

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE FÍSICA - CCEN

TESE DE DOUTORADO

Difusão e transporte na presença de macromoléculas. Imagens e espectroscopia por RMN

por

Wilson Barros Junior

Tese apresentada ao Departamento de Física da Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Ciências.

Banca Examinadora:

Prof. Mario Engelsberg (Orientador-UFPE)

Prof. Francisco George Brady Moreira (UFPE)

Prof. Ricardo Emmanuel de Souza (UFPE)

Prof. Cláudio José Magon (USP/SC)

Prof. Ivan dos Santos Oliveira Junior (CBPF)

Recife-PE, Brasil

julho de 2004



Universidade Federal de Pernambuco
Departamento de Física - CCEN
Programa de Pós-Graduação em Física
Cidade Universitária - 50670-901 Recife PE Brasil
Fone (++ 55 81) 3271-8449/3271-8450 - Fax (++ 55 81) 3271-0359
<http://www.df.ufpe.br/pg> e-mail: posgrad@df.ufpe.br

Parecer da Banca Examinadora de Defesa de Tese de Doutorado

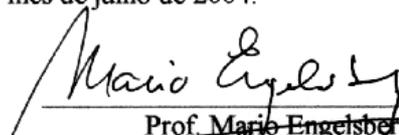
Wilson Barros Junior

DIFUSÃO E TRANSPORTE NA PRESENÇA DE MACROMOLÉCULAS. IMAGENS E ESPECTROSCOPIA POR RMN

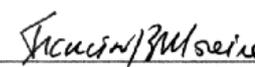
A Banca Examinadora composta pelos Professores Mario Engelsberg (Presidente e Orientador), Francisco George Brady Moreira, Ricardo Emmanuel de Souza, todos da Universidade Federal de Pernambuco, Cláudio José Magon do Instituto de Física de São Carlos da Universidade de São Paulo e Ivan dos Santos Oliveira Junior do Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas, consideram o candidato:

Aprovado com Distinção () Aprovado () Reprovado

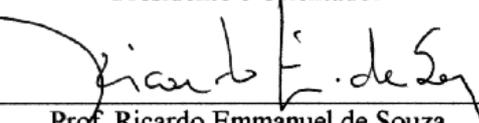
Secretaria do Programa de Pós-Graduação em Física do Departamento de Física do Centro de Ciências Exatas e da Natureza da Universidade Federal de Pernambuco aos dois dias do mês de julho de 2004.



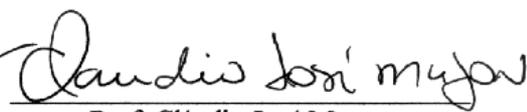
Prof. Mario Engelsberg
Presidente e Orientador



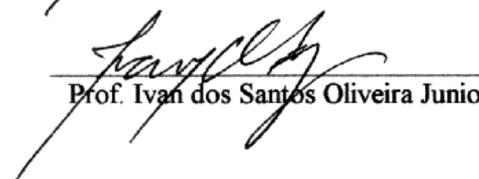
Prof. Francisco George Brady Moreira



Prof. Ricardo Emmanuel de Souza



Prof. Cláudio José Magon



Prof. Ivan dos Santos Oliveira Junior

Aquilo que não nos mata, nos fortalece
“Nietzche”

Agradecimentos

Ao professor e grande homem Mario Engelsberg, pela forma rigorosa, responsável, e objetiva, com que trata das questões científicas;

Ao Dr. Paulo Loureiro pela sugestão e pelas dicas sobre um dos temas tratados nesta tese;

Ao Dr. Fernando Hallwass pelos dados experimentais de espectroscopia bidimensional do capítulo 4;

Ao professor Ricardo Emmanuel pela ajuda no laboratório na fase inicial deste projeto e pela maneira simples e cuidadosa com que esclareceu muitas de minhas dúvidas ao longo destes anos;

Ao professor Alberto Colnago por trazer ao meu conhecimento algumas referências importantes;

Aos colegas de laboratório: Humberto Beltrão e Eduardo Azevedo, pela amizade e ajuda;

Ao departamento de Física e em especial aos seguintes professores: Jairo Rolim, José Rios Leite, Maurício Coutinho, Borko Stosic e Fernando Moraes, pela profícua formação acadêmica adquirida ao longo de minha permanência no df;

Aos amigos e companheiros de curso Clécio Clemente e Hugo Leonardo, cujas idéias e críticas sempre indicam novas possibilidades. Aos amigos da “arte suave”: Delino Souza, Bruno Rocha, e Eduardo Siqueira, que me adotaram como pernambucano;

Aos vigilantes do df, especialmente Renato e Ramos pela onipresença nas inúmeras noites de trabalho;

Aos fantásticos homens da oficina mecânica e suas máquinas incríveis;

Ao trio da oficina eletrônica: Cristina, Marcus e Luis Antônio, pela ajuda na solução dos problemas com o computador e com a fonte do tomógrafo;

Ao pessoal do laboratório de Química (Virgínia e Clécio), pela ajuda no uso correto da vidraria e do material;

Ao sr. Humberto e sr. Ivo, do Almojarifado e Xeróx, respectivamente.

A Carlos Alberto, do setor de compras;

A Ana e Joana, pela ajuda com os comuts e referências na biblioteca;

Ao secretariado da pós-graduação e Chefia, em especial a Ana Caldeira e Linet Santos que sempre estão nos lembrando sobre datas importantes;

Aos meus familiares, pelo apoio;

Ao CNPQ pelo financiamento deste trabalho.

Resumo

O efeito Overhauser foi usado para obter imagens por ressonância magnética nuclear em um campo de apenas 16 mT. Mesmo em campos tão fracos, essa técnica pode revelar, em alguns sistemas, aspectos relacionados ao transporte iônico e à cinética química aparentemente não observados em imagens convencionais usando campos intensos. Usamos imagens Overhauser para monitorar a evolução espacial e temporal da gelificação do alginato de sódio na presença de íons de cálcio. A sensibilidade do efeito Overhauser a pequenas mudanças na composição do gel oferecem um teste marcante para teorias relacionadas aos mecanismos de transporte e cinética-química existentes no processo.

O efeito de interações elétricas sobre o transporte de íons, na presença de cadeias poliméricas de baixa difusão, é investigado em um regime de não equilíbrio produzido por uma membrana semipermeável juntamente com uma reação química. Através da solução numérica das equações de Nernst-Planck-Poisson, prevemos o tamanho do efeito elétrico na migração dos íons envolvidos, as condições para aumento positivo ou negativo da migração, e sua dependência sobre todos os parâmetros relevantes. As limitações sobre a descrição em termos de um coeficiente de difusão efetivo também são estabelecidas.

Usando a seqüência CRAZED [Correlation spectroscopy revamped by asymmetric z-gradient echo detection] produzimos espectros bidimensionais de ressonância magnética nuclear em prótons de algumas misturas binárias. Os espectros foram empregados no teste de várias suposições adotadas usualmente para descrever o papel da difusão em sinais de coerência de duplo quanta intermolecular. Quando são consideradas duas espécies moleculares com coeficientes de difusão

distintos, as amplitudes relativas dos picos, e suas larguras, revelam discrepâncias em aproximações teóricas convencionais.

Sinais provenientes de coerências de duplo quanta intermolecular (iDQC) em líquidos estão associados a campos magnéticos elevados. Nós demonstramos que, em um campo de apenas 16 mT, imagens iDQC são possíveis graças ao ganho de magnetização obtido através do efeito Overhauser. Imagens iDQC do hidrogênio em uma amostra contendo uma solução aquosa do radical livre trityl, com codificação de fase durante o período de evolução da coerência dupla ou durante o período de aquisição, foram usadas para demonstrar o efeito.

Abstract

The electronic Overhauser effect was employed to enhance nuclear magnetic resonance images obtained in a magnetic field of only 16 mT. Despite the weak magnetic field, the technique can reveal, in some systems, various aspects of ionic transport and kinetics apparently not observed in conventional high-field magnetic resonance imaging. We employed Overhauser imaging to monitor the spatial and temporal evolution of the gelation of sodium alginate by calcium ions. The sensitivity of the Overhauser effect to small changes in gel composition permits a stringent test of the underlying mechanisms of transport and chemical kinetics.

The effect of Coulomb forces upon transport enhancement of mobile ions, in the presence of slowly migrating charged polymeric chains, is investigated in a nonequilibrium regime brought about by a semipermeable membrane and a chemical reaction. By means of a numerical solution of the Nernst-Planck-Poisson equations, we predict the size of the effect, the conditions for positive or negative enhancement, and the dependence upon all relevant parameters. The limitations of the description of migration enhancement by an effective diffusion coefficient are also established.

Proton NMR two-dimensional 2-D spectra of binary mixtures, obtained with the CRAZED [Correlation spectroscopy revamped by asymmetric z-gradient echo detection] pulse sequence, were employed to test various assumptions usually adopted to describe the role of diffusion in intermolecular double quantum coherences. When two molecular species, with significantly different diffusivities, are considered, the relative amplitudes of the peaks, and their widths, furnish a stringent test that unveils some inadequacies in standard approximations.

Intermolecular double-quantum coherence [iDQC] signals in liquids are usually associated with high magnetic fields. We demonstrate that, in a magnetic field of only 16 mT, iDQC imaging of water is feasible thanks to the nuclear magnetization enhancement produced by the Overhauser effect. iDQC images of a phantom containing an aqueous solution of a trityl free radical, with phase encoding in the DQC evolution period or the acquisition period, are presented. Possible applications of low field iDQC images are proposed.

Sumário

Resumo	7
Abstract	9
1 Introdução	21
1.1 Um pouco de História.	21
1.2 Relaxação e equações de Bloch.	22
1.3 RMN pulsada.	23
1.4 Química analítica e a espectroscopia bidimensional.	24
1.5 Biologia e imagens médicas.	25
1.6 Alternativas para o ganho de sinal: polarização dinâmica.	25
1.7 Cronologia.	26
1.7.1 Nossa história.	26
1.7.2 Organização da Tese.	29
2 Imagens da formação do alginato de cálcio usando o contraste por efeito Overhauser	31
2.1 Introdução.	31
2.1.1 Proposta do capítulo.	33
2.2 Efeito Overhauser.	35
2.2.1 Teoria do efeito Overhauser.	36
2.2.2 Relaxação longitudinal por interação dipolar.	39
2.2.3 Interação dipolar modulada pelo movimento.	45
2.3 Imagens por ressonância magnética nuclear.	47
2.3.1 Formação de imagens bidimensionais.	47
2.3.2 Codificação de fase e de frequência. Sequência spin-warp.	48
2.3.3 Resolução das imagens.	49
2.4 Imagens Overhauser.	51
2.4.1 Aplicações.	51
2.4.2 Efeito da mobilidade no contraste.	51
2.5 Hidrogéis e aplicações.	54

2.6	Parte experimental.	57
2.6.1	Instrumentação e seqüência de pulsos.	57
2.6.2	Radical trityl.	60
2.6.3	Arranjo para monitorar o processo de gelificação.	60
2.7	Resultados.	63
2.7.1	Imagens do processo de gelificação.	63
2.7.2	Calibração dos perfis de concentração.	64
2.7.3	Contraste por T_2	65
2.8	Discussão.	70
2.9	Conclusões.	71
3	Formação do alginato de cálcio e migração iônica na presença de macromoléculas	73
3.1	Introdução.	73
3.1.1	Proposta do capítulo.	74
3.2	Teoria de formação do alginato de cálcio.	75
3.3	Formação do gel e transporte através de membranas.	78
3.3.1	Alginato de cálcio.	78
3.3.2	Efeito de migração na presença de macromoléculas.	82
3.4	Discussão.	86
3.5	Conclusões.	89
4	Papel da difusão em espectros de RMN bidimensional obtidos a partir da seqüência CRAZED	91
4.1	Introdução.	91
4.1.1	Proposta do capítulo.	95
4.1.2	Notação adotada e aproximações.	95
4.2	Espectroscopia bidimensional e coerências de múltiplos quanta.	97
4.3	Campo dipolar clássico.	100
4.3.1	Campo dipolar distante.	103
4.3.2	Gradiente aplicado no ângulo mágico.	105
4.4	Dinâmica clássica da magnetização nuclear.	106
4.4.1	Equações de Bloch-Torrey com termo dipolar.	107
4.4.2	Seqüência CRAZED.	108
4.4.3	Atenuação devido à difusão.	110
4.4.4	Atenuação do campo dipolar distante devido à difusão.	113
4.5	Aproximação para magnetização transversal na presença do campo dipolar e da difusão.	115
4.6	Espectros bidimensionais para uma mistura binária.	119
4.6.1	Forma fechada para o sinal de uma amostra binária.	124
4.6.2	Atenuação por relaxação transversal e longitudinal.	125

4.6.3	Forma final da magnetização para uma amostra do tipo $A+B$.	126
4.7	Parte experimental.	128
4.7.1	Instrumentação.	128
4.7.2	Preparação das amostras.	129
4.8	Resultados.	131
4.9	Discussão.	135
4.10	Conclusões.	138
5	Imagens Overhauser usando coerência de duplo quanta inter-molecular	141
5.1	Introdução.	141
5.1.1	Proposta do capítulo.	143
5.2	Imagens Overhauser-CRAZED.	145
5.3	Evolução de iDQC no intervalo t_1 .	146
5.4	Parte experimental.	147
5.4.1	Instrumentação.	147
5.4.2	Sistemas para testes das imagens iDQC.	148
5.5	Resultados.	149
5.6	Discussão.	155
5.7	Conclusões.	157
A	Difusão de partículas carregadas e equações de Nernst-Planck-Poisson	159
A.1	Difusão de partículas carregadas.	159
A.2	Solução numérica das equações NPP (Nernst-Planck e Poisson).	160
A.2.1	Método de Newton-Raphson.	160
A.2.2	Formação do alginato de cálcio.	162
B	Campo dipolar distante	167
B.1	Cálculo do campo dipolar médio.	167
C	Atenuação do campo dipolar por difusão	171
D	Interpretação quântica para iDQC	175
D.1	Introdução.	175
D.2	Formalismo da matriz densidade.	176
D.2.1	Evolução da matriz densidade na presença do campo dipolar distante.	178
D.2.2	Evolução na presença do campo dipolar.	180
D.3	Aproximações para matriz densidade.	180
D.3.1	Aproximação de altas temperaturas.	181
D.3.2	Caso geral.	181

D.3.3	Expansão de altas temperaturas no sinal de RMN.. . . .	182
D.4	Sinal de RMN em sólidos	183
D.5	Seqüência CRAZED.	184
Referências bibliográficas		189
Artigos publicados e submetidos a publicação		205

Lista de Figuras

2.1	Diagrama de transições para interação escalar no sistema elétron-próton. As linhas contínuas representam as transições eletrônicas e as tracejadas o acoplamento por interação escalar. Também indicada (seta dupla) a transição eletrônica que será saturada.	37
2.2	Diagrama de transições para interação dipolar no sistema elétron-próton. As linhas descontínuas indicam transições criadas pelo acoplamento dipolar. As linhas contínuas representam as transições Zeeman eletrônicas (W) e nucleares (t).	39
2.3	Diagrama do espaço \mathbf{k} para imagens usando a seqüência spin-warp. N_r e N_ϕ são respectivamente o número de pontos de aquisição em t_2 e o número de varreduras de fase. As setas indicam o sentido de evolução do sinal adquirido nesse espaço.	49
2.4	Diagrama de pulsos da seqüência PEDRI. Basicamente temos uma seqüência do tipo spin-warp acrescida de um pulso de RF para a excitação eletrônica (RPE). A direção dos gradientes está indicada ao lado de cada linha. Em nossos experimentos usamos $t_{SE} = 30$ ms.	53
2.5	Encapsulamento de células produtoras de insulina [pâncreas artificial] para o tratamento da diabetes. As células produtoras de insulina ficam presas em pequenas esferas de alginato de cálcio manufaturadas de forma a apresentar resistência e semipermeabilidade.	55
2.6	Foto do tomógrafo juntamente com o arranjo de bobinas de recepção e transmissão para PEDRI. As direções para os gradientes de codificação de fase e leitura também estão colocadas. (a) vista superior da birdcage onde é colocada a amostra; (b) visão lateral da birdcage e direção dos gradientes; (c) bobina de recepção do tipo solenoide que envolve a birdcage.	59
2.7	Radical trityl simétrico usado nos experimentos. As letras R e M podem representar dois tipos de configurações. (i) hidrogênio (R) e sódio (M) ou (ii) deutério (R) e potássio (M)	60

- 2.8 Arranjo do experimento de gelificação do alginato de cálcio. (a) Na parte de fora temos CaCl_2 (60 mM) e no interior da membrana temos alginato de sódio (3%) ambos diluídos em solução aquosa com radical trityl (2.5 mM); (b) vista superior de (a); (c) imagem por RMN do composto na fase inicial. 62
- 2.9 Imagens bidimensionais do processo de gelificação do alginato de cálcio. A concentração de alginato de sódio foi de 3% e a de CaCl_2 60 mM. A concentração de radical trityl dentro e fora da membrana foi de 2.5 mM. Os respectivos perfis estão colocados no gráfico do canto inferior esquerdo. 63
- 2.10 Imagens bidimensionais (ibid figura 2.9) do processo de gelificação do alginato de cálcio sem o efeito Overhasuer. Ao lado [direita] das imagens com $t_{SE} = 30 \text{ textms}$ e 200 ms colocamos as imagem usando o ganho de magnetização por efeito Overhauser. 66
- 2.11 (a) perfil de uma imagem PEDRI do processo de gelificação para $t=210 \text{ min}$. A concentração de alginato de sódio foi de 3% e a de radical trityl foi de 2.5 mM.; (b) amplitude do sinal de PEDRI como função da concentração de cálcio nas amostras de controle. A seta indica o ponto de gelificação a partir do qual o gel apresenta um aspecto macrosópico de sólido; (c) curva de concentração de cálcio reagido em função do raio normalizado do cilindro. As setas indicam os pontos do perfil (a) e do mapa de calibração (b) que usamos para obter (c).. 67
- 2.12 Imagens bidimensionais (ibid 2.9) do processo de gelificação do alginato de cálcio. Imagens variando t_{SE} sem contraste Overhauser comparadas no mesmo instante com imagens Overhauser com $t_{SE} = 30 \text{ ms}$ [imagens à direita]. 68
- 2.13 Medidas da magnetização normalizada em função do tempo de Spin-Eco para vários valores de concentração do cálcio reagido para amostras de controle homogêneas com 3% de alginato de sódio inicial. Medidas feitas em um campo de 7 T. 69
- 2.14 Medidas de T_2 em função da concentração de cálcio reagido para a amostras de controle homogêneas contendo 3% de alginato de sódio. As medidas de T_2 foram feitas usando a técnica de CPMG em um campo de 7 T. 69
- 3.1 (a) Ácidos constituintes do alginato de sódio. (b) Estrutura do tipo caixa de ovos (eggbox) usada para descrever a formação do alginato de cálcio. 75
- 3.2 Perfis experimentais de concentração do cálcio reagido no processo de formação do alginato de cálcio. As curvas contínuas representam a concentração $C_3(R, T)/2$ do cálcio reagido no processo de formação do gel calculadas a partir da teoria. 81

3.3	Perfis experimentais de concentração do cálcio reagido no processo de formação do alginato de cálcio. As curvas contínuas são da concentração $C_3(R, T)/2$ do cálcio reagido no processo de formação do gel calculadas a partir da teoria. As curvas pontilhadas indicam a situação onde se considera no modelo nulas as cargas das espécies químicas envolvidas no processo.	82
3.4	Perfis de concentração $C_1(R, T)$ do cátion bivalente, na ausência de reação química, com $C_0 = 0.5$ para os tempos adimensionais: (a) $T = 75 \times 10^{-3}$ e (b) $T = 25 \times 10^{-3}$. Caso (i): cadeia polimérica carregada negativamente com $z_2 = -1$, $z_4 = 1$ e $d_4 = 1.6$, $d_5 = 2.6$ Caso (ii): cadeia polimérica carregada positivamente com $z_2 = 1$, $z_4 = -1$ e $d_4 = 3.6$, $d_5 = 1.6$ Caso (iii): todas as cargas iguais a zero.	83
3.5	Perfis de campo elétrico radial adimensional $\Xi(R, T)$ na ausência de reação química, com $C_0 = 0.5$, para os seguintes tempos adimensionais: (a) $T = 75 \times 10^{-3}$ e (b) $T = 25 \times 10^{-3}$. Caso (i): cadeia polimérica carregada negativamente com $z_2 = -1$, $z_4 = 1$ e $d_4 = 1.6$, $d_5 = 2.6$ Caso (ii): cadeia polimérica carregada positivamente com $z_2 = 1$, $z_4 = -1$ e $d_4 = 3.6$, $d_5 = 1.6$	84
3.6	Voltagem medida entre o centro da membrana contendo o alginato de sódio e o reservatório externo contendo o sal de CaCl_2 em função do tempo de gelificação.	85
4.1	Na figura (a) temos a representação da interação dipolar entre um par de núcleos em um sólido. A orientação internuclear é fixa. Na figura (b) temos, além da interação dipolar, a representação, em um sistema líquido, da evolução temporal de um spin com relação ao campo aplicado por um spin próximo.	92
4.2	Na figura (c) temos, além da interação dipolar, a representação, em um líquido, da evolução temporal de um spin em movimento com relação ao campo aplicado por um spin próximo. Na figura (d) temos o mesmo efeito para o campo gerado por um spin distante.	93
4.3	(a) Seqüência básica para obtenção de espectros bidimensionais por RMN. (b) Seqüência básica para detectar coerências de múltiplo quanta em espectros bidimensionais.	97
4.4	Diagrama da interação dipolar entre dois spins representada em coordenadas esféricas.	100
4.5	Solução numérica da expressão 4.6 mostrando a distribuição da contribuição angular. O valor para o máximo da integral é para $r = \pi/k$	104
4.6	Diagrama de pulsos para uma seqüência do tipo CRAZED.	109

4.7	Cálculo da atenuação da magnetização transversal devido à difusão. Na figura temos a descrição do efeito dos gradientes G e nG na magnetização representada em termos de eco e de anti-eco.	112
4.8	Evolução temporal da hélice de magnetização transversal, no referencial girante, para seqüência CRAZED ($n = 2$). Utilizamos para representação da fase uma decomposição em termos de Eco [direita] e anti-Eco [esquerda].	118
4.9	Espectro bidimensional da mistura $A + B$. Para $\tau_d = 5$ s [sem difusão] somente 4 picos aparecem no espectro bidimensional.	122
4.10	Espectro bidimensional da mistura $A + B$ para $\tau_d = 150$ ms [sem difusão].	123
4.11	Espectro bidimensional da mistura $A + B$ para $\tau_d = 50$ ms [sem difusão].	123
4.12	Resultado experimental para o mapa de superfície do espectro bidimensional de S_1 com $G = 6$ gauss/cm.	131
4.13	Cálculo do mapa de superfície do espectro bidimensional de S_1 para $G = 6$ gauss/cm usando a suposição I com $\alpha = 0.675$	131
4.14	Mapa de contorno do espectro 2 D do éter de coroa (A) e água (B) [$\alpha = 0$, $G = 8$ gauss/cm].	132
4.15	Superfície de contorno do espectro 2 D do éter de coroa (A) e água (B) [$\alpha = 0$, $G = 8$ gauss/cm].	132
4.16	Mapa de contorno do espectro 2 D do éter de coroa (A) e da água (B) [$\alpha = 1$, $G = 8$ gauss/cm].	132
4.17	Superfície de contorno do espectro 2 D do éter de coroa (A) e da água (B) [$\alpha = 1$, $G = 8$ gauss/cm].	132
4.18	Mapa de contorno do espectro 2 D do éter de coroa (A) e da água (B) [$\alpha = 0.38$, $G = 8$ gauss/cm].	133
4.19	Mapa de superfície do espectro 2 D do éter de coroa (A) e água (B) [$\alpha = 0.38$, $G = 8$ gauss/cm].	133
4.20	Mapa de superfície do espectro 2 D do clorofórmio (A) e benzeno (B) [$\alpha = 0$, $G = 8$ gauss/cm].	134
4.21	Mapa de superfície do espectro 2 D do clorofórmio (A) e benzeno (B) [$\alpha = 1$, $G = 8$ gauss/cm].	134
5.1	Seqüência para imagens PEDRI–CRAZED. Usamos $t_1 = 20$ ms, $\beta = \pi/2$, $t_{SE}/2 = 80$ ms e $t_2 = t_1 + t_{SE}/2 = 200$ ms.	149
5.2	Imagem de referência obtida com a seqüência PEDRI para o sistema de tubos usados nos experimentos de iDQC.	150
5.3	Seqüência PEDRI usando iDQC com k_ϕ escolhido durante o intervalo t_1 ou durante o intervalo t_2 . Usando o mesmo valor $k = G_\phi \delta$ para a codificação de fase, na imagem (a) codificamos a fase somente durante t_1 e na imagem (b) codificamos a fase somente durante t_2	152

5.4	Sinal de duplo quanta intermolecular em função do tempo t_2 obtido através da seqüência PEDRI-CRAZED. Mantemos $t_1 = 20$ ms e $k = \gamma G \delta$ fixos. Variando a posição do pulso de π obtemos o eco em um intervalo t_2 indicado no eixo horizontal.	153
5.5	Imagem de um tubo contendo esferas de sephadex [$d = 2$ mm] dopadas com radical trityl de maneira não-uniforme. As duas imagens mostram a mesma amostra, a menos de um giro de π em torno do eixo do cilindro de diferença entre as duas.	154
A.1	Diagrama indicando o fluxo de partículas com velocidade v em uma seção infinitesimal dA durante um intervalo temporal dt	159
A.2	Gráfico ilustrando o método de Newton-Raphson unidimensional usado para encontrar as raízes de funções polinomiais.	161
A.3	Discretização do espaço e indicação das condições de contorno para o processo de gelificação do alginato de cálcio	162
B.1	Diagrama representando as direções e ângulos entre o campo externo B_0 o gradiente de seleção de iMQC e a ação do campo dipolar.	168

Capítulo 1

Introdução

1.1 Um pouco de História.

Inicialmente usada para medir com precisão momentos magnéticos nucleares, a Ressonância Magnética Nuclear [RMN] desenvolveu-se encontrando aplicações importantes nos mais diversos campos de investigação científica. RMN pode ser aplicada em sólidos, líquidos, e meios gasosos, em materiais e em seres vivos, na investigação de propriedades tanto micro quanto macroscópicas. Diversas áreas em Biologia, Física, Química, e Medicina têm tido avanços importantes a partir da RMN. Uma medida clara de sua importância é que sua descoberta e aplicações mereceram o reconhecimento Nobel em quatro ocasiões: Física [1952], Química [1991] e [2002] e, recentemente, Medicina [2003]. Além de ser uma das técnicas de espectroscopia mais usadas nos bons laboratórios de química pelo mundo, sua aplicação em medicina, onde certamente é mais conhecida pelo público não especializado, além de produzir imagens não invasivas do interior do corpo humano, inclusive do cérebro, é fundamental no diagnóstico de diversas patologias.

O primeiro espectro do que veio a ser chamado de ressonância magnética nuclear foi obtido em feixes moleculares por Rabi et al.(1) em 1938. Em seguida, dois grupos, um em Harvard(2) e outro em Stanford(3), foram responsáveis pela descoberta do efeito em estado sólido. Devido ao uso de formas de detecção distintas, não foi óbvio desde o início que as medidas feitas pelos dois grupos estavam relacionadas ao mesmo fenômeno(4). O grupo de Harvard, chefiado por Edward

Purcell, assim como o grupo de Rabi, dava ênfase às transições entre estados quânticos nucleares e a respectiva absorção de energia em forma de radiofrequências [RF]. Essa absorção era detectada pela variação da impedância em uma cavidade ressonadora contendo parafina. Durante a II Guerra, Purcell se dedicou a estudar o efeito da absorção de microondas pela matéria em um sistema de dois níveis. Certamente essa visão teve influência em seu tratamento, via absorção ressonante, do novo fenômeno batizado com o nome de ressonância magnética nuclear. O grupo de Stanford, dirigido por Felix Bloch, adotou uma descrição em termos clássicos. Bloch mediu o efeito da precessão da magnetização nuclear da água por meio da força eletromotriz induzida em uma bobina próxima. A esse efeito deram o nome de indução magnética nuclear. Apesar do nome ressonância nuclear ter permanecido, o efeito de indução foi adotado como padrão para detecção do sinal.

Ambas as técnicas consistiam em, na presença de um campo magnético B_0 , se aplicar um campo oscilante $B_1(t)$ perpendicular a B_0 capaz de produzir transições entre os estados energéticos dos spins envolvidos. Variações na frequência de oscilação do campo $B_1(t)$ ou na intensidade do campo externo B_0 foram usadas nos experimentos para produzir as curvas de ressonância. Estes experimentos eram chamados de experimentos de onda contínua [CW, continuous wave].

1.2 Relaxação e equações de Bloch.

Sistemas atômicos possuindo momento de spin tendem a se orientar na direção de um campo magnético aplicado externamente. Esse efeito de orientação ao longo de um campo B_0 é chamado de paramagnetismo e se estabelece quase que instantaneamente no caso de elétrons. Contudo não há garantias que o efeito ocorra com a mesma rapidez no caso nuclear. O tempo de espera até o equilíbrio, ou tempo de relaxação, pode variar ordens de grandeza dependendo do sistema nuclear observado. Esse reequilíbrio está associado às interações entre spins e ao efeito de agitação térmica do sistema. Bloch(5) estabeleceu equações para descrição do processo de reequilíbrio da magnetização macroscópica, em um experimento de RMN, onde o sistema é retirado da direção do equilíbrio pela

ação da radiação de RF aplicada perpendicular ao campo polarizante. De forma fenomenológica as interações internucleares, ou com a rede via agitação térmica foram incluídas sob a forma de decaimentos exponenciais com tempos característicos T_2 e T_1 , respectivamente. Supondo o campo polarizante na direção z temos para a magnetização no plano xy , transversal ao campo externo $\mathbf{B}_0\hat{z}$

$$\begin{aligned}\frac{dM_x}{dt} &= \gamma (\mathbf{M} \times \mathbf{B}_0)_x - \frac{M_x}{T_2}, \\ \frac{dM_y}{dt} &= \gamma (\mathbf{M} \times \mathbf{B}_0)_y - \frac{M_y}{T_2},\end{aligned}\tag{1.1}$$

onde T_2 é o tempo de relaxação transversal devido às interações internucleares ou spin-spin onde não há variação de energia total do sistema. A direção longitudinal, paralela ao campo B_0 , é aquela onde o equilíbrio exige a variação da energia total do sistema de spins. Geralmente essa variação é obtida via troca térmica com a rede.

$$\frac{dM_z}{dt} = \gamma (\mathbf{M} \times \mathbf{B}_0)_z - \frac{M_z - M_0}{T_1},\tag{1.2}$$

com T_1 definindo o tempo de relaxação para interações spin-rede.

