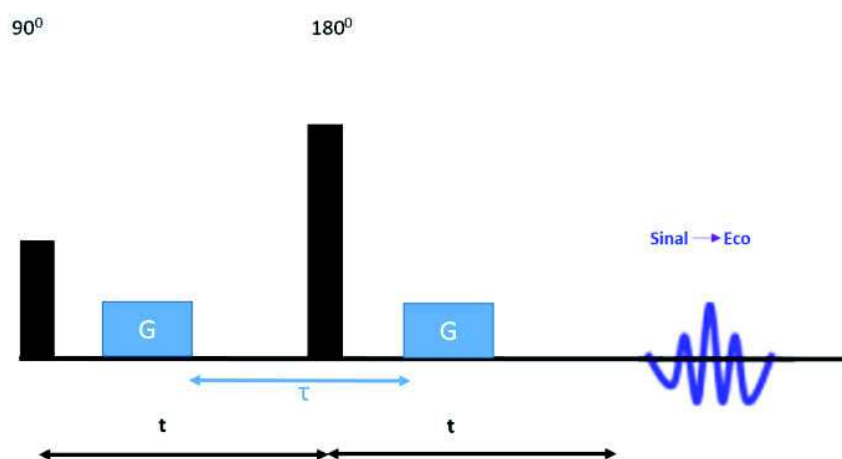


Figura 2.27: Representação da ordem de pulsos de RF e gradientes aplicados na sequência Stejskal-Tanner para medição do ADC. Após cada pulso, primeiro o de 90° depois de 180° , aplica-se um gradiente (G) do campo estático.

Capítulo 3

Materiais e Métodos

3.1 Materiais

Os materiais utilizados para síntese das amostras foram:

1. (AlgNa-1) - Alginato de Sódio P.A., da empresa LABSYNTH (produto mostrado na Figura 3.1 a));
2. (AlgNa-2) - Alginato de sódio baixa viscosidade, da empresa VETEC (produto mostrado na Figura 3.1 b));
3. ($CaCl_2$) - Cloreto de Cálcio Anidro P.A., com peso molecular de $110,99g/mol$ e ensaio ($CaCl_2$) mínima de 96%, da empresa DINÂMICA QUÍMICA CONTEMPORÂNEA (produto mostrado na Figura 3.1 c));
4. ($CaCO_3$) - Carbonato de Cálcio P.A., com peso molecular de $100,09g/mol$ e dosagem mínima de 98%, da empresa NUCLEAR (produto mostrado na Figura 3.1 d));
5. GDL - Ácido *D*-Glucônico γ -lactona, com peso molar de $178,14g/mol$ e dosagem mínima de 99%, da empresa SIGMA (produto mostrado na Figura 3.1 e))

3.2 Equipamentos

Vários equipamentos foram utilizados, tanto para síntese das amostras como para medições dos tempos de relaxação e coeficiente de difusão. Para a síntese foram utilizados:

1. Banho Ultrassônico - Aparelho usado para retirar bolhas das soluções de alginato de sódio utilizando uma frequência ultrassônica, modelo Q335D da empresa QUIMIS (aparelho mostrado na Figura 3.2 c));
2. Agitador Magnético com aquecimento - Aparelho que cuja função é misturar/agitar soluções por meio de uma pequena barra magnética movida por um campo magnético rotativo (aparelho mostrado na Figura 3.2 b));
3. Balança analítica, modelo PB303 da empresa Metler Toledo, com especificação de peso mínimo de 0,02g e peso máximo de 310g (aparelho mostrado na Figura 3.2 a).

Para caracterização das amostras foi utilizado o aparelho de Ressonância Magnética Nuclear da empresa Agilent/Varian (aparelho mostrado na Figura 3.3), localizado no departamento de Química(DQI) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).



Figura 3.1: Materiais utilizados para preparação das amostras. a) AlgNa-1; b) AlgNa-2; c) Cloreto de cálcio; d) Carbonato de cálcio; e) GDL.



Figura 3.2: Equipamentos que auxiliaram na preparação das amostras. a) Balança analítica; b) Agitador magnético utilizado para dissolver as amostras; c) Banho ultrassônico utilizado para retirar bolhas das soluções de alginato de sódio.



Figura 3.3: Aparelho de Ressonância Magnética Nuclear com frequência de ressonância de 400 MHz ($9,4\text{ T}$) para frequência de um átomo de hidrogênio, utilizado na realização das imagens e das medições das dinâmicas de relaxação e difusão das amostras.

3.3 Síntese de hidrogéis

3.3.1 Método 1

Inicialmente foi calculado a massa, em pó, do alginato de sódio necessária para a obter as concentrações (m/v) de 1%, 2% e 3% e pesados em uma balança analítica. Em diferentes béquers, as quantidades de alginato foram, de forma manual, completamente dissolvidas em água destilada à temperatura ambiente, em seguida colocadas no banho ultrassônico por 5 minutos para retirada das bolhas de ar formadas durante a dissolução.

Paralelamente à preparação da solução do alginato de sódio, foi feito a estequiometria do cloreto de cálcio para obtenção das concentrações (m/v) de 1, 5, 10, 20, 30, 50 e 70mM pesados na balança analítica. Cada porção foi dissolvida na água destilada em temperatura ambiente, dentro de béquers.

A partir das duas amostras prontas de AlgNa e $CaCl_2$ foram preparadas esferas de alginato de cálcio. As esferas de alginato de sódio (mostradas no lado direito da Figura 3.4) foram preparadas da seguinte maneira:

1. encheu-se uma seringa de 10mL de alginato de sódio a 1% ;
2. preencheu-se com 2mL do AlgNa-1 pequenos recipientes (mostrada na parte esquerda da Figura 3.4);
3. os recipiente foram mergulhados na solução de cloreto de cálcio a 1mM;
4. em seguida, vedou-se o recipiente com filme PVC, guardando a mistura em temperatura ambiente por aproximadamente 3 dias antes da medição.

Esse processo foi repetido para todas as concentrações, tanto do AlgNa-1 quanto de $CaCl_2$. O mesmo método foi feito utilizando a AlgNa-2.

Como a reação ocorre de maneira rápida, quando a amostra de alginato de sódio entra em contato com o cloreto de cálcio, rapidamente é formada uma camada fina de gel de alginato de cálcio na superfície de contato, impedindo que o restante do alginato de sódio se dissolva na água. Por esta razão foi utilizado o método de gelificação por difusão, demonstrado na seção 2.3.2. Apesar de não ter sido feito nenhuma medição de pH, acredita-se que esse método tenha ocorrido com o pH neutro, uma vez que nenhum

dos materiais adicionados para a preparação das amostras tinha o pH diferente do neutro e nenhuma delas tem o efeito de mudar o pH durante a reação.



Figura 3.4: Lado esquerdo da figura mostra as seringas e os pequenos recipientes (tampas) utilizados para fabricação das esferas de alginato de cálcio. Lado direito da figura exemplificam a forma final de algumas das esferas feitas com essas tampas de frascos químicos, que possuíam, aproximadamente, 1,5 cm de diâmetro.

3.3.2 Método 2

Na balança, foram pesadas as massas que correspondiam às concentrações de 1%, 2% e 3% de AlgNa-2 em 10mL de água destilada, que chamaremos essas concentrações de A1, A2 e A3, respectivamente. Em seguida, foram dissolvidas em 5 mL de água destilada à temperatura ambiente, utilizando o agitador magnético. Após a dissolução a amostra foi colocada em banho ultrassônico por cinco minutos para a retirada das bolhas formadas durante a dissolução.

Juntamente com essa preparação foi feito a estequiometria do carbonato de cálcio e do *GDL* para obtenção das concentrações de 1, 5, 10, 20, 30 e 50mM para o $CaCO_3$ (que chamaremos, respectivamente de B1, B2, B3, B4, B5, B6) e 2, 10, 20, 40, 60 e 100mM para o *GDL* (que chamaremos, respectivamente de C1, C2, C3, C4, C5, C6) ambas para 10 mL.

Dissolveu-se em $5mL$ de água destilada à temperatura ambiente as concentrações B1 com C1, B2 com C2, B3 com C3, B4 com C4, B5 com C5 e B6 com C6. Após esse procedimento, adicionou-se os $5mL$ de A1 às misturas de B1 com C1, B2 com C2, B3 com C3, B4 com C4, B5 com C5 e B6 com C6. O mesmo foi feito para as massas A2 e A3.

Os recipientes com as misturas foram tampados com filme PVC e guardados à temperatura ambiente por aproximadamente 24h antes da medição.

Como a reação entre o alginato, carbonato de cálcio e o GDL ocorre de maneira muito lenta, todas as três amostras podem ser preparadas juntas em um mesmo recipiente. Por isso esse procedimento pôde ser realizado pelo método de gelificação interna. Acredita-se que esse método tenha ocorrido em pH básico, apesar de o GDL ter a propriedade de modificar o pH da solução em que está inserido, transformando o pH para ácido, pois a proporção de 2 mols de GDL para 1 de $CaCO_3$ faz com que a solução reaja sem modificar o pH [8].

3.3.3 Método 3

A preparação das amostras de alginato de sódio e do cloreto cálcio foram preparadas de maneira similar à secção 3.3.1, porém foi utilizado o AlgNa-2 e as concentrações do $CaCl_2$ foram de 0,5; 1,0 e 1,5M.

Depois das amostras prontas, em um frasco de reagentes pequeno, inseriu-se uma fina camada de alginato de sódio a 1% e levou-se ao forno a $100\text{ }^{\circ}C$ por aproximadamente 1 minuto. Após retirado do forno foi adicionado ao frasco mais $2mL$ de solução de AlgNa-2. Esse procedimento foi feito com o intuito de fixar a solução de alginato no frasco de reagentes, para que quando a solução de cloreto de cálcio seja adicionada o contato entre as duas soluções seja somente na parte superior. Isso facilita a visualização das possíveis formações de capilares.

Depois de adicionado os $2mL$ de alginato foi inserido, também ao mesmo frasco, $2mL$ de cloreto de cálcio à ,0,5M. Esse procedimento foi repetido para as outras concentrações de $CaCl_2$ e de alginato. Acredita-se que esse método tenha ocorrido em um ambiente de pH básico, já que as soluções misturadas não tem a propriedade de modificar

o pH da reação e nem apresentam pH ácido nem básico.

3.4 Medições

A medição dos tempos de relaxação e dos coeficientes de difusão de todas as amostras foram realizadas através do aparelho de RMN de 400MHz da Agilent/Varian e os parâmetros usados para as medições das relaxações e da difusão foram os pré-programados de fábrica, exceto os tempos de repetição dos pulsos aplicados (TR), os quais foram modificados para a obtenção de dados mais precisos.

Para a medição de T_1 os TR's foram modificados de acordo com o valor adquirido para essa relaxação e o seu respectivo erro. Já para as sequências CPMG e ADC, os TR's foram estipulados como sendo $5 \times T_1$ da respectiva amostra.

Apesar de não ter sido abordado e nem ser o foco do trabalho, foram feitas aquisições de imagens das amostras através da técnica de RMN. As imagens adquiridas são apresentadas no Apêndice B e foram obtidas através da sequência *Single Echo Multi-Slice* (SEMS) utilizando os parâmetros mostrados na Tabela 3.1. A Figura 3.5 apresenta a explicação de alguns parâmetros.

Tabela 3.1: Parâmetros utilizados para a geração de imagens das amostras.