Bloembergen juntamente com Purcell e Pound(6) desenvolveram uma teoria básica para explicar os processos de relaxação de spins nucleares na presença de campos magnéticos intensos procurando obter significado microscópico para os tempos de relaxação T_1 e T_2 .

1.3 RMN pulsada.

Bloch sugeriu que a aplicação de pulsos de RF seria capaz de produzir efeitos inesperados no sinal de RMN. Após um único pulso de RF, Torrey(7) observou um sinal que foi chamado de decaimento por indução livre **FID**, free induction

decay]. A vantagem do método era que a detecção era feita na ausência do campo oscilante $B_1(t)$. Logo depois Hahn(8) descobriu que usando uma seqüência de dois pulsos era possível recuperar o sinal de FID produzindo uma espécie de eco. A técnica de RMN pulsada permitiu uma forma simples e precisa de obter os tempos de relaxação T_1 e T_2 dos spins(9).

Um dos problemas enfrentados pelos espectroscopistas era a demora na aquisição dos espectros devido ao grande número de aquisições necessário para boa relação sinal-ruído. A correlação entre o sinal de FID e o espectro no espaço de freqüências através da transformada de Fourier(10; 11) foi, assim como a técnica de transformada rápida de Fourier [FFT, fast Fourier transform], de fundamental importância para a rapidez de aquisição do sinal de RMN.

1.4 Química analítica e a espectroscopia bidimensional.

Toda teoria de RMN tinha como base a relação de Larmor $\omega = \gamma B_0$ onde, para um dado núcleo, a freqüência de ressonância é função somente do campo externo B_0 . Redfield(12) percebeu que a freqüência de ressonância de alguns metais era diferente daquela medida para sais do mesmo composto. Tentando medir o momento magnético do ^{14}N , Proctor et al.(13) mediram o sinal de RMN do nitrato de amônia NH_4NO_3 . Em vez de uma única linha, foram observadas duas linhas espectrais correspondendo às duas vizinhanças possíveis para o ^{14}N no composto. Controlando melhor a homogeneidade do campo B_0 , Packard conseguiu medir sinais do Hidrogênio em diferentes sítios de uma mesma molécula. O fato da freqüência de ressonância de um dado núcleo depender da forma química na qual ele se encontra produziu uma revolução no estudo de química analítica(14). O efeito ocorre graças aos elétrons que, de certa forma, interagem com o núcleo deslocando sua freqüência de ressonância. Assim, uma molécula com núcleo em ambientes químicos distintos produz diferentes respostas no espectro de ressonância. A esse efeito damos o nome de deslocamento químico. À medida que o tipo de moléculas estudadas foi ficando mais complexo, o número de picos no espectro aumentou vertiginosamente fazendo a interpretação dos dados ficar muito complicada. A

descoberta de outras dimensões espectroscópicas além de facilitar a interpretação dos espectros de macromoléculas complexas como proteínas produziu uma nova área no ramo da espectroscopia por RMN.

1.5 Biologia e imagens médicas.

As primeiras experiências com RMN em seres vivos foram feitas por seus próprios descobridores(15). Bloch teria obtido um forte sinal do Hidrogênio ao colocar o próprio dedo dentro da bobina de recepção. Purcell e Ramsey teriam feito experimentos semelhantes. Estudos de RMN em tecidos vivos [e.g. células sanguíneas, fluidos dos olhos, saliva, e músculos] demonstraram que os tempos de relaxação das moléculas de água nos diversos sistemas eram bem distintos . Além disso observou-se que tecidos cancerígenos em ratos podiam ser identificados.

A possibilidade de se fazer uma imagem desses tecidos usando RMN não tinha sentido por apoiar-se na idéia de associar a resolução da imagem ao comprimento de onda da radiação, o que para radiofrequências inviabilizava a técnica.

Em 1973 Lauterbur(16) publicou a primeira imagem em duas dimensões de um sistema estruturado: dois tubos com água. O princípio era, a partir da relação de Larmor, usar gradientes de campo magnético para codificar a posição dos spins em uma dada região. Nessa situação o espectro de RMN na presença do gradiente seria a projeção em uma dimensão da densidade de spins nucleares. Aplicando o gradiente em várias direções Lauterbur mostrou ser possível reconstruir a imagem usando um algoritmo semelhante ao usado em tomografia por raios-X. O uso de magnetos supercondutores, e o aumento na velocidade de aquisição através de seqüências engenhosas(17), foram responsáveis pelo extraordinário progresso da nova área de Imagens por Ressonância Magnética Nuclear [RMN].

1.6 Alternativas para o ganho de sinal: polarização dinâmica.

As aplicações de RMN na maioria das vezes fica limitada pela baixa sensibilidade, intrínseca à técnica, comparada com outros métodos analíticos. Funda-

mentalmente a baixa sensibilidade está associada a energia nuclear Zeeman que é muito pequena comparada com a energia térmica kT em temperatura ambiente. Em um campo magnético de 1.5 T, em temperatura ambiente, os spins de hidrogênio polarizam em 5 ppm [partes por milhão]. Um aumento de 200000 é teoricamente possível. Outros núcleos que possuem menor abundância ou menor fator giromagnético têm esse cenário agravado. A intensidade da magnetização Nuclear, e a forma como ela é detectada, faz com que o sinal de RMN seja proporcional ao campo magnético B_0 aplicado(18). Assim o desenvolvimento da RMN esteve sempre associado com os avanços na fabricação de magnetos cada vez mais potentes. Os magnetos permanentes tem uma limitação na intensidade do campo. Os resistivos, apesar de atingir os maiores campos(19), não possuem estabilidade adequada. A evolução dos magnetos aconteceu quando estes passaram a ser construídos com material supercondutor.

O aumento do campo magnético para valores que hoje ultrapassam os 20 T mantendo uma boa estabilidade e homogeneidade, associada à técnica de excitação com RF pulsado, produziu efeitos que até então não se havia dado relevância nas teorias para RMN. Os campos dipolares gerados pela própria amostra, por exemplo, que para o caso de líquidos eram levados em conta somente no processo de relaxação(6), passaram a influenciar o sinal detectado(20).

Técnicas alternativas ao aumento do campo estático B_0 são usadas hoje para aprimorar o sinal em RMN tanto em espectroscopia de alta resolução como em imagens. Algumas dessas técnicas são: transferência de polarização(21), polarização nuclear dinâmica(22; 23), gases hiperpolarizados(24; 25), SQUIDS(26), e detecção remota(27).

1.7 Cronologia.

1.7.1 Nossa história.

No início da década de 80, um trabalho chamou a atenção da comunidade científica por indicar uma melhoria no contraste de tecidos biológicos para imagens feitas em campos magnéticos menores que 1 T(28). Esse trabalho foi seminal

em nosso grupo para idéia de construir um equipamento para imagens médicas que operasse numa região de baixa intensidade de campo(29). Porém, apesar da melhoria no contraste, ainda permanecia o problema da baixa intensidade do sinal obtido em campos dessa magnitude. Uma maneira alternativa de aumentar o ganho de sinal, sem ter que investir no aumento do campo externo, é através de técnicas de ressonância dupla(30; 31).

É sabido, inclusive por resultados obtidos neste laboratório(32), que ao diluir em água um radical livre contendo elétrons desemparelhados, imagens de ^1H em campos de apenas 16 mT podem ser obtidas com boa relação sinal-ruído através do ganho de polarização nuclear dinâmica produzido pela saturação de transições eletrônicas.

Um fenômeno conhecido como efeito Overhauser prevê que, em alguns casos, pode-se obter um aumento na polarização dos prótons nucleares através da saturação de transições de elétrons que interagem com o mesmo. Essa interação mediada pelo movimento molecular permite uma forma de contraste para as imagens que é bastante sensível a mudanças na mobilidade dos spins envolvidos.

IRMN, apesar de ter seu ponto de aplicação principal na área médica, é usada com sucesso no estudo da chamada “matéria mole” [soft matter]. Devido à ausência de ordem de longo alcance e a importância de propriedades dinâmicas desses sistemas, a sensibilidade do contraste IRMN para algumas propriedades dinâmicas como fluxo e difusão faz da técnica uma ferramenta imprescindível.

A proposta inicial deste trabalho era descobrir, ou apenas confirmar, vantagens no uso de imagens com contraste ponderado por efeito Overhauser em campos fracos comparado com imagens obtidas por contraste via relaxação do tipo T_2 [spin-spin] em campos intensos para o estudo de sistemas aquosos com mobilidade variável. Em suma queríamos testar a sensibilidade das imagens com contraste Overhauser quando comparadas àquelas com contraste convencional em T_2 .

Para isso procuramos um material que fosse conhecido na literatura, fácil de manipular e que, de preferência, possuísse alguma aplicação importante. Aceitando a sugestão do professor Luís Bezerra do Laboratório de imunopatologia Keizo Asami [LIKA], a substância alginato de cálcio foi escolhida como candi-

data para os estudos. A partir do alginato de sódio, encontrado em algumas algas marinhas e bactérias, é possível, na presença de íons de cálcio, obter o gel de alginato de cálcio. Na presença de determinados cátions iônicos bivalentes o alginato reage aumentando sua viscosidade muitas ordens de grandeza. Essas propriedades conferem aos mesmos aplicações interessantes em biologia como por exemplo: aprisionamento de células para estudo em laboratório(33; 34) e liberação controlada de fármacos(35). Na indústria são usados para texturizar adequadamente certos alimentos como sorvetes e gelatinas(36) além de servirem de matéria prima na fabricação de lentes de contato.

Os resultados das imagens Overhauser realizadas nesse sistema revelaram um processo de aumento da difusão, devido a presença de macromoléculas, até então não observado por técnicas convencionais de imagens por RMN convencionais. Esse efeito possui aparentemente uma origem análoga a um dos processos de captação de nutrientes pelas raízes das plantas(37).

Um modelo teórico, levando em conta, além do efeito da reação química, o efeito elétrico produzido pelas cargas dos íons envolvidos, foi proposto com o intuito de explicar o efeito de aumento na difusão dos íons de cálcio envolvidos na formação do gel.

Em um segundo momento, uma colaboração com o dr. Paulo Loureiro, ex-aluno de doutorado deste grupo e na época realizando um projeto de pós-doutorado na França, trouxe ao nosso conhecimento o crescente interesse da comunidade científica a respeito dos efeitos do campo magnético dipolar criado por coerências de múltiplos quanta intermoleculares. O interesse vinha do fato do efeito ser capaz de produzir uma nova forma de contraste em IRMN. Apesar do efeito só ter sido observado para campos intensos com um mínimo de 1.5 T, decidimos utilizar o ganho de magnetização da técnica de polarização dupla por efeito Overhauser para tentar observar o efeito e, se possível, produzir uma imagem.

Em colaboração com Fernando Hallwass, estudante de doutorado do departamento de química, resolvemos testar a sensibilidade do campo dipolar distante em experimentos usando RMN bidimensional para detectar a formação de agregados iônicos em um sistema contendo Éteres de Coroa. Para isso tivemos que usar

algumas hipóteses disponíveis na literatura que davam conta do efeito da difusão na atenuação do campo dipolar.

1.7.2 Organização da Tese.

A seguir apresentamos uma seqüência alternativa à apresentação histórica acima de modo a deixar cada capítulo do trabalho numa estrutura mais concisa e auto-consistente. É também um objetivo construir um material que sirva de referência, tanto científica quanto didática, para futuros membros deste grupo.

Todos os capítulos possuem introduções breves sobre o que será discutido e seções com aspectos históricos. Alguns apêndices foram preparados de modo a garantir detalhes sobre alguns dos passos matemáticos usados ao longo do texto.

O trabalho segue então o seguinte roteiro:

No capítulo 2 introduzimos o efeito de polarização dinâmica por efeito Overhauser e sua aplicação em IRMN. Estudamos o processo de gelificação de um sistema polimérico em contato com um sal iônico. Comparamos imagens feitas com e sem o efeito Overhauser para demonstrar a sensibilidade do contraste obtido sob pequenas variações na mobilidade das moléculas de água.

No capítulo 3 um modelo teórico construído a partir da solução numérica de um conjunto de equações diferenciais não-lineares é usado para explicar os perfis da imagens obtidas.

No capítulo 4 começamos a discussão do efeito do campo dipolar distante na geração de coerências de múltiplos quanta intermoleculares no sinal de RMN em líquidos. Daremos ênfase ao papel da difusão em espectros de RMN bidimensional de misturas binárias.

Por fim no capítulo 5 mostramos, através do ganho de sinal via polarização dinâmica por efeito Overhauser, imagens em campos baixos obtidas a partir de coerências de duplo quanta intermoleculares.

No apêndice A discutimos a interação elétrica no processo de transporte de íons carregados. Em seguida detalhamos o método numérico usado na solução das equações apresentadas no capítulo 3.

No apêndice B apresentamos o cálculo do campo dipolar distante por meio da

técnica de transformada de Fourier.

No apêndice C apresentamos o tratamento do papel da difusão na atenuação do campo dipolar distante obtendo a expressão de Kimmich tratada no capítulo 4.

No apêndice D detalhamos o tratamento quântico dos processos de coerência de múltiplos quanta intermoleculares em comparação ao tratamento clássico do capítulo 4.

Capítulo 2

Imagens da formação do alginato de cálcio usando o contraste por efeito Overhauser

2.1 Introdução.

O uso da RMN com o objetivo de obter imagens do interior do corpo humano assim como em alguns sistemas de interesse tecnológico [e.g. polímeros, géis e meios porosos] é uma prática comum nos dias de hoje(38; 39).

Duas relações básicas são determinantes na avaliação de uma imagem: a razão sinal-ruído [**RSR**] e a razão contraste-ruído [**RCR**].

Fundamentalmente, a qualidade de imagens obtidas por RMN depende da RSR. Essa grandeza permite de certo modo uma medida da resolução possível e/ou do tempo necessário para produzir uma diferença importante entre o sinal da região de interesse e o ruído de fundo na imagem. O aumento da resolução em imagens por RMN está associado à densidade de spins selecionada para excitação de RF. Assim para obter a mesma RSR com maior resolução temos que realizar médias sobre o sinal vindo da região excitada aumentando o tempo para realização da imagem.

O outro parâmetro importante definido pela RCR indica, uma vez que exista RSR suficiente, quão bem uma região pode ser diferenciada das regiões vizinhas. Apesar da baixa RSR comparada com outras técnicas, imagens por RMN

além de não-invasivas possuem um bom contraste entre os vários tipos de tecidos vivos. Essas características determinam o grande sucesso da RMN em imagens médicas(40).

Dependendo da seqüência de pulsos, um sistema pode apresentar vários tipos de imagem. A densidade das espécies nucleares, os coeficientes de difusão, e os tempos de relaxação são parâmetros com características locais e assim podem ser explorados, isolados ou em conjunto, como forma de contraste entre regiões distintas de uma amostra.

A RSR associada ao desdobramento dos níveis energéticos nucleares na presença de um campo magnético B_0 é geralmente melhorada aumentando-se a intensidade desse campo. Contudo, os tempos de relaxação T_1 e T_2 , usados como parâmetros de contraste, também variam quando se muda o campo. Essas mudanças podem prejudicar a RCR que em muitas ocasiões, além de aumentar o tempo para aquisição da imagem, inviabilizam a diferenciação entre regiões com características distintas.

Técnicas de polarização dinâmica podem ser usadas como alternativa para melhorar a RSR sem a necessidade de aumentar o campo aplicado B_0 . Em particular, a técnica de ressonância dupla por efeito Overhauser pode produzir ganhos de polarização dos núcleos ^1H da água quando estes são colocados na presença de radicais livres contendo elétrons desemparelhados.

Além da vantagem econômica de não necessitar de magnetos supercondutores, essa técnica pode oferecer, além de uma RSR razoável, uma nova forma de contraste. Uma seqüência de pulsos chamada **PEDRI** [Proton Electron Double Resonance Imaging] permite, graças à sensibilidade no contraste do sinal do hidrogênio com relação aos níveis de saturação da transição eletrônica, monitorar processos físico-químicos onde ocorram variações na mobilidade das moléculas de água(41). Nos últimos anos imagens feitas em campos fracos, da ordem de militesla, utilizando o efeito Overhauser mostraram-se conclusivas no estudo de sistemas onde ocorrem variações na mobilidade das moléculas de água(42; 43).

2.1.1 Proposta do capítulo.

Nosso objetivo neste capítulo é estudar um sistema onde ocorrem mudanças significativas na mobilidade da água utilizando a sensibilidade do efeito Overhauser na seqüência PEDRI. Comparando imagens obtidas sob as mesmas condições experimentais com e sem usar o efeito Overhauser demonstramos o ganho de sensibilidade da técnica.

Neste capítulo, produzindo imagens em um campo de apenas 16 mT usando o efeito Overhauser(44), monitoramos o processo de formação de um hidrogel. Conseguimos um ganho de magnetização através de uma técnica de ressonância dupla em um sistema próton-elétron representado pelos hidrogênios da água [núcleos detectados] e um radical livre contendo elétrons desemparelhados.

A seqüência PEDRI será usada para produzir as imagens usando o contraste por efeito Overhauser. Através dos perfis de intensidade das imagens podemos monitorar o processo de gelificação via transporte iônico através de uma membrana semipermeável que reúne de um lado uma cadeia polimérica [alginato de sódio]; e do outro, um sal iônico [CaCl_2] que em contato com o polímero produz um gel. Uma curva de calibração da intensidade do sinal versus a concentração de cálcio é obtida em amostras uniformes especialmente preparadas.

Apresentamos uma introdução do efeito Overhauser e de seu uso para IRMN. Em seguida, discutimos os parâmetros importantes para o ganho dinâmico de polarização e também sobre o processo de formação de imagens por RMN.

Na parte de aplicações descrevemos sem muitos detalhes [ver capítulo 3] a maneira como o polímero de alginato de sódio reage na presença de íons de cálcio produzindo o hidrogel de alginato de cálcio. O mais importante é lembrar que essa reação está associada a uma grande variação da mobilidade das moléculas de água onde as espécies químicas estão diluídas. Algumas aplicações desse hidrogel são colocadas como motivação científica para o estudo desse tipo de material.

Na parte experimental, além do arranjo para o monitoramento da reação de gelificação, apresentamos a seqüência de pulsos e todos os parâmetros importantes para as imagens PEDRI. Ao longo do processo de formação do alginato de cálcio [evolução temporal], obtemos perfis de intensidade das imagens usando o contraste

por efeito Overhauser e também o contraste por T_2 sem o efeito Overhauser. Na discussão dos resultados os perfis entre os dois tipos de imagens são comparados. Aumentando o peso do contraste em T_2 tentamos recuperar a informação fornecida pela técnica Overhauser. Medidas de T_2 e da intensidade do sinal de eco em amostras uniformes com concentrações conhecidas de alginato de cálcio [amostras de calibração] em um campo de 7 T confirmam o ganho de sensibilidade do contraste por efeito Overhauser para os estágios iniciais do processo de formação do hidrogel. Nas conclusões procuramos destacar as contribuições mais importantes do capítulo.

2.2 Efeito Overhauser.

No início da década de 50, Albert Overhauser percebeu, ao estudar os mecanismos de relaxação para os elétrons de condução em metais na presença de um campo magnético(45), que seria teoricamente possível obter um ganho de polarização dos spins nucleares(46) via saturação das transições Zeeman dos elétrons de condução. O ganho de polarização, neste caso, sendo proporcional à razão dos fatores giromagnéticos entre elétrons e prótons. Esse ganho seria possível graças a processos de relaxação paramagnética que ocorrem por meio de interações hiperfinas entre os spins eletrônicos e os prótons nucleares. Uma maneira de observar o efeito previsto por Overhauser segue através de um experimento de ressonância dupla, onde saturamos uma transição eletrônica e observamos a transição nuclear. Carver e Slichter(47), usando essa técnica, comprovaram o efeito em compostos metálicos de lítio e sódio. Como o ganho de polarização envolve sistemas com regiões de ressonância bem distintos, os aspectos experimentais, que vamos enumerar adiante, podem limitar bastante a magnitude do efeito.

O efeito Overhauser ocorre quando a interação hiperfina entre núcleo e elétrons possui uma dependência temporal na faixa do inverso da frequência de Larmor eletrônica ω_e^{-1} . Assim, ao permitir relaxações entre os níveis de energia do sistema elétron-núcleo combinadas com a irradiação na frequência de Larmor eletrônica, essa interação pode causar uma mudança na polarização nuclear. Em sistemas sólidos esse tipo de modulação temporal é difícil de ocorrer(23). Para o caso de metais, onde os elétrons de condução movem-se rapidamente através da rede, ocorre uma modulação temporal da interação hiperfina importante. Essa modulação é a responsável pela observação do efeito.

As condições para o ganho dinâmico de polarização nuclear logo foram generalizadas para sais paramagnéticos mostrando que a distribuição de Fermi-Dirac, usada no caso de metais, não é necessária para a observação do efeito(48). Abragam(49) mostrou que o ganho de polarização poderia ser obtido em outras situações inclusive em líquidos contendo impurezas paramagnéticas. Em um sistema mais geral, contendo dois tipos de spin em faixas espectrais distintas e algum tipo de interação hiperfina entre eles, uma vez que essa interação seja a mais im-

portante no processo de relaxação nuclear, podemos ter um ganho de polarização nuclear dinâmica. Esse ganho de polarização é também conhecido como efeito Overhauser(50).

2.2.1 Teoria do efeito Overhauser.

Uma série de condições devem ser satisfeitas para que o efeito Overhauser produza um ganho razoável de polarização. O objetivo dessa seção é encontrar uma expressão para o ganho de polarização levando em conta alguns de seus parâmetros relevantes.

Vamos tratar o problema, de maneira bem simplificada, da seguinte forma: imagine um sistema de spins $1/2$, I (prótons) e S (elétrons), que além da interação com o campo externo $B_0\hat{z}$, interagem entre si por meio de uma interação do tipo escalar $A(I \cdot S)$, onde A é uma constante de interação. Supomos ainda que as taxas de transição entre os níveis nucleares sejam desprezíveis em comparação com as taxas de transição eletrônicas. Vamos supor a taxa de transição entre os vários estados populacionais como tendo a mesma forma $\frac{d}{dt}P = \Omega P$ das equações fenomenológicas de Bloch descritas na introdução. Podemos escrever as seguintes equações para a dinâmica de população p dos estados energéticos envolvidos na relaxação longitudinal:

$$\frac{dp_1}{dt} = p_2W_{21} - p_1W_{12} + (p_2 - p_1)W_E, \quad (2.1)$$

$$\frac{dp_2}{dt} = p_1W_{12} - p_2W_{21} + p_3W_{32} - p_2W_{23} + (p_1 - p_2)W_E, \quad (2.2)$$

$$\frac{dp_3}{dt} = p_2W_{23} - p_3W_{32} + p_4W_{43} - p_3W_{34}, \quad (2.3)$$

$$\frac{dp_4}{dt} = p_3W_{34} - p_4W_{43}, \quad (2.4)$$

onde o índice de p representa o nível energético considerado; e os índices em W , as respectivas taxas de transição entre dois níveis. Não discutimos no momento a forma exata das taxas de transição e vamos admitir somente que elas existem. Ve-

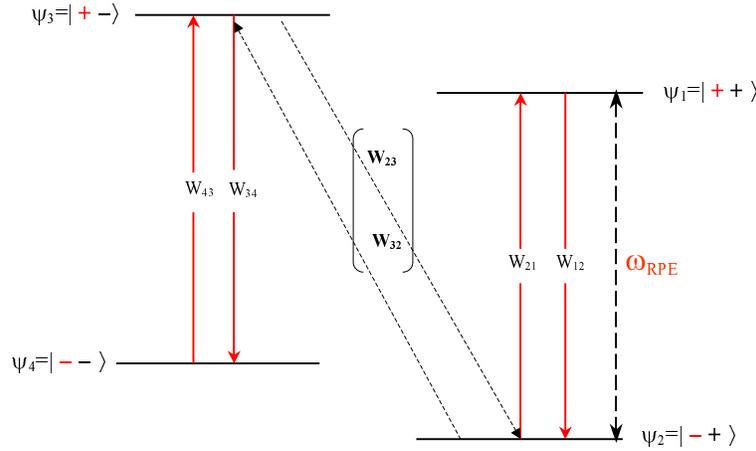


Figura 2.1: Diagrama de transições para interação escalar no sistema elétron-próton. As linhas contínuas representam as transições eletrônicas e as tracejadas o acoplamento por interação escalar. Também indicada (seta dupla) a transição eletrônica que será saturada.

remos na próxima seção que é necessária uma dependência temporal da interação hiperfina [flutuação térmica] para que as transições sejam possíveis. Queremos saber qual a razão entre as magnetizações nucleares para os casos com e sem saturação eletrônica. No regime estacionário podemos considerar $dp/dt = 0$. No estado de equilíbrio, as populações p são controlados pela distribuição de Boltzmann $p = \exp[-\beta E_p]$, onde $\beta = 1/kT$ e E_p é o autoestado de energia no nível p . Para um par de níveis em equilíbrio $p_j = p_i \exp[\beta(E_i - E_j)] = p_i B_{ij}$. As relações para o caso em que a transição eletrônica indicada na figura 2.1 é saturada são as seguintes:

$$\begin{aligned}
 p_1 = p_2 &= \frac{1}{2 + B_{23} + B_{24}}, \\
 p_3 &= \frac{B_{23}}{2 + B_{23} + B_{24}}, \\
 p_4 &= \frac{B_{24}}{2 + B_{23} + B_{24}},
 \end{aligned} \tag{2.5}$$

onde a condição de saturação ocorre quando, através de um bombeamento na

freqüência desejada, fazemos as populações entre os níveis 1 e 2 idênticas. A partir dessas populações obtemos

$$\begin{aligned}\langle I_z \rangle &= \sum_i p_i \langle i | I_z | i \rangle \\ &= \frac{1}{2} (p_1 + p_2 - p_3 - p_4) = \left(\frac{1}{2} \right) \frac{2 - B_{23} - B_{24}}{2 + B_{23} + B_{24}}.\end{aligned}\quad (2.6)$$

para a magnetização nuclear longitudinal. Na aproximação de altas temperaturas, onde $B_{ij} \approx 1 + \beta(E_i - E_j)$,

$$\langle I_z \rangle = \frac{1}{2} \frac{(E_3 - E_2) + (E_4 - E_2)}{4kT}.\quad (2.7)$$

Tendo a figura 2.1 como guia percebemos que $E_3 - E_2 = |\gamma_e| \hbar B_0 + \gamma_n \hbar B_0$ e $E_4 - E_2 = A/2 + \gamma_n \hbar B_0$. Assim obtemos

$$\langle I_z \rangle = -\frac{1}{2} \frac{\gamma_e \hbar B_0}{4kT}\quad (2.8)$$

no limite que $|\gamma_e| \hbar B_0 \gg \gamma_n \hbar B_0, A/2$. Para a situação onde não há saturação da transição eletrônica

$$\langle I_0 \rangle = \frac{1}{2} \frac{B_{21} + 1 - B_{23} + B_{24}}{B_{21} + 1 + B_{23} + B_{24}},\quad (2.9)$$

que na aproximação de altas temperaturas nos dá

$$\langle I_0 \rangle = \frac{1}{2} \frac{(E_2 - E_1) + (E_3 - E_2) + (E_4 - E_2)}{4kT}.\quad (2.10)$$

Como $E_2 - E_1 = |\gamma_e|\hbar B_0 - A/2$ temos finalmente

$$\langle I_0 \rangle = \frac{1}{2} \frac{\gamma_n \hbar B_0}{2kT}. \quad (2.11)$$

Dividindo as expressões 2.8 por 2.11 obtemos a seguinte expressão para o ganho de magnetização:

$$E = \frac{\langle I_z \rangle}{\langle I_0 \rangle} = -\frac{|\gamma_e|}{2\gamma_n}, \quad (2.12)$$

onde pode-se notar que o ganho depende somente do fator giromagnético e não da abundância da espécie.

2.2.2 Relaxação longitudinal por interação dipolar.

A interação dipolar produz acoplamentos de vários tipos entre os níveis Zeeman de energia(51). Vamos tratar novamente a situação da relaxação entre dois spins I e S via interação dipolar.

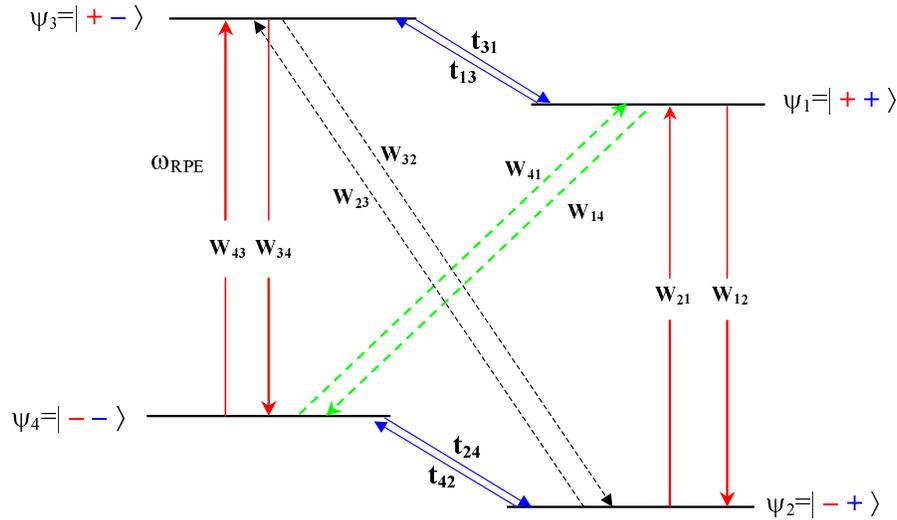


Figura 2.2: Diagrama de transições para interação dipolar no sistema elétron-próton. As linhas descontinuas indicam transições criadas pelo acoplamento dipolar. As linhas contínuas representam as transições Zeeman eletrônicas (W) e nucleares (t).