Parâmetro	Valor	Unidade
Tempo de Repetição (TR)	5000	<i>ms</i>
Tempo de Eco (TE)	51,29	<i>ms</i>
Média	1	-
<i>Dummy Scans</i>	5	-
Resolução	256×256	-
Orientação	Axial	-
<i>Read</i>	35×0	<i>mm</i>
<i>Phase</i>	35×0	<i>mm</i>
Número de <i>Slices</i> ou fatias	1	-
Espessura da Fatia	0,05	<i>mm</i>
Distância entre as fatias (<i>Gap</i>)	0	<i>mm</i>
Posição da Fatia no plano	0	<i>mm</i>
Amplitude do gradiente	30	<i>G/cm</i>
Duração do gradiente	2	<i>ms</i>
Tempo de separação entre a aplicação dos gradientes	40	<i>ms</i>
Valor de b (fator de sensibilização à difusão)	1018,82	<i>s/mm²</i>

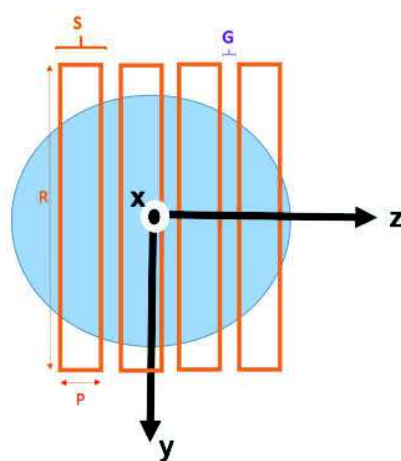


Figura 3.5: Ilustração de alguns parâmetros de medição. O ângulo de visão está com o sentido do corte na direção do y, isto é, sagital. Os retângulos laranjas "S" representam os *slices* ou fatias. A distância "G" entre uma fatia e outra é denominado *gap*. O parâmetro *Read*, representado na figura pela letra "R", determina qual o tamanho da fatia na direção x, enquanto que *Phase*, representado pela letra "P" na figura, determina a espessura da fatia.

Capítulo 4

Resultados e Discussões

4.1 Relaxação e Autodifusão da Água em Gel de Alginato de Cálcio

Neste trabalho foi possível analisar fatores relacionados à relaxação e autodifusão da água no gel em função de variações das concentrações do sal e do alginato.

As concentrações escolhidas para as amostras de alginato foram inicialmente selecionadas para serem de 0,5%, 1,5% e 3% e as concentrações de $CaCl_2$ foram de 5 *mM*, 25 *mM* e 50 *mM* e foram sintetizadas como descrito na secção 3.3.1. A concentração de alginato de sódio a 0,5% não formou gel nas concentrações de 5 *mM* e 25 *mM* de cloreto de cálcio. A concentração de 0,5% de alginato além de só formar o gel em concentrações de $CaCl_2$ a partir de 50 *mM*, demonstrou-se instável estruturalmente, despedaçando-se facilmente sem que fosse tocada. Logo as concentrações de alginato de sódio escolhidas para a realização das medidas de RMN, foram as de 1%, 2% e 3%, pois além de permitirem uma maior variação da concentração de cloreto de cálcio para a formação do gel de alginato de cálcio, apresentavam maior estabilidade estrutural.

Os gráficos das figuras 4.1, 4.2 e 4.3 apresentam, respectivamente, a relaxação longitudinal, transversal e o coeficiente de autodifusão aparente dos hidrogênios da água nas esferas de alginato de cálcio em função das concentrações tanto do cloreto de cálcio quanto do alginato de sódio. As linhas tracejadas verticais que aparecem nas figuras 4.1

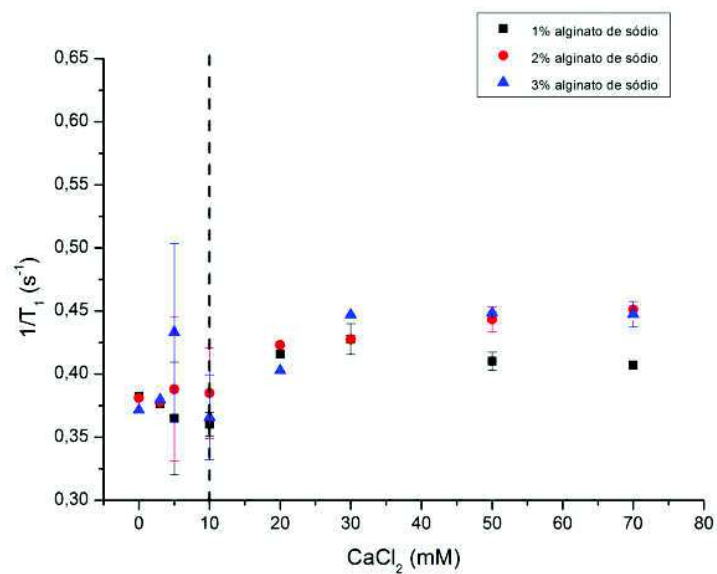


Figura 4.1: Medidas de T_1 dos hidrogênios da água no gel alginato de cálcio preparado a partir do método de difusão, em função das concentrações de sal $CaCl_2$ e do alginato de sódio.

até 4.3, indicam a separação entre duas regiões. Aparentemente, na região da esquerda há uma competição entre os íons de cálcio e os íons de sódio de forma que há uma grande flutuação nos valores medidos. Na região da direita, o maior número dos íons de cálcio torna as medidas com menor flutuação.

No Apêndice B, encontram-se algumas sequências de imagens ponderadas por difusão (IPD) obtidas através do aparelho de RMN. A análise das imagens, juntamente com os parâmetros utilizados nas medições, foram realizadas com o auxílio do programa Matlab[®] para uma estimativa do coeficiente de difusão. No Apêndice C, consta a programação utilizada para calcular o coeficiente de difusão.

As figuras 4.4, 4.5 e 4.6 mostram os tempos de relaxação e coeficiente de autodifusão dos hidrogênios da água no gel de alginato de cálcio em função das concentrações do carbonato de cálcio e do alginato de sódio.

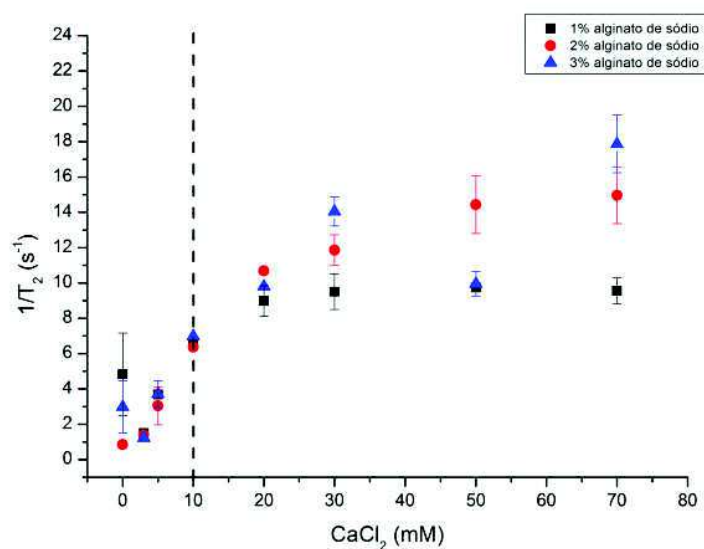


Figura 4.2: Medidas de T_2 dos hidrogênios da água no gel de alginato de cálcio preparado a partir do método de difusão, em função das concentrações de sal $CaCl_2$ e do alginato de sódio.

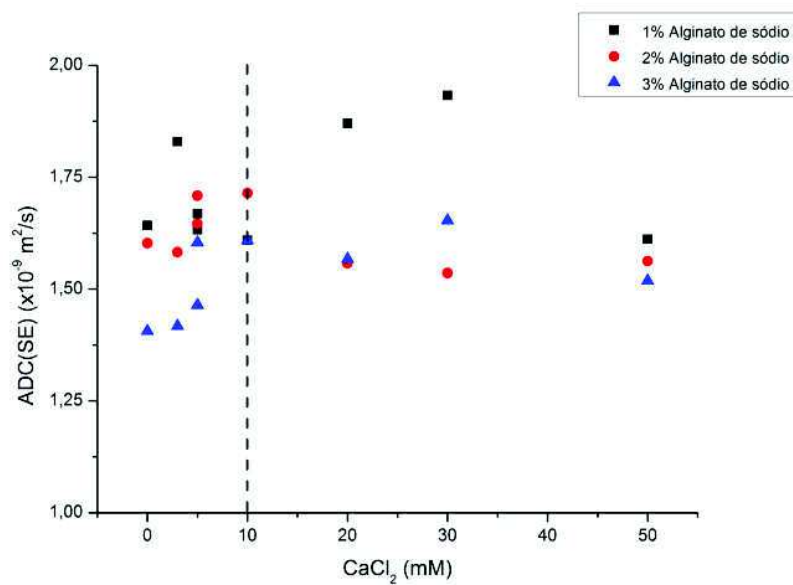


Figura 4.3: Medidas de Coeficiente de Difusão Aparente (ADC) dos hidrogênios da água no gel de alginato de cálcio preparado a partir do método de difusão, em função das concentrações de sal $CaCl_2$ e do alginato de sódio.

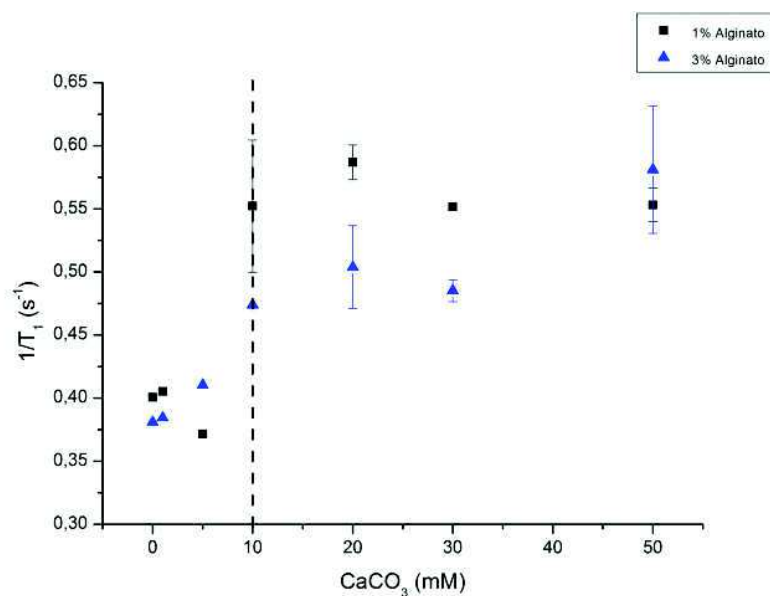


Figura 4.4: Medidas de T_1 dos hidrogênios da água no gel alginato de cálcio produzido pelo método de gelificação interna, em função das concentrações do sal $CaCO_3$ com GDL e do alginato de sódio, feitas em aparelho de RMN.

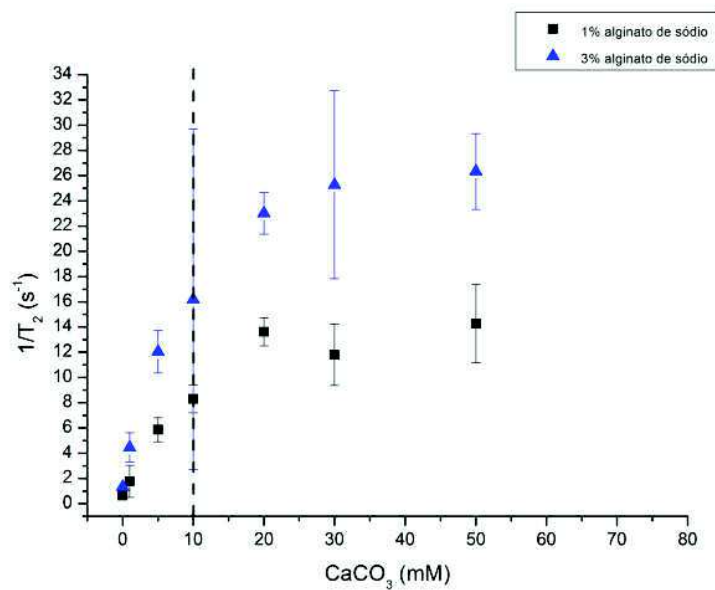


Figura 4.5: Medidas de T_2 dos hidrogênios da água no gel alginato de cálcio produzido pelo método de gelificação interna, em função das concentrações do sal $CaCO_3$ com GDL e do alginato de sódio, feitas em aparelho de RMN.