Observando o diagrama de transições da figura 2.2 escrevemos as probabilidades de transição para cada um dos estados descritos. Para os quatro estados 1, 2, 3 e 4 temos

$$\frac{dp_1}{dt} = p_2W_{21} - p_1W_{12} + p_4W_{41} - p_1W_{14} + (p_3t_{31} - p_1t_{13}), \quad (2.13)$$

$$\frac{dp_2}{dt} = p_1W_{12} - p_2W_{21} + p_3W_{32} - p_2W_{23} + (p_4t_{42} - p_2t_{24}), \quad (2.14)$$

$$\frac{dp_3}{dt} = p_4W_{43} - p_3W_{34} + p_2W_{23} - p_3W_{32} + (p_1t_{13} - p_3t_{31}), \quad (2.15)$$

$$\frac{dp_4}{dt} = p_3W_{34} - p_4W_{43} + p_1W_{14} - p_4W_{41} + (p_2t_{24} - p_4t_{42}). \quad (2.16)$$

Usando as simetrias para as taxas de transição W e t podemos melhorar a notação fazendo W_1 para todas as transições envolvendo somente um spin eletrônico [1-quanta]. t_1 para todas as transições envolvendo somente um spin nuclear [1-quanta]; W_0 , para todas as transições elétron-próton envolvendo inversão simultânea em antifase de spins [0-quanta]. W_2 para todas as transições elétron-próton envolvendo inversão simultânea em fase de spins [2-quanta].

Assimilando a notação acima somamos as equações de 2.13 à 2.16 duas a duas obtendo duas equações que subtraímos multiplicando tudo por N que é o número total de spins. As equações reduzem-se a

$$\frac{d\langle I_z \rangle}{dt} = -[W_0 + 2t_1 + W_2] \langle I_z \rangle - [W_2 - W_0] \langle S_z \rangle + \text{const}, \quad (2.17)$$

$$\frac{d\langle S_z \rangle}{dt} = -[W_2 - W_0] \langle I_z \rangle - [W_0 + 2W_1 + W_2] \langle S_z \rangle + \text{const}. \quad (2.18)$$

Tomando as magnetizações no equilíbrio I_0 e S_0 como condições iniciais escrevemos

$$\frac{d\langle I_z \rangle}{dt} = -\rho [\langle I_z \rangle - I_0] - \sigma [\langle S_z \rangle - S_0], \quad (2.19)$$

$$\frac{d\langle S_z \rangle}{dt} = -\rho' [\langle S_z \rangle - S_0] - \sigma [\langle I_z \rangle - I_0]. \quad (2.20)$$

σ , ρ e ρ' representam os coeficientes [taxas de transição] das equações 2.17 e 2.18. Saturando a magnetização eletrônica temos $\langle S_z \rangle = 0$. No regime estacionário a magnetização nuclear longitudinal é

$$\langle I_z \rangle = I_0 + (\sigma/\rho) S_0. \quad (2.21)$$

Até agora não consideramos a situação onde a saturação da transição eletrônica é apenas parcial. Para isso introduzimos o fator de saturação s dado por(50)

$$s = (S_0 - \langle S_z \rangle) / S_0 = \frac{\gamma_e^2 B_2^2 T_{1e} T_{2e}}{1 + \gamma_e^2 B_2^2 T_{1e} T_{2e}}. \quad (2.22)$$

Podemos rescrever as expressões calculadas acima e obter o ganho de magnetização

$$E = \frac{\langle I_z \rangle}{I_0} = 1 - s (\sigma/\rho) \frac{\gamma_e}{\gamma_n}, \quad (2.23)$$

onde σ/ρ é o parâmetro de acoplamento dipolar, s é o fator de saturação, γ_n , γ_e são os fatores giromagnéticos dos spins I e S , respectivamente. Para dois spins idênticos vamos considerar todas as transições do tipo W_i e t_i como transições do tipo v_i onde o índice continua indicando o tipo de transição(52). Podemos rescrever 2.19 e 2.20 somando as duas contribuições I_z e S_z , que são agora o mesmo observável, obtendo

$$\frac{d\langle I_z + S_z \rangle}{dt} = -2(v_1 + v_2) [\langle I_z + S_z \rangle - (I_0 + S_0)], \quad (2.24)$$

onde definimos $T_{10} = 1/(v_1 + v_2)$ como o tempo de relaxação próton-próton. Vamos adicionar esse termo nas equações para a interação elétron-próton e obter a expressão desejada para a relaxação do radical livre [elétron] e da água [dois prótons].

Vamos considerar agora dois tipos de interação dipolar: aquela entre elétron e próton como a da seção anterior, mas agora vamos acrescentar a possibilidade da interação próton-próton [molécula de água]. Interações dipolares do tipo elétron-elétron não serão consideradas no limite de pequenas concentrações de elétrons [radicais livres]. Rescrevemos abaixo a equação 2.17 levando em conta a contribuição para relaxação longitudinal das interações dipolares do tipo próton-próton.

$$(\sigma/\rho) f = (W_2 - W_0) / (W_2 + W_0 + 2W_1 + 2v_1 + 2v_2), \quad (2.25)$$

onde identificamos

$$\begin{aligned} \frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_0} &= (W_2 + W_0 + 2W_1) \\ \frac{1}{T_0} &= 2(v_1 + v_2). \end{aligned} \quad (2.26)$$

$$f = 1 - \frac{T_1}{T_{10}}. \quad (2.27)$$

T_1 é o tempo de relaxação spin-rede do sistema I na presença do sistema S e T_{10} é o tempo de relaxação com a rede na ausência do sistema S . f é chamado de fator de vazamento e corresponde ao sinal que relaxa através dos spins nucleares I .

A dependência de T_1 pode ser escrita diretamente em função da concentração

C do spin S como(32)

$$\frac{1}{T_1} = \frac{1}{CK(0)T_{10}(0)}. \quad (2.28)$$

onde K é uma constante de relaxatividade do spin S [radical livre]. Esse relação nos diz que, dentro do limite de baixa concentração C , a relaxação elétron-próton vai ter sua eficiência melhor com o aumento da concentração do radical.

Agora vamos discutir rapidamente o caso onde temos uma interação dipolar elétron-próton mas agora com a modulação dessa interação pelo movimento molecular. A probabilidade de transição por unidade de tempo induzida pela interação dependente do tempo $H(t)$ entre estados energéticos distintos é dada em primeira aproximação por(51)

$$W_{ij} = \frac{2\pi}{\hbar} |\langle j|H|i\rangle|^2 \delta(E_i - E_j - \hbar\omega_{ij}), \quad (2.29)$$

onde $\omega_{ij} = (E_j - E_i) / \hbar$. A simetria da taxa de transição pela inversão do sentido da transição confirma a suposição feita na seção anterior durante o tratamento da interação escalar entre dois spins. A hamiltoniana $H(t)$ pode ser rescrita em termos do espaço de operadores de spin e do espaço de posições que, para o caso de líquidos, possui uma dependência temporal devido ao movimento aleatório. Podemos encontrar uma forma para a hamiltoniana de interação que é

$$H(t) = AF(t), \quad (2.30)$$

onde A é o operador de spin e $F(t)$ é uma variável aleatória. No referencial girante, substituindo 2.30 em 2.29 temos

$$W_{ij} = \frac{1}{\hbar^2} |\langle j|A|i\rangle|^2 j(\omega_{ij}). \quad (2.31)$$

onde definimos a densidade espectral para o movimento

$$j(\omega) = \int_{-\infty}^{+\infty} g(\tau) e^{-i\omega\tau} d\tau. \quad (2.32)$$

com

$$g(\tau) = \overline{F(t)F(t+\tau)}. \quad (2.33)$$

A barra indica uma autocorrelação da função $F(t)$ nos tempos t e $t+\tau$. É razoável supor que a correlação entre $F(t)$ e $F(t+\tau)$ diminua à medida que τ aumenta. Assim podemos escrever

$$g(\tau) = g(0) \exp(-|\tau|/\tau_c) \quad (2.34)$$

e uma vez que $g(0) = \overline{F^2(t)} = 1$, $j(\omega)$ nos dá

$$j(\omega) = \frac{2\tau_c}{1 + \omega^2\tau_c^2}. \quad (2.35)$$

Basta substituir 2.35 em 2.31 e teremos a taxa de transição entre os estados i e j .

Podemos usar a expansão em harmônicos esféricos(51) da interação dipolar e assim obter as taxas de transição envolvendo zero, um ou dois quanta moduladas pela respectiva contribuição do movimento aleatório dada por $j(\omega)$. Em um problema real, a parte estacionária pode ser calculada diretamente tanto para pares de spin idênticos quanto distintos. A parte temporal exige um conhecimento do movimento molecular apesar da aproximação de correlação exponencial ser razoável. O efeito Overhauser é um efeito envolvendo uma distribuição de populações dinâmica via relaxação entre spins nucleares e eletrônicos. Estamos interessados na mudança das populações via saturação da transição eletrônica e efeitos de relaxação do tipo spin-rede caracterizada pelo tempo T_1 .

2.2.3 Interação dipolar modulada pelo movimento.

A parte temporal da interação dipolar pode ser descrita por uma variável aleatória do tempo. As propriedades da função $F(t)$ irão depender das propriedades do meio onde os spins estão diluídos. Características como a viscosidade do meio irão influenciar na intensidade das contribuições para relaxação spin-rede da Hamiltoniana dipolar. Para o caso da interação elétron-próton, a concentração dos elétrons também pode se tornar importante. Para o caso da água temos dois tipos de movimento: rotacional [intramolecular] e translacional [intermolecular]. Para o caso rotacional em temperatura ambiente as condições $\omega_I\tau_2 \ll 1$ e $\omega_S\tau_2 \ll 1$ são sempre satisfeitas na região de campos fracos [16 mT]. Usando a relação de Stokes para rotações de uma esfera rígida obtemos a seguinte expressão para o tempo de correlação

$$\tau_2 = \frac{4\pi}{3} \frac{\eta a^3}{kT}, \quad (2.36)$$

com a sendo o raio efetivo da molécula, T a temperatura, k a constante de Boltzmann e η a viscosidade do meio. Encontramos resultados semelhantes para o tempo de correlação translacional:

$$\tau_1 = \frac{750\eta}{N_A kTC}, \quad (2.37)$$

onde a é o raio efetivo da molécula de radical, N_A é o número de Avogrado, η é a viscosidade, e k é a constante de Boltzmann.

Quando as interações dipolares entre elétrons começam a ser importantes a solução começa a ficar complicada. A situação experimental importante é aquela em que o papel da interação entre elétrons vizinhos começa a ser importante. O parâmetro de interação é definido por $\alpha^2 = A^2\tau_1^2$, onde A é a integral efetiva de intercâmbio. Se $\alpha^2 \ll 1$ e $T_{2e}^{(0)} \gg \tau_2 > \tau_1$, a largura de linha secular começa a aumentar. Uma contribuição para a largura de linha da ordem de $1/T_{2e}^{(e)} = \alpha^2/\tau_2$ é prevista nesse regime(53). Podemos escrever o tempo de relaxação transversal

obtido a partir do movimento de translação e rotação eletrônico como

$$1/T_{2e} = A\pi^2 a^6 \eta C / 750kT + 1/T_{2e}^{(0)}, \quad (2.38)$$

onde o segundo termo no lado direito da equação não depende da concentração de radical. O primeiro termo para uma dada concentração de radical C aumenta com a viscosidade η .

2.3 Imagens por ressonância magnética nuclear.

2.3.1 Formação de imagens bidimensionais.

Imagens bidimensionais usando RMN precisam de no mínimo dois gradientes de campo magnético para serem produzidas [ver figura 2.4].

Técnicas de imagens por RMN em sua maioria usam métodos de transformada de Fourier. Para o esquema mais simples temos 3 gradientes lineares e ortogonais onde um deles é responsável pela seleção dos spins que serão excitados e os outros dois compõem o gradiente de leitura [frequência] durante o qual o sinal de RMN é adquirido e o de fase aplicado entre os períodos de excitação e aquisição. Em particular as funções dos gradientes de leitura e de fase podem estar misturadas e podem envolver os 3 gradientes em x , y , z . A maneira mais conveniente de estudar a evolução dos spins é através do espaço recíproco \mathbf{k} (54). O espaço \mathbf{k} é na verdade a transformada de Fourier do espaço euclidiano xyz . Podemos defini-lo da seguinte forma:

$$\mathbf{k} = \gamma \int_0^T \mathbf{G} dt / 2\pi, \quad (2.39)$$

onde $\mathbf{G} = G_\phi \hat{\phi} + G_r \hat{r}$, e \mathbf{k} determina a posição k no espaço recíproco do sistema de spins no instante T . Promovendo variações em k_ϕ ou k_r via mudanças nos valores de gradiente, ou no tempo de sua duração, podemos percorrer um conjunto $N_\phi \times N_r$ de pontos no espaço \mathbf{k} . Escolhemos os eixos $\hat{\phi}$ e r na direção de algum dos pares de vetores euclidianos x , y , ou z . Observando a figura 2.6, por exemplo, temos $\hat{\phi} = \hat{x}$ e $\hat{r} = \hat{z}$.

O sinal adquirido no espaço real para a seqüência em 2.4 é:

$$S(t_1, t_2) = \int \rho(x, z) \exp(-i\gamma G_\phi t_1 x) \exp(-i\gamma G_r t_2 z) dx dz, \quad (2.40)$$

onde temos duas variáveis t_2 que é o tempo de aquisição ou leitura e t_1 que é o tempo de duração do gradiente de fase. Para manter a simetria entre as

transformadas de Fourier define-se o espaço \mathbf{k} onde podemos rescrever $k_\phi = \gamma G_\phi t_1$ e $k_r = \gamma G_r t_2 / 2\pi$. Assim temos

$$S(k_\phi, k_r) = \int \rho(x, z) \exp(-i2\pi k_\phi x) \exp(-i2\pi k_r z) dx dz \quad (2.41)$$

como a representação no espaço \mathbf{k} do sinal adquirido na presença do gradiente G_r . A transformada dupla de Fourier da expressão 2.41 nos dá o mapa de densidade dos spins no plano xz

$$\rho(x, z) = \int S(k_\phi, k_r) \exp(i2\pi k_\phi x) \exp(i2\pi k_r z) dk_\phi dk_r. \quad (2.42)$$

Não explicitamos a dependência da relaxação e de outros parâmetros de contraste.

2.3.2 Codificação de fase e de frequência. Seqüência spin-warp.

Numa seqüência do tipo spin-warp definimos duas dimensões do espaço \mathbf{k} : k_ϕ e k_r . A dimensão de fase k_ϕ pode ser rescrita como função da intensidade do gradiente de fase e não em função de seu tempo de duração t_1 como na seção anterior. Isso evita efeitos de relaxação por T_2 para períodos t_1 distintos. Sendo assim temos

$$k_\phi = \gamma n_i \Delta G_\phi t_0, \quad (2.43)$$

onde $\Delta G_\phi = G_\phi / N_\phi$, t_0 é o tempo constante de duração do gradiente, e $1 \leq |n_i| \leq N_\phi$ é o fator de amplificação do gradiente de fase.

Para dimensão de leitura, temos um gradiente G_r constante. Assim a variável $t_2 = n_j \Delta t_2$ fica definida a partir do tamanho da janela de aquisição $t_2 = N_r \Delta t_2$. Essa janela é estabelecida a partir da largura de banda do receptor. A dimensão

de leitura é

$$k_r = \gamma G_r n_j \Delta t_2, \quad (2.44)$$

onde $1 \leq n_j \leq N_r$ representa um ponto na janela de aquisição t_2 subdividida em N_r subintervalos de Δt_2 .

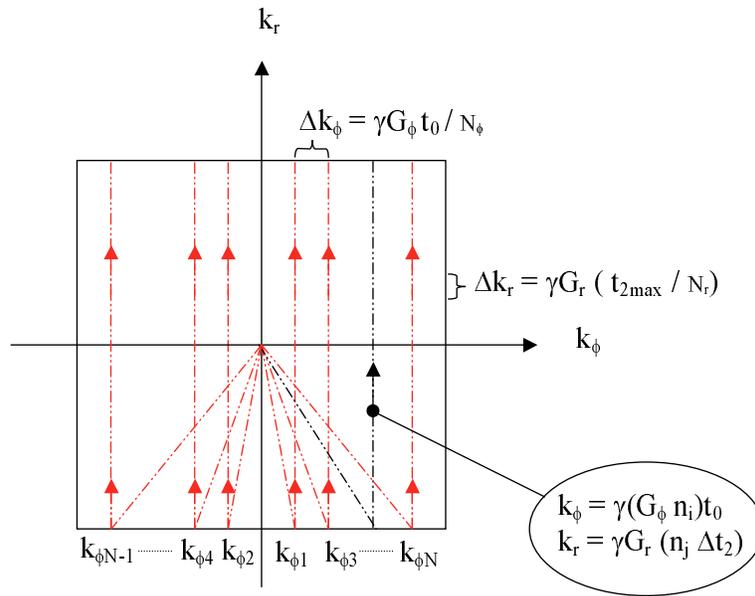


Figura 2.3: Diagrama do espaço \mathbf{k} para imagens usando a seqüência spin-warp. N_r e N_ϕ são respectivamente o número de pontos de aquisição em t_2 e o número de varreduras de fase. As setas indicam o sentido de evolução do sinal adquirido nesse espaço.

A evolução do sinal no espaço \mathbf{k} para a seqüência spin-warp [ver figura 2.4] está indicada no diagrama da figura 2.3. Assim o gradiente de fase leva a um ponto no eixo k_ϕ e a partir desse ponto o gradiente de leitura varre o espaço \mathbf{k} na direção do eixo k_r .

2.3.3 Resolução das imagens.

A resolução espacial $1/|\Delta z| = |\gamma G_r / 2\pi \Delta \nu|$ é obtida durante a aquisição t_2 sob a ação do gradiente de leitura G_r constante. Ela é limitada pela largura de linha de ressonância $\Delta \nu$. Essa limitação não se aplica para o cálculo da resolução durante

a evolução do sistema sob a ação do gradiente de fase $G_\phi = G_x$. A limitação na dimensão do gradiente de fase é somente com relação a relação sinal-ruído, pois essa diminui de acordo com o aumento do gradiente de fase.

A resolução digital ou resolução de pixel pode ser muito maior que a resolução espacial real. Para imagens no espaço \mathbf{k} , os valores são adquiridos em uma rede discreta com um número finito de pontos N para cada dimensão. A resolução $1/\Delta x$, no espaço de codificação de fase, é determinada pelo valor máximo de G_ϕ como $1/\Delta x = N_\phi \Delta k_\phi / 2\pi$ e analogamente para a dimensão de leitura.

O campo de visão [**FOV**, field of view] é o comprimento espacial máximo que pode ser apresentada em uma imagem. Ele é dado pelo inverso do passo de aquisição no espaço \mathbf{k} .

$$z_{max} = \left| \frac{2\pi}{\gamma G_r \Delta t_2} \right|, \quad G_r = \text{const.}, \quad t_{2max} = N_r \Delta t_2, \quad (2.45)$$

$$x_{max} = \left| \frac{2\pi}{\gamma \Delta G_\phi t_0} \right|, \quad G_{\phi max} = N_\phi \Delta G_\phi, \quad t_0 = \text{const.} \quad (2.46)$$

2.4 Imagens Overhauser.

2.4.1 Aplicações.

Radicais livres são importantes mediadores de uma grande variedade de processos metabólicos em seres vivos. Variações em suas concentrações podem indicar processos patológicos em curso. A observação direta de radicais livres em sistemas biológicos, ou até mesmo em seres vivos, se torna difícil devido às pequenas quantidades desses radicais envolvidas nos processos.

Técnicas de ressonância de spin eletrônico são certamente a forma mais eficientes de detectar esses radicais. Entretanto, devido a baixa penetração da radiação nos tecidos nessa faixa de frequência, as imagens são restritas a pequenos animais. Técnicas de ressonância dupla por efeito Overhauser poderiam eliminar esse efeito e permitir imagens em amostras maiores e em seres vivos(31). Uma idéia é usar ciclagem do campo aplicado. Irradia-se a transição eletrônica em um campo fraco observando a presença dos radicais indiretamente no sinal dos prótons da água detectados em campo forte(55).

O contraste Overhauser também é sensível à concentração de oxigênio nos tecidos. A quantidade de oxigênio também poderia ser detectada indiretamente. Essa informação é importante pois muitas funções metabólicas também envolvem variações na quantidade de oxigênio presente nos tecidos(56).

Uma série de fatores é responsável pelo contraste no sinal RMN. A dependência do sinal de RMN com a concentração do radical livre é enorme. Geralmente, na imagem, só as partes com radical aparecem, inviabilizando qualquer forma de contraste para observar a morfologia de determinados órgãos(57). Porém em técnicas como Angiografia e em intervenções com inserção de materiais metálicos [e.g. agulhas e catéteres] ela funciona bem(22; 58).

2.4.2 Efeito da mobilidade no contraste.

Nicholson et al.(41) demonstraram ser possível detectar variações na mobilidade de um sistema água-glicerol usando IRMN ponderadas por contraste Overhauser. Diluindo no sistema um radical livre nitróxido se estabelece uma interação

entre prótons e elétrons. Por meio de ressonância dupla, eles perceberam que ao saturar uma transição eletrônica e monitorar o sinal dos prótons, era possível ter um bom contraste entre amostras com pequenas diferenças na mobilidade da água.

Vários fatores são responsáveis pelo contraste na técnica de ressonância dupla por efeito Overhauser. Observando o ganho da magnetização calculado na equação 2.23 podemos discutir quais os parâmetros em um experimento de ressonância dupla controlam cada um dos fatores.

O parâmetro de saturação s depende da potência usada para saturar a transição eletrônica. Para uma potência e concentração de radical fixas, à medida que a mobilidade diminui, os tempos de relaxação eletrônicos diminuem fazendo com que a saturação fique incompleta. O aumento de temperatura causado pela potência de irradiação eletrônica é um limitador do ganho de magnetização para seres vivos. Essa limitação não é tão crítica para materiais.

O fator de vazamento f depende dos tempos de relaxação da espécie nuclear monitorada [prótons da água]. Nesse caso o vazamento aumenta com a diminuição da mobilidade.

Em linhas gerais, com a mudança de mobilidade, outras formas de relaxação competem com a relaxação cruzada causada pela interação elétron-núcleo fazendo com que o efeito de ganho de magnetização desapareça. Essa é inclusive uma das explicações para o efeito só ser observado em sólidos em circunstâncias especiais(23).

A técnica de polarização dinâmica por efeito Overhauser pode ser aplicada com muito sucesso ao estudo de sistemas onde ocorrem mudanças na mobilidade das espécies nucleares envolvidas(42; 44). Através da técnica chamada PEDRI é possível obter imagens contendo informações sobre a dinâmica de reações com variação de mobilidade e não somente sobre seu estado final de equilíbrio.

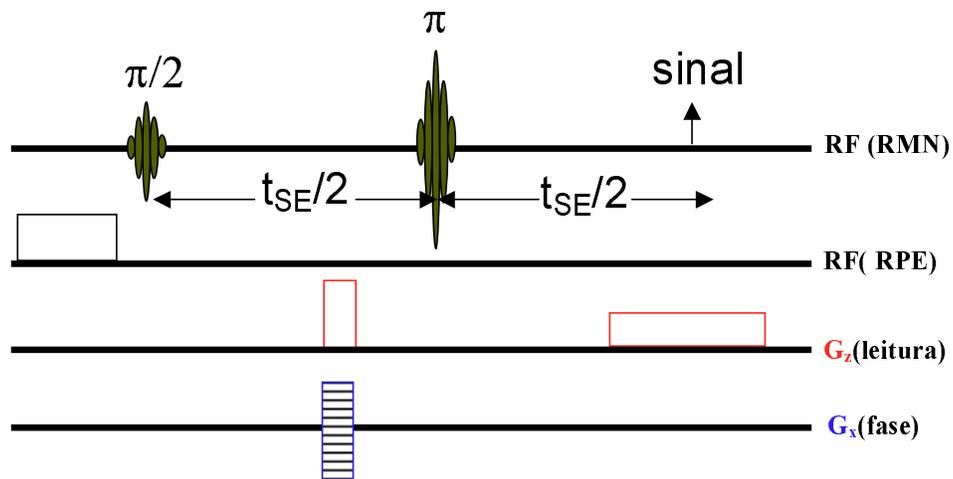


Figura 2.4: Diagrama de pulsos da seqüência PEDRI. Basicamente temos uma seqüência do tipo spin-warp acrescida de um pulso de RF para a excitação eletrônica (RPE). A direção dos gradientes está indicada ao lado de cada linha. Em nossos experimentos usamos $t_{SE} = 30$ ms.

2.5 Hidrogéis e aplicações.

O aprisionamento de substâncias com atividade biológica em membranas artificiais tem despertado muito interesse nos últimos anos(59). Cápsulas fabricadas a partir de certos polímeros têm sido usadas como matrizes estruturais para imobilização de células, medicamentos, ou enzimas em várias aplicações biotecnológicas(60).

A fabricação dos chamados fármacos inteligentes, a partir desses elementos, pressupõe a existência de estruturas, no caso membranas, que sejam seletivas à passagem de determinadas substâncias.

Quando envolvidos nessas estruturas poliméricas, células e tecidos estão protegidos de possíveis ações imunológicas. Porém o fluxo de nutrientes [e.g. oxigênio] e a liberação dos ativos terapêuticos não podem ser inibidos. Além disso essa seleção precisa ser ativada por algum tipo de processo associado à síntese dessas substâncias como o aumento de pH, aumento de temperatura, ou campos eletromagnéticos aplicados externamente.

Estruturas capazes de aprisionar certos tipos de material orgânico são muito importantes. Bactérias e alguns tipos de células são capazes de sintetizar compostos com papel de regular determinadas funções bioquímicas nos seres vivos(61). A possibilidade de aplicações em seres humanos todavia requer um conhecimento detalhado sobre os fatores que influenciam as propriedades químicas, físicas e biológicas desses sistemas(62). Um dos fatores mais importantes a ser controlado é a instabilidade desses envoltórios. Existe uma competição entre as condições de boa estabilidade e de boa funcionalidade farmacológica.

Liberação controlada de medicamentos é uma área de pesquisa bastante ativa nos dias de hoje(63). Normalmente o que se busca é assegurar a liberação do medicamento em função de alguma propriedade bioquímica associada à enfermidade. Existem várias formas de fazer liberação controlada: difusão, biodegradação e crescimento [swelling]. Por difusão, a droga no interior da estrutura começa a sair controlada pelo processo difusivo.

Por biodegradação a droga vai saindo à medida que a membrana dissolve-se naturalmente por processos biológicos como hidrólise.

Por crescimento induzido, ao ser submetida a algum tipo de variação, como mudança de pH ou temperatura, o polímero começa a crescer e o aumento de seus poros faz com que a droga seja liberada. O polímero não dissolve no fluido. Na verdade ele o absorve fazendo com que a droga, por osmose, atravesse a membrana. Um dos grandes problemas com essa técnica é a velocidade de resposta do polímero ao estímulo externo(64). Muitas pessoas pesquisam maneiras de otimizar a resposta do hidrogel sem com isso prejudicar suas propriedades mecânicas. As propriedades mecânicas do gel estão associadas a sua distribuição de densidade.

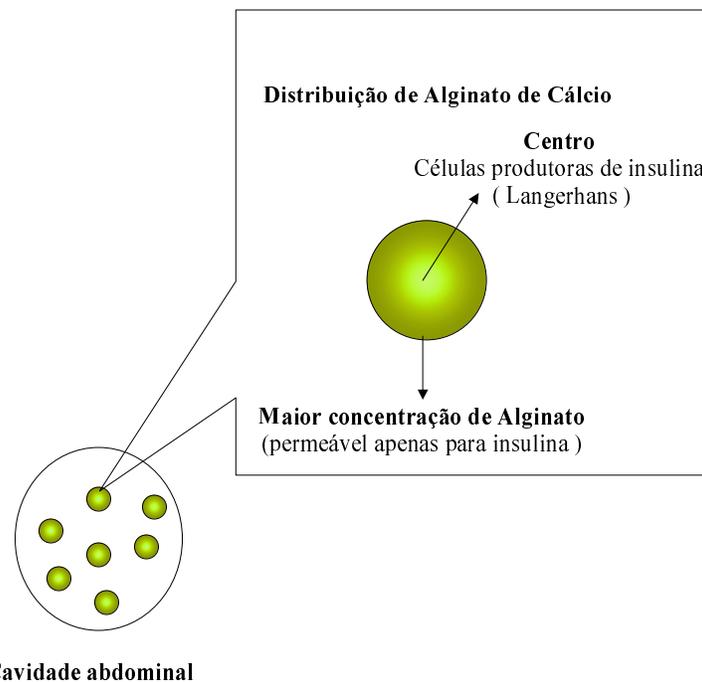


Figura 2.5: Encapsulamento de células produtoras de insulina [pâncreas artificial] para o tratamento da diabetes. As células produtoras de insulina ficam presas em pequenas esferas de alginato de cálcio manufaturadas de forma a apresentar resistência e semipermeabilidade.

Na figura 2.5 temos a ilustração de uma aplicação de hidrogéis. Esferas de alginato são usadas para encapsular células produtoras de insulina em um pâncreas com diabetes(62).

Hidrogéis são bastante usados para liberação controlada via crescimento induzido. Métodos adequados de fabricação das cápsulas e o material usado são de

fundamental importância tanto para as propriedades mecânicas quanto para as fisiológicas.

Hidrogéis são materiais que podem absorver mais de 100 vezes seu peso em água enquanto, sem se dissolver, mantêm uma estrutura tridimensional. Polissacarídeos carregados eletricamente na presença de determinados cátions são capazes de formar Hidrogéis.