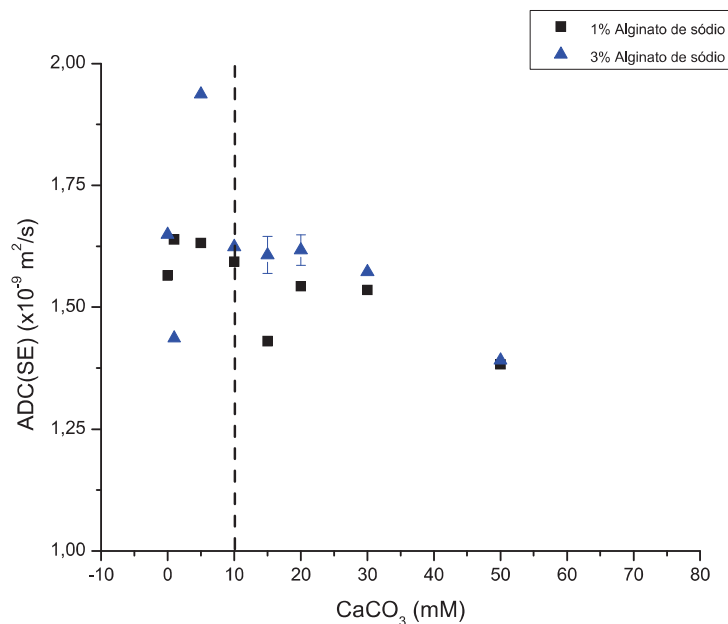


Figura 4.6: Coeficiente de difusão aparente dos hidrogênios da água medido através do aparelho de RMN do gel alginato de cálcio produzido pelo método de gelificação interna, em função das concentrações do sal $CaCO_3$ com GDL e do alginato de sódio.

4.2 Discussão dos Resultados

Os resultados dos alginatos de cálcio produzidos a partir do cloreto de cálcio e do alginato de sódio, mostrados nas figuras 4.1 e 4.2, apresentam concordância com os resultados já obtidos na literatura, como os apresentados nos trabalhos de Cooper *et al* [54] e Simpson *et al* [55]. Exibe também o comportamento esperado, já que com o aumento da rede da amostra, pelo acréscimo de alginato de sódio ou de íons de cálcio, as interações dos hidrogênios da água contida nas amostras de alginato de cálcio aumentam, tornando os processos de relaxação mais rápido.

Os gráficos das figuras 4.4 e 4.5 apresentam os resultados dos alginatos de cálcio produzidos a partir do carbonato de cálcio, alginato de sódio e do GDL, e exibe comportamento similar à aqueles obtidos com o alginato de cálcio produzido a partir do cloreto de cálcio e do alginato de sódio, contudo com taxas de relaxação mais intensas.

Observando-se os quatro gráficos das relaxações, é perceptível que não só a quantidade de íons de cálcio e de alginato de sódio influenciam nesses processos. Percebe-se que a distribuição dos íons de cálcio na amostra também influencia nas relaxações, e por consequência, o método de preparação da amostra modifica esses processos.

As amostras preparadas pelo método de difusão, até a concentração de 10 *mM* de cloreto de cálcio, para as três concentrações de alginato de sódio, apresentam praticamente os mesmos tempos de relaxação e parece ser uma região em que há uma competição entre os íons de cálcio com os íons de sódio, causando um comportamento sem um padrão bem definido. A partir de 20 *mM* de $CaCl_2$ os pontos apresentam um padrão onde, o inverso da relaxação T_2 aumenta em aproximadamente 9,22% de 1% para 3% de alginato de sódio. E chega a aumentar 87,13% de 1% para 3% de alginato de sódio, quando a concentração do cloreto é de 70 *mM*. A influência da quantidade de íons de cálcio na relaxação do hidrogênio da água deixa de ser significativa a partir de 50 *mM* para uma mesma concentração de alginato de sódio, pois é quando aparenta demonstrar um valor de saturação.

Já as amostras preparadas através do método de gelificação interna apresentam diferentes tempos de relaxações a partir da primeira concentração de carbonato de cálcio para cada concentração de alginato de sódio. Na concentração de 1 *mM* o inverso da

relaxação T_2 aumenta 153% de 1% para 3%, já para as concentrações de 50 mM o inverso de T_2 aumenta em 84,49% de 1% para 3% de alginato de cálcio.

Comparando os resultados obtidos das amostras preparadas pelos dois métodos, mostrados nas Figuras 4.7 e 4.8, fica mais evidente a influência da distribuição dos íons de cálcio da amostra nas interações de relaxação dos hidrogênios da água. Para uma mesma concentração de alginato de sódio 1%, na concentração de 5 mM o inverso da relaxação T_2 aumenta 59,35% da concentração de cloreto de cálcio para a de carbonato de cálcio, enquanto que para 50 mM o inverso de T_2 aumenta 46% de cloreto de cálcio para carbonato de cálcio. Para as concentrações de 3% o aumento é de 224,19% do cloreto de cálcio para o carbonato de cálcio em 5 mM e 164,66% em 50 mM . Isso comprova que o método de preparação das amostras de alginato de cálcio influencia de forma significativa nos processos de relaxação dos hidrogênios da água contida nas amostra.

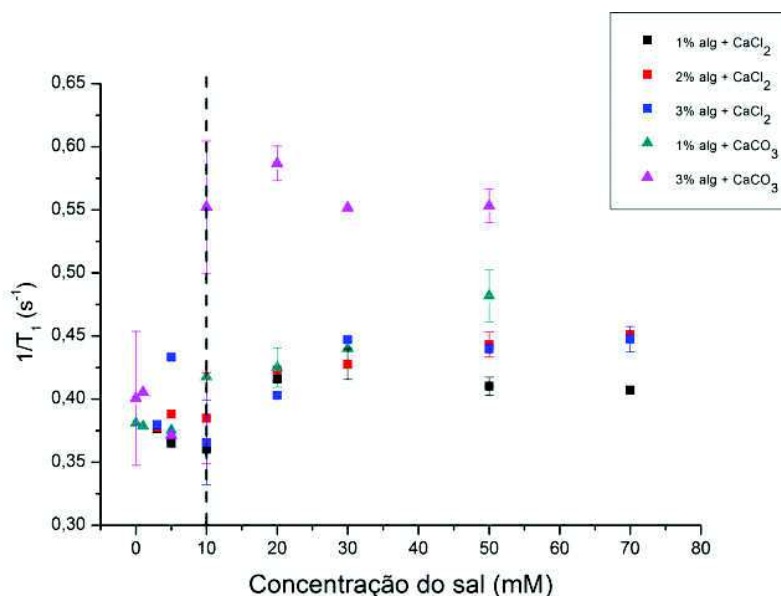


Figura 4.7: Medidas da relaxação T_1 dos hidrogênios da água em géis de alginato de cálcio produzidos pelo método de difusão e géis produzidos por gelificação interna, em função das concentrações dos sais e do alginato de sódio.

Os valores do coeficiente de autodifusão aparente dos hidrogênios da água no gel de alginato de cálcio preparados pelos métodos de difusão e gelificação interna, respectivamente mostrados nas Figuras 4.3 e 4.6, apresentam resultados coerentes com os obtidos no trabalho de Itamunoala [56] e exibem comportamento esperado, já que quanto maior a quantidade de íons de cálcio na amostra de alginato maior o número de estruturas de

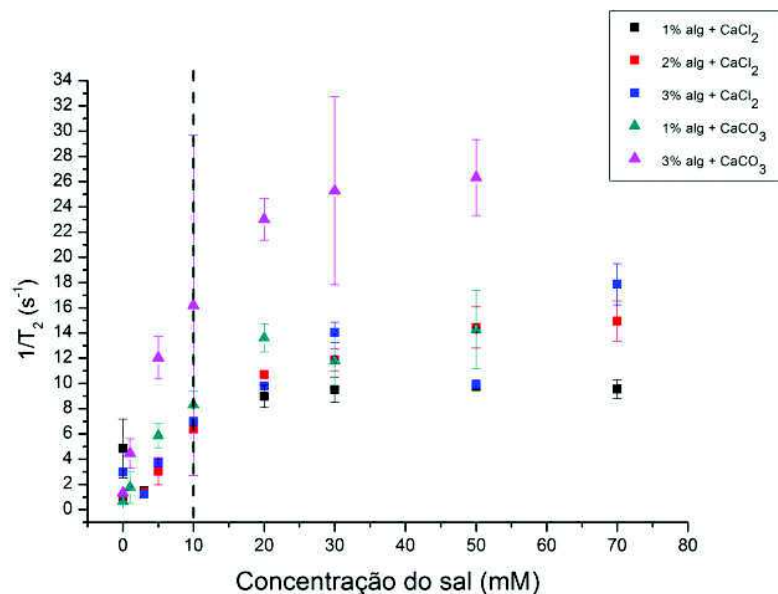


Figura 4.8: Medidas de T_2 dos hidrogênios da água em géis de alginato de cálcio produzidos pelo método de difusão e géis produzidos por gelificação interna, em função das concentrações dos sais e do alginato de sódio.

caixas e ovos, conectando cadeias distintas e produzindo obstáculos, diminuindo o livre caminho médio percorrido por moléculas de água.

Os ADC's dos hidrogênios da água no alginato de cálcio produzidos por ambos os métodos, também apresentam valores menores que o coeficiente para o hidrogênio para água livre, o que é esperado, já que a água está confinada dentro da amostra, mesmo tendo certa liberdade para autodifundir-se. As Figuras 4.9 e 4.10 apresentam os valores obtidos neste trabalho, os valores obtidos no trabalho de Yujie Wu *et al* [57] e de Krynicky *et al* [58] e o valor calculado através da equação de Einstein-Stokes (2.11).

O gráfico do ADC obtido a partir da amostra preparado pelo método de difusão, Figura 4.9, apresenta resultado compatível com o esperado, já que ao aumentarmos a concentração de alginato de sódio, aumentamos o número de barreiras para a autodifusão da água, causando uma diminuição do livre caminho médio percorrido pela molécula da água. Já o gráfico da Figura 4.10, apresenta pouca diferença entre os coeficientes, mostrando que o alginato de cálcio para concentrações de 3% de alginato de sódio produzem amostras que permitem uma autodifusão ligeiramente maior do que as amostras com concentrações de 1% de alginato de sódio. A razão desse comportamento ainda não é clara.

Será necessário um estudo mais aprofundado com relação a estrutura física da amostra, para que se possa extrair algum resultado e possível explicação para tal resultado.

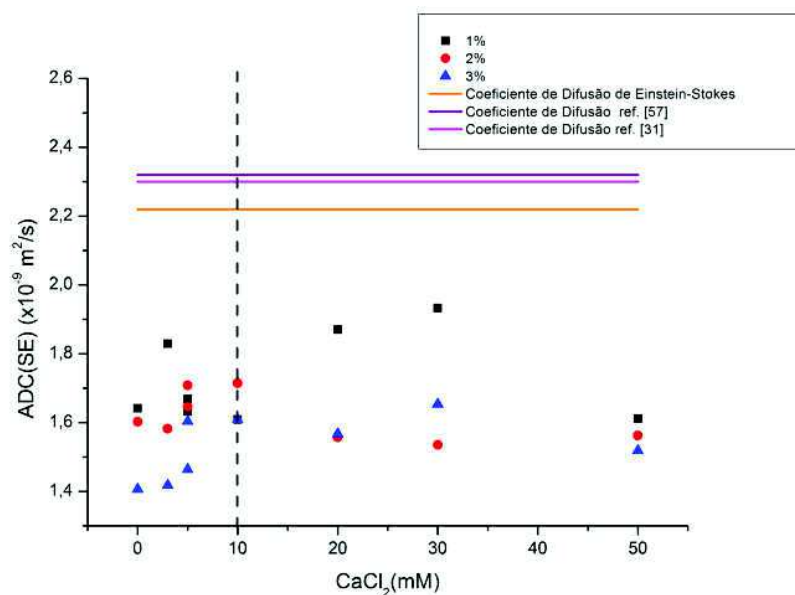


Figura 4.9: Coeficiente de autodifusão do hidrogênio da água no gel de alginado de sódio preparado com CaCl_2 comparados com os coeficientes de difusão do hidrogênio da água livre de obstáculos.