A transição de gelificação em uma solução polimérica é caracterizada por uma mudança drástica nas propriedades viscoelásticas relacionadas com a estrutura polimérica. Temos uma viscosidade divergente e o aparecimento de um módulo elástico E na fase gel.

O alginato de cálcio é muito usado para liberação controlada devido a suas propriedades mecânicas sensíveis a mudanças no ambiente físico-químico do meio. Um dos problemas encontrados nessa prática diz respeito à estabilidade de sua estrutura e também ao tempo de resposta ao estímulo externo(64). Quando submetido a mudanças de temperatura ou pH, comuns nos meios biológicos, ele sofre variações na sua conformação estrutural capazes de destruí-lo. Esse estímulo pode também ser feito externamente pela aplicação de campo elétrico ou luz.

Assim o estudo da estabilidade de esferas ou cilindros de alginato é importante para construção de meios estáveis para abrigar espécies produtoras de toxinas importantes na regulação de certas funções metabólicas. Características do processo de formação como a quantidade de íons e polímero envolvidas são importantes para formação da estrutura. No caso de esferas, por exemplo, a parte interior com menor concentração de gel favorece a maior funcionalidade da estrutura(33), mas prejudica sua estabilidade. O uso de certas proteínas também é usado para melhorar a estabilidade como vetores.

A própria teoria de formação do gel, como veremos no capítulo3, é importante na previsão da composição final de uma estrutura fabricada a partir dele.

2.6 Parte experimental.

2.6.1 Instrumentação e seqüência de pulsos.

Para observar a reação usamos um sistema de imagens por RMN acoplado a um eletro-ímã capaz de gerar um campo de 16 mT [160 Gauss]. Nesse campo os prótons do ^1H têm frequência de Larmor em torno de 680 KHz. A irradiação-deteção do sinal é feita usando bobinas distintas de modo a otimizar a homogeneidade do campo de irradiação B_1 [bobina de transmissão grande] e obter um bom fator de preenchimento η para a amostra na bobina de recepção.

A fim de aumentar a resolução espacial das imagens, modificamos o esquema inicial do tomógrafo construindo um novo conjunto de bobinas de gradiente. Construímos duas bobinas do tipo Golay(65) para gradientes ao longo dos eixos x e y e uma bobina de Maxwell para gradientes ao longo do eixo z . Com esse arranjo pode-se produzir imagens bidimensionais inclusive com seleção de fatia.

A queda esperada na relação sinal-ruído como aumento da resolução foi minorada com o uso do radical trityl com apenas uma linha de ressonância comparado ao radical TEMPO usado anteriormente em nosso grupo. Além disso, construímos uma bobina de recepção do tipo solenóide com um fator de qualidade Q superior ao da bobina de recepção do tipo cabeça usada anteriormente para imagens médicas. Isso nos permitiu realizar imagens de qualidade razoável em 16 mT mesmo sem usar o efeito de polarização dinâmica Overhauser.

Para codificação no espaço \mathbf{k} utilizamos gradientes de fase G_ϕ na direção x e gradientes de leitura G_r na direção z [ver figura 2.6].

O tamanho de pixel para nossas imagens corresponde ao de um quadrado de lado 350 μm .

Além do sistema para irradiação do hidrogênio, um console para irradiação RPE é usado separadamente utilizando uma bobina do tipo “gaiola de pássaros” [birdcage] para produzir a saturação de linhas espectrais eletrônicas do radical livre. Construímos uma bobina de RPE cilíndrica com diâmetro interno de 40 mm capaz de gerar campos de boa homogeneidade na região de diâmetro inferior a 20 mm medido a partir do centro(66). O tempo de excitação RPE para todas as

medidas foi de 500 ms, usando uma potência de saída do amplificador de 10 W para uma frequência de ressonância eletrônica de 445 MHz. A seqüência usada para aquisição foi uma do tipo spin-warp convencional onde incluímos um pulso para a saturação da transição eletrônica. A bobina para RPE é colocada de forma concêntrica no interior da bobina de recepção e do arranjo das bobinas de gradiente.

O tempo total de cada imagem foi de 7 minutos. O intervalo de Spin-Ecot_{SE} foi de 30 ms, com tempo de repetição de 1.5 s, tomando 4 médias por aquisição. Embora o módulo de aquisição do equipamento só permita armazenar um único sinal de eco por varredura, o tempo total de medida foi suficientemente curto para capturar a dinâmica da reação sem com isso prejudicar a qualidade das imagens.

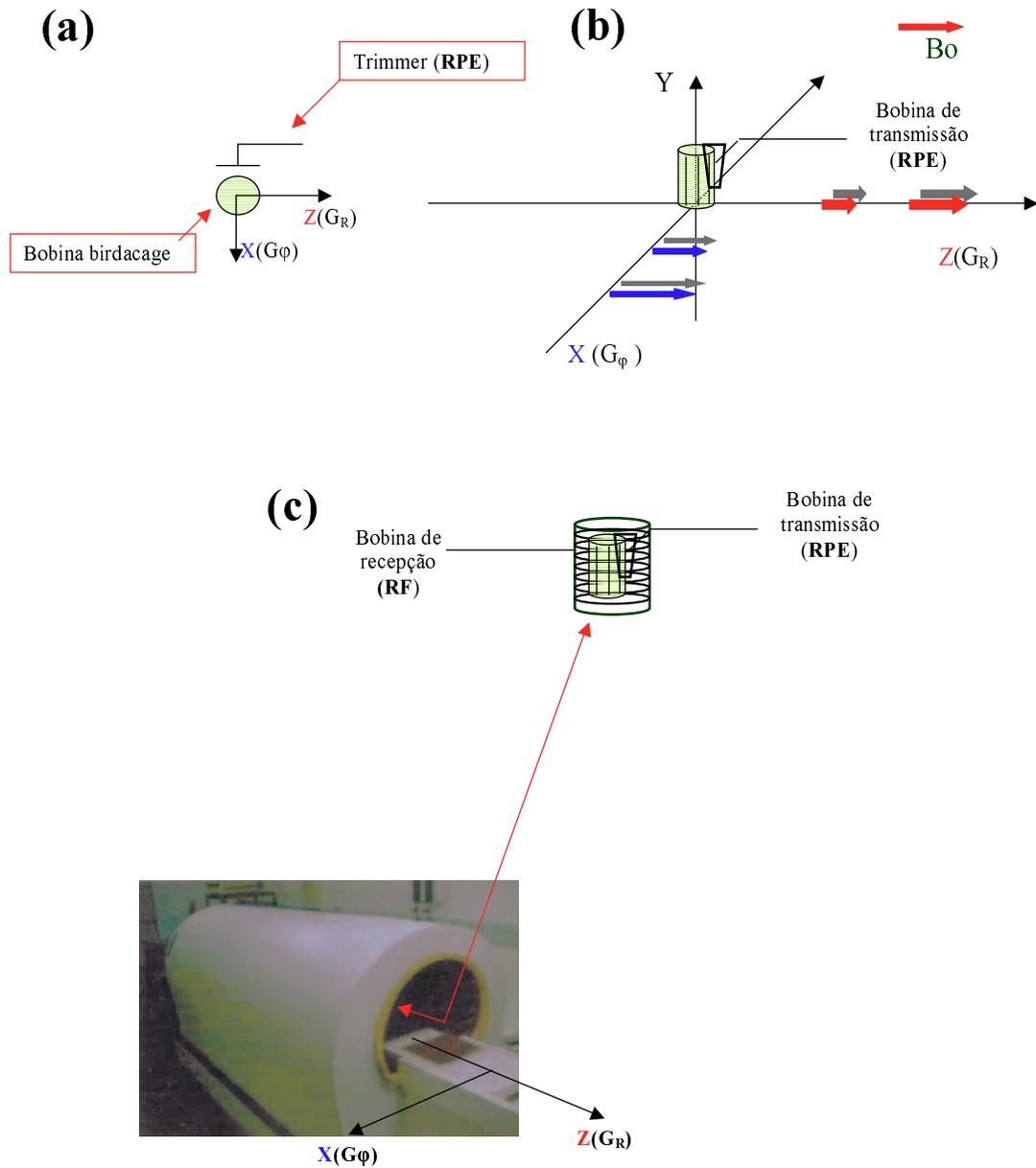


Figura 2.6: Foto do tomógrafo juntamente com o arranjo de bobinas de recepção e transmissão para PEDRI. As direções para os gradientes de codificação de fase e leitura também estão colocadas. (a) vista superior da birdcage onde é colocada a amostra; (b) visão lateral da birdcage e direção dos gradientes; (c) bobina de recepção do tipo solenoide que envolve a birdcage.

2.6.2 Radical trityl.

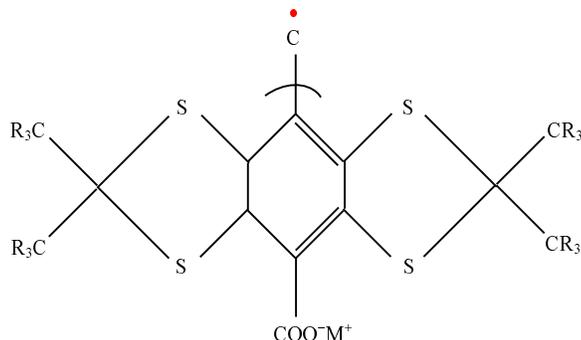


Figura 2.7: Radical trityl simétrico usado nos experimentos. As letras R e M podem representar dois tipos de configurações. **(i)** hidrogênio (R) e sódio (M) ou **(ii)** deutério (R) e potássio (M)

O radical livre usado foi do tipo trityl(67). Esse sistema é sintetizado comercialmente a partir de um sal de potássio ou sódio obtido de ácidos do tipo tricarbóxico, mas com pH ajustado para 7 [ver figura 2.7]. Em água deionizada a estabilidade do radical chega a ser superior a um ano. Desenvolvido especialmente para oximetria(68), esse composto é bem estável e solúvel em água. Possui um elétron desemparelhado sem nenhuma interação hiperfina o que lhe confere uma única linha espectral. Esse radical tem sua relaxatividade ótima em campos fracos na ordem de militesla(69).

2.6.3 Arranjo para monitorar o processo de gelificação.

Na figura 2.8 temos o arranjo que será usado para acompanhar o processo de formação do alginato de cálcio. Em um tubo cilíndrico de 25 mm de diâmetro interno coloca-se, de forma concêntrica, uma membrana de diálise com diâmetro interno de 15 mm e impermeável ao alginato. O interior da membrana é preenchido com uma solução aquosa de alginato de sódio 3% em peso. Na parte externa, coloca-se uma solução de cloreto de cálcio na concentração de 60 mM que, ao atravessar livremente a membrana e entrar em contato com o alginato, dá início ao processo de gelificação. Em ambas as soluções diluímos o radical trityl na concentração de 2.5 mM.

A membrana é preenchida até uma altura de 10 mm com o alginato e em seguida selada com um êmbolo de acrílico de modo a garantir sua forma cilíndrica durante o processo de gelificação. Em seguida a membrana é colocada no centro do tubo contendo o sal de CaCl_2 de modo a deixar ambos os lados nivelados na mesma altura. O cilindro é colocado no interior da bobina de RPE com seu eixo de simetria ao longo da direção y perpendicular ao campo $B_0\hat{z}$.

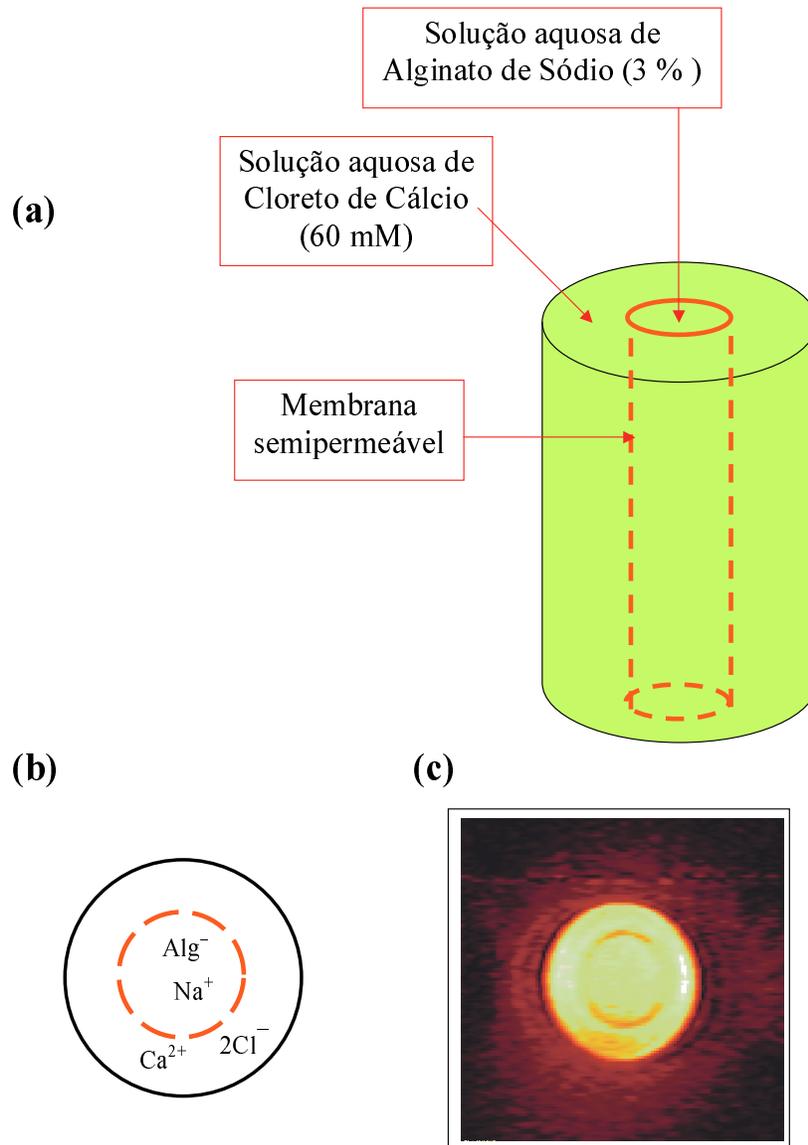


Figura 2.8: Arranjo do experimento de gelificação do alginato de cálcio. (a) Na parte de fora temos CaCl_2 (60 mM) e no interior da membrana temos alginato de sódio (3%) ambos diluídos em solução aquosa com radical trityl (2.5 mM); (b) vista superior de (a); (c) imagem por RMN do composto na fase inicial.

2.7 Resultados.

2.7.1 Imagens do processo de gelificação.

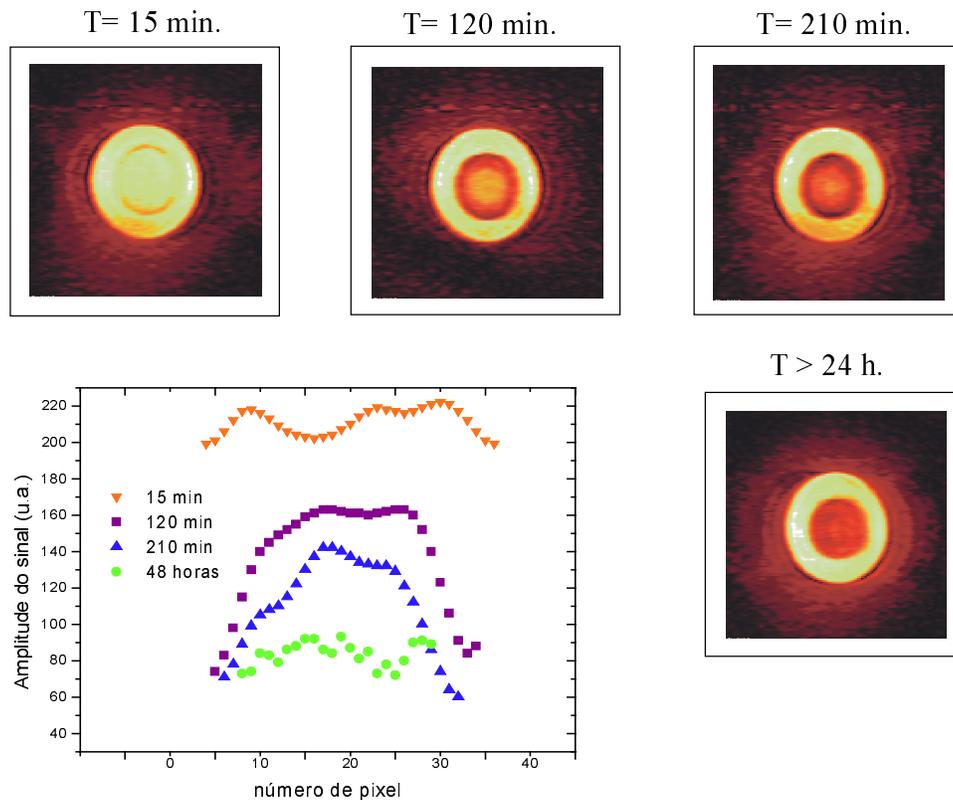


Figura 2.9: Imagens bidimensionais do processo de gelificação do alginato de cálcio. A concentração de alginato de sódio foi de 3% e a de CaCl_2 60 mM. A concentração de radical trityl dentro e fora da membrana foi de 2.5 mM. Os respectivos perfis estão colocados no gráfico do canto inferior esquerdo.

Na figura 2.9 temos imagens bidimensionais do processo de gelificação do alginato de cálcio usando a seqüência PEDRI. O contorno entre os dois reservatórios está demarcado pela membrana de diálise que pode ser vista na primeira imagem. O tamanho de pixel é de $430 \mu\text{m}$.

Na figura 2.10 temos imagens usando a mesma seqüência PEDRI mas sem irradiação eletrônica para as imagens à esquerda da figura. Usamos uma amostra idêntica a amostra da figura 2.9, mas com resolução de pixel de $650 \mu\text{m}$. As

imagens com e sem efeito Overhauser são feitas na mesma amostra com separação temporal do tempo de execução das imagens que é de 7 min.

2.7.2 Calibração dos perfis de concentração.

Para converter perfis de imagens em perfis de concentração do íon reagido, no caso o cálcio, precisamos estabelecer a relação entre a quantidade de cálcio em uma dada região e a intensidade da imagem produzida. Para isso precisamos de amostras homogêneas de alginato de cálcio. A reação entre alginato de sódio e cloreto de cálcio ocorre de maneira imediata e irreversível de modo a impedir que somente uma mistura ou centrifugação seja eficiente para homogeneizá-las. As primeiras partes em contato com o sal irão sempre possuir maior concentração de cálcio. Somente para amostras com pequenas concentrações de cloreto de cálcio é possível produzir amostras com certa uniformidade.

Colocando o alginato de sódio na presença de um sal mais fraco como carbonato de cálcio $[CaCO_3]$ a reação quase não ocorre permitindo a mistura até homogeneização(70). Um material chamado Glucono-Lactona é colocado na amostra funcionando como catalisador da dissociação do carbonato de cálcio. Comparações do sinal de amostras feitas com pequenas quantidades de cloreto de cálcio foram idênticas às produzidas com a técnica de homogeneização.

Foram feitas duas suposições para que a calibração seja válida: a evolução do processo de gelificação não altera significativamente a mobilidade local da água para as mesmas condição de concentração de cálcio reagido para o caso homogêneo. Como a reatividade das espécies químicas é desprezível também supõe-se que a concentração de radical seja uniforme em toda amostra.

A figura 2.11 apresenta uma curva de calibração para 3% de alginato de sódio com eixo horizontal representando a quantidade de cálcio reagida nas amostra de controle e o eixo vertical representa a amplitude do sinal de PEDRI em uma

concentração de radical de 2.5 mM.

2.7.3 Contraste por T_2 .

Na figura 2.12 temos imagens da gelificação do alginato de cálcio onde comparamos as imagens usando PEDRI com imagens sem irradiação eletrônica, mas com tempo entre Spin-Eco variável. À medida que aumentamos o valor t_{SE} um pouco do contraste entre a região gelificada e a região livre é recuperado. Contudo, a perda de sinal por relaxação spin-spin [T_2] inviabiliza, em 16 mT, imagens com t_{SE} acima de 200 ms.

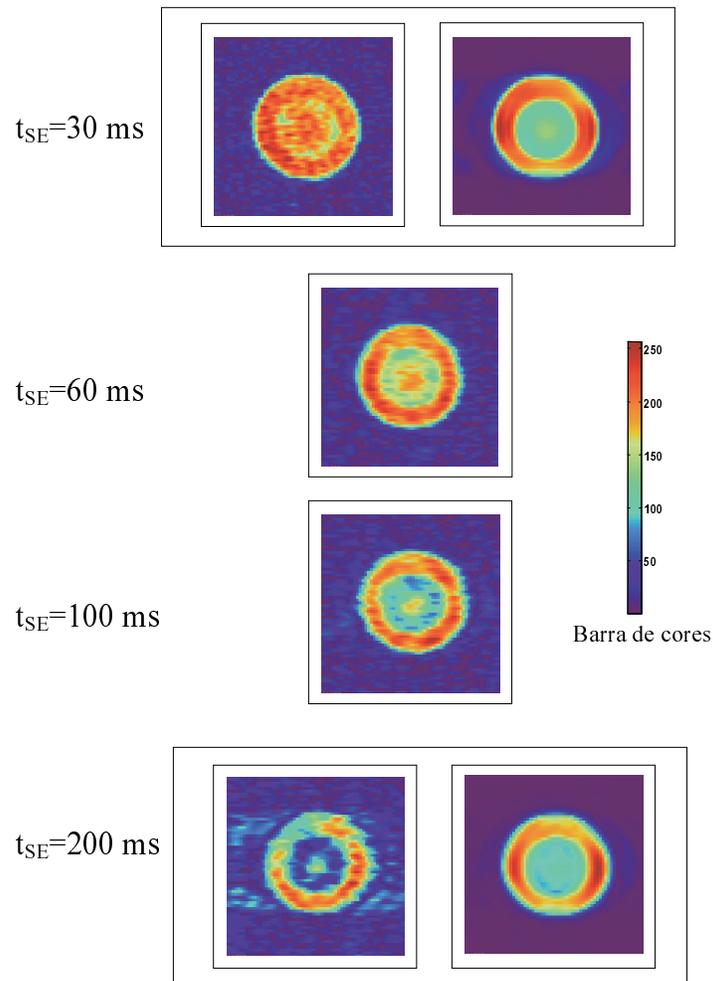


Figura 2.10: Imagens bidimensionais (ibid figura 2.9) do processo de gelificação do alginato de cálcio sem o efeito Overhauser. Ao lado [direita] das imagens com $t_{SE} = 30 \text{ ms}$ e 200 ms colocamos as imagens usando o ganho de magnetização por efeito Overhauser.

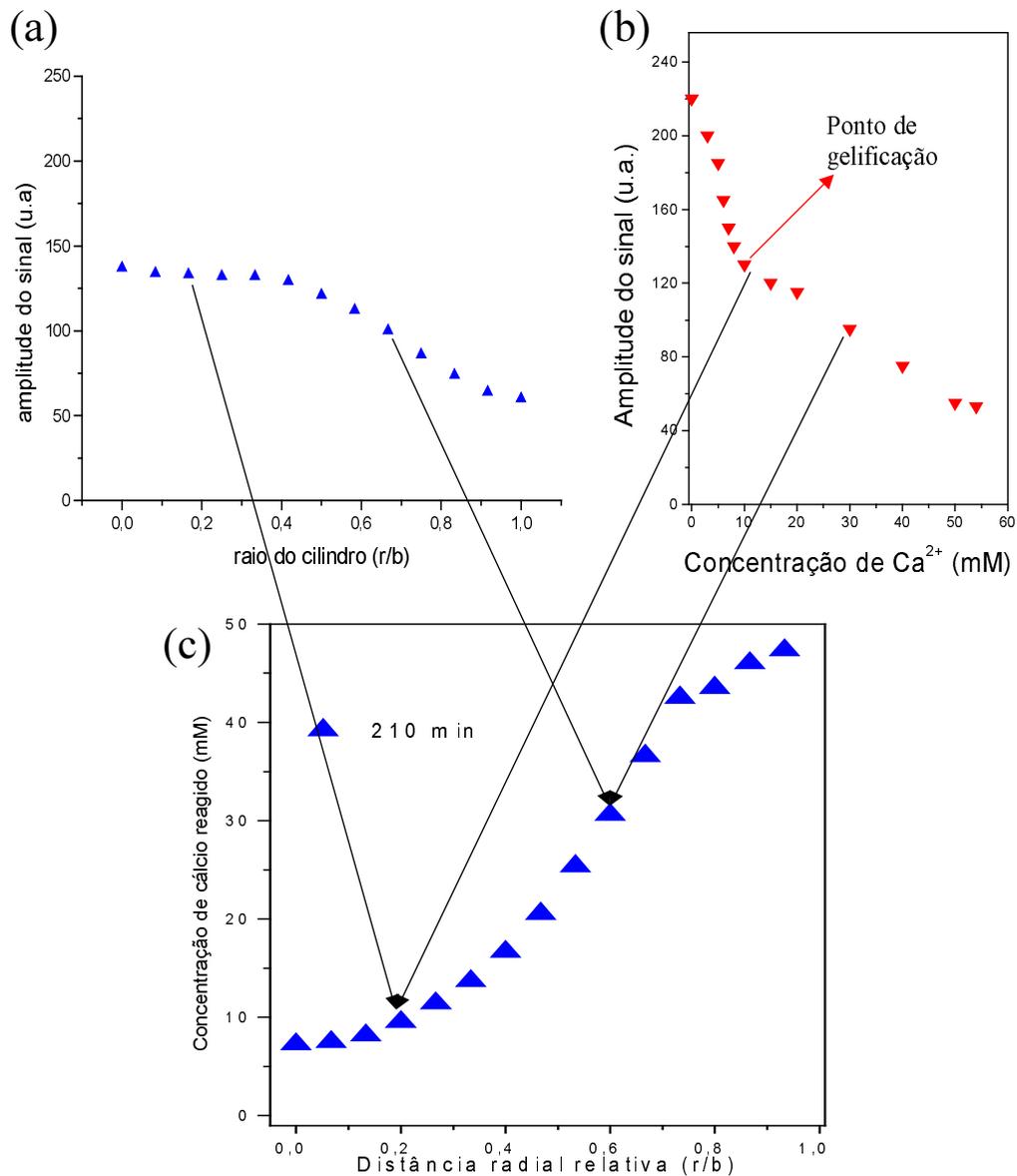


Figura 2.11: (a) perfil de uma imagem PEDRI do processo de gelificação para $t=210$ min. A concentração de alginato de sódio foi de 3% e a de radical trityl foi de 2.5 mM.; (b) amplitude do sinal de PEDRI como função da concentração de cálcio nas amostras de controle. A seta indica o ponto de gelificação a partir do qual o gel apresenta um aspecto macroscópico de sólido; (c) curva de concentração de cálcio reagido em função do raio normalizado do cilindro. As setas indicam os pontos do perfil (a) e do mapa de calibração (b) que usamos para obter (c).

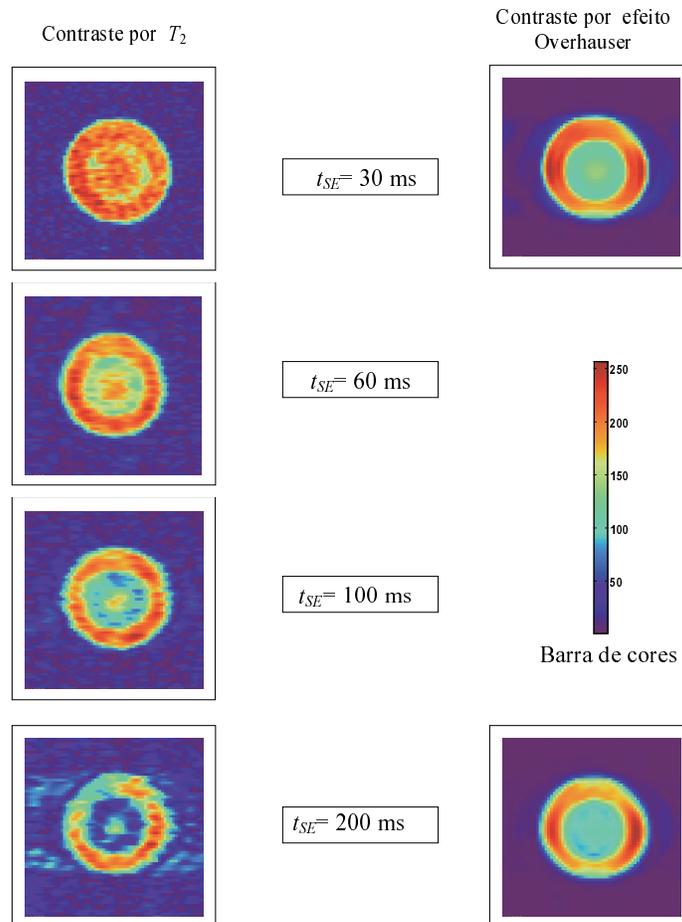


Figura 2.12: Imagens bidimensionais (ibid 2.9) do processo de gelificação do alginato de cálcio. Imagens variando t_{SE} sem contraste Overhauser comparadas no mesmo instante com imagens Overhauser com $t_{SE} = 30$ ms [imagens à direita].

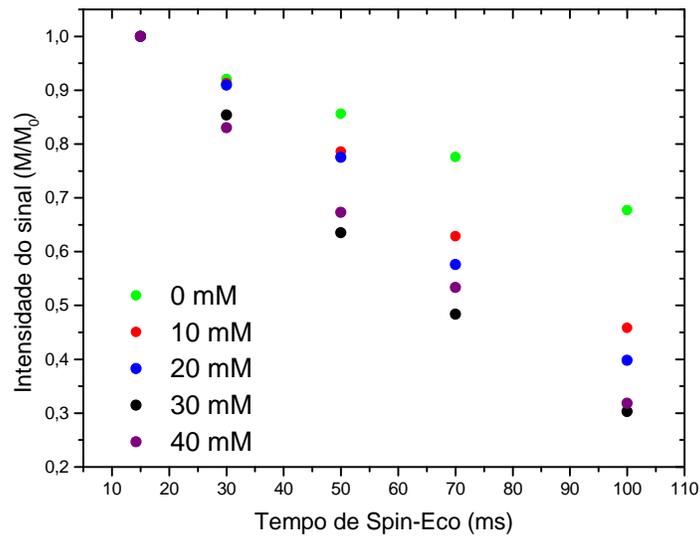


Figura 2.13: Medidas da magnetização normalizada em função do tempo de Spin-Eco para vários valores de concentração do cálcio reagido para amostras de controle homogêneas com 3% de alginato de sódio inicial. Medidas feitas em um campo de 7 T.