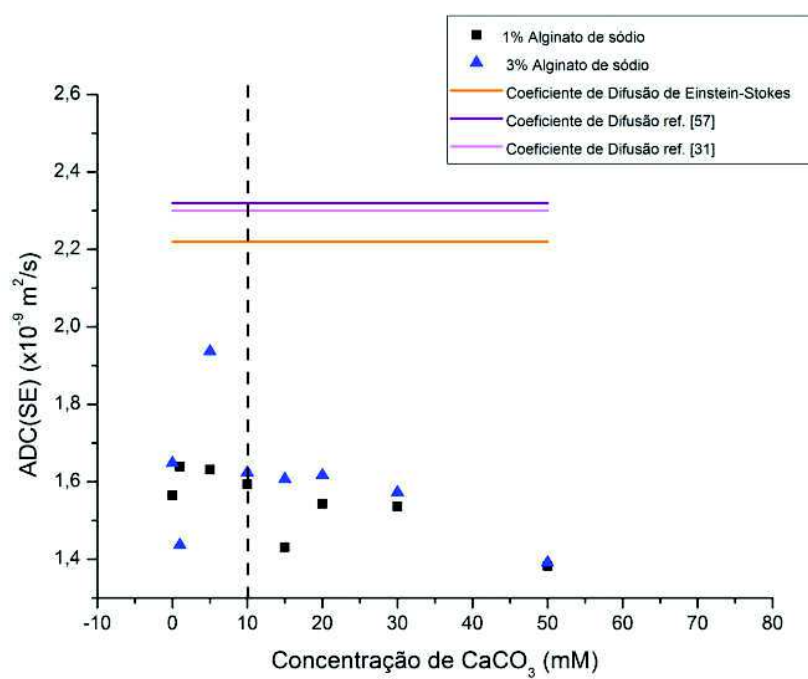


Figura 4.10: Coeficiente de autodifusão do hidrogênio da água no gel de alginato de sódio preparado com CaCO_3 comparados com os coeficientes de difusão do hidrogênio da água livre de obstáculos.

4.3 Proposta de Modelamento do Comportamento das Taxas de Relaxação $1/T_1$ e $1/T_2$

Um modelo que descreva, pelo menos de forma semiquantitativa, os comportamentos das relaxações longitudinal e transversal dos hidrogênios da água no gel de alginato de cálcio, deve produzir um melhor conhecimento do processo de gelificação neste tipo de sistema.

Com o objetivo de montarmos um modelo, vamos partir das seguintes hipóteses gerais: i) os valores iniciais das concentrações de alginato livre e de íons de cálcio livres são suficientes para que o processo de gelificação não pare por falta de um dos componentes; ii) o número de eventos envolvidos no processo de gelificação é elevado, bem como sua sequência, resultando em uma cinética química de elevada complexidade e portanto a descrição será efetivamente baseada nos resultados experimentais; iii) para o caso da síntese por difusão, a gelificação ocorre de fora para dentro das esferas, causando um gradiente de concentração das estruturas caixas de ovos com o maior concentração na borda do gel; iv) no caso da síntese por difusão interna, a concentração das estruturas caixas de ovos é aproximadamente uniforme em todo o gel; v) devido a formação da rede de alginato, o movimento das moléculas de água é restringido e a restrição aumenta com o grau de gelificação; vi) o ponto de partida para a modelagem será a teoria BPP (Bloembergen, Purcell e Pound) para relaxação em líquidos, desprezando a contribuição das flutuações em torno do dobro da frequência de Larmor, $2\omega_0$.

Nesta situação, as expressões para as taxas de relaxação $R_1 = 1/T_1$ e $R_2 = 1/T_2$ podem ser escritas como,

$$R_1 = \gamma^2(h_x^{-2} + h_y^{-2}) \frac{\tau_c}{1 + (\omega_0\tau_c)^2}, \quad (4.1)$$

$$R_2 = \gamma^2 \left(h_z^{-2}\tau_c + \frac{1}{2}(h_x^{-2} + h_y^{-2}) \frac{\tau_c}{1 + (\omega_0\tau_c)^2} \right) = \gamma^2 h_z^{-2}\tau_c + \frac{1}{2}R_1, \quad (4.2)$$

onde γ é o fator giromagnético do núcleo, h_q^{-2} , com $q = x, y, z$, é o valor quadrático médio da componente q do campo magnético local na posição do núcleo, τ_c é o tempo de correlação das flutuações do campo local e ω_0 é a frequência de Larmor dos experimentos. Chamamos a atenção de que embora no trabalho original os valores de h_q^{-2} são decorrentes das interações dipolar, estes valores podem ter diferentes origens.

A difusão rotacional faz com que o vetor internuclear que conecta os hidrogênios da água provoque as flutuações na interação dipolar entre os núcleos de hidrogênio da molécula de água. Desta forma, a função de correlação tem tempo de correlação, τ_c , dado por:

$$\tau_c = \frac{1}{6D_r} \quad (4.3)$$

onde D_r é o coeficiente de difusão rotacional. Visto que $D_r = \frac{D_t}{a^2}$ com a sendo o raio da molécula de água, suposta esférica, pode-se calcular τ_c e portanto $(\omega_0\tau_c)^2 \cong 0,007$, onde usamos os valores medidos para D_t . Assim, pode-se simplificar a equação acima para:

$$R_1 \approx \gamma^2(h_x^{-2} + h_y^{-2})\tau_c = \gamma^2(h_x^{-2} + h_y^{-2})\frac{a^2}{6D_t} \quad (4.4)$$

onde $(h_x^{-2} + h_y^{-2})$ deve ser uma função das concentrações iniciais C_S^0, C_{Alg}^0 , do tipo de sal e do tipo de alginato. $(h_x^{-2} + h_y^{-2}) = f(C_S^0, C_{Alg}^0)$ que pelas medições, é aproximadamente constante. Então, podemos escrever com boa aproximação:

$$R_1 \approx \frac{A}{D_t}, \quad (4.5)$$

onde $A = \gamma^2 f(C_S, C_{Alg}) \frac{a^2}{6}$ é uma constante que depende principalmente de qual íon está sendo utilizado e do tipo de processo de gelificação.

O gráfico da Figura 4.11 é o gráfico da equação 4.5 com o valor de $A = 5,8 \times$

$10^{-10}m^2/s^2$, para solução de cloreto de cálcio. A Figura ??, mostra o gráfico com R_1 medido para as amostras sintetizadas com a solução de carbonato de cálcio e a curva obtida da equação 4.5 com $A = 6,7 \times 10^{-10}m^2/s^2$. Os pontos resultantes descrevem semiquantitativamente o comportamento da taxa de relaxação longitudinal em função da concentração de íons de cálcio.

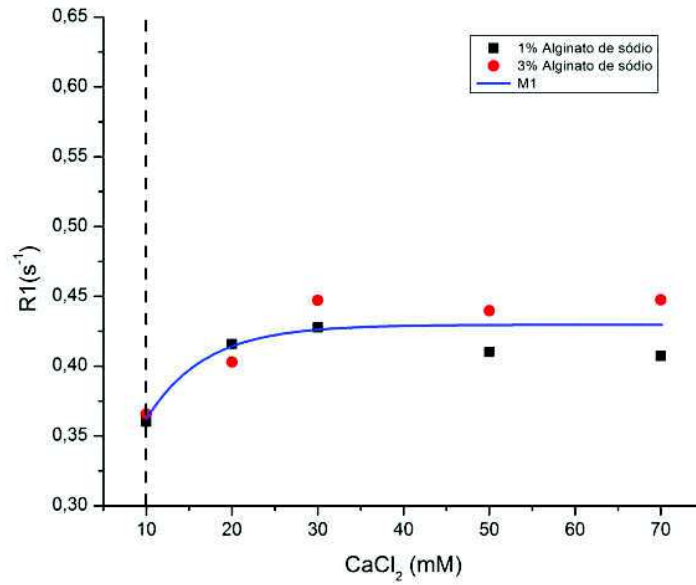


Figura 4.11: Gráfico apresentando os pontos obtidos experimentalmente e os pontos obtidos através do modelo R1 para solução de cloreto de cálcio.

A taxa de relaxação transversal, por outro lado, cresce um fator 3 quando a concentração inicial de íons varia no mesmo intervalo de concentrações utilizadas para medir R_1 . A equação 4.2 mostra que o segundo termo, proporcional a R_1 , pouco contribui para explicar esta variação considerável em R_2 . Assim, se o modelo BPP de fato descreve esta situação, a maior contribuição deve provir de um aumento no valor h_z^{-2} . Da mesma forma que para R_1 , h_z^{-2} deve ser uma função das concentrações, $h_z^{-2} = g(C_S, C_{Alg})$ contudo, neste caso, a função $g(C_S, C_{Alg})$ deve variar consideravelmente no intervalo das medições. Logo, desprezando a contribuição do termo R_1 tem-se que:

$$R_2 \approx \gamma^2 g(C_S^0, C_{Alg}^0) \frac{a^2}{6D_t} \quad (4.6)$$

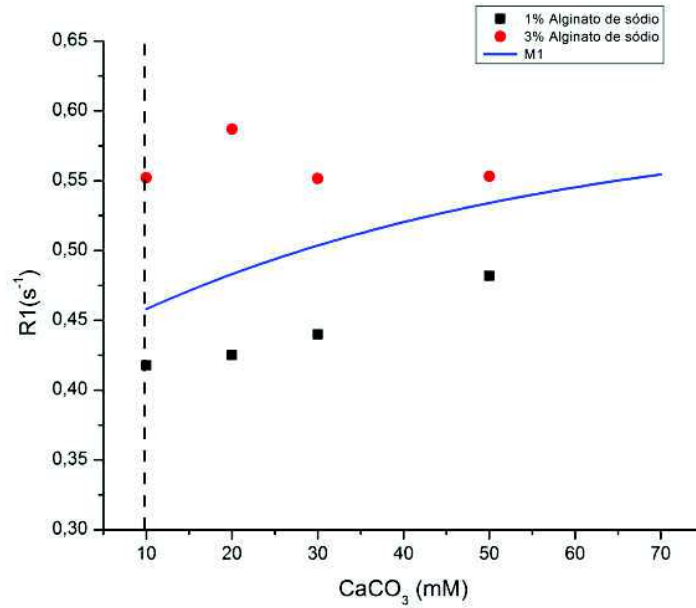


Figura 4.12: Gráfico apresentando os pontos obtidos experimentalmente e os pontos obtidos através do modelo R1 para a solução de carbonato de cálcio.

O aumento do valor da função $g(C_S^0, C_{Alg}^0)$ deve estar associado ao enrijecimento provocado pela formação das estruturas caixas de ovos conectando os alginatos que formam a rede que promove a sustentação mecânica do gel. O grau de enrijecimento deve ser proporcional ao número de estruturas de caixa de ovos, ou seja, $g(C_S^0, C_{Alg}^0) \propto N_{CO}$. O número destas estruturas é proporcional ao valor da concentração delas no sistema, C_{CO} .

A cinética química pode ser utilizada para estimar a concentração de estruturas de caixas de ovos como função das concentrações iniciais do sal e do alginato. O modelo de difusão-reação de Mikkelsen e Elgsaeter (M-E) pode ser utilizado para descrição da cinética da reação de gelificação. Descrevemos a cinética do processo de gelificação, supondo que o termo de gradiente de concentração contribui pouco para a variação da concentração, tem-se então as seguintes equações:

1. Velocidade de consumo de íons de cálcio na formação das estruturas caixa de ovos.

$$\frac{dC_S}{dt} \approx -N_S k_R C_S C_{Alg}^2 - N_S k_G C_S C_{Alg} C_{CO} \quad (4.7)$$

onde N_S é uma constante igual ao número de cálcios ligados a cada dímero de alginato, k_R é a constante de velocidade de consumo dos reagentes e k_G é a constante de velocidade de formação das caixas de ovos. Em $t = 0$, $C_S = C_S^0$.

2. Velocidade de consumo de blocos G na formação das estruturas caixa de ovos:

$$\frac{dC_{Alg}}{dt} \approx -k_R C_S C_{Alg}^2 - k_G C_S C_{Alg} C_{CO} \quad (4.8)$$

Em $t = 0$, $C_{Alg} = C_{Alg}^0$.

3. Velocidade de formação das estruturas caixa de ovos:

$$\frac{dC_{CO}}{dt} \approx k_R C_S C_{Alg}^2 + k_G C_S C_{Alg} C_{CO} \quad (4.9)$$

Em $t = 0$, $C_{CO} = 0$.

Resolvendo numericamente as equações acima com as condições iniciais, obtém-se as evoluções das concentrações C_S , C_{Alg} e C_{CO} com o tempo. A Figura 4.13, mostra a evolução de C_{CO} , para $k_R = k_G$, $N_S = 4$, $C_S^0 = 10 \text{ mM}$ $C_{Alg}^0 = 1\%$, 2% e 3% .

A Figura 4.13, mostra que C_{CO} assintota um valor limite que deve ser atingido quando o processo de gelificação se completa. A Figura 4.14, mostra os valores finais de C_{CO} , com $k_R = k_G = 1$, $N_S = 4$ e $C_{Alg}^0 = 1\%$, 2% e 3% , em função dos valores de C_S^0 . Claramente, o comportamento dos valores finais de C_{CO} é linear em função de C_S^0 . Comparando-se as medições de $1/T_2$ com o gráfico da Figura 4.14, conclui-se que a conjectura da relação $g(C_S^0, C_{Alg}^0) \propto N_{CO}$ não é verdadeira.

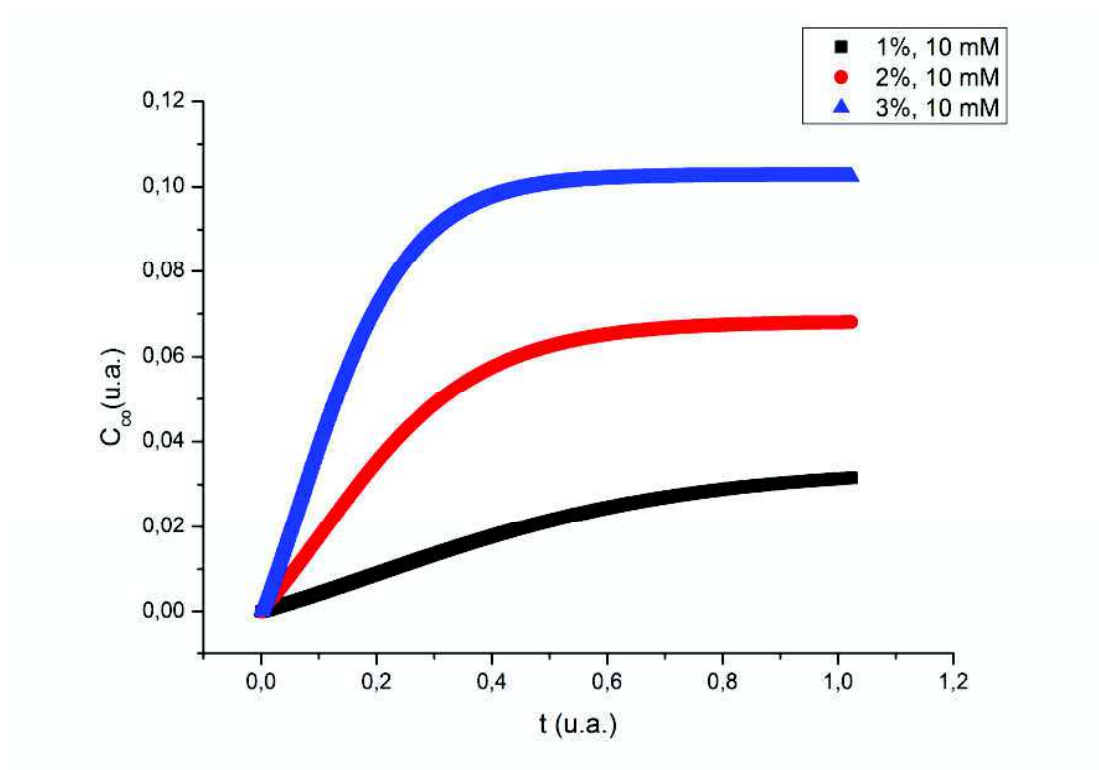


Figura 4.13: Evolução da concentração de caixa de ovos no sistema em função do tempo e da concentração de alginato de sódio. Curva obtida através da solução da equação 4.9, para $k_R = k_G = 1$, $N_S = 4$, $C_S^0 = 10mM$ e $C_{Alg}^0 = 1\%$, 2% e 3% .

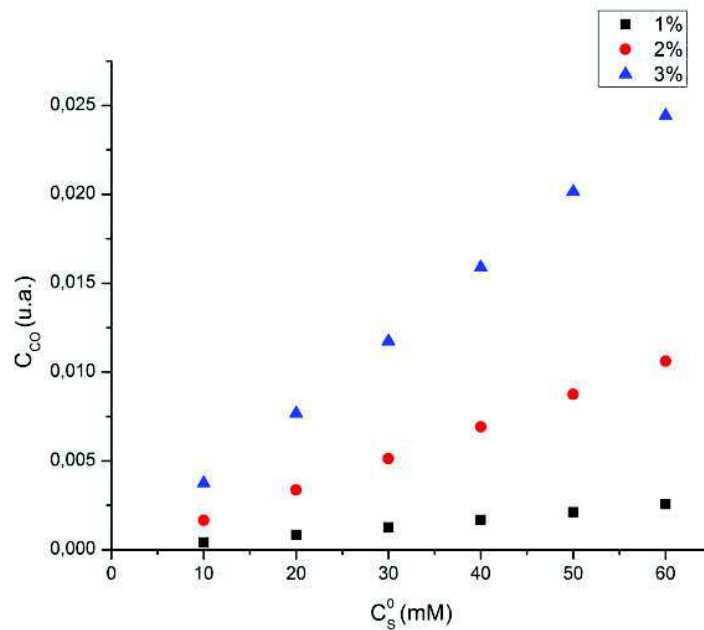


Figura 4.14: Valores finais das concentrações de caixa de ovos em função da concentração inicial de sal, para diferentes concentrações de alginato de sódio.

4.4 Indícios de Formação de Capilares em Alginato de Cálcio

A formação do gel de alginato é explicada pelo modelo da caixa de ovos, descrito na secção 2.3.2. Porém esse modelo não explica a formação de pequenos canais, com espessuras da ordem de micrômetros, chamados de capilares, no alginato quando imerso em elevada concentração de cálcio, por volta de $0,5M$. Atualmente, existe uma movimentação da comunidade científica para estudar, esclarecer e explicar esse fenômeno. Algumas teorias já foram construídas para explicar a formação de capilares no alginato de cálcio. A mais citada afirma que quando o gel de alginato é colocado sob muito stress ocorrem rupturas nas zonas de junção causando as capilaridades [8].

Os atuais métodos utilizados para conseguir a formação de capilares no alginato de cálcio utilizam o $CaCl_2$, o $CaCO_3$ e o GDL (ver referência [8]) ou utilizam o cloreto de cobre (ver referência [7]), e foi observado que as concentrações tanto de alginato de sódio quanto de íons de cálcio influenciam na quantidade e na espessura dos capilares formados.

Na tentativa de obter o fenômeno da capilaridade por outro método, diferente dos já publicados no meio científico, utilizou-se o método descrito na seção 3.3.3. Foi realizada uma série de experimentos com o objetivo de obter a formação de capilares no alginato através de diferentes concentrações de cloreto de cálcio, resultado ainda não apresentado na literatura atual através desse método.

Foram preparadas amostras de alginato utilizando como referência o trabalho de Maneval *et al* [7], adicionando 0,5M de cloreto de cálcio em alginato de sódio aquoso nas concentrações de 1%, 2% e 3%.

Nas amostras de 2% e 3% não houve alterações visíveis a olho nu na estrutura física das amostras. Porém, para a nossa surpresa, a amostra de 1% apresentou a formação de pequenas "ranhuras" a uma profundidade de aproximadamente 1 mm da superfície da amostra, visíveis a olho nu, após passado o tempo de um minuto de mistura dos reagentes. Este comportamento é similar ao relatado por Maneval e colaboradores [7], no qual utilizou cloreto de cobre ($CuCl_2$). Após, aproximadamente 11 dias de exposição ao cloreto de cálcio, as 'ranhuras' espalharam-se por toda a amostra.

Com base nesse resultado, utilizamos essa proporção, a cada 1% de alginato de sódio adicionar 0,5M de cloreto de cálcio, para as concentrações de 2% e 3% de alginato de sódio. Foi observado, a olho nu, um aumento do número de 'ranhuras' e de suas espessuras, como observado nas Figuras 4.15 e 4.16, mostrando novamente, um comportamento similar à formação de capilares em géis de alginato apresentado nos trabalhos de Maneval *et al* e Schuster *et al* [7, 8, 59]. As imagens foram obtidas com auxílio de um microscópio óptico (mostrado na Figura 4.17), com o campo de visão de aproximadamente 2,5 mm x 2,5 mm.



Figura 4.15: Foto obtida utilizando o auxílio de um microscópio óptico das amostras que apresentaram capilares. A imagem da esquerda corresponde amostra contendo 1% de alginato de sódio em contato com $CaCl_2$ a 0,5M durante 11 dias. A imagem da direita apresenta a amostra contendo 2% de alginato de sódio em contato com $CaCl_2$ a 1M. O campo de visão de cada amostra é aproximadamente 2,5 mm x 2,5 mm.

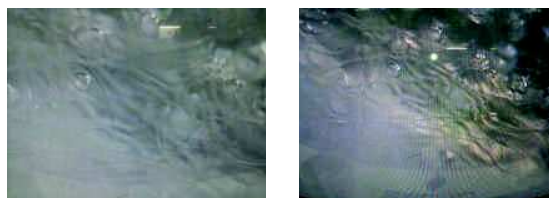


Figura 4.16: Foto obtida utilizando o auxílio de um microscópio óptico das amostras que apresentaram comportamento similar à presença de capilares. No lado esquerdo é a foto da amostra contendo 2% de alginato de sódio em contato com $CaCl_2$ a $1M$ durante 11 dias. A imagem do lado direito corresponde à amostra contendo 3% de alginato de sódio em contato com $CaCl_2$ a $1,5M$. O campo de visão de cada amostra é aproximadamente $2,5\text{ mm} \times 2,5\text{ mm}$.

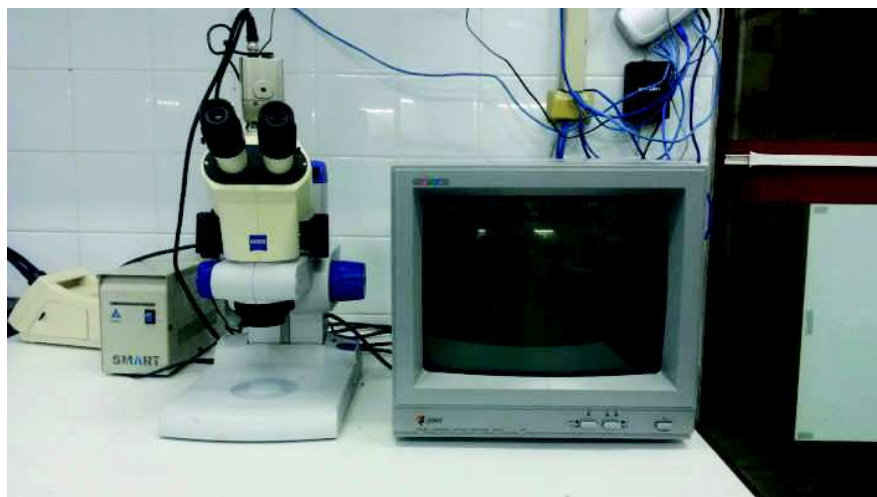


Figura 4.17: Microscópio óptico utilizado para captação das imagens dos possíveis capilares formados nas amostras de alginato de cálcio.

Capítulo 5

Conclusões e Perspectivas

Neste trabalho, foram implementadas duas rotas de síntese de alginato de cálcio. Na primeira rota, utilizamos o método de gelificação por difusão para a sintetização do gel de alginato de cálcio utilizando cloreto de cálcio e alginato de sódio. Na segunda rota, utilizamos o método de gelificação interna utilizando carbonato de cálcio, *GDL* e alginato de sódio para sintetizar o gel de alginato de cálcio.

A estabilidade estrutural das amostras depende muito da rota de síntese escolhida, do tempo de reação e da concentração dos íons de cálcio. Para a rota de gelificação por difusão, a concentração e o tempo de exposição influenciam na estabilidade física e no tamanho da amostra. Para a rota de sintetização por gelificação interna, após o tempo mínimo de 1h, a estrutura e tamanho da amostra não apresentam grandes variações. Esse resultado explicita a possibilidade de manipulação do alginato para o melhoramento de desempenho estrutural da amostra e de suas dinâmicas, a depender da área de aplicação.