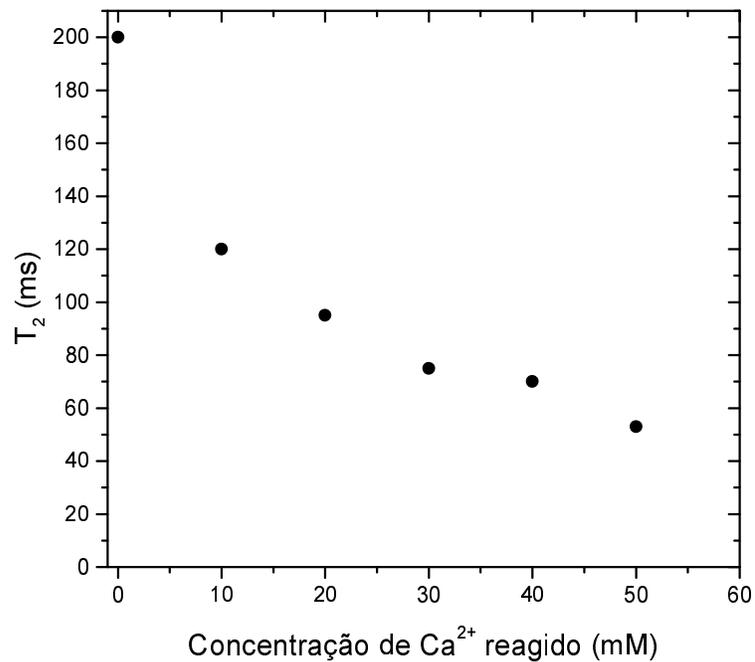


Figura 2.14: Medidas de T_2 em função da concentração de cálcio reagido para as amostras de controle homogêneas contendo 3% de alginato de sódio. As medidas de T_2 foram feitas usando a técnica de CPMG em um campo de 7 T.

2.8 Discussão.

Observando as imagens obtidas com a seqüência PEDRI fica evidente o aparecimento de uma frente de reação definida pela região com sinal mais atenuado. Além da frente de reação um decaimento do sinal no centro da membrana também é observado [ver figura 2.9]. O decaimento do sinal na parte central não é observado em imagens feitas usando contraste por T_2 .

Medidas de T_2 em função da quantidade de cálcio, em um campo de 7 T, para amostras homogêneas de alginato demonstraram sensibilidade inferior às curvas de calibração usando efeito Overhauser [ver figura 2.14]. Os valores de T_2 obtidos indicam que as imagens feitas com tempo t_{SE} de apenas 30 ms sem efeito Overhauser não devem possuir nenhum tipo de contraste entre as regiões livres e reagidas. Aumentando o tempo de spin-eco para 100 ms melhora-se o contraste por T_2 como previsto na curva de relaxação. As imagens feitas com esse nível de contraste reproduzem os resultados obtidos por Potter et al.(71) utilizando um campo de 2 T.

Contudo, as imagens com $t_{SE} = 100$ ms não apresentam o decaimento de sinal no centro da amostra. Observando as curvas de relaxação e de calibração podemos constatar que somente o contraste por efeito Overhauser permite acessar esses níveis pelo menos para a região investigada de t_{SE} entre 30 ms e 200 ms. Em campos fracos, valores maiores do tempo de spin-eco inviabilizaram as imagens. Até o valor de 200 ms o contraste por T_2 , além de acarretar uma perda considerável na relação sinal-ruído, não foi suficiente para observar o decaimento do sinal no centro do cilindro.

Medidas da intensidade do eco [ver figura 2.13] em um campo de 7 T também estão de acordo com os resultados obtidos nas imagens. Podemos ver que não há variação na intensidade do eco com a concentração de Cálcio para $t_{SE} = 30$ ms. Porém, ao aumentamos o valor de t_{SE} recuperamos o comportamento obtido para o mapeamento usando contraste Overhauser.

No gráfico de calibração para as imagens observamos uma queda rápida no valor da intensidade do ganho Overhauser no início do processo até 10 mM. Depois o decaimento pode ser considerado quase como linear em função da concentração

de cálcio reagido. Submetendo as amostras a ensaios de viscosidade verificamos que 10 mM é a concentração em que a viscosidade diverge. Esse ponto é chamado de ponto de gelificação(72). Imagens de calibração usando cloreto de cálcio para concentrações até 10 mM não diferem daquelas preparadas com o método descrito na seção 2.7.2.

Essa sensibilidade está associada à dependência do processo de transferência de polarização com a interação entre elétrons e prótons(32). A ressonância eletrônica está numa faixa de frequência bem distinta da dos prótons e dessa forma, pode produzir um contraste mais sensível a variações dessa interação comparado com o caso do contraste produzido por interação entre prótons somente.

de Sousa et al.(32) mostraram que o tempo de irradiação também oferece um parâmetro de controle do contraste. Em nossos experimentos, como os tempos de relaxação por T_1 variam pouco no processo de gelificação esse parâmetro a partir de um dado valor >500 ms não modifica o contraste do processo de gelificação.

2.9 Conclusões.

Imagens por ressonância magnética nuclear são uma arma importante na compreensão de problemas envolvendo transporte de massa e reações químicas. Em particular, a técnica de polarização dinâmica por efeito Overhauser produziu ganhos de sinal que permitiram realizar imagens do processo de gelificação do alginato de cálcio em um campo de apenas 16 mT(43; 44).

Comparando imagens feitas sob as mesmas condições, com e sem o pulso de saturação eletrônica, não é possível observar o processo de gelificação usando $t_{SE} = 30$ ms sem o contraste por efeito Overhauser. No caso em que não irradiamos a transição eletrônica, a distinção entre a parte reagida e a parte livre começa a aparecer somente para valores de $t_{SE} > 100$ ms. Nesse regime a RSR já começa a ficar comprometida.

Nas imagens Overhauser, um decaimento do sinal na parte central da amostra, juntamente com uma frente de reação a partir da fronteira membrana-reservatório externo, fica evidente ao longo de todo o processo. Esse decaimento central não é observado nas imagens em 16 mT sem RPE mesmo para $t_{SE} = 200$ ms e também

em imagens em campos intensos ($2T$) (71). A maior sensibilidade da imagem usando efeito Overhauser, nesse caso, é capaz de identificar a presença dos cátions de cálcio no centro da amostra em um intervalo temporal anterior aquele obtido com o método de relaxação por T_2 . Essa maior sensibilidade se deve ao fato de termos a participação de um sistema eletrônico que relaxa em um regime de frequências bem diferente daquele dos núcleos somente (32; 42).

Capítulo 3

Formação do alginato de cálcio e migração iônica na presença de macromoléculas

3.1 Introdução.

O cátion divalente Ca^{+2} na presença do alginato de sódio estabelece ligações entre blocos distintos do polímero cada um formado por um agrupamento de unidades básicas características. Os íons de sódio de blocos distintos são substituídos aos pares por um único cátion de cálcio dando origem a estrutura do gel. Um modelo levando em conta uma espécie de efeito cooperativo na reação química entre cátions e alginato juntamente com a difusão associada foi usado por Mikkelsen et al.(73) para explicar o processo de formação do hidrogel. Um arranjo em forma de caixa de ovos (egg box) foi proposto para explicar a estrutura do composto onde uma vez que o cálcio tenha reagido com a primeira unidade **G**, as outras unidades se alinham facilitando a ligação com os outros cátions.

Quando duas espécies iônicas, separadas espacialmente, são colocadas em contato, a interface de reação pode se tornar uma membrana virtual com tempos de seleção distintos para diferentes tipos de íons envolvidos no processo. Como consequência, o transporte através da fronteira de reação, assim com a própria reação química pode sofrer ação não só da difusão, mas para o caso de sistemas carregados, dos campos elétricos induzidos.

A presença de macromoléculas carregadas no processo de formação do hidrogel pode produzir efeitos importantes na distribuição de densidade final(74). Um efeito semelhante de migração iônica na presença de forças elétricas é encontrado em física de semicondutores(75) e também no estudo em plantas dos métodos de absorção de nutrientes do solo(37). Esse efeito aparentemente desprezado no estudo da formação do alginato de cálcio será utilizado para explicar os perfis das imagens apresentadas no capítulo 2.

3.1.1 Proposta do capítulo.

Neste capítulo apresentaremos a teoria básica do fenômeno de transporte iônico na presença de macromoléculas confinadas em uma membrana semipermeável. A membrana usada é uma membrana simples dessas usadas para diálise. Ela não participa do processo a não ser pela seletividade imposta em função do peso molecular. Membranas mais sofisticadas com propriedades seletivas sensíveis a agentes externos como aplicação de campo, temperatura, luz, ou reagentes químicos, não serão tratadas aqui.

A teoria proposta engloba o fenômeno de difusão tanto por gradientes de concentração quanto também por forças eletrostáticas. Ambos os fenômenos serão introduzidos em um conjunto de equações diferenciais que, após resolvidas numericamente, serão usadas para explicar os perfis de concentração das imagens Overhauser do processo de gelificação do alginato.

Em seguida vamos tratar especificamente o problema do aumento efetivo da difusão na presença de uma macromolécula. Para isso usaremos um modelo semelhante ao da gelificação do alginato, mas sem levar em conta a reação química. As condições para o aumento do transporte com relação à carga do íon, a magnitude desse aumento e sua dependência com relação a diversos parâmetros serão discutidas.

Por meio da calibração construímos os perfis de concentração do cálcio reagido na região interior à membrana que contém o polímero de alginato de sódio. Através desses perfis obtemos informação sobre as características da reação química, dos efeitos difusivos e de transporte elétrico envolvidos no processo de gelificação.

3.2 Teoria de formação do alginato de cálcio.

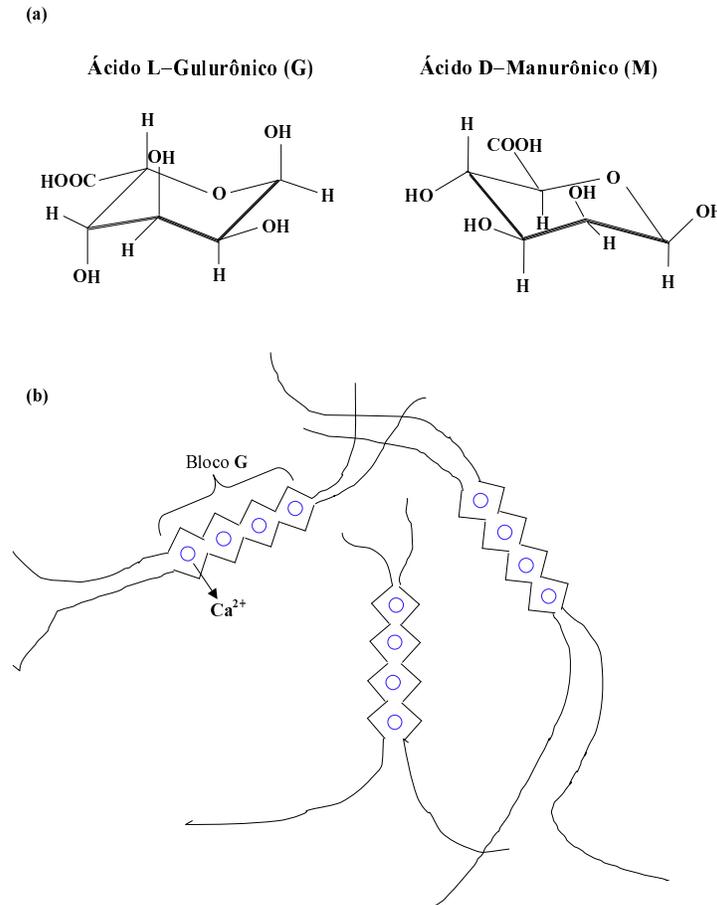


Figura 3.1: (a) Ácidos constituintes do alginato de sódio. (b) Estrutura do tipo caixa de ovos (eggbox) usada para descrever a formação do alginato de cálcio.

O alginato de sódio é um copolímero extraído de algas marinhas e também de algumas bactérias formado por dois tipos de unidades poliméricas: os monoratos **M** e os guloratos **G**(76). Essas unidades formam blocos de três tipos: os blocos **M**, blocos **G** e blocos **MG**. As concentrações relativas desses blocos assim como o peso molecular do alginato irão depender da fonte que o originou. As propriedades físico-químicas e imunológicas do gel formado irão depender fortemente das razões entre esses blocos onde somente os do tipo **G** são capazes de reagir na presença de cátions bivalentes. Os íons Ca^{2+} produzem ligações fortes entre os monômeros

guloratos inicialmente separados em solução. À medida que as ligações ocorrem, a viscosidade do meio vai mudando até divergir na região de gelificação.

A ligação inicial entre o alginato e o íon de cálcio é de segunda ordem na concentração do alginato e de primeira ordem na concentração do cálcio. Podemos traduzir isso na seguinte equação cinética:

$$\frac{d}{dt} a^{(2)} = -2k_{11}ca^{(1)}a^{(1)}, \quad (3.1)$$

onde $a^{(1)}$ é a concentração das moléculas de alginato livres, $a^{(2)}$ é a concentração do alginato ligado que chamaremos de gel, e (c) é a concentração de cálcio. k representa a constante de reação para o alginato e o cálcio.

Para amostras concentradas podemos ter ligações entre alginato já ligado (gel) e o alginato livre. Dessa forma temos que introduzir mais termos na equação 3.1. Uma expressão geral para taxa de reação é dada por

$$\frac{d}{dt} a^{(m+n)} = -2k_{mn}ca^{(m)}a^{(n)}, \quad (3.2)$$

onde m e n representam n-meros e m-meros que entram em contato formando um $[m+n]$ -mero. A taxa de reação k_{mn} depende no número de monômeros em cada bloco. Vamos estudar sistemas bem diluídos em água (3% em peso) de modo que a aproximação em 3.3 com uma única taxa k de reação se torna razoável. Logo, dois blocos de alginato formando um dímero já será considerado gel. As próximas reações entre dímeros e outros blocos serão desprezadas.

A taxa de reação para o cálcio é dada por

$$\frac{d}{dt} c = -N_c k c a^{(1)} a^{(1)}, \quad (3.3)$$

onde consideramos o termo $N_c > 1$ como o número de cátions envolvidos na formação de um bloco \mathbf{G} . Esse parâmetro é uma característica do processo de reação coletiva proposto por Mikkelsen et al.(73) onde só há gasto na reação entre

o primeiro cátion e os dois blocos de alginato. Todos os íons de cálcio que entram na reação subsequente dentro de um mesmo bloco fazem isso de maneira coletiva. Valores de N_c em torno de 50 são tipicamente usados.

3.3 Formação do gel e transporte através de membranas.

3.3.1 Alginato de cálcio.

As equações de difusão a partir da lei de Fick são bem conhecidas e usam a hipótese de que o fluxo de partículas é proporcional ao gradiente de concentração, $\mathbf{J} = -D\nabla C$. D é o coeficiente de difusão. Essa estrutura não leva em conta a presença de cargas elétricas. Numa primeira aproximação (caso diluído) podemos considerar o fluxo de partículas, além de proporcional ao gradiente de concentração, também proporcional ao campo elétrico local. Rescrevemos o fluxo \mathbf{J} como

$$\mathbf{J} = -D \left[\nabla C - zq \left(\frac{F}{R\Theta} \right) C\mathbf{E} \right], \quad (3.4)$$

onde z é o número de valência associado à carga iônica q , F é a constante de Faraday, Θ é a temperatura absoluta, R a constante universal dos gases, e \mathbf{E} o campo elétrico local (ver apêndice A). Usando ainda a equação para conservação de massa $\partial C/\partial t = -\nabla \cdot \mathbf{J}$ obtemos a expressão

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D\nabla^2 C - zqD \left(\frac{F}{R\Theta} \right) \nabla \cdot [C\mathbf{E}], \quad (3.5)$$

O campo elétrico pode ser obtido usando a derivada temporal da equação de Poisson

$$\frac{\partial \mathbf{E}}{\partial t} = -\frac{zF}{\epsilon} \mathbf{J} \quad (3.6)$$

onde ϵ é a permissividade elétrica do meio. As expressões 3.4, 3.5 e 3.6 formam um conjunto de equações para as três incógnitas \mathbf{J} , C e \mathbf{E} (ver apêndice A).

Para o caso de um sistema com simetria azimutal podemos rescrever a equação 3.4 de uma forma adimensional como

$$J_q = -d_q \left[\frac{\partial C_q}{\partial R} - z_q C_q \Xi \right], \quad (q = 1, \dots, 5) \quad (3.7)$$

onde $d_q = D_q/D_1$, é o coeficiente de difusão da espécie q com relação ao íon de referência $q = 1$, $R = r/b$ é a razão entre as distâncias radiais, a partir do centro, de um ponto na região interior a membrana ($r < b$) onde está confinado o alginato e o raio b da membrana. O termo $\Xi = (EFb)/\Theta R$ define o campo elétrico adimensional. $C_q = c_q/c_2(0)$ indica as concentrações adimensionais relativas a concentração inicial da espécie de referência caracterizada por $q = 2$. O parâmetro q pode variar de 1 até 5 e representa respectivamente: cálcio, alginato livre, gel (alginato de cálcio), sódio, e cloro com as seguintes valências para as cargas associadas z_q : +2, -1, 0, +1 e -1. O coeficiente de difusão d_3 do gel será considerado nulo.

Além do efeito elétrico, o processo em questão envolve uma reação química(73). Esta reação, especificamente entre os íons Ca^{+2} e o alginato livre com carga -1, acontece de maneira instantânea e é bem descrita através de uma constante de reação k' com taxa de reação de primeira ordem para a concentração de cálcio e de segunda ordem para a concentração de alginato. Embora as predições do modelo possam ter aplicações gerais o mesmo foi construído para descrever o processo de gelificação de uma solução aquosa de alginato de sódio na presença do sal de CaCl_2 . Consideramos a membrana permeável ao sódio, cloro e cálcio e impermeável às cadeias poliméricas do alginato de sódio e também ao gel formado pelas ligações dessas unidades através dos íons de cálcio.

Podemos escrever, para o sistema em questão, um conjunto de equações diferenciais não-lineares idealizadas a partir das equações de Nernst-Planck e Poisson (**NPP**)(77):

$$\frac{\partial C_1}{\partial T} = -\frac{1}{R} \frac{\partial}{\partial R} (R J_1) - N_c K C_1 C_2^2, \quad (3.8)$$

$$\frac{\partial C_2}{\partial T} = -\frac{1}{R} \frac{\partial}{\partial R} (R J_2) - 2K C_1 C_2^2, \quad (3.9)$$

$$\frac{\partial C_3}{\partial T} = +2K C_1 C_2^2, \quad (3.10)$$

$$\frac{\partial C_q}{\partial T} = -\frac{1}{R} \frac{\partial}{\partial R} (R J_q), \quad (q = 4, 5) \quad (3.11)$$

$$\frac{\partial \Xi}{\partial T} = -K_d \sum_{q=1}^5 z_q J_q, \quad (3.12)$$

com $T = (tD_1/b^2)$ representando o tempo adimensional e $K_d = (Fb)^2 c_2(0)/\epsilon \Theta R$, onde ϵ é a permissividade do meio. A taxa de reação k' ($M^{-2} \text{sec}^{-1}$) é representada nas equações 3.8-3.10 pela quantidade adimensional $K = k'b^2 c_2(0)^2/D_1$. As seguintes condições iniciais são aplicadas: $C_1(R, 0) = 0$, $C_2(R, 0) = 1$, $C_3(R, 0) = 0$, $C_4(R, 0) = 1$, $C_5(R, 0) = 0$, e $\Xi(R, 0) = 0$, $\forall R$. As condições de contorno são definidas fazendo $J_q(R = 0, T) = 0 \forall T$ no centro da membrana. Na fronteira entre a membrana e o reservatório de CaCl_2 , onde temos $R = 1$, os seguintes valores de J_q são dados:

$$J_q(1, T) = -K_{tq} [C_{qb} - C_q(1, T)], \quad (q = 1, \dots, 5) \quad (3.13)$$

C_{qb} representa a concentração adimensional das espécies no reservatório externo à membrana. Para o nosso experimento em particular onde o banho externo contém somente CaCl_2 temos $C_{1b} = C_0$, $C_{5b} = 2C_0$, com $C_{qb} = 0$ para os outros valores de q . O parâmetro adimensional $K_{tq} = k_{tq}b/D_1$ representa a constante de trânsito através da membrana para cada uma das espécies q . Devido à impermeabilidade ao alginato livre e ao gel, tomamos k_{t2} e k_{t3} nulos, respectivamente.

Na figura 3.2 temos os perfis de concentração do cálcio reagido no processo de formação do gel, obtidos a partir das calibrações para as imagens Overhauser, para o intervalo de tempo entre 15 e 300 minutos. As curvas contínuas representam a

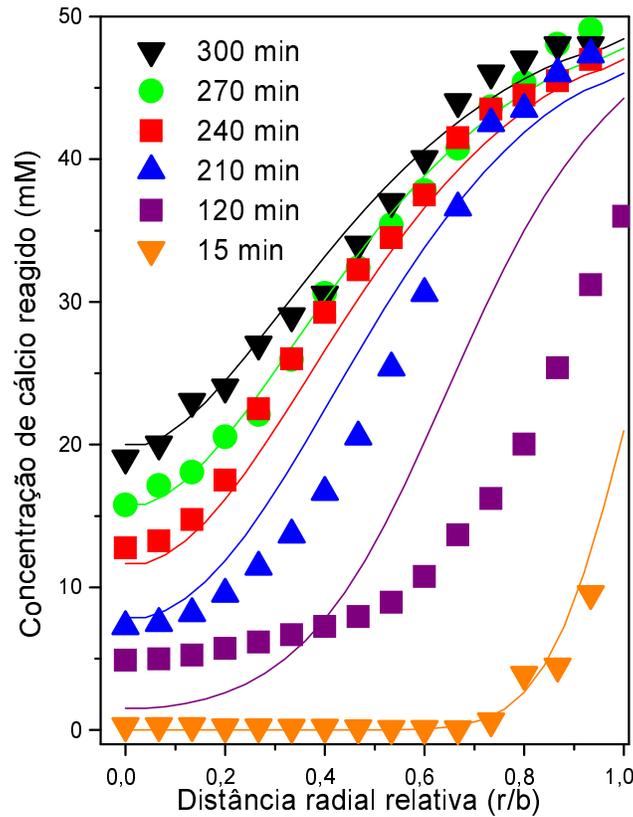


Figura 3.2: Perfis experimentais de concentração do cálcio reagido no processo de formação do alginato de cálcio. As curvas contínuas representam a concentração $C_3(R, T)/2$ do cálcio reagido no processo de formação do gel calculadas a partir da teoria.

solução das equações do tipo NPP para a concentração de gel formado levando em conta o efeito de difusão, reação química, e migração elétrica. Usamos um coeficiente de difusão $D_1 = 0.43 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$. O valor de $k' = 6 \times 10^{-2} \text{ M}^{-2}\text{s}^{-1}$, $d_4 = 1.6$, $d_5 = 2.6$. A constante de trânsito usada é $k_{tq} = 10^4 \text{ cm/s}$ menos para o alginato e para o gel ($k_{tq} = 0$). Para obter a concentração de cálcio reagido dividimos a concentração de gel formado $C_3(R, T)$ por 2.

Na figura 3.3 repetimos os perfis de 3.2 somente para tempos bem após o início da reação. As curvas em pontilhado usam os mesmos parâmetros das curvas contínuas mas tomando nulas as cargas elétricas de todas as espécies envolvidas.

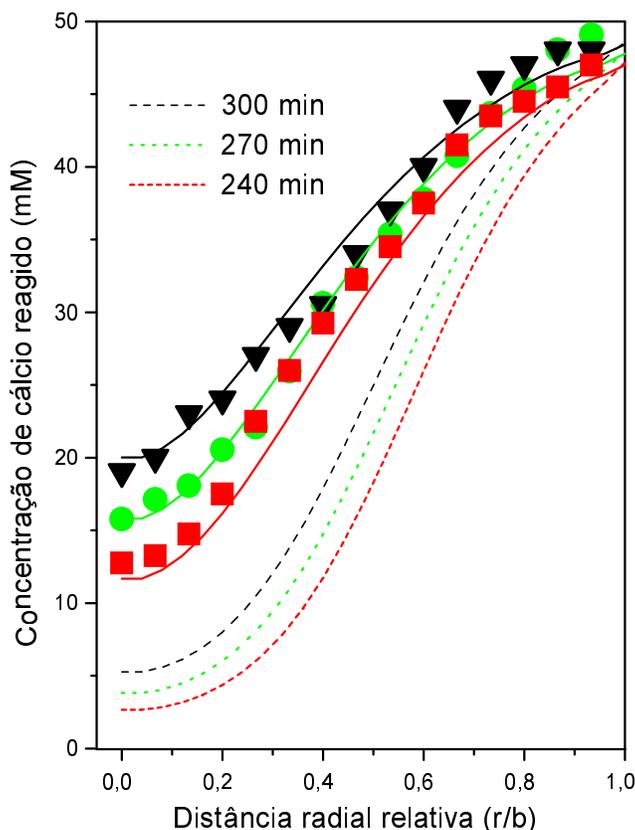


Figura 3.3: Perfis experimentais de concentração do cálcio reagido no processo de formação do alginato de cálcio. As curvas contínuas são da concentração $C_3(R, T)/2$ do cálcio reagido no processo de formação do gel calculadas a partir da teoria. As curvas pontilhadas indicam a situação onde se considera no modelo nulas as cargas das espécies químicas envolvidas no processo.

3.3.2 Efeito de migração na presença de macromoléculas.

Uma ilustração mais clara do processo de migração facilitada pode ser obtido fazendo $z_q = 0$ para todas as cargas iônicas na equação 3.7, assim removendo efeitos elétricos, mas mantendo $D_1 = 0.43 \times 10^{-5} \text{cm}^2/\text{s}$ assim como os valores dos demais parâmetros. Uma redução substancial do valor calculado para concentração de gel é observada como indicado nas curvas pontilhadas do gráfico da figura 3.3.

A presença de uma reação química garante parcialmente a condição de que a descrição dos efeitos elétricos, simplesmente pelo ganho no coeficiente de di-

fusão, pode ser apenas qualitativamente correto. Esse aspecto e as condições para ganho positivo ou negativo podem ser visualizados colocando $K = 0$ nas equações 3.8–3.10.

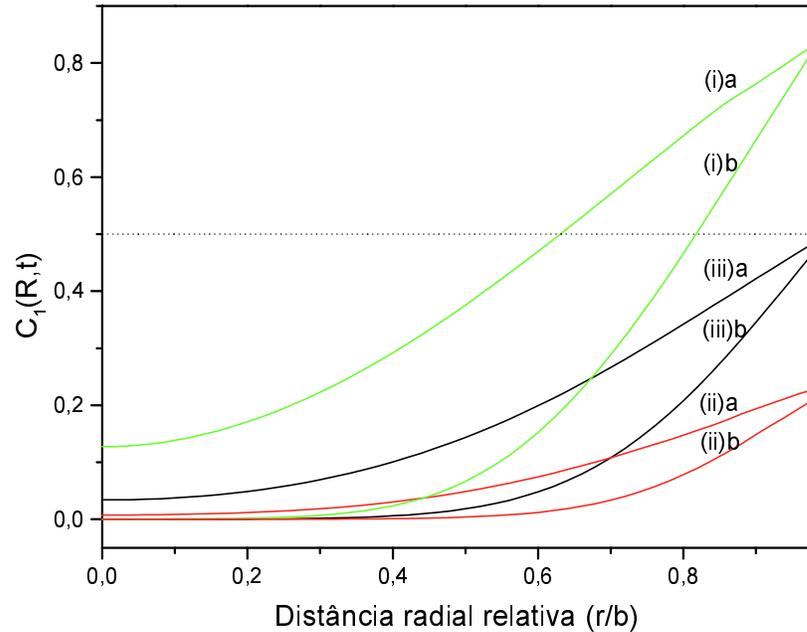


Figura 3.4: Perfis de concentração $C_1(R, T)$ do cátion bivalente, na ausência de reação química, com $C_0 = 0.5$ para os tempos adimensionais: (a) $T = 75 \times 10^{-3}$ e (b) $T = 25 \times 10^{-3}$. Caso (i): cadeia polimérica carregada negativamente com $z_2 = -1$, $z_4 = 1$ e $d_4 = 1.6$, $d_5 = 2.6$ Caso (ii): cadeia polimérica carregada positivamente com $z_2 = 1$, $z_4 = -1$ e $d_4 = 3.6$, $d_5 = 1.6$ Caso (iii): todas as cargas iguais a zero.

A figura 3.4 mostra perfis de concentração $C_1(R, T)$ para um íon bivalente, cuja concentração no banho externo agora é considerada como tendo o valor constante $C_0 = 0.5$. Três configurações diferentes foram examinadas: (i) $K = 0$, com $z_2 = -1$, $z_4 = 1$, $d_4 = 1.6$, e $d_5 = 2.6$, como no exemplo anterior. (ii) Idêntica a (i) mas com a espécie de menor coeficiente de difusão tendo carga positiva ($z_2 = 1$, $z_4 = -1$) e os seguintes valores de coeficientes de difusão: $d_4 = 3.6$ e $d_5 = 1.6$. Essa escolha em particular, juntamente com a inversão de carga, promove uma mudança no sinal do campo elétrico radial. (iii) O mesmo que (i) mas sem carga ($z_q = 0$).