As taxas de relaxação longitudinal e transversal foram medidas como função das concentrações de sal e de alginato de sódio de acordo com cada rota de sintetização. A partir da concentração de 10 *mM* de sal, taxa *R1* cresce suavemente como função da concentração dos sais. Contudo, a taxa *R2* cresce significativamente como função das concentrações dos sais. Isso sugere que quanto maior as concentrações de alginato de sódio e de íons cálcio, maior é a interação entre as moléculas da água confinadas dentro do polímero. Para valores de sais menores que 10 *mM*, há uma região cujo comportamento não é bem definido, sugerindo uma competição entre o sódio e o cálcio dentro da amostra.

O coeficiente de autodifusão das moléculas de água retidas na rede formada pelo alginato de cálcio decresce suavemente como função da concentração dos sais. Este resultado está coerente com o estudo teórico de Guilherme Dellagutin [60] sobre a difusão de caminheiros aleatórios em um meio com barreiras. Este dado indica a influência da rota de sintetização das amostras, pois esses determinam a estrutura física do gel formado.

O modelo BPP consegue explicar, de forma semiquantitativa, o comportamento da taxa de relaxação $R1$, mas se afasta consideravelmente na explicação da taxa $R2$. Por outro lado, este afastamento pode sugerir que a estrutura do gel, de alguma forma ainda não reportada nos trabalhos, produz uma anisotropia nos campos magnéticos locais.

E por fim, foi possível obter um comportamento similar à formação de capilaridade no alginato por um novo método de preparação. Os últimos experimentos foram reveladores e animadores, pois conseguimos um comportamento semelhante ao de formação de capilares, sugerindo assim que se foi conseguido formar stress suficiente na amostra utilizando uma nova técnica. Não foram feitas nenhuma medição das taxas de relaxação e nem imagens dessas amostras, utilizando o aparelho de RMN. O fenômeno da capilaridade no alginato ainda é algo muito recente e com muitos detalhes a serem entendidos e descobertos. Por isso, é preciso então realizar medidas e imagens para investigar quais os efeitos desse fenômeno nas dinâmicas do alginato e quais as suas vantagens e desvantagens, além de tentar variar as concentrações do sal e do alginato a fim de tentar estabelecer uma definição para esse efeito.

Visto que as estruturas de caixa de ovos são o que há de diferente nesta rede polimérica, seria importante tentar verificar, teoricamente e/ou experimentalmente, se as estruturas poderiam contribuir para a geração de campos magnéticos locais na mesma direção do campo magnético estático. A verificação desta possibilidade não só explicaria o comportamento de $R2$ como função da concentração dos sais, bem como colocaria em uma nova perspectiva estes materiais.

Referências

- [1] E.F. Lucas, B.G. Soares, and E. Monteiro. *Caracterização de polímeros: determinação de peso molecular e análise térmica*. Editora E-papers, 2001.
- [2] B. Ratner, A.S. Hoffman, F.I. Schoen, and J.E. Lemons. Biomaterials science: an introduction to materials in medicine. *San Diego, California*, pages 162–164, 2004.
- [3] A.M. Stephen and G.O. Phillips. *Food polysaccharides and their applications*. CRC Press, 2010.
- [4] E.L. Hahn. Spin echoes. *Physical review*, 80(4):580, 1950.
- [5] A Martinsen, G Skjåk-Bræk, and O Smidsrød. Alginate as immobilization material: I. correlation between chemical and physical properties of alginate gel beads. *Biotechnology and bioengineering*, 33(1):79–89, 1989.
- [6] Kurt Ingar Draget, Kjetill Østgaard, and Olav Smidsrød. Alginate-based solid media for plant tissue culture. *Applied microbiology and biotechnology*, 31(1):79–83, 1989.
- [7] J.E. Maneval, D. Bernin, H.T. Fabich, J.D. Seymour, and S.L. Codd. Magnetic resonance analysis of capillary formation reaction front dynamics in alginate gels. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 49(10):627–640, 2011.
- [8] E. Schuster, J. Eckardt, A.M. Hermansson, A. Larsson, N. Lorén, A. Altskär, and A. Ström. Microstructural, mechanical and mass transport properties of isotropic and capillary alginate gels. *Soft Matter*, 10(2):357–366, 2014.
- [9] A. L. B. Bathista and S. E. O. da Silva. Conhecendo materiais poliméricos. 2003.
- [10] S.V. Canevarolo Jr et al. Técnicas de caracterização de polímeros. *Artliber, São Paulo*, 430, 2004.

- [11] A. Secato. Apostila de polímeros - capítulo ii. *Scribd*, 2009.
- [12] N.A. Peppas, P. Bures, W. Leobandung, and H. Ichikawa. Hydrogels in pharmaceutical formulations. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 50(1):27 – 46, 2000.
- [13] F. Lim and A.M. Sun. Microencapsulated islets as bioartificial endocrine pancreas. *Science*, 210(4472):908–910, 1980.
- [14] I.V. Yannas, E. Lee, D.P. Orgill, E.M. Skrabut, and G.F. Murphy. Synthesis and characterization of a model extracellular matrix that induces partial regeneration of adult mammalian skin. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 86(3):933–937, 1989.
- [15] A. Haug. Composition and properties of alginates. 1964.
- [16] A. Haug, B. Larsen, and O. Smidsrød. A study of the constitution of alginic acid by partial hydrolysis. *Acta Chem Scand*, 20(1):183–190, 1966.
- [17] A. Haug and B. Larsen. A study on the constitution of alginic acid by partial acid hydrolysis. *Acta chem. scand*, 20:183–190, 1974.
- [18] A. Haug, B. Larsen, and O. Smidsrod. Studies on the sequence of uronic acid residues in alginic acid. *Acta Chem Scand*, 21:691–704, 1967.
- [19] A. Haug and O. Smidsrød. Fractionation of alginates by precipitation with calcium and magnesium ions. *Acta Chem. Scand*, 19(5), 1965.
- [20] O PROCESSO SOL-GEL and UMA VISÃO FÍSICO-QUÍMICA. Hiratsuka, r.s. (in memoriam) and santilli, c.v. and pulcinelli, s.h. *QUÍMICA NOVA*, 18(2):171, 1995.
- [21] A. Imeson. *Thickening and gelling agents for food*. Aspen Pub, 1997.
- [22] D.J. McHugh. Production, properties and uses of alginates. *Production and Utilization of Products from Commercial Seaweeds. FAO. Fish. Tech. Pap*, 288:58–115, 1987.
- [23] Y.M. Lin, P.K. Sharma, and M.C.M. van Loosdrecht. The chemical and mechanical differences between alginate-like exopolysaccharides isolated from aerobic flocculent sludge and aerobic granular sludge. *Water research*, 2012.

- [24] Y. Fang, S. Al-Assaf, G.O. Phillips, K. Nishinari, T. Funami, P.A. Williams, and L. Li. Multiple steps and critical behaviors of the binding of calcium to alginate. *The Journal of Physical Chemistry B*, 111(10):2456–2462, 2007.
- [25] A. Haug and O. Smidsrod. The effect of divalent metals on the properties of alginate solutions. *Acta Chem. Scand*, 19(2), 1965.
- [26] O. Smidsrod, A. Haug, et al. Dependence upon the gel-sol state of the ion-exchange properties of alginates. *Acta chem. scand*, 26(5):2063–2074, 1972.
- [27] G.T. Grant, E.R. Morris, D.A. Rees, P.J.C. Smith, and D. Thom. Biological interactions between polysaccharides and divalent cations: the egg-box model. *FEBS letters*, 32(1):195–198, 1973.
- [28] I.W. Cottrell and P. Kovacs. Alginates. handbook of water soluble gums and resins, edited by rl davidson, 1980.
- [29] G. Skjåk-Bræk, A. Martinsen, et al. Applications of some algal polysaccharides in biotechnology. 1991.
- [30] A. Mikkelsen and A. Elgsaeter. Density distribution of calcium-induced alginate gels. a numerical study. *Biopolymers*, 36(1):17–41, 1995.
- [31] B. Thu, O. Gåserød, D. Paus, A. Mikkelsen, G. Skjåk-Bræk, R. Toffanin, F. Vittur, and R. Rizzo. Inhomogeneous alginate gel spheres: An assessment of the polymer gradients by synchrotron radiation-induced x-ray emission, magnetic resonance microimaging, and mathematical modeling. *Biopolymers*, 53(1):60–71, 2000.
- [32] G. Skjåk-Bræk, O. Smidsrød, and B. Larsen. Tailoring of alginates by enzymatic modification *in vitro*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 8(6):330–336, 1986.
- [33] G. Skjåk-Bræk, H. Grasdalen, and O. Smidsrød. Inhomogeneous polysaccharide ionic gels. *Carbohydrate polymers*, 10(1):31–54, 1989.
- [34] K. Ingar Draget, K. Østgaard, and O. Smidsrød. Homogeneous alginate gels: a technical approach. *Carbohydrate Polymers*, 14(2):159–178, 1990.
- [35] W.D. Callister and D.G. Rethwisch. Materials science and engineering: an introduction. 2007.

- [36] J. Crank. The mathematics of diffusion. *Clarendon, Oxford*, page 71, 1975.
- [37] J.B.J. Fourier. *Théorie analytique de la chaleur*. Didot, 1822.
- [38] J.B.J. baron Fourier. *The analytical theory of heat*. The University Press, 1878.
- [39] A. Fick. Ueber diffusion. *Annalen der Physik*, 170(1):59–86, 1855.
- [40] A. Fick. V. on liquid diffusion. *The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science*, 10(63):30–39, 1855.
- [41] A. Einstein. On the movement of small particles suspended in stationary liquids required by the molecular-kinetic theory of heat. *Annalen der Physik*, 17(549-560):16, 1905.
- [42] H.S. Carslaw and J.C. Jaeger. *Conduction of heat in solids*. Oxford University Press London, 1959.
- [43] I.S. Oliveira. Ressonância magnética nuclear: Uma tecnologia para a computação quântica. In *Workshop-Escola de Computação e Informação Quântica*, pages 115–127, 2006.
- [44] W. Reusch. Nuclear magnetic resonance spectroscopy, 2013.
- [45] A.A. Mazzola. Ressonância magnética: princípios de formação da imagem e aplicações em imagem funcional. *Revista Brasileira de Física Médica*, 3(1):117–29, 2009.
- [46] E.R. Andrew. *Nuclear magnetic resonance*. The Syndics of The Cambridge University Press, 1969.
- [47] C.P. Poole Jr and H.A. Farach. *Relaxation in magnetic resonance*. Academic Press, 1971.
- [48] F. Bloch. Nuclear induction. *Physical review*, 70(7-8):460, 1946.
- [49] N. Bloembergen, E. M. Purcell, and R. V. Pound. Relaxation effects in nuclear magnetic resonance absorption. *Physical Review*, 73(7):679, 1948.
- [50] G. Temple. The general theory of relaxation methods applied to linear systems. *Proceedings of the Royal Society of London. Series A. Mathematical and Physical Sciences*, 169(939):476–500, 1939.

- [51] H. Y. Carr and E. M. Purcell. Effects of diffusion on free precession in nuclear magnetic resonance experiments. *Physical Review*, 94(3):630, 1954.
- [52] D.S. Grebenkov. Use, misuse, and abuse of apparent diffusion coefficients. *Concepts in Magnetic Resonance Part A*, 36(1):24–35, 2010.
- [53] E.O. Stejskal and J.E. Tanner. Spin diffusion measurements: Spin echoes in the presence of a time-dependent field gradient. *The journal of chemical physics*, 42(1):288–292, 2004.
- [54] C.L. Cooper, T. Cosgrove, J.S. van Duijneveldt, M. Murray, and S.W. Prescott. The use of solvent relaxation nmr to study colloidal suspensions. *Soft Matter*, 9(30):7211–7228, 2013.
- [55] N.E. Simpson, S.C. Grant, S.J. Blackband, and I. Constantinidis. Nmr properties of alginate microbeads. *Biomaterials*, 24(27):4941–4948, 2003.
- [56] G.F. Itamunoala. Effective diffusion coefficients in calcium alginate gel. *Biotechnology progress*, 3(2):115–120, 1987.
- [57] Y. Wu, H. L. Tepper, and G. A. Voth. Flexible simple point-charge water model with improved liquid-state properties. *The Journal of chemical physics*, 124(2):024503, 2006.
- [58] K. Krynicky, C. D. Green, and D. W. Sawyer. *Faraday Discuss. Chem. Soc.*, 66:199, 1978.
- [59] K. Pawar, R. Mueller, M. Caioni, P. Prang, U. Bogdahn, W. Kunz, and N. Weidner. Increasing capillary diameter and the incorporation of gelatin enhance axon outgrowth in alginate-based anisotropic hydrogels. *Acta biomaterialia*, 7(7):2826–2834, 2011.
- [60] G. Dellagustin. Estudo da difusão de caminhantes aleatórios em um meio com barreiras. 2010.