A figura 3.5 mostra os campos elétricos para os mesmos tempos e condições

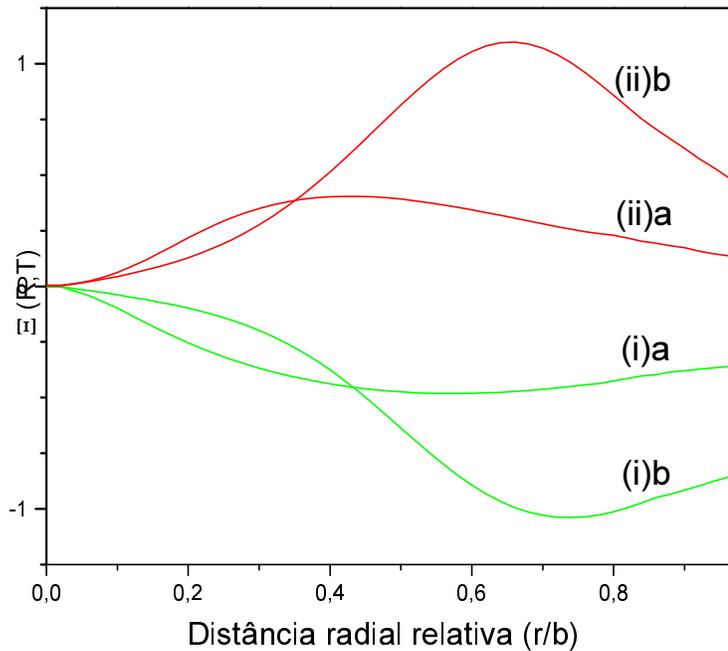


Figura 3.5: Perfis de campo elétrico radial adimensional $\Xi(R, T)$ na ausência de reação química, com $C_0 = 0.5$, para os seguintes tempos adimensionais: (a) $T = 75 \times 10^{-3}$ e (b) $T = 25 \times 10^{-3}$. Caso (i): cadeia polimérica carregada negativamente com $z_2 = -1$, $z_4 = 1$ e $d_4 = 1.6$, $d_5 = 2.6$ Caso (ii): cadeia polimérica carregada positivamente com $z_2 = 1$, $z_4 = -1$ e $d_4 = 3.6$, $d_5 = 1.6$

dos perfis de concentrações do cátion divalente da figura 3.4. Nela estão indicados os campos elétricos simétricos com relação a troca de carga da macromolécula e variações no valor dos coeficientes de difusão d_4 e d_5 de modo a inverter o fluxo descrito pela equação 3.7.

A figura 3.6 mostra o potencial elétrico medido entre o centro da membrana contendo alginato de sódio e o reservatório contendo o sal de CaCl_2 na fase inicial do processo de gelificação do alginato.

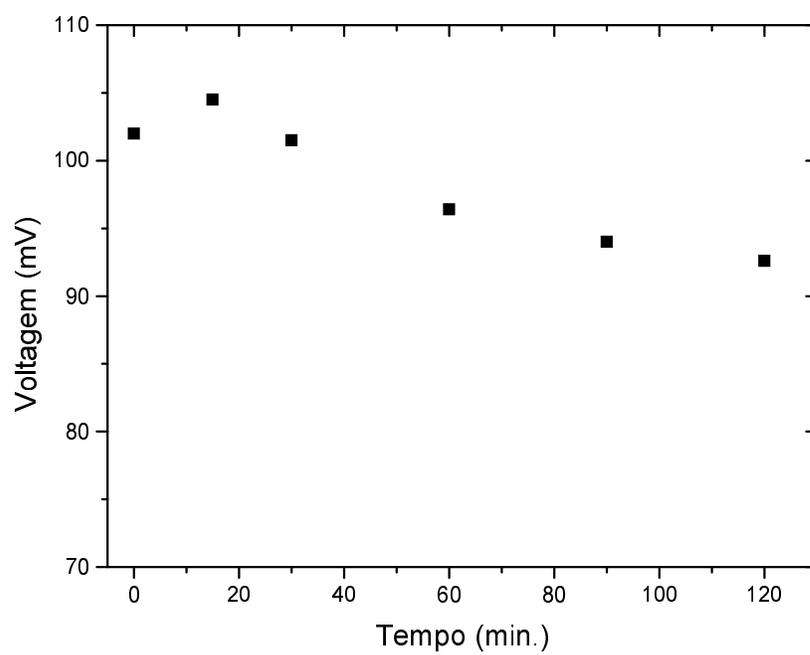


Figura 3.6: Tensão medida entre o centro da membrana contendo o alginato de sódio e o reservatório externo contendo o sal de CaCl_2 em função do tempo de gelificação.

3.4 Discussão.

Equações diferenciais não-lineares envolvendo reações químicas e difusão são usadas na explicação de uma série de fenômenos. Variações nos parâmetros de controle nessas equações podem produzir efeitos não triviais que podem ser observados experimentalmente.

Em vez de explorar um intervalo grande de parâmetros, nos limitamos ao intervalo de parâmetros das equações 3.8–3.12 que fossem capazes de dar uma descrição realista do processo de gelificação em questão. Nesse regime, o único efeito importante não descrito nas equações são as correntes de convecção causadas pelo fluxo osmótico do solvente. Embora isso não seja um problema intratável(78), incluir o arraste osmótico em nosso modelo poderia complicar bastante a análise. O movimento coletivo de um fluido é capaz de gerar perfis de concentração não-fickianos(42; 79), que são bem evidentes nos perfis obtidos pelas imagens Overhauser para os estágios iniciais do processo de gelificação. Entretanto, à medida que acontece a gelificação, o efeito de fluxo coletivo diminui até se tornar desprezível para $t > 120$ min.

As equações de NPP contêm duas escalas espaciais bem distintas. Uma é determinada pelo tamanho do cilindro b , enquanto que o comprimento de Debye $(\epsilon R\Theta/c_2(0)F^2)^{1/2} = b/\sqrt{K_d}$ determina a outra. Essa última controla a evolução da bicamada adjacente à membrana, que por ser muito estreita fica inacessível à resolução disponível.

Vários dos parâmetros envolvidos nas equações 3.8-3.12, como K_d por exemplo, não produzem mudanças significativas nos perfis calculados pelo menos para região acessível à PEDRI. Qualquer incerteza com relação ao valor exato da permissividade dielétrica ϵ comparada com a água pura não produz mudanças significativas. Supõe-se ainda que o processo de gelificação não seja limitado pelo tempo de trânsito das espécies químicas permeáveis à membrana externa. Assim fazendo o parâmetro de trânsito $K_{tq} \gg 1$, além do trânsito livre, os perfis da região acessível, para a escala de tempo de interesse, tornam-se insensíveis a diferenças no valor de K_{tq} para as diversas espécies desde que essas taxas possuam valores suficientemente elevados.

Sob essas condições, dos 8 parâmetros ajustáveis nas equações 3.8–3.12 somente 4 são relevantes: o coeficiente de difusão D_1 do cálcio, a taxa de reação química k' , e os coeficientes de difusão relativos d_4 e d_5 , das espécies iônicas restantes. De todos os parâmetros, os coeficientes de difusão d_4 e d_5 são os que apresentam maior controle sobre o efeito de migração iônica.

A solução numérica das equações 3.8-3.12 está baseada no procedimento proposto por Brumleve et al.(77). Usando o método de Newton-Raphson, um esquema implícito de solução é usado iterativamente para resolver por diferenças finitas uma dada matriz Jacobiana (ver apêndice A.2). Um valor único $k_{tq} \approx 10^4 \text{cm/s}$ foi usado para todas as constantes de trânsito, exceto claro, para k_{t2} , onde usamos um valor próximo de zero. Supondo também uma cadeia polimérica com coeficiente de difusão $d_2 \lesssim 10^{-3}$, apenas os coeficientes de difusão, relativos ao cálcio, dos íons de cloro e sódio precisam ser especificados. Os coeficientes de difusão $d_4 = 1.6$ e $d_5 = 2.6$ dos íons de cloro e de sódio foram usados nas mesmas razões do caso diluído(80).

A dinâmica do processo de gelificação é obtida a partir da concentração do cálcio no interior da membrana. Na verdade não nos interessa a quantidade de cálcio total obtida a partir da equação 3.8 mas somente aquela reagida com o alginato. O valor calculado para os perfis do cálcio reagido é feito considerando a concentração do gel obtida a partir de 3.10 dividida pelo fator estequiométrico 2.

Embora fluxos osmóticos ainda estejam presentes para $t = 210$ min, o efeito dominante no regime de entrada dos íons é a difusão, a reação química e as interações coulombianas. Além disso, em vez do grande coeficiente de difusão efetivo $0.81 \times 10^{-5} \text{cm}^2/\text{s}$ necessário para o caso onde o efeito elétrico não é considerado, os valores teóricos para o ajuste dos perfis da figura 3.3 necessitam de um valor $D_1 = 0.43 \times 10^{-5} \text{cm}^2/\text{s}$. Nessas condições as interações coulombianas são responsáveis pelo aumento da difusão por um fator de 1.9. O resultado está bem próximo do valor calculado por Potter et al.(71) para o coeficiente de difusão da frente de onda da reação. Valores maiores para a taxa de migração do Ca^{2+} podem ser obtidas escolhendo valores especiais de d_4 e d_5 , todavia um aumento dessa mesma magnitude persiste para qualquer escolha razoável desses parâme-

tros. A concentração do cálcio reagido sem o efeito elétrico usando o mesmo valor $D_1 = 0.43 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$ está no quadro menor da figura 3.3 para efeitos de comparação.

O efeito de aumento da concentração no interior da membrana para o caso $K = 0$ é esperado como consequência do equilíbrio de Donnan(81), que está implicitamente colocado na equações 3.8 e 3.12. Assim, a descrição dos perfis de concentrações (i) e (ii) da figura 3.4, por meio de um coeficiente de difusão efetivo, pode ser considerada como inadequada na ausência de reação química. Mesmo assim, o efeito geral do fenômeno pode ser caracterizado como um ganho ou uma perda global da migração.

A figura 3.5 mostra valores do campo elétrico radial adimensional $\Xi(R, T)$, que para as dimensões típicas envolvidas em nossos experimentos, correspondem a campos elétricos da ordem de $36 \times \Xi$ (mV/cm). Observando as duas configurações na figura 3.5, podemos verificar nos casos (i) e (ii) que os valores escolhidos para d_4 e d_5 , assim como a inversão de cargas, alteram o balanço entre cargas e difusão mediado pela equação 3.7 de modo a produzir uma inversão quase perfeita do valor do campo elétrico radial. Os resultados também demonstram a correlação entre o sinal do campo elétrico e o aumento ou diminuição no efeito de migração. Os casos (a) e (b) indicam dois instantes T adimensionais. O máximo de $\Xi(R, T)$ indica a região de máximo do gradiente de concentração das espécies químicas envolvidas. À medida que o tempo avança esse máximo se desloca para o interior da membrana. O decaimento do pico está associado a situação de equilíbrio $\Xi = 0$.

A presença do campo elétrico pôde ser confirmada de maneira qualitativa medindo-se o potencial elétrico entre o centro do cilindro e a membrana durante o processo de gelificação do alginato (ver figura 3.6). Essa medida é feita usando técnicas de eletroquímica padrão. Em um arranjo experimental idêntico ao usado para produzir as imagens da gelificação usamos um potencímetro onde uma de suas placas é colocada no centro da membrana e o outro na parte de fora da membrana na região contendo o sal de CaCl_2 . Verificamos que a intensidade do potencial calculado a partir da integração do campo elétrico $\Xi(R, T)$ ao longo da membrana fornece um potencial da mesma ordem daquele medido com o potencímetro.

3.5 Conclusões.

Especulou-se que a dinâmica de gelificação das cadeias poliméricas de alginato quando em contato com íons de cálcio poderia ser descrita por equações envolvendo apenas difusão e reação química. Contudo, IRMN usando o efeito Overhauser sugere não ser bem esse o caso.

Nas amostras de alginato de sódio utilizadas não foi possível encontrar nenhum efeito de processos coletivos associados à reação entre os íons de cálcio e o alginato sugeridos na referência (73). Em um modelo levando em conta somente a difusão e reação química(74) um valor de $N_c = 1$, coincidente com a previsão estequiométrica, foi suficiente para ajustar os perfis de concentração. Verificamos que os perfis de concentração do gel obtidos numericamente levando em conta o efeito difusivo e de reação química não produzem valores razoáveis para os coeficientes de difusão do cátion cálcio envolvido no processo de formação do alginato de cálcio.

A implementação de um modelo levando em conta o efeito das cargas elétricas das espécies químicas envolvidas no processo foi a nossa proposta para tratar o problema de uma forma mais realista(82). Concluímos que soluções das equações de Nernst-Planck-Poisson para um modelo simples, como o apresentado aqui, podem explicar uma série de resultados experimentais, cuja interpretação, em alguns casos, tem gerado uma certa controvérsia(83). Observamos que um ganho considerável ou diminuição na migração dos íons pode ocorrer, em uma situação de não-equilíbrio, quando moléculas carregadas de baixo coeficiente de difusão estão presentes. Em alguns casos, como na situação onde também ocorre uma reação química, o fenômeno pode ser caracterizado por um coeficiente de difusão efetivo de valor maior ou menor dependendo do balanço de cargas entre as espécies carregadas envolvidas.

Para cadeias poliméricas de alginato de sódio carregadas eletricamente, por exemplo, um ganho positivo de um fator 2 para o coeficiente de difusão dos íons Ca^{2+} foi necessário para explicar os perfis de concentração obtidos. Valores de ganho semelhantes são obtido em estudos de exclusão de ânions na presença de certos polissacarídeos encontrados no solo e em alguns microorganismos(77; 84).

Produzimos perfis de concentração de um dado cátion em um sistema contendo espécies carregadas eletricamente, sendo uma delas uma macromolécula ($D \approx 0$), e na ausência de reação química. Analisando esses perfis observamos como o efeito da presença da macomolécula carregada é importante no processo de transporte através da membrana semipermeável.

Observamos que a diminuição do efeito de pressão osmótica coincide com o aparecimento da rede polimérica para $t > 120$ min. A estrutura do gel atua no papel de restaurador do processo Fickiano descrito a partir de um coeficiente de difusão. Mesmo com a diminuição natural dos efeitos elétricos com o tempo, o aparecimento da rede polimérica também contribui para o ajuste do efeito em termos do coeficiente de difusão efetivo. Para o caso da evolução espaço-temporal dos perfis de concentração na ausência de reação química, o conceito de coeficiente de difusão efetivo torna-se sem significado e só ajuda na caracterização global do efeito de migração. Na figura 3.4 observamos para o caso (i) que a concentração no interior da membrana, devido a efeitos puramente elétricos, chega a ser maior do que o valor no reservatório externo.

Capítulo 4

Papel da difusão em espectros de RMN bidimensional obtidos a partir da seqüência CRAZED

4.1 Introdução.

Em espectroscopia por RMN a evolução temporal da magnetização nuclear é dada pela relação de Larmor $\omega = \gamma B$, onde B é o campo magnético atuando localmente na amostra e γ é o fator giromagnético dependente da espécie nuclear observada. Considerar o campo magnético B_0 , aplicado externamente, como sendo o único campo em questão é uma boa aproximação para tratar a maioria dos experimentos. Todavia, sob a ação de B_0 , os próprios spins presentes na amostra, agindo coletivamente, são capazes de gerar campos magnéticos que, dependendo da seqüência de pulsos usada para manipulá-los, podem influenciar na posição ou forma de linha do espectro de ressonância(85).

O campo dipolar gerado pela magnetização da própria amostra em alguns casos produz efeitos importantes no espectro de ressonância fazendo com que a expressão para a frequência de Larmor seja escrita como $\omega = \gamma(B_0 + B_d)$, onde B_d é o campo dipolar gerado pela amostra na presença de B_0 . O campo dipolar é função da magnetização dos spins fazendo com que um termo não-linear surja na equação de Bloch quando o mesmo é levado em conta. A ação dos pulsos de RF pode modificar a direção da magnetização e por conseguinte a direção de B_d

fazendo com que a freqüência de ressonância seja agora uma função temporal. Como veremos logo mais, essa dependência temporal da freqüência faz com que uma expansão em harmônicos de Fourier seja necessária para representar sua evolução.

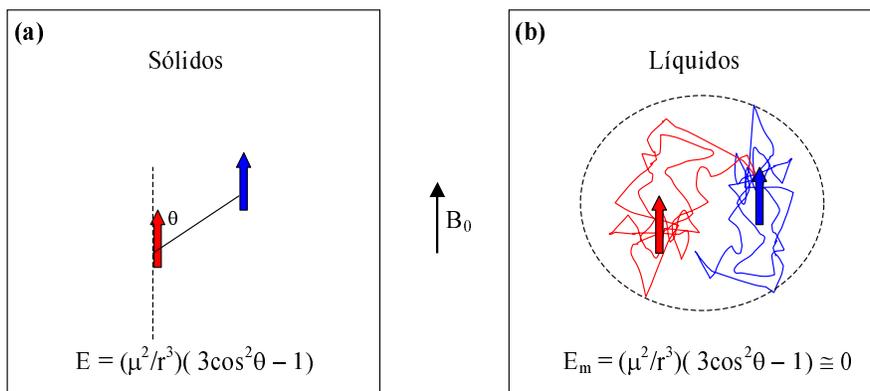


Figura 4.1: Na figura (a) temos a representação da interação dipolar entre um par de núcleos em um sólido. A orientação internuclear é fixa. Na figura (b) temos, além da interação dipolar, a representação, em um sistema líquido, da evolução temporal de um spin com relação ao campo aplicado por um spin próximo.

Há alguns anos tornou-se claro(86), que em líquidos, os acoplamentos dipolares entre spins podem não ser totalmente eliminados através da média temporal realizada ao se levar em conta o movimento de difusão molecular. Pensava-se que o movimento aleatório fosse capaz de, no intervalo típico das medidas de RMN, eliminar qualquer efeito do campo dipolar nas linhas espectrais observadas. Todavia essa suposição só se mostra válida para spins que se encontram em distâncias menores ou iguais a $\sqrt{Dt} \approx 10 \mu\text{m}$, que é a ordem de distância típica percorrida pelos spins, no tempo de observação da RMN, devido à difusão [ver figura 4.1].

A difusão não é capaz de eliminar a contribuição do campo dipolar para spins distantes no intervalo de observação para RMN [ver figura 4.2]. A dependência com r^{-3} só torna o efeito do campo dipolar desprezível para sistemas onde existe um número pequeno de spins distantes, que não é o caso em líquidos. Na verdade, para sistemas líquidos, é a isotropia do meio que nos garante a anulação do campo dipolar. Se a magnetização, por alguma razão, não é uniforme, como por exemplo na presença de gradientes de campo magnético, a ação do campo dipolar distante

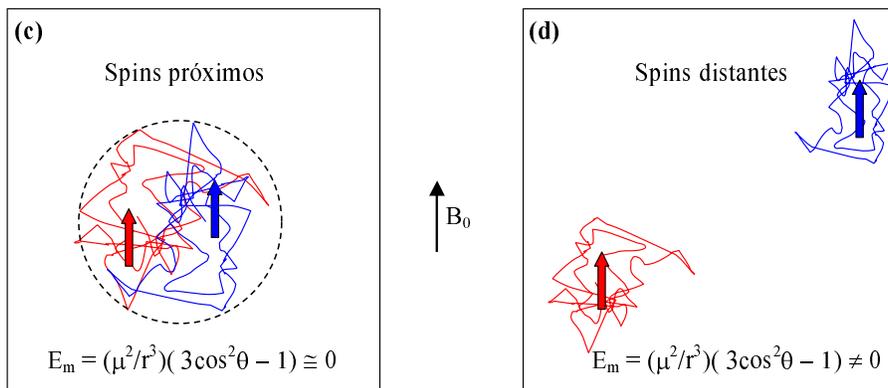


Figura 4.2: Na figura (c) temos, além da interação dipolar, a representação, em um líquido, da evolução temporal de um spin em movimento com relação ao campo aplicado por um spin próximo. Na figura (d) temos o mesmo efeito para o campo gerado por um spin distante.

pode se tornar relevante.

O aparecimento de múltiplos ecos em ^3He sólido(87), e posteriormente em água(88; 89), na presença de um gradiente constante, é um fenômeno conhecido desde o final dos anos 70. Um campo dipolar, criado na presença de um gradiente de campo externo, produz um termo não-linear nas equações de Bloch usadas para descrever a dinâmica do sistema. Essa não-linearidade produz harmônicos que são observados no sinal de FID.

Apesar das controvérsias iniciais(90) sobre a abordagem quântica para explicar as coerências de múltiplo quanta em líquidos [Um pouco mais sobre esse assunto pode ser lido no apêndice D e nas referências.] e a abordagem clássica(91) para tratar o fenômeno de múltiplos ecos, concluiu-se que ambas(92; 93) interpretações versam sobre efeitos que têm a mesma origem.

Amostras binárias não-interagentes com pelo menos um componente concentrado, como por exemplo proteínas dissolvidas em água, apresentam picos cruzados no sinal do hidrogênio em uma série de experimentos de espectroscopia bidimensional por RMN(86). Sob a luz da interpretação clássica dos fenômenos de MQC, em um espectro de RMN bidimensional, esses picos cruzados indicam correlações entre spins de moléculas que estão separadas espacialmente. Uma modificação da seqüência COSY, batizada com o acrônimo **CRAZED** [COSY re-

vamped by asymmetric z-gradient echo detection], foi adotada como padrão§6) para o estudo dos fenômenos relacionados ao aparecimento de picos provenientes de coerências de múltiplos quanta intermoleculares [iMQC, intermolecular multiple quantum coherences]. Nessa seqüência, a presença de gradientes de campo magnético adequados, com razão entre áreas n inteira, fornece um método de seleção para a coerência de n -quanta ou para o n -eco(94). A ação dos gradientes é responsável pela quebra na simetria de translação espacial que produz valores não-nulos para a interação dipolar média capaz de gerar esses picos. iMQC em amostras heteronucleares onde são necessárias razões fracionárias da amplitude dos gradientes também foram observadas(95).

O papel da difusão na atenuação do sinal de RMN nos experimentos de iMQC não é um efeito bem compreendido. Nesse estudo o tratamento clássico é vantajoso pois oferece uma maneira intuitiva de atacar o problema através das equações de Bloch-Torrey modificadas para incluir o termo de campo dipolar. Em contrapartida, ao adotar essa abordagem, a forma não-linear adquirida pelas equações causa dificuldade no entendimento do processo. A forma quântica das equações, via matriz densidade, considerando as interações entre os spins explicitamente, preserva a linearidade tornando mais simples a compreensão do fenômeno, porém torna impraticável um tratamento analítico do papel da difusão no sinal de magnetização na presença do campo dipolar.

Muitas características interessantes do sinal obtido via iMQC, como o papel da difusão(96; 97) e das relaxações por T_1 e T_2 (98; 99), foram estudadas nos últimos anos. Uma série de aplicações também surgiu no mesmo período: observações do efeito de variações do gradiente aplicado no estudo de sistemas estruturados(100; 101), espectroscopia em campos inhomogêneos(102; 103), e medidas do valor absoluto de M_0 (104) têm feito com que espectroscopia por RMN usando coerências intermoleculares seja um assunto de bastante interesse em vários centros de pesquisa.

4.1.1 Proposta do capítulo.

Neste capítulo discutimos o papel da difusão em espectros de RMN bidimensional de líquidos obtidos sob a ação do campo dipolar gerado pelos próprios spins.

A evolução da magnetização nuclear será abordada de maneira clássica através da solução das equações de Bloch-Torrey incluindo um termo não-linear que leva em conta o campo dipolar gerado internamente pela magnetização dos spins.

Vamos acompanhar a evolução da magnetização em uma seqüência do tipo CRAZED.

O tratamento do processo difusivo levando em conta a atenuação no tempo t_2 fora do intervalo entre os gradientes é proposto para explicar o resultado dos experimentos.

As aproximações usuais para atenuação devido à difusão do campo dipolar também serão discutidas.

O ambiente para testar essas aproximações será o de sistemas binários onde temos dois grupos isolados de moléculas separados espectralmente por um deslocamento químico $\Delta\omega/2\pi$ e com coeficientes de difusão dependendo da molécula usada.

O cálculo do campo dipolar gerado por uma magnetização modulada na direção do campo B_0 será apresentado no apêndice B.1.

No apêndice D, por questões de completeza, apresentaremos o tratamento quântico do fenômeno também chamado de coerências múltiplas intermoleculares.

4.1.2 Notação adotada e aproximações.

Neste capítulo adotaremos as seguinte notação para todas as equações: $e^{i(\text{função})}$ representa oscilações da magnetização no referencial girante. $\times \exp[\text{função}]$ indica que lidamos com atenuações por difusão ou por relaxação via T_1 ou T_2 . Os intervalos temporais são colocados com letra minúscula, e.g. t_1 para que sejam diferenciados dos tempos de relaxação onde usamos letra maiúscula [e.g. T_1].

A inomogeneidade ΔB inerente ao campo B_0 será considerada desprezível comparada aos gradientes aplicados externamente. A aproximação secular para o

campo dipolar será considerada em todos os cálculos.

O sistema de unidades é o SI onde $\mu_0/4\pi \equiv 1$.

4.2 Espectroscopia bidimensional e coerências de múltiplos quanta.

Em RMN bidimensional o espectro no espaço de frequências é obtido através da transformada dupla de Fourier de um sinal que em nosso caso é do tipo $S(t_1, t_2)$. Nele temos duas variáveis temporais t_1 e t_2 que geralmente definem três estágios para aquisição do espectro bidimensional [ver figura 4.3(a)]. O período de preparação que pode ser simplesmente um pulso de RF coloca o sistema em um estado inicial adequado. Em seguida temos o intervalo de evolução t_1 onde o sistema, sob a influência de uma hamiltoniana H_1 , adquire um estado final dependente de H_1 e de t_1 . Finalmente, no intervalo de detecção t_2 o sistema sofre a ação de uma outra hamiltoniana H_2 durante a aquisição do sinal $S(t_1, t_2)$. Variando t_1 se adquire o sinal de modo a construir uma matriz $S(t_1, t_2)$ que será transformada em $S(\omega_1, \omega_2)$.

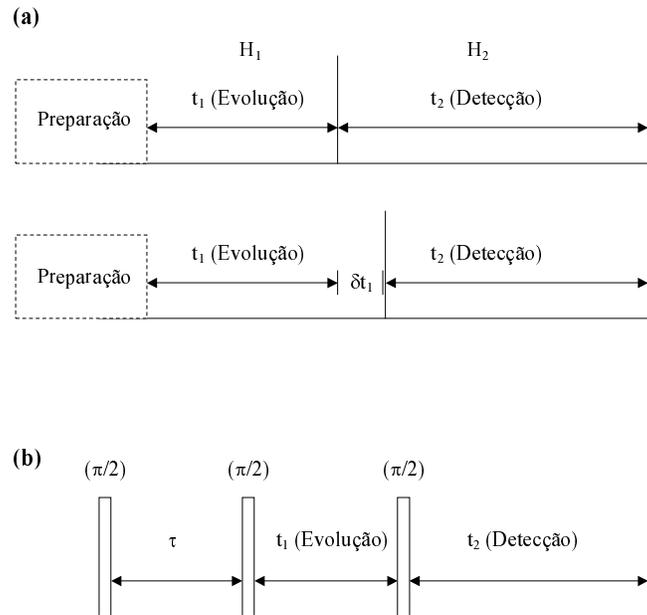


Figura 4.3: (a) Seqüência básica para obtenção de espectros bidimensionais por RMN. (b) Seqüência básica para detectar coerências de múltiplo quanta em espectros bidimensionais.

Fenômenos envolvendo transferência de coerência múltipla, caracterizam pro-

cessos onde ocorrem transições com participação de um número de quanta $n > 1$. Para sistemas líquidos no caso em que as moléculas envolvidas possuem spin efetivo $S = 1/2$, como no caso dos hidrogênios da água, ou em misturas binárias como os hidrogênios presentes no benzeno e no clorofórmio, não é possível observar sinal de MQC pelo menos utilizando a teoria padrão de espectroscopia bidimensional(105). Nessa situação, as moléculas têm seus núcleos aproximados a sistemas de dois níveis que não exibem transições de múltiplos quanta. Uma mistura binária como a descrita acima pode apresentar picos de iMQC quando na presença de um campo dipolar. Esse campo é capaz de produzir coerências entre moléculas distintas [iMQC]. É importante não confundir MQC com iMQC.

A espectroscopia de múltiplos quanta possui analogias com a espectroscopia bidimensional e também pode ser dividida em três etapas: evolução, conversão e detecção. Em uma seqüência como a da figura 4.3(b), o sinal detectado em t_2 tem seu primeiro ponto de aquisição dependente do intervalo t_1 de evolução do múltiplo quanta que o originou. Um espectro temporal do múltiplo quanta pode ser obtido via observação do sinal gerado ao promover pequenos incrementos no período de evolução t_1 . A transformada de Fourier dupla para o espaço de freqüências permite que, além do espectro convencional observado na dimensão F_2 de aquisição, um outro seja obtido na dimensão de evolução F_1 apresentando picos do sinal de múltiplo quanta.

Em sistemas mais complicados, onde temos um número de picos espectrais muito grande em F_2 , podemos obter uma simplificação do espectro selecionando evoluções de n -quanta que contribuem para um número reduzido de linhas espectrais sem com isso perder informação sobre a dinâmica dos campos magnéticos locais.

Em sólidos, onde os dipolos estão fixos espacialmente, existem teorias bem estabelecidas que explicam as possíveis coerências intermoleculares assim como intramoleculares que podem ser observadas. Para spins maiores que $S = 1/2$ o momento de quadrupolo na presença de um gradiente de campo elétrico por si só pode produzir efeitos de coerência de múltiplos quanta. No caso intermolecular especificamente, o número n de quantas envolvidos nas transições pode indicar

em condições especiais, exceto para zero-quanta, o número de spins envolvidos no processo.

4.3 Campo dipolar clássico.

A interação dipolar é um tipo de interação muito peculiar porque carrega informação sobre a orientação e sobre a distância entre as espécies interagentes. A energia de interação clássica entre dois dipolos μ_1 e μ_2 pode ser escrita como

$$E_d = - \left\{ \frac{3 (\mu_1 \cdot \mathbf{r}_{21}) (\mu_2 \cdot \mathbf{r}_{21})}{r_{21}^5} - \frac{\mu_1 \cdot \mu_2}{r_{21}^3} \right\}, \quad (4.1)$$

onde $\mathbf{r}_{21} = \mathbf{r}_2 - \mathbf{r}_1$ é a distância entre os dois dipolos. Essa interação pode ser interpretada como a energia do momento de dipolo μ_2 na presença do campo gerado por μ_1 .

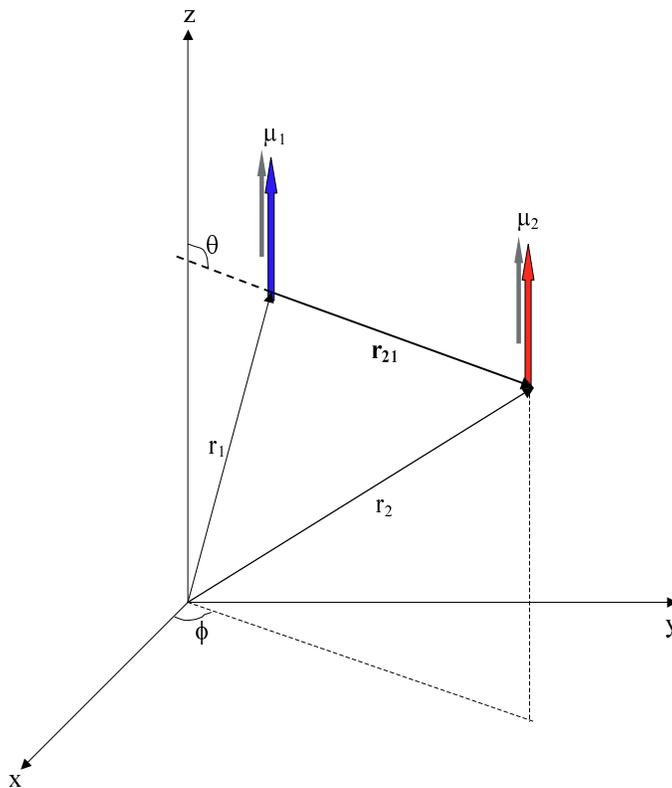


Figura 4.4: Diagrama da interação dipolar entre dois spins representada em coordenadas esféricas.

Podemos rescrever essa interação de forma adequada usando coordenadas esféricas e substituindo os momentos de dipolo por operadores para os respectivos

observáveis quânticos [ver apêndice B]. Trataremos a situação em que a energia Zeeman associada ao campo externo B_0 é muito maior que a energia associada às interações dipolares. Nessas condições pode-se desprezar os termos da hamiltoniana dipolar transversais ao campo B_0 e que possuam frequências de oscilação $\gamma H_{\text{zeeman}} \gg \gamma H_{\text{dipolar}}$ [esses termos se anulam quando avaliados em uma média temporal sobre a interação Zeeman]. Podemos utilizar somente os termos chamados seculares de H_d que são invariantes para rotações sobre B_0 . A energia dipolar entre dois spins na presença de um campo $B_0 \hat{z}$ na aproximação secular é

$$E_d = -\frac{(3 \cos^2 \theta_{21} - 1)}{2r_{21}^3} \{3\mu_{1z}\mu_{2z} - \mu_1 \cdot \mu_2\}, \quad (4.2)$$

onde θ_{21} é o ângulo entre o vetor \mathbf{r}_{21} , que liga os dipolos 2 e 1, e a direção \hat{z} do vetor unitário na direção do campo externo B_0 .

Um dipolo μ colocado na origem produz um campo em uma posição \mathbf{r} dado a partir de 4.2 por

$$B_d(\mathbf{r}) = -\frac{(3 \cos^2 \theta - 1)}{2r^3} \{3\mu_z \hat{z} - \mu\}, \quad (4.3)$$

Quanticamente a interação dipolar entre um par de spins isolado pode ser resolvida exatamente na forma secular apresentando os dubletos de Pake como solução(106). Para um número maior de spins não existe forma fechada nem para solução secular. Podemos utilizar uma aproximação via teoria de campo médio para obter soluções para geometrias simples. O campo dipolar gerado por um conjunto de spins é geralmente não local, possuindo em um dado ponto, contribuições de um somatório feito sobre todos os spins da amostra. Para líquidos, a difusão anula a contribuição para o campo dipolar total gerada por spins separados por distâncias menores que \sqrt{Dt} que é a distância média percorrida no intervalo de medida. Desprezando essa contribuição para distâncias microscópicas, podemos tomar uma média sobre pedaços macroscópicos de magnetização no cálculo do campo dipolar total. Definindo o momento de dipolo magnético por unidade de

volume $M(r')$ tal que $d\mu = M(r')d^3r'$ pode-se rescrever 4.3, para uma distribuição específica de spins, como

$$B_d(\mathbf{r}) = - \int \frac{(3 \cos^2 \theta_{rr'} - 1)}{2|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|^3} \{3M_z(\mathbf{r}') \hat{z} - \mathbf{M}(\mathbf{r}')\} d^3r'. \quad (4.4)$$

Em 4.4 percebe-se que o campo em uma dada posição depende do valor de magnetização em outras posições. Essa não-localidade torna a solução da integral acima um problema difícil [ver apêndice B.1] com solução exata somente para casos especiais.

Em líquidos o campo dipolar gerado por uma magnetização uniforme pode ser tratado como tendo duas contribuições: uma de curto alcance e uma de longo alcance. Para uma distância pequena, devido à difusão, os spins percorrem em média, no tempo de medida de RMN típico, todas as direções do ângulo sólido presente na forma da interação dipolar. Assim, a difusão é responsável pela contribuição nula para o campo dipolar para curtas distâncias. Para a contribuição de longo alcance, a difusão não pode eliminar todo efeito da interação dipolar entre spins uma vez que o ângulo sólido percorrido fica reduzido. Como as interações individuais não se anulam por difusão poderiam sim se anular pelo curto alcance do campo com dependência em r^{-3} , porém temos que tratar a interação dipolar realizando um somatório sobre todos os spins naquela distância. Argumentos sobre dependências com a distância r^{-3} não são corretos para o somatório desse campo dipolar. Agora o número de spins cresce com r^2 de modo que o campo médio decai na verdade com r^{-1} o que não é suficiente para garantir sua anulação em longas distâncias. Após a integração em toda amostra a forma logarítmica do campo implica que spins entre 5 e 10 μm e spins entre 5 e 10 mm têm a mesma contribuição para o campo dipolar em um dado ponto.

A simetria esférica da interação dipolar e a isotropia do espaço são os responsáveis pela anulação da contribuição de longas distâncias para o campo dipolar médio. Diferente do regime difusivo, onde as interações entre pares se anulam isoladamente, para longas distâncias, as interações entre pares não se anulam, porém a média sobre todos os spins que contribuem para o campo dipolar distante anula-se devido a isotropia do espaço. Integrando a contribuição angular de

4.4 para uma distribuição uniforme de magnetização obtemos

$$\int_{\theta=0}^{\pi} \int_{\phi=0}^{2\pi} (3 \cos^2 \theta - 1) \sin \theta d\theta d\phi = 0. \quad (4.5)$$

que demonstra a ausência de contribuição do campo dipolar na direção do campo B_0 . Esse é o resultado usado para desprezar o efeito de campo dipolar em espectroscopia de alta resolução em líquidos. Veremos na próxima seção que esse resultado não é mais verdadeiro para spins na presença de gradientes de campo magnético aplicados em condições especiais.

4.3.1 Campo dipolar distante.

Em um sistema líquido uma quebra de simetria espacial pode recuperar o campo dipolar médio. Nessa condição, tanto a difusão quanto a interação dipolar podem assumir direções preferenciais. Os próprios contornos da amostra, mesmo em um sistema homogêneo, podem produzir uma região de anisotropia e assim gerar um valor não-nulo para o campo dipolar médio. Essa quebra de simetria também pode ser conseguida de maneira artificial aplicando um gradiente de campo magnético. Para o caso de uma magnetização modulada espacialmente o campo dipolar gerado pelos spins é predominantemente determinado pela magnetização localizada em distâncias menores que comprimento de onda da modulação $2\pi/\gamma GT$.

Aplicando um gradiente G na direção z paralela ao campo externo B_0 podemos, sem perda de generalidade, produzir uma modulação na magnetização M_z de 4.4 [a magnetização \mathbf{M} não produzirá sinal observável como veremos na seção 4.4]. Tomando um ponto na origem e integrando sobre todas as posições angulares possíveis temos

$$\int_{\theta=0}^{\pi} \int_{\phi=0}^{2\pi} r^{-1} (3 \cos^2 \theta - 1) \cos(kr \cos \theta) \sin \theta d\theta d\phi = kF(kr), \quad (4.6)$$

onde $k = \gamma G\delta$, δ é a duração do gradiente e r agora é a posição do spin que

gera o campo na origem. Para calcular o campo dipolar total, precisamos ainda integrar sobre todas as posições r da amostra. Para ter uma idéia de qual a região que contribui para o campo dipolar médio, vamos integrar 4.6 numericamente para os vários valores possíveis de r na amostra. A figura 4.5 mostra $F(kr)$ em função de vários valores de r . A maior e praticamente única contribuição da parte angular da integral vem da região em torno de $kr = \pi$. Assim pode-se afirmar qualitativamente que a contribuição quase que integral do campo dipolar médio em um dado ponto vem dos spins que se encontram a uma distância $d_c = \pi/k$ que é metade do comprimento de onda da modulação da magnetização.

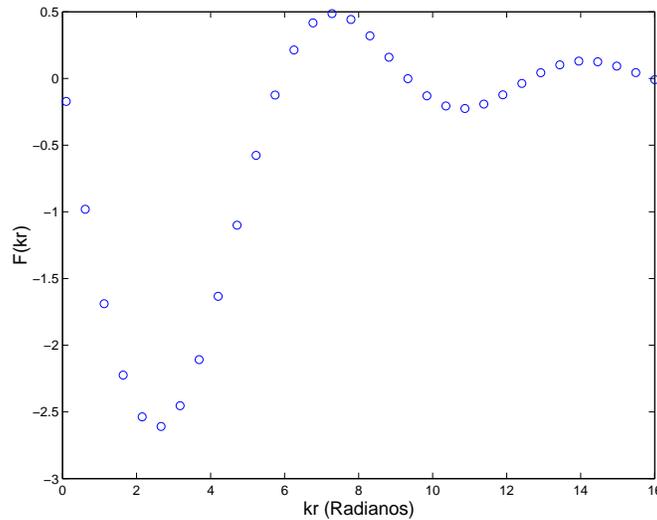


Figura 4.5: Solução numérica da expressão 4.6 mostrando a distribuição da contribuição angular. O valor para o máximo da integral é para $r = \pi/k$.

Para a modulação de magnetização em uma direção arbitrária \mathbf{s} (ver apêndice B.1) a forma do campo dipolar médio que chamaremos de campo dipolar distante (**DDF**, distant dipolar field)(107) é escrita como

$$B_d(\mathbf{s}) = \Delta_s \left\{ M_z(\mathbf{s}) \hat{z} - \frac{M(\mathbf{s})}{3} \right\} \text{ com } \Delta_s = \frac{1}{2} [3(\hat{s} \cdot \hat{z})^2 - 1], \quad (4.7)$$

onde \hat{z} e \hat{s} são vetores unitários na direção de \mathbf{B}_0 e \mathbf{G} , respectivamente. Essa expressão será o termo adicional nas equações de Bloch, discutidas na próxima

seção, para dar conta do efeito de campo dipolar no sinal de RMN.

4.3.2 Gradiente aplicado no ângulo mágico.

Com a aplicação do gradiente na direção s teremos uma modulação da magnetização nessa direção. Todos os planos perpendiculares a essa direção continuarão com magnetização uniforme e terão, por difusão [spins próximos] e isotropia rotacional [spins distantes], sua contribuição para o campo dipolar anulada. A única contribuição não-nula será de spins interagindo ao longo do eixo s . Colocando \hat{s} numa direção de modo a formar um ângulo de 54.7° com o eixo z do campo externo teremos Δ em 4.7 igual a zero. Essa é a condição de ângulo mágico usada em espectroscopia de sólidos para eliminar o efeito na linha espectral de interações dipolares em sólidos(108; 109). Não é necessário girar a amostra em torno do eixo s , pois como trata-se de amostras líquidas o movimento aleatório e a simetria translacional eliminam as contribuições de interação fora do eixo.

4.4 Dinâmica clássica da magnetização nuclear.

Felix Bloch desenvolveu um método bastante adequado para descrever a dinâmica macroscópica da magnetização considerando o sistema de spins como não interagentes no sentido de não haver desdobramento de linhas espectrais devido às interações(5) intermoleculares. Em líquidos esse desdobramento não é possível devido ao movimento dos spins que, em média, cancela parcial ou totalmente a ação da hamiltoniana de interação spin-spin. Admite-se que as interações contribuem somente para largura da linha de ressonância e podem ser introduzidas na forma de um tempo de relaxação. Essa relaxação é introduzida na forma de um tempo característico para todo o sistema. Essa abordagem caracteriza a chamada aproximação clássica.

Para a magnetização no plano xy , transversal ao campo externo $\mathbf{B}_0\hat{z}$ temos

$$\begin{aligned}\frac{dM_x}{dt} &= \gamma (\mathbf{M} \times \mathbf{B}_0)_x - \frac{M_x}{T_2}, \\ \frac{dM_y}{dt} &= \gamma (\mathbf{M} \times \mathbf{B}_0)_y - \frac{M_y}{T_2},\end{aligned}\tag{4.8}$$

onde T_2 é o tempo de relaxação transversal devido às interações spin-spin. Na direção longitudinal, paralela ao campo B_0 , temos

$$\frac{dM_z}{dt} = \gamma (\mathbf{M} \times \mathbf{B}_0)_z - \frac{M_z - M_0}{T_1},\tag{4.9}$$

com T_1 definindo o tempo de relaxação para interações spin-rede. Torrey ampliou o uso das equações de Bloch introduzindo o efeito da difusão dos spins(10). Podemos rescrever as equações 4.8 e 4.9 incluindo o termo de difusão a seguir:

$$\frac{\partial M^+}{\partial t} = -i\gamma B_0 M^+ - \frac{M^+}{T_2} + D\nabla^2 M^+, \quad (4.10)$$

$$\frac{\partial M_z}{\partial t} = -\frac{M_z - M_0}{T_1} + D\nabla^2 M_z, \quad (4.11)$$

Introduzimos a notação complexa $M^+ = M_x + iM_y$ para a magnetização no plano transversal indicando a quebra de simetria por reversão temporal.

4.4.1 Equações de Bloch-Torrey com termo dipolar.

Efeitos de múltiplos ecos detectados em RMN podem ser explicados ao introduzirmos nas equações de Bloch o campo dipolar desmagnetizante. Esse nome origina-se do campo dipolar em sistemas ferromagnéticos que atua sempre de modo a destruir as propriedades magnéticas do sistema. No caso em questão, apesar de ter a mesma origem, esse nome perde um pouco o sentido, pois esse campo é o responsável pela criação dos ecos de coerência múltipla. O nome campo dipolar distante, ou simplesmente campo dipolar, será adotado de agora em diante.

No tratamento clássico partimos das equações de Bloch para cada molécula isoladamente e em seguida introduzimos o termo de campo dipolar calculado em uma integração sobre todos os spins nucleares da amostra. Assim temos

$$\frac{\partial}{\partial t} \mathbf{M}(\mathbf{r}, t) = \mathbf{M}(\mathbf{r}, t) \times \gamma \{ \mathbf{B}_0 + \mathbf{B}_d(\mathbf{r}, t) \} - \frac{M^+}{T_2} + D\nabla^2 M^+, \quad (4.12)$$

que é a equação de Bloch clássica para a evolução da magnetização em função do campo externo B_0 e do campo dipolar B_d gerado pelos spins. Observando o valor do campo dipolar calculado em 4.7 e a expressão para a magnetização transversal 4.10, podemos escrever já no referencial girante(111)

$$\frac{\partial M^+}{\partial t} = -i\gamma B_d^z M^+ - \frac{M^+}{T_2} + D\nabla^2 M^+, \quad (4.13)$$

onde B_d^z é a componente do campo dipolar na direção z uma vez que o produto vetorial $M \times M$ possui valor nulo. A magnetização longitudinal não sofre a ação do campo dipolar. Podemos substituir a expressão 4.7 com $\mathbf{s} \parallel \hat{z}$ na equação acima obtendo

$$\frac{\partial M^+}{\partial t} = -i\gamma\mu_0 M_z M^+ - \frac{M^+}{T_2} + D\nabla^2 M^+. \quad (4.14)$$

Para o caso de dois tipos distintos de spins A e B , por exemplo, a expressão do campo dipolar 4.7 pode ser desmembrada tomando independentemente a contribuição de cada grupo de spins. Assim para dois spins A e B temos o campo dipolar total dado por

$$B_d(z) = \mu_0 (M_{zA} + M_{zB}) - \frac{\mu_0}{3}(\mathbf{M}_A + \mathbf{M}_B). \quad (4.15)$$

O campo atuando no grupo de spins A por exemplo é

$$\begin{aligned} B_{dA}^z(z) &\approx \mu_0 (M_{zA} + M_{zB}) - \frac{1}{3}\mu_0 M_{zB} \\ &= \mu_0 M_{zA} + \frac{2}{3}\mu_0 M_{zB}, \end{aligned} \quad (4.16)$$

onde basta trocar A por B para obter o campo atuando em B .

4.4.2 Seqüência CRAZED.

Vamos calcular o efeito da seqüência de pulsos CRAZED, ilustrada na figura 4.6, sobre a magnetização de um grupo de spins submetidos a mesma freqüência de Larmor, i.e., para uma isocromata específica. Supomos um único tipo de spin A sob efeito de um campo externo $B_0\hat{z}$ e com gradientes aplicados na mesma direção z do campo. A ação do campo dipolar só se manifesta na região $t_2 > 0$

que é o intervalo a partir do qual temos magnetização modulada na direção z . A magnetização longitudinal recuperada por relaxação spin-rede durante o intervalo de evolução t_1 não possui informação sobre a modulação e assim não é efetiva na formação de um campo dipolar distante durante esse intervalo.

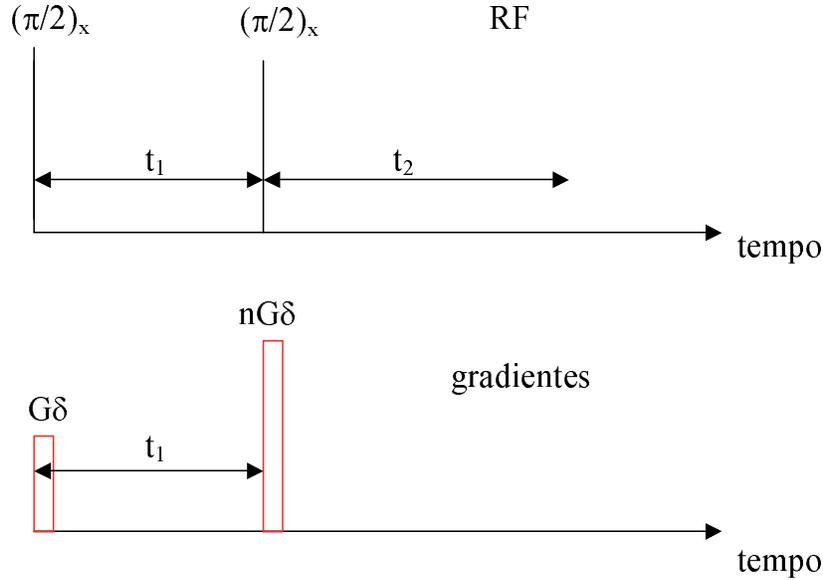


Figura 4.6: Diagrama de pulsos para uma seqüência do tipo CRAZED.

A solução da equação de Bloch-Torrey 4.10 para a magnetização transversal, no referencial girante e ainda sem o termo de campo dipolar, pode ser escrita para o intervalo $\delta < t < t_1$ como

$$M_A^+(z, t) = iM_{0A}e^{-i(\gamma G\delta z + \omega t)} \times \exp \left[-\gamma^2 D_A \int_0^t F^2(t') dt' \right]. \quad (4.17)$$

Imediatamente após a aplicação do segundo pulso $(\pi/2)_x$ e do gradiente nG , no instante que chamaremos t_1^+ , temos

$$M_A^+(z, t_1^+) = \frac{1}{2}iM_{0A} \left[e^{-inkz} e^{-ikz} e^{-i\omega t_1} - e^{-inkz} e^{ikz} e^{i\omega t_1} \right] \times \exp \left[-\gamma^2 D_A \int_0^{t_1} F^2(t') dt' \right], \quad (4.18)$$

onde definimos o parâmetro $k = \gamma G\delta$. Na direção longitudinal temos agora uma magnetização dada por

$$M_A^z(z, t_1^+) = -M_{0A} \cos(kz + \omega t_1) \times \exp \left[-\gamma^2 D_A \int_0^{t_1} F^2(t') dt' \right]. \quad (4.19)$$

É justamente essa magnetização que irá gerar o campo dipolar responsável pela refocalização do eco de n -quanta. Podemos considerar a área do segundo gradiente $nG\delta$ como um parâmetro de seleção para a coerência que desejamos observar.

A magnetização transversal, na ausência do campo dipolar distante, para $t > t_1$ pode ser escrita como

$$\Gamma_A^+(z, t_1 + t_2) = \frac{1}{2} i M_{0A} \quad (4.20)$$

$$\left\{ e^{-inkz} e^{-ikz} e^{-i\omega(t_1+t_2)} \times \exp \left[-\gamma^2 D_A \int_0^{t_1+t_2} F_s^2(t') dt' \right] \right.$$

$$\left. - e^{-inkz} e^{ikz} e^{+i\omega(t_1-t_2)} \times \exp \left[-\gamma^2 D_A \int_0^{t_1+t_2} F_o^2(t') dt' \right] \right\},$$

onde os índices **s** e **o** indicam a orientação relativa dos gradientes: *s* para mesma direção e *o* para direções opostas (ver figura 4.7). Na próxima seção vamos tratar detalhadamente os termos de difusão em 4.20.

4.4.3 Atenuação devido à difusão.

O cálculo do efeito da difusão na magnetização transversal a partir da solução das equações de Bloch-Torrey é padrão em RMN. Em uma seqüência do tipo spin-eco ($\pi/2$)-gradiente- (π) -gradiente, utilizando gradientes pulsados, o efeito da difusão fica restrito ao intervalo de tempo t_1 entre os pulsos de gradiente(112).

A difusão em líquidos, apesar de sempre presente, só pode ser detectada no

sinal de RMN em situações onde a posição das moléculas possa ser identificada. Isso geralmente se dá em dois passos: um de codificação e outro de recuperação do sinal. Se neste segundo momento, as moléculas se movimentaram, o sinal será recuperado parcialmente. A codificação espacial é feita imprimindo-se na fase da magnetização a informação sobre a posição dos spins. Essa impressão é feita de forma reprodutível por gradientes de campo aplicados externamente. A utilização de pulsos de gradiente bem curtos permite ainda avaliar a duração do movimento com precisão. O termo de difusão proposto por Torrey $D\nabla^2 M$ tem contribuição nula se não há dependência espacial da magnetização.

Um formalismo a partir da noção de eco e anti-eco pode ser utilizado para entender de maneira simples o que ocorre com a magnetização nesse tipo de evolução. Esse formalismo é obtido de maneira simples escrevendo todos os termos de seno e cosseno em suas formas exponenciais complexas $e^{\pm i\phi}$. A figura 4.7 ilustra o efeito dos pulsos de gradiente aplicados no eco e no anti-eco. A equação 4.18 indica a presença de uma isocromata girando no sentido horário [eco] e outra no sentido anti-horário [anti-eco]. Uma ilustração pictórica dessa representação para $n = 2$ está na figura 4.8.

Para o caso onde a razão entre os pulsos de gradiente é diferente de 1, a atenuação deve se estender para a região fora do intervalo entre os pulsos. Para o caso de um segundo pulso de $\pi/2$ por exemplo, a fração da magnetização que evolui no plano transversal não é refocalizada imediatamente após o segundo pulso de gradiente. Assim, a atenuação por difusão deve continuar já que a magnetização continua modulada nesse período. Não há como observar o sinal sem um gradiente de refocalização. O campo dipolar produzido pela magnetização modulada na direção z , devido ao segundo pulso $\neq \pi$, pode refocalizar essa magnetização produzindo um sinal observável que durante a refocalização é atenuado pela difusão na região fora do intervalo entre os dois gradientes. A solução dessas integrais nos

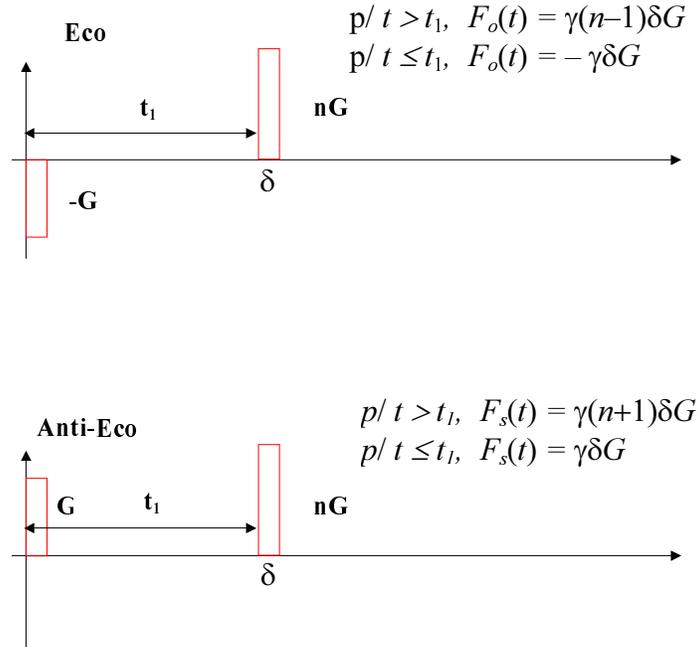


Figura 4.7: Cálculo da atenuação da magnetização transversal devido à difusão. Na figura temos a descrição do efeito dos gradientes G e nG na magnetização representada em termos de eco e de anti-eco.

fornece

$$\int_0^{t_1+t_2} F_s^2(t') dt' = G^2 \delta^2 [t_1 + (n+1)^2 t_2], \quad (4.21)$$

$$\int_0^{t_1+t_2} F_o^2(t') dt' = G^2 \delta^2 [t_1 + (n-1)^2 t_2],$$

onde os índices **s** e **o** indicam a direção dos gradientes observados no referencial girante: **s** para mesma direção e **o** para direções opostas. Verificamos que a atenuação na região t_2 , fora do intervalo entre os gradientes, tem sua intensidade dependendo do valor da coerência n escolhida(113).

Na figura 4.8 temos um diagrama de evolução da magnetização em função da aplicação dos gradientes externos G e $2G$ no formalismo de eco e^{ikz} e anti-eco

e^{-ikz} . No intervalo $t_1 < t < t_2$ a magnetização de alguma maneira sobre o efeito de uma refocalizaç ao devido, nesse caso, à presença do campo dipolar distante. Sem um agente refocalizador o sinal não pode ser observado.

Utilizando as soluções de 4.21 em 4.20 temos

$$\Gamma_A^+(z, t_1 + t_2) = \frac{1}{2}iM_{0A} \quad (4.22)$$

$$\left\{ e^{-inkz} e^{-ikz} e^{-i\omega(t_1+t_2)} \times \exp[-\gamma^2 D_A G^2 \delta^2 (t_1 + (n+1)^2 t_2)] \right.$$

$$\left. - e^{-inkz} e^{ikz} e^{+i\omega(t_1-t_2)} \times \exp[-\gamma^2 D_A G^2 \delta^2 (t_1 + (n-1)^2 t_2)] \right\}.$$

A dependência com relação a n é consistente com a solução das equações de Bloch-Torrey modificadas. Nesta generalização fazendo $n = 1$ recuperamos o resultado de Stejskal et al. para o eco de Hahn(112).

4.4.4 Atenuação do campo dipolar distante devido à difusão.

O termo longitudinal da magnetização a partir de t_1^+ dado na equação 4.19 pode ser considerado como sendo o campo dipolar atuando a partir de t_2 . Sendo assim temos

$$B_{dA}(z, t_1^+) = -\mu_0 M_{0A} \cos(kz + \omega t_1) \times \exp[-k^2 D_A t_1]. \quad (4.23)$$

Não existe uma forma fechada para a expressão da atenuação longitudinal do campo dipolar na presença de difusão. Até agora apenas soluções aproximadas ou baseadas em cálculo numérico têm sido empregadas para tratar esse efeito. Para um campo dipolar fixo no referencial girante o movimento de difusão dos spins que sofrem a ação desse campo deve atenuar-se trivialmente com um termo $\exp[-k^2 D t_2]$ de acordo com a solução da equação de Bloch-Torrey. Porém o que tem-se na verdade são dois sistemas de spins: os que geram o campo e os que sofrem o efeito dele. Portanto o campo dipolar também sofre atenuação pela

difusão dos spins que o criam.

Suponhamos que em um tempo t_0 o campo dipolar possua uma modulação do tipo $\cos(kz)$. No referencial de uma partícula difundindo, em um pequeno intervalo δt , o campo passa para uma modulação do tipo $\cos(kz + k\delta z)$. Devemos tomar uma média de $\cos(kz)$ no espaço de caminhos possíveis da partícula no intervalo de medida. Essa média inclui mais um termo do tipo $\exp[-k^2 D t_2]$ na atenuação do campo dipolar. Uma vez produzida essa atenuação, basta integrar no tempo de medida para obter a defasagem total da magnetização [ver apêndice C].