Apêndice A

Equações Fundamentais da Ressonância Magnética

margin=1.0cm As interações magnéticas de um campo eletromagnético clássico com um spin (up ou down) é descrito pela equação (2.16), dada por:

$$H = -\vec{\mu} \cdot \vec{B} \quad (\text{A.1})$$

, onde $\vec{\mu}$ é o momento magnético do spin e $\vec{B}$ é o campo magnético aplicado, dado por:

$$\vec{B} = B_0 \hat{z} + B_1 (\hat{x} \cos wt + \hat{y} \sin wt) \quad (\text{A.2})$$

, sendo B_0 o campo estático muito alto, B_1 um campo que varia no tempo muito menor que B_0 em magnitude. Podemos resolver a equação (A.1) diretamente pela equação de Schrödinger sem utilizarmos teoria de perturbação. O hamiltoniano desse sistema pode ser descrito como:

$$H = \frac{\hbar w_0}{2} Z + \hbar g (X \cos wt + Y \sin wt) \quad (\text{A.3})$$

, onde g é a força do campo B_1 , w_0 é a força do campo estático B_0 e X, Y e Z são introduzidas como um "atalho" para as matrizes de Pauli. Definindo $|\phi(t)\rangle = e^{iwtZ/2} |\chi(t)\rangle$, para que a seguinte equação de Schrödinger:

$$i\hbar\partial_t|\chi(t)\rangle = H|\chi(t)\rangle \quad (\text{A.4})$$

possa ser reescrita como:

$$i\hbar\partial_t|\phi(t)\rangle = [e^{iwZt/2}He^{-iwZt/2} - \frac{\hbar w}{2}Z]|\chi(t)\rangle \quad (\text{A.5})$$

, desde que:

$$e^{iwZt/2}Xe^{-iwZt/2} = X \cos wt - Y \sin wt \quad (\text{A.6})$$

Simplificando a equação (A.5), temos:

$$i\partial_t|\phi(t)\rangle = [\frac{w_0 - w}{2}Z + gX]|\phi(t)\rangle \quad (\text{A.7})$$

, onde os termos da direita que multiplicam o estado podem ser identificados como a efetiva "rotação do quadro de visão" do Hamiltoniano. A solução para essa equação é dada por:

$$|\phi(t)\rangle = e^{i[\frac{w_0 - w}{2}Z + gX]t}|\phi(0)\rangle \quad (\text{A.8})$$

O conceito de ressonância surge do comportamento dessa solução, que pode ser compreendida como um única rotação do quadro de visão em torno do eixo:

$$\hat{n} = \frac{z + \frac{2g}{w_0 - w}\hat{x}}{\sqrt{1 + (\frac{2g}{w_0 - w})^2}} \quad (\text{A.9})$$

com um ângulo de:

$$|\vec{n}| = t\sqrt{(\frac{w_0 - w}{2})^2 + g^2} \quad (\text{A.10})$$

Quando w é maior que w_0 , os spins não são significativamente afetados pelo campo B_1 , fazendo com que o sistema permaneça sob influência somente do campo estático B_0 , aplicado na direção z , por exemplo. Porém, quando $w_0 \approx w$, os spins não são afetados pelo campo estático B_0 aplicado, então por menor que seja o campo variável B_1 , irá causar uma grande mudança no estado dos spins, correspondendo a uma rotação em

torno do eixo x. Esse enorme efeito que uma pequena perturbação pode causar no sistema de spin, quando sintonizado a uma frequência apropriada, é responsável pela 'ressonância' em RMN.

Normalmente, quando $w = w_0$, a rotação do quadro do Hamiltoniano de um único spin pode ser escrita como:

$$H = g_1(t)X + g_2(t)Y \quad (\text{A.11})$$

, onde g_1 e g_2 são funções dos pulsos de rf aplicados transversalmente ao campo estático B_0 .

Apêndice B

Imagens das amostras feitas por RMN

margin=1.0cm

Durante o periodo de medições das dinâmicas de relaxação e de difusão das amostras através do aparelho de ressonância magnética, também foram realizadas imagens utilizando a sequência Sems, a fim de observar visualmente a intensidade do sinal de difusão. As Figuras B.1 e B.2 mostram sequências de imagens ponderadas por difusão (IPD) feitas pelo aparelho de RMN das amostras produzidas pelo Método 1, descrito na seção 3.3.1. As partes mais avermelhadas mostram onde a difusão está mais intensa. Com base nos parâmetros utilizados para a realização dessas imagens, mostrados na Tabela B.1, e utilizando o auxílio do programa MATLAB®, foi possível estipular o coeficiente de difusão de cada amostra. A Figura B.3 mostra os valores estipulados através do programa. A programação utilizada para encontrar esses coeficientes estão apresentadas no Apêndice C.

Tabela B.1: Parâmetros utilizados para a geração da sequência de imagens Sems mostradas nas Figuras B.1 e B.2

Orientação	Axial
<i>Read</i>	35 mm
<i>Phase</i>	35 mm
<i>Slices</i>	1
<i>Thk</i>	0,5 mm
<i>Gap</i>	0 mm
<i>Position</i>	0 mm
TR	1000 ms
TE	40 ms
Matriz	256 x 256
<i>Dummy Scans</i>	5
Amplitude	20 G/cm
<i>Duration</i>	5 ms
<i>Separation</i>	40 ms
<i>Target b-value</i>	890,76 s/mm ²

As Figuras B.4 e B.5 mostram a sequência de IPD feitas pelo aparelho de RMN das amostras produzidas pelo Método 2 (descritos na seção 3.3.2, onde as partes amareladas mostram uma menor intensidade na difusão. Através dos parâmetros utilizados para a

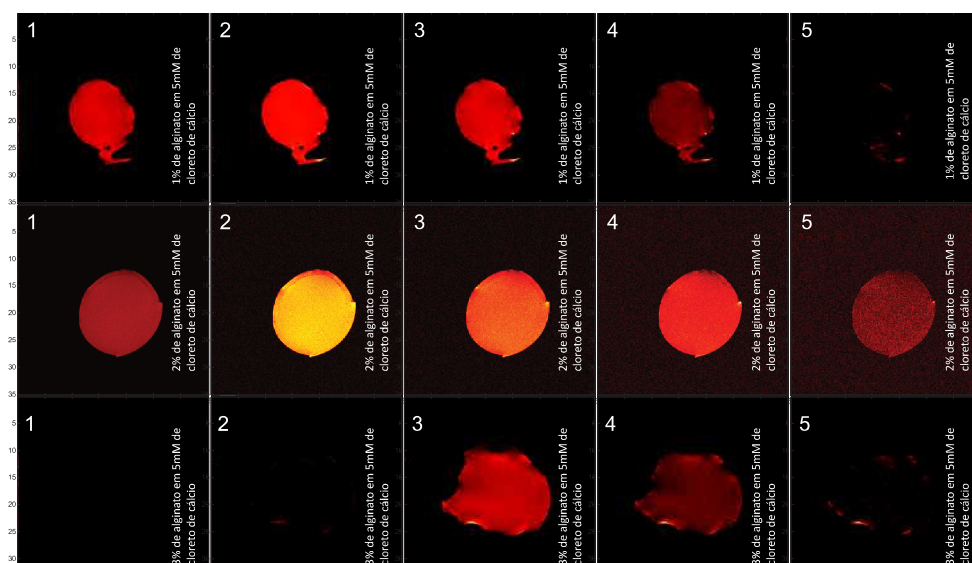


Figura B.1: A figura mostra imagens da amostra feitas através da sequência Sems, cujos parâmetros estão descritos na Tabela B.1. As partes mais amareladas representam locais onde a difusão está menos intensa no momento da medição. As imagens contidas na linha superior da figura corresponde á amostra contendo 1% de alginato de sódio e 5 mM de $CaCl_2$. As imagens da linha central da figura corresponde á amostra contendo 2% de alginato de sódio e 5 mM de $CaCl_2$. As imagens da linha inferior da figura corresponde á amostra contendo 3% de alginato de sódio e 5 mM de $CaCl_2$. As amostras foram produzidas como descrito na Secção 3.3.1

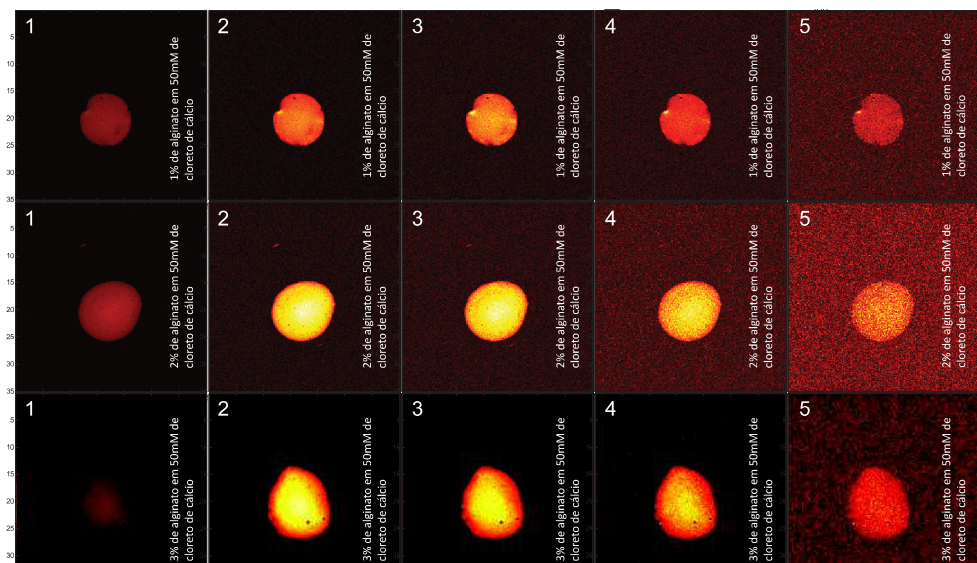


Figura B.2: A figura mostra imagens da amostra feitas através da sequência Sems, cujos parâmetros estão descritos na Tabela B.1. As partes mais amareladas representam locais onde a difusão está menos intensa no momento da medição. As imagens contidas na linha superior da figura corresponde á amostra contendo 1% de alginato de sódio e 50 mM de $CaCl_2$. As imagens da linha central da figura corresponde á amostra contendo 2% de alginato de sódio e 50 mM de $CaCl_2$. Já as imagens da linha inferior da figura corresponde á amostra contendo 3% de alginato de sódio e 50 mM de $CaCl_2$. As amostras foram produzidas como descrito na Secção 3.3.1

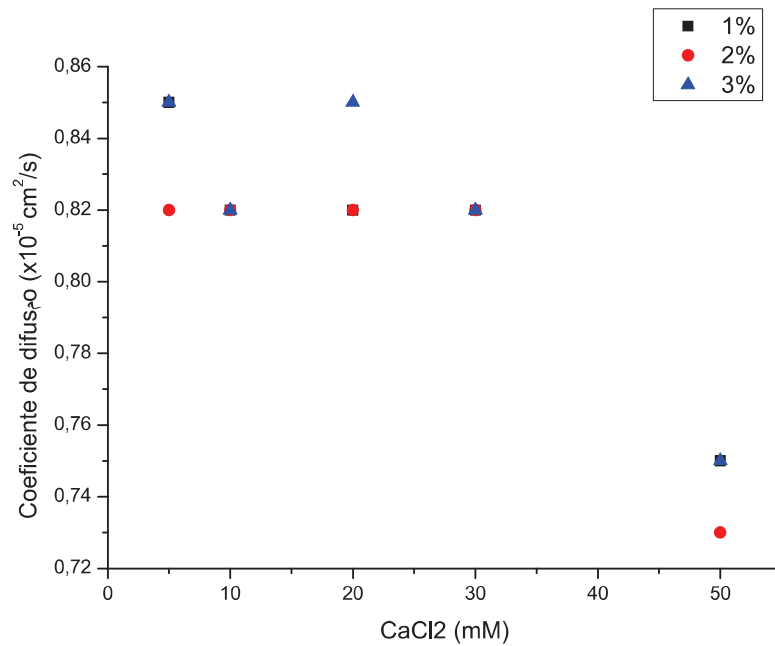


Figura B.3: Valores para o coeficiente de difusão do gel alginato de cálcio em função da concentração do alginato de sódio e do cloreto de cálcio.

produção dessas imagens, mostrados na Tabela B.2, com o auxílio do programa MATLAB, como feito anteriormente, estipulou-se o coeficiente de difusão dessas amostras. A Figura B.6 mostra os valores obtidos através do programa.

Tabela B.2: Parâmetros utilizados para a geração da sequência de imagens Sems mostradas nas Figuras B.4 e B.5.

Orientação	Axial
<i>Read</i>	35 mm
<i>Phase</i>	35 mm
<i>Slices</i>	1
<i>Thk</i>	0,5 mm
<i>Gap</i>	0 mm
<i>Position</i>	0 mm
TR	5000 ms
TE	51,29 ms
Matriz	32 x 32
<i>Dummy Scans</i>	5
Amplitude	30 G/cm
<i>Duration</i>	2 ms
<i>Separation</i>	40 ms
<i>Target b-value</i>	1018,82 s/mm ²

Olhando para as imagens dos géis formados pelo alginato de sódio com cloreto de cálcio percebe-se uma grande diferença de coloração da primeira imagem da sequência para a segunda, e as demais (3, 4 e 5) tem-se a presença de grande ruído nas imagens.

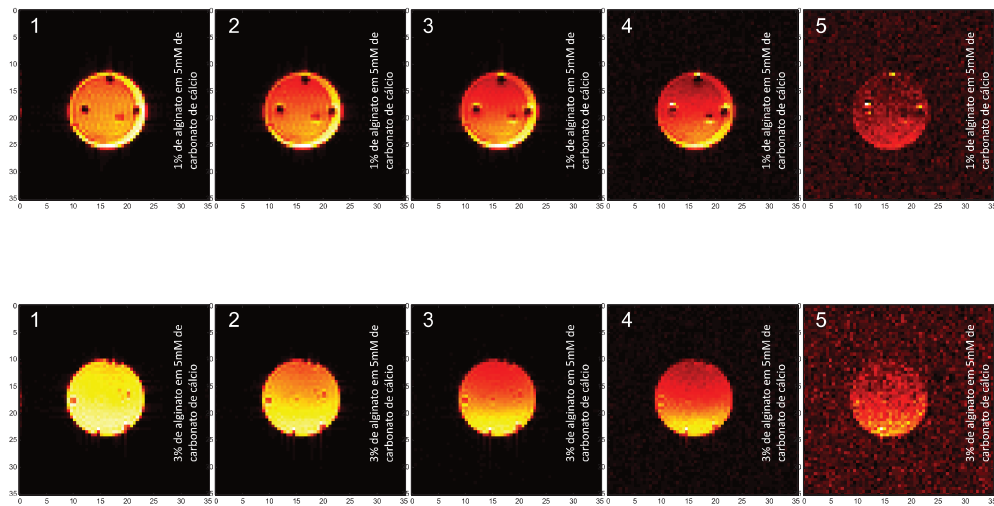


Figura B.4: A figura mostra imagens da amostra feitas através da sequência SemS, cujos parâmetros estão descritos na Tabela B.2. As partes mais amareladas representam locais onde a difusão está menos intensa no momento da medição. As imagens contidas na linha superior da figura corresponde á amostra contendo 1% de alginato de sódio e 5 mM de $CaCO_3$ e 10 mM de GDL. Já as imagens da linha inferior da figura corresponde á amostra contendo 3% de alginato de sódio e 5 mM de $CaCO_3$ e 10 mM de GDL. Ambas as amostras foram produzidas como descrito na Secção 3.3.2.

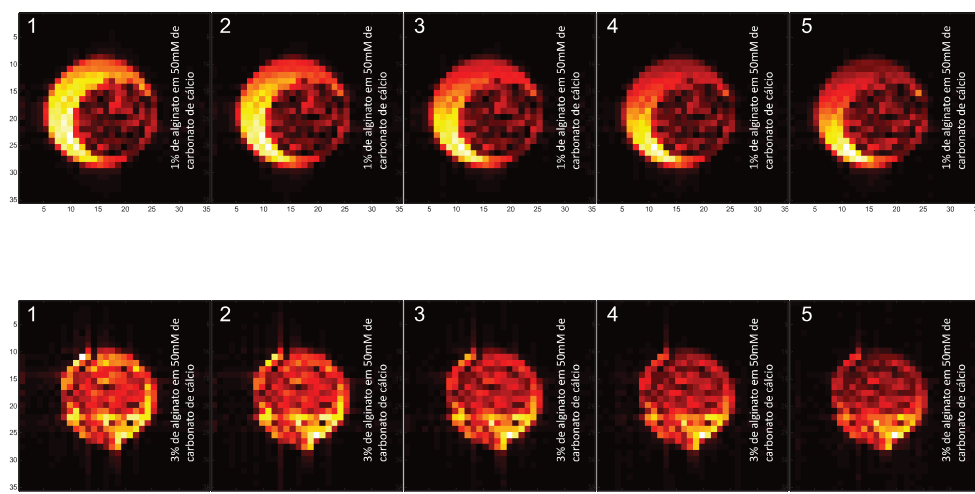


Figura B.5: A figura mostra imagens da amostra feitas através da sequência Sems, cujos parâmetros estão descritos na Tabela B.2. As partes mais amareladas representam locais onde a difusão está menos intensa no momento da medição. As imagens contidas na linha superior da figura corresponde á amostra contendo 1% de alginato de sódio e 50 mM de $CaCO_3$ e 100 mM de GDL. Já as imagens da linha inferior da figura corresponde á amostra contendo 3% de alginato de sódio e 50 mM de $CaCO_3$ e 100 mM de GDL. Ambas as amostras foram produzidas como descrito na Secção 3.3.2.

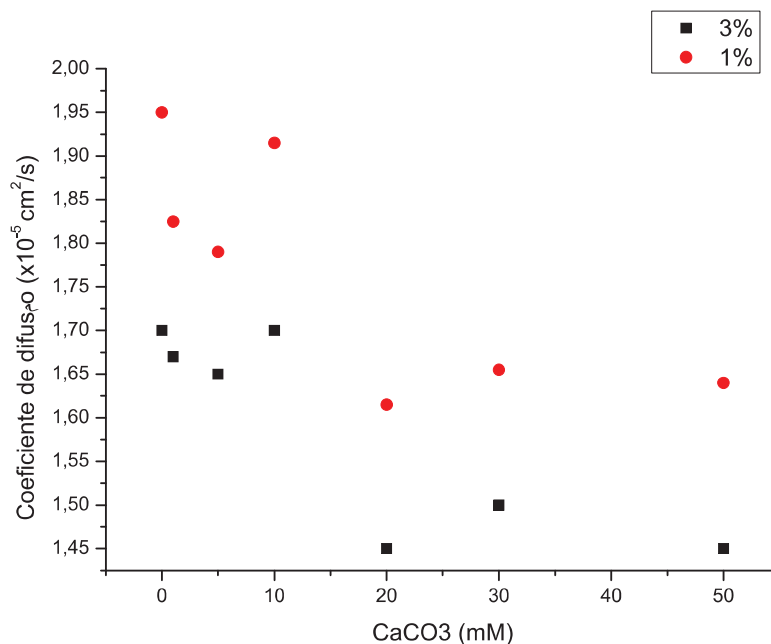


Figura B.6: Valores para o coeficiente de difusão do gel alginato de cálcio em função da concentração do alginato de sódio e do carbonato de cálcio, utilizando os parâmetros mostrados na Tabela B.2.

Analisando sequências de imagens dos géis formados pelo carbonato de cálcio, alginato de sódio e GDL percebe-se uma semelhança entre as primeiras imagens da sequência com as imagens seguintes, com um ruído percebido somente na última imagem da sequência.

Olhando para os parâmetros utilizados para realização de cada imagem, mostrados nas Tabelas B.1 e B.2, consegue-se perceber claramente que os parâmetros escolhidos para a realização das imagens mostradas nas Figuras B.1 e B.2 acarretaram em grande perda de informação das dinâmicas da amostra. Já os parâmetros utilizados na geração das imagens das Figuras B.4 e B.5, conseguiram obter maiores informações sobre as dinâmicas das amostras.

Outro fato que podemos analisar sobre as informações conseguidas através das imagens, são os coeficientes de difusão estimado através do programa MATLAB. Olhando para os gráficos contidos nas Figuras B.3 e B.6 percebe-se uma grande diferença do coeficiente de difusão entre eles. Isso está associado tanto ao fato de perda de informação devido às diferenças de parâmetros quanto ao fato do método de preparação influenciar na estrutura física da amostra. Para melhor análise dessa parte é necessário realizar mais medições utilizando novos parâmetros, já que os dados obtidos dos coeficiente de difusão aparente (ADC) não apresentaram grandes variações entre as amostras.

Apêndice C

Programação Utilizada no Matlab

```

margin=1.0cm

[dr,di]=load_fid('semsdw_hydrogel_01'); % comando que seleciona o arquivo
para leitura.

d=dr+i*di; % variável que seleciona a matriz de leitura.

n_phase = 128; % variável que seleciona o número de pontos da matriz que formará
a imagem.

n_read = 64;

FOV = 35; % variável que determina o tamanho do campo de visão tomado para
formar a imagem, dado em mm.

fov=linspace(FOV/n_read,FOV,n_read); % variável que determina a leitura e
organização da imagem formada.

figure(1)%comando para plotar o primeiro slice obtido.

I1 =abs(fftshift(iff2(d(:,1:2:64,1)))); % variável para os pontos do primeiro slice,
obtidos pelo aparelho de rmn.

imagesc(fov,fov,I1); % plota a imagem.

axis('square'); % determina o formato da imagem como sendo quadrado.

```

```
colormap hot % determina a cor da imagem.
```

```
figure(2)
```

```
I2 =abs(fftshift(iff2(d(:,1:2:64,2))));
```

```
imagesc(fov,fov,I2);
```

```
axis('square');
```

```
colormap hot
```

```
colorbar
```

```
figure(3)
```

```
I3 =abs(fftshift(iff2(d(:,1:2:64,3))));
```

```
imagesc(fov,fov,I3);
```

```
axis('square');
```

```
colormap hot
```

```
colorbar
```

```
figure(4)
```

```
I4 =abs(fftshift(iff2(d(:,1:2:64,4))));
```

```
imagesc(fov,fov,I4);
```

```
axis('square');
```

```
colormap hot
```

```
colorbar
```

for n=1:4 % variável que determinará o número de imagens que será considerada para o cálculo do gradiente de difusão.

S_diff(n)=abs(sum(sum((d(:,1:2:64,n))))); % variável que determinará quais os dados das imagens serão utilizados para o cálculo do coeficiente de difusão.

end

S_diff = S_diff/max(S_diff); % variável que determina o intervalo.

Gmax = 20e-4; % valor do gradiente utilizado na medição, dado em tesla/cm

ng=4; % duração do gradiente.

dt = 5e-3; % intervalo entre os gradientes.

gamma = 2.68e8; % Hertz/Tesla % fator giromagnético para o H $2\pi \cdot \text{reso_freq}/B_0$
= gamma.

G = 0:Gmax/(ng-1):Gmax; % variação do gradiente dado em Tesla/cm

k = gamma*dt*G; % equação do coeficiente de difusão, dado em 1/cm

figure(5)

hold on

plot(k.^2,S_diff,'ro'); % comando para plotar o gráfico do coeficiente de difusão obtido a partir das imagens adquiridas.