A atenuação longitudinal do campo dipolar, devido à difusão, segundo Ardelean et al.(114), é dada por

$$\lambda_A^{(I)}(t_2) = \frac{1 - \exp[-2k^2 D_A t_2]}{2k^2 D_A t_2}. \quad (4.24)$$

Jeener(115) argumenta que os cálculos acima precisam de mais uma média para produzir a atenuação correta. A média completa, além de ser feita usando o peso estatístico de todos os caminhos possíveis devido ao movimento aleatório da partícula, deve ser acrescida de outra média sobre todos os estados iniciais. Aí vem o problema, pois o campo dipolar médio depende das condições iniciais de todos os spins da amostra. Para configurações iniciais diferentes teremos campos distintos. Isso faz com que essa segunda média sobre os estados iniciais seja bastante complicada permitindo somente um tratamento numérico para o efeito(116). A partir de uma solução numérica das equações de Bloch-Torrey, Chen et al.(117) sugerem que o termo de atenuação devido à difusão seja dado simplesmente por

$$\lambda_A^{(II)}(t_2) = \exp[-k^2 D_A t_2]. \quad (4.25)$$

A magnetização transversal, levando em conta somente a contribuição do campo dipolar, é dada por

$$m_A^+ = e^{i\xi_A \cos(kz + \omega t_1)}, \quad (4.26)$$

com

$$\xi_A = \frac{t_2}{\tau_{dA}} \times \exp[-k^2 D_A t_1] \times \lambda_A(t_2), \quad (4.27)$$

onde λ_A representa as aproximações $\lambda_A^{(I)}$ ou $\lambda_A^{(II)}$ dadas nas equações 4.24 e 4.25, respectivamente. $\tau_{dA} = 1/\mu_0 \gamma M_{0A}$ é o tempo de desmagnetização dipolar(90), parâmetro característico da ação do campo dipolar distante.

A expressão 4.26 pode ser desenvolvida aproveitando a simetria cilíndrica criada pelo campo externo. Escrevemos a exponencial complexa em termos de harmônicos das funções de Bessel obtendo

$$m_A^+ = \sum_{m=-\infty}^{\infty} i^m J_m(\xi_A) e^{im(kz + \omega t_1)}. \quad (4.28)$$

4.5 Aproximação para magnetização transversal na presença do campo dipolar e da difusão.

Nesta seção vamos considerar a situação onde o processo difusivo é bem mais rápido que o processo de refocalização dipolar [ver apêndice C]. Nessas condições vamos supor uma solução da seguinte forma:

$$M_A^+ \approx \Gamma_A^+ m_A^+ \quad (4.29)$$

Substituindo as expressões 4.28 e 4.22 em 4.29 obtemos

$$\begin{aligned}
 M_A^+ \approx \Gamma_A^+ m_A^+ &= \frac{1}{2} i M_{0A} \sum_{m=-\infty}^{\infty} i^m J_m(\xi_A) e^{im(kz+\omega t_1)} \\
 &\left\{ e^{-inkz} e^{-ikz} e^{-i\omega(t_1+t_2)} \times \exp[-\gamma^2 D_A G^2 \delta^2 (t_1 + (n+1)^2 t_2)] \right. \\
 &\left. - e^{-inkz} e^{ikz} e^{+i\omega(t_1-t_2)} \times \exp[-\gamma^2 D_A G^2 \delta^2 (t_1 + (n-1)^2 t_2)] \right\} \quad (4.30)
 \end{aligned}$$

onde agrupamos os termos com dependência espacial, no caso em z , logo abaixo.

$$\begin{aligned}
 M_A^+ \approx \Gamma_A^+ m_A^+ &= \frac{1}{2} i M_{0A} \\
 &\left\{ e^{-i\omega(t_1+t_2)} \times \exp[-\gamma^2 D_A G^2 \delta^2 (t_1 + (n+1)^2 t_2)] \right. \\
 &\left. - e^{+i\omega(t_1-t_2)} \times \exp[-\gamma^2 D_A G^2 \delta^2 (t_1 + (n-1)^2 t_2)] \right\} \\
 &\times \sum_{m=-\infty}^{\infty} i^m J_m(\xi_A) e^{im\omega t_1} \left\{ e^{i[m-(n+1)]kz} - e^{i[m-(n-1)]kz} \right\} \quad (4.31)
 \end{aligned}$$

Para ser detectado, o sinal de RMN precisa ser totalmente refocalizado durante a aquisição, isto é, não podem existir dependências espaciais na fase do sinal. Uma dispersão muito grande na fase das diversas isocromátas, geralmente causada pela ação de gradientes de campo, impede a detecção do sinal. Quando integramos as contribuições de cada isocromáta no volume da amostra, a equação 4.31 assume a forma de uma transformada de Fourier com uma delta de Dirac que só apresenta resultado não-nulo para contribuições com fase espacial zero. Visto isso temos finalmente que

$$\begin{aligned}
 M_A^+ = & \frac{1}{2} (-i)^n M_{0A} e^{in\omega t_1} e^{-i\omega t_2} \times \exp[-k^2 D_A t_1] \\
 & \left\{ (-1)^{(n-1)} J_{n-1}(\xi_A) \times \exp[-(n-1)^2 k^2 \alpha D_A t_2] \right. \\
 & \left. + (-1)^{(n+1)} J_{n+1}(\xi_A) \times \exp[-(n+1)^2 k^2 \alpha D_A t_2] \right\}. \quad (4.32)
 \end{aligned}$$

Empregamos em 4.32 a relação $J_{-m}(\xi_{A(B)}) = (-1)^m J_m(\xi_{A(B)})$. O acréscimo do parâmetro α em 4.32 será discutido mais tarde na interpretação dos resultados.

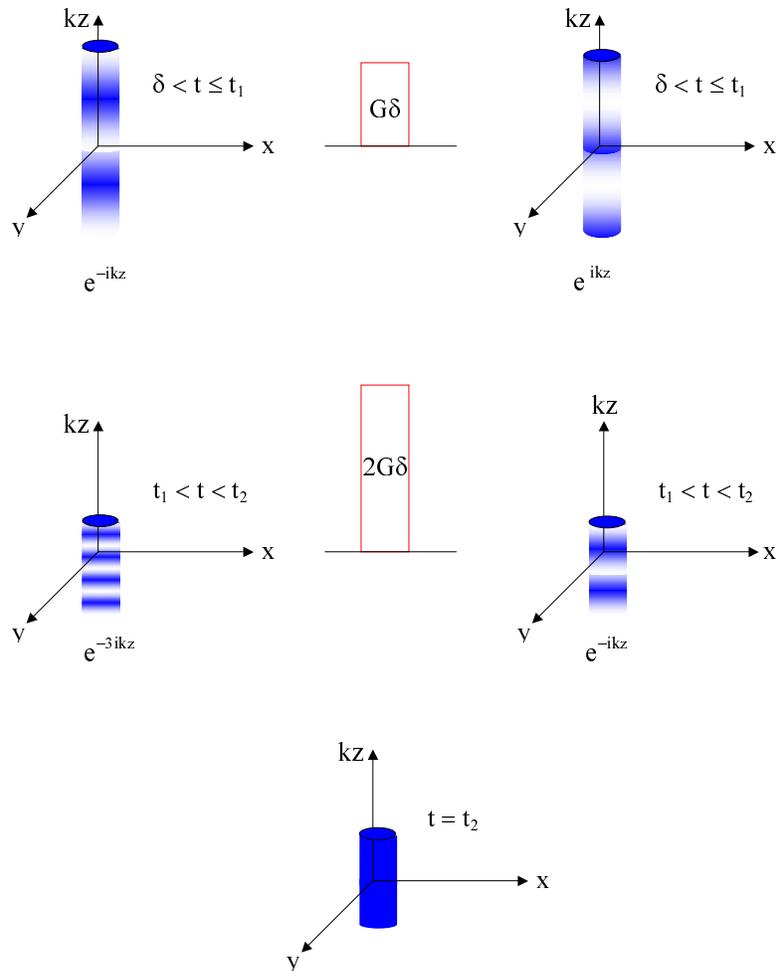


Figura 4.8: Evolução temporal da hélice de magnetização transversal, no referencial girante, para seqüência CRAZED ($n = 2$). Utilizamos para representação da fase uma decomposição em termos de Eco [direita] e anti-Eco [esquerda].

4.6 Espectros bidimensionais para uma mistura binária.

Soluções binárias em que temos um solvente concentrado e um soluto bem diluído são bastante comuns em espectroscopia de macromoléculas. Inclusive técnicas de eliminação do sinal do solvente(118), via aplicação de gradientes, nesse tipo de estudo certamente criaram o ambiente ideal para a descoberta do efeito de iMQC.

Um sistema binário é, além do sistema mais simples depois do sistema homonuclear, o primeiro em que se podem testar, de maneira geral, os efeitos da difusão no sinal gerado pelas coerências de múltiplo quanta intermoleculares. Escolhemos compostos com valores de deslocamento químico próximos de modo a poder excitá-los com um único pulso. Assim, compostos com deslocamentos químicos próximos podem ser considerados como um sistema homonuclear. À medida que a diferença entre os deslocamentos químicos, dependendo do gradiente aplicado, se torna importante, podemos considerar o sistema como composto de dois spins distintos sob o ponto de vista do campo dipolar gerado. Queremos dizer com isso que o campo dipolar para spins com deslocamentos químicos distintos pode ser desmembrado em duas contribuições. Podemos escrever o campo dipolar para um sistema de dois spins distintos, mas que podem ser irradiados simultaneamente como

$$B_{dA(B)}(z, t_1^+) = -\mu_0 M_{0A(B)} \cos(kz \pm \omega t_1) \times \exp[-k^2 D_{A(B)} t_1] - \frac{2}{3} \mu_0 M_{0(A)B} \cos(kz \mp \omega t_1) \times \exp[-k^2 D_{(A)B} t_1], \quad (4.33)$$

onde o sinal superior corresponde à espécie fora dos parênteses e o sinal inferior à espécie dentro dos parênteses. μ_0 é a permeabilidade magnética no vácuo. O segundo termo do lado direito representa a contribuição do outro grupo de spins pertencentes ao sistema. Esse termo pode ser extraído das equações de Bloch, onde o campo dipolar possui duas contribuições para a magnetização total

$M = M_A + M_B$. Por isso temos o valor $2/3$ multiplicando o segundo termo.

A aproximação para a solução da equação de Bloch-Torrey modificada, onde levamos em conta somente o efeito do campo dipolar, para o caso da mistura com dois spins é

$$m_A^+ = e^{i\xi_A \cos(kz + \omega t_1)} e^{i(2/3)\xi_B \cos(kz - \omega t_1)} \quad (4.34)$$

$$m_B^+ = e^{i\xi_B \cos(kz - \omega t_1)} e^{i(2/3)\xi_A \cos(kz + \omega t_1)} \quad (4.35)$$

$$\xi_{A(B)} = \frac{t_2}{\tau_{dA(B)}} \times \exp[-k^2 D_{A(B)} t_1] \lambda_{A(B)}(t_2) \quad (4.36)$$

onde $\lambda_{A(B)}$ corresponde a $\lambda_{A(B)}^{(I)}$ ou $\lambda_{A(B)}^{(II)}$ dados nas equações 4.24 e 4.25, respectivamente.

Os termos em 4.34 possuem duas exponenciais com modulação espacial. Devemos desenvolver as duas em termos de séries de harmônicos para funções de Bessel. Agora, como feito no caso de uma única espécie nuclear, devemos integrar sobre todas as isocromátas do sistema para obter o sinal total. Como em 4.27, devemos expandir os termos em 4.34 em harmônicos de funções de Bessel. Vale notar que a integral sobre o volume, desta vez, só irá eliminar o somatório em uma das exponenciais. Usando o resultado obtido em 4.32 temos

$$M_A^+ = \frac{1}{2} (-i)^n M_{0A} e^{in\omega t_1} e^{-i\omega t_2} \times \exp[-k^2 D_A t_1] \sum_{m=-\infty}^{\infty} J_m\left(\frac{2}{3}\xi_B\right) \left\{ J_{m-n+1}(\xi_A) e^{im(\pi-2\omega t_1)} \times \exp[-(n-1)^2 k^2 \alpha D_A t_2] + J_{m-n-1}(\xi_A) e^{-im(\pi+2\omega t_1)} \times \exp[-(n+1)^2 k^2 \alpha D_A t_2] \right\}, \quad (4.37)$$

onde M_B^+ é obtida substituindo B por A e $-\omega$ por ω .

O espectro bidimensional da equação acima pode ser discutido, sem perda de

generalidade, na situação em que $\xi_{A(B)} \ll 1$. Usamos as relações $J_{-m}(\xi_{A(B)}) = (-1)^m J_m(\xi_{A(B)})$ e $J_m(\xi_{A(B)}) = \frac{1}{(m+1)!} \left(\frac{\xi_{A(B)}}{2}\right)^m$ para simplificar as expressões obtidas para a magnetização total. Nenhum dos termos da série se repetem, assim cada pico no espectro bidimensional corresponde a um termo dessa série, que para $\xi_{A(B)} \ll 1$, converge rapidamente. Substituindo as relações acima em 4.37 temos, para a coerência de 2-quanta, os seguintes picos

$$M_A^+(m=0) = \frac{1}{8} M_{0A} e^{-i\omega t_2} e^{i2\omega t_1} \times \exp[-k^2 D_A t_1] \left\{ \xi_A \times \exp[-k^2 D_A t_2] + \frac{1}{6} \left(\frac{\xi_A}{2}\right)^3 \times \exp[-9k^2 D_A t_2] \right\}, \quad (4.38)$$

$$M_A^+(m=1) = \frac{1}{12} M_{0A} e^{-i\omega t_2} \times \exp[-k^2 D_A t_1] \xi_B \left\{ \times \exp[-k^2 D_A t_2] + \frac{1}{6} \left(\frac{\xi_A}{2}\right)^2 \times \exp[-9k^2 D_A t_2] \right\}, \quad (4.39)$$

$$M_A^+(m=-1) = \frac{1}{64} M_{0A} e^{-i\omega t_2} e^{i4\omega t_1} \times \exp[-k^2 D_A t_1] \xi_B \left\{ \left(\frac{\xi_A}{2}\right)^2 \times \exp[-k^2 D_A t_2] + \frac{1}{20} \left(\frac{\xi_A}{2}\right)^4 \times \exp[-9k^2 D_A t_2] \right\}, \quad (4.40)$$

onde a expressão para M_B^+ é obtida bastando substituir B por A e $-\omega$ por ω . Os termos para $m=1$ nos dão os picos cruzados.

Nas figuras 4.9, 4.10, e 4.11 consideramos o efeito da difusão nulo e variamos somente τ_d para uma mistura binária $A+B$. Mudanças no valor de τ_d são obtidas variando a intensidade do campo B_0 ou da concentração da amostra. A situação experimental típica é aquela em que somente 4 picos são observados no espectro [ver figura 4.9]. Ao introduzir o efeito de difusão, mesmo para τ_d curto, os picos

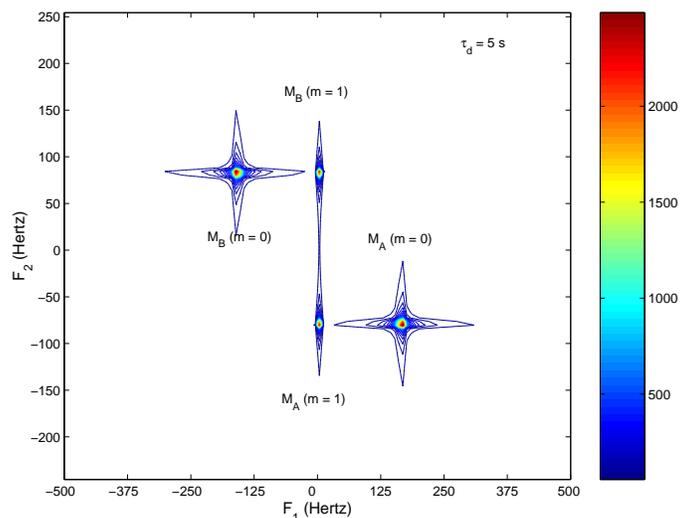
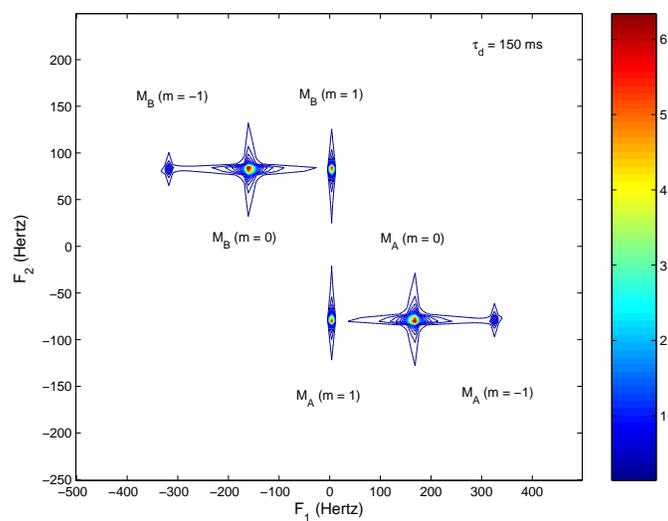
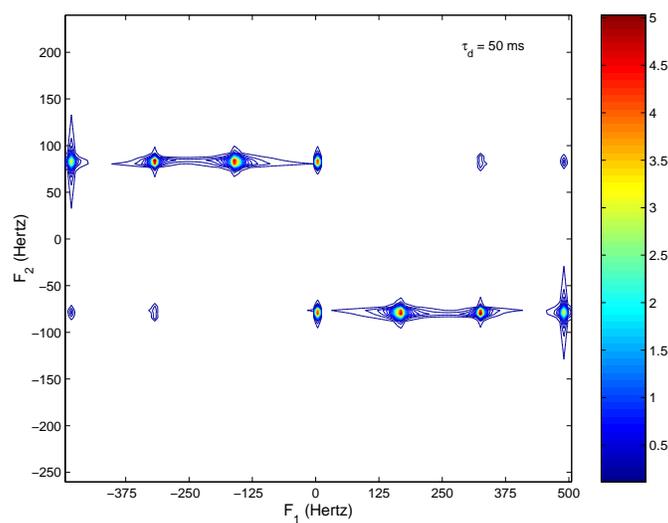


Figura 4.9: Espectro bidimensional da mistura $A + B$. Para $\tau_d = 5$ s [sem difusão] somente 4 picos aparecem no espectro bidimensional.

para $m > 1$ não são vistos no espectro.

Cada um dos picos é descrito por um único termo da série representada pela equação 4.37. Cada um desses termos representa uma forma de evolução do duplo quanta selecionado. Podemos obter a coerência de dois quanta de várias formas, por exemplo: um spin de A flipa e um spin de B também. Dois spins de A flipam, dois spins de B flipam, e a seguir os termos começam a decrescer com as coerências de duplo quanta envolvendo flips entre 2 spins de A e 4 spins de B e assim por diante. Para um situação em que o campo dipolar seja fraco [τ_d longo] o termos que sobrevivem são só os primeiros que representam transições de duplo quanta entre dois spins somente [ver figura 4.9].

Figura 4.10: Espectro bidimensional da mistura $A + B$ para $\tau_d = 150$ ms [sem difusão].Figura 4.11: Espectro bidimensional da mistura $A + B$ para $\tau_d = 50$ ms [sem difusão].

4.6.1 Forma fechada para o sinal de uma amostra binária.

Podemos simplificar a expressão 4.37 usando um teorema para soma de harmônicos de Bessel também conhecido como teorema de Graff(119). Essa simplificação auxiliará na forma final da expressão para o sinal de RMN para o caso de uma mistura binária. Podemos rescrever os termos de 4.37 a seguir

$$\sum_{m=-\infty}^{\infty} J_m\left(\frac{2}{3}\xi_B\right)J_{m-n+1}(\xi_A) e^{im(\pi-2\omega t_1)} = (-1)^{n+1}J_{n-1}(W_A) e^{-i(n-1)\chi_A}, \quad (4.41)$$

$$\sum_{m=-\infty}^{\infty} J_m\left(\frac{2}{3}\xi_B\right)J_{m-n-1}(\xi_A) e^{-im(\pi+2\omega t_1)} = (-1)^{n+1}J_{n+1}(W_A) e^{-i(n+1)\chi_A}, \quad (4.42)$$

onde

$$W_A = \left\{ \xi_A^2 + (4/9)\xi_B^2 + (4/3)\xi_A\xi_B \cos(2\omega t_1) \right\}^{1/2}, \quad (4.43)$$

$$\text{sen } \chi_A = \frac{(2/3)\xi_B}{W_A} \text{sen}(2\omega t_1), \quad (4.44)$$

$$\text{cos } \chi_A = \frac{\xi_A + (2/3)\xi_B \cos(2\omega t_1)}{W_A}.$$

A forma final para o sinal é

$$\begin{aligned}
M_A^+ &= -\frac{1}{2} i^n M_{0A} e^{-i\omega t_2} e^{in\omega t_1} \times \exp[-k^2 D_A t_1] \\
&\quad \left\{ J_{n-1}(W_A) e^{-i(n-1)\chi_A} \times \exp[-k^2(n-1)^2 \alpha D_A t_2] \right. \\
&\quad \left. + J_{n+1}(W_A) e^{-i(n+1)\chi_A} \times \exp[-k^2(n+1)^2 \alpha D_A t_2] \right\} \quad (4.45)
\end{aligned}$$

onde temos uma expressão análoga para a espécie B bastando trocar A por B e $-\omega$ por ω .

4.6.2 Atenuação por relaxação transversal e longitudinal.

Durante todo o tempo de medida a magnetização transversal sofre o efeito da relaxação por T_2 . Para levar em conta seu efeito basta resolver a equação de Bloch com o termo de relaxação. Obtemos para a magnetização transversal em todo intervalo t uma atenuação do tipo

$$M_A^+(t) = M_{0A} \times \exp(-t/T_2). \quad (4.46)$$

Além da relaxação transversal, durante o intervalo t_1 a magnetização pode relaxar retornando ao estado de equilíbrio. Isso leva um tempo da ordem de T_1 para ocorrer. Na direção longitudinal, após um pulso de $\pi/2$, temos

$$M_{zA}(t_1) = M_{0A} \times [1 - \exp(-t_1/T_1)]. \quad (4.47)$$

No instante t_1^+ essa magnetização é devolvida ao plano transversal e sofre a ação apenas do segundo pulso de gradiente nG . Essa magnetização fica modulada em nkz e, além da relaxação spin-spin, também sofre a ação refocalizadora do campo dipolar.

Precisamos modificar as expressões de Ardelean e Chen para acomodar o efeito

de relaxação spin-rede na magnetização modulada em z responsável pelo campo dipolar. Uma maneira de fazer isso é usando o resultado das equações de Bloch. Aproveitando a linearidade basta acrescentar nas equações 4.24 e 4.25 o termo $\exp(-t_2/T_1)$. Todas as equações para a magnetização longitudinal devem ser modificadas para incluir o termo acima. Ao levar em conta a relaxação spin-rede devemos acrescentar a contribuição da magnetização longitudinal que relaxa durante t_1 e é colocada de volta no plano xy após o segundo pulso de $\pi/2$. Na expressão 4.45 a partir de t_2 , incluímos o termo 4.47. Aplicando o mesmo tratamento via expansão em harmônicos de Bessel para o campo dipolar obtemos

$$\begin{aligned} \Delta_A^+(t_2) &= i^{n+1} M_{0A} e^{i\omega t_1} e^{-i\omega t_2} \times [1 - \exp(-t_1/T_{1A})] \\ &\quad \times \exp(-t_2/T_{2A}) \times \exp[-n^2 k^2 \alpha D_A t_2] J_n(W_A) e^{-in\chi_A}, \end{aligned} \quad (4.48)$$

onde temos uma expressão análoga para Δ_B^+ bastando substituir A por B e ω por $-\omega$.

4.6.3 Forma final da magnetização para uma amostra do tipo $A + B$.

A magnetização da amostra binária $A + B$ é dada por

$$\begin{aligned} M_A^+ &= \Delta_A^+(t_2) - \frac{1}{2} i^n M_{0A} e^{-i\omega t_2} e^{i\omega t_1} \times \exp[-(t_1 + t_2)/T_{2A}] \times \exp[-k^2 D_A t_1] \\ &\quad \left\{ J_{n-1}(W_A) e^{-i(n-1)\chi_A} \times \exp[-k^2(n-1)^2 \alpha D_A t_2] \right. \\ &\quad \left. + J_{n+1}(W_A) e^{-i(n+1)\chi_A} \times \exp[-k^2(n+1)^2 \alpha D_A t_2] \right\} \end{aligned} \quad (4.49)$$

onde temos uma expressão análoga para a espécie B bastando trocar A por B e $-\omega$ por ω . Além disso $\Delta_A^+(t_2)$ é dado pela expressão 4.48, W_A é dado em 4.43. A equação 4.36 é rescrita como:

$$\xi_{A(B)} = \frac{t_2}{\tau_{dA(B)}} \times \exp[-(k^2 D_{A(B)} + 1/T_{2A(B)})t_1] \lambda_{A(B)}(t_2) \quad (4.50)$$

onde $\lambda_{A(B)}$ corresponde a $\lambda_{A(B)}^{(I)}$ ou $\lambda_{A(B)}^{(II)}$ dados nas equações 4.24 e 4.25, respectivamente e acrescidos dos termo $\times \exp(-t_2/T_{1A(B)})$.

4.7 Parte experimental.

4.7.1 Instrumentação.

Os espectros bidimensionais obtidos através do módulo do sinal da transformada de Fourier do eco de duplo quanta [$n = 2$] foram feitos em um espectrômetro de 7.04 T que corresponde à frequência de 300 MHz para o núcleo de hidrogênio [^1H]. Assim estaremos observando, em todos os compostos tratados neste capítulo, somente a ressonância dos átomos de hidrogênio.

Os espectros experimentais foram comparados com o valor absoluto da transformada de Fourier de $M_A^+ + M_B^+$, obtido da expressão 4.49, usando as suposições $\lambda_{(A)B}$ para atenuação longitudinal do campo dipolar.

O número de divisões do intervalo temporal t_1 para evolução da coerência de duplo quanta foi de $N_1 = 512$ com 8 médias para cada aquisição. A resolução da frequência de detecção F_2 foi de 0.3 Hz/divisão enquanto em F_1 ela variou de 3 a 7 Hz/divisão dependendo da mistura binária usada. Finalmente, a frequência de detecção foi colocada aproximadamente equidistante entre as linhas de ressonância separadas pelo deslocamento químico.

Com relação aos gradientes, dois valores de $k = \gamma G \delta$ foram usados: $k_1 = 1.06 \times 10^3 \text{ cm}^{-1}$ e $k_2 = 0.798 \times 10^3 \text{ cm}^{-1}$, correspondendo a $G_1 = 8 \text{ gauss/cm}$ e $G_2 = 6 \text{ gauss/cm}$ respectivamente, para $\delta = 5 \text{ ms}$. Espectros obtidos com um gradiente maior 16 gauss/cm e um tempo proporcionalmente menor de duração $\delta = 2.5 \text{ ms}$ foram considerados idênticos dentro da incerteza experimental.

Tentando observar o efeito de amortecimento por radiação nos espectros, deslocamos um pouco a sintonia da bobina de recepção. Para essa desintonia tivemos que aumentar a largura do pulso $\pi/2$ de $9 \mu\text{s}$ para aproximadamente $40 \mu\text{s}$. O efeito do amortecimento por radiação foi considerado desprezível.

A homogeneidade do campo polarizante no volume da amostra foi corrigida para um valor em torno de 3 Hz usando bobinas auxiliares. Para comparar as larguras de linha obtidas no experimento com as previstas teoricamente, realizamos uma convolução do sinal M_A^+ e M_B^+ com uma função Lorentziana antes da transformada de Fourier. Como esse procedimento envolve uma incerteza sobre

qual a forma da função para largura de linha do equipamento, uma comparação entre as amplitudes dos picos é mais confiável.

4.7.2 Preparação das amostras.

Quatro sistemas, denominados S_0 , S_1 , S_2 , e S_3 foram analisados. S_1 consiste de uma mistura de 50% (V/V) CHCl_3 , 10% (V/V) C_6H_6 , e 40% (V/V) C_6D_6 . S_2 é uma solução 0.04 M de 18 **coroa 6** em clorofórmio (7.7% (V/V) CHCl_3 e 92.3% (V/V) CDCl_3), e S_3 é uma solução 0.04 M de 18 **coroa 6** em água (0.86% (V/V) de H_2O e 99.14% (V/V) de D_2O). O sistema S_0 é similar ao S_1 mas com uma concentração de CHCl_3 e C_6H_6 reduzida de um fator 7.

As soluções foram preparadas de modo a deixar M_{0A} e M_{0B} em concentrações idênticas. Somente no sistema S_1 , um valor de concentração de clorofórmio 15% maior foi considerado na solução final. Os valores para o tempo de refocalização dipolar $\tau_d = 1/\gamma\mu_0 M_0$, foram: $\tau_d(S_0) \approx \tau_d(S_2) \approx \tau_d(S_3) \approx 15.5$ s, e $\tau_d(S_1, \text{benzeno}) \approx 1.15\tau_d(S_1, \text{clorofórmio}) \approx 2.2$ s.

A maior fonte de erros, em algumas das amostras, foi a baixa relação sinal-ruído causada pela diluição e também por pequenos erros nas concentrações dos prótons correspondentes às diferentes espécies difusivas. Os coeficientes de difusão e os tempos de relaxação de todas as espécies usadas nas simulações foram medidos separadamente em temperatura ambiente de 25°C usando métodos convencionais(120).

Os seguintes resultados foram obtidos:

$$\begin{aligned} S_0 \text{ e } S_1 & : D_A(\text{clorofórmio}) = 1.56 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}, \\ & D_B(\text{benzeno}) = 1.60 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}. \\ S_2 & : D_A(18 \text{ coroa } 6) = 0.61 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}, \\ & D_B(\text{clorofórmio}) = 1.36 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}. \\ S_3 & : D_A(18 \text{ coroa } 6) = 0.61 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}, \\ & D_B(\text{HDO}) = 2.1 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}. \end{aligned}$$

Exceto para o éter coroa, os tempos de relaxação medidos foram grandes comparados com o tempo $t = 1/k^2D$ para atenuação por difusão. Para o éter coroa obtemos $T_{1A} = 0.63$ s e $T_{2A} = 0.52$ s. Tomando todas as fontes de erro consideradas acima, uma discrepância de 10% entre os valores calculados e medidos pode ser atribuída às incertezas experimentais.

4.8 Resultados.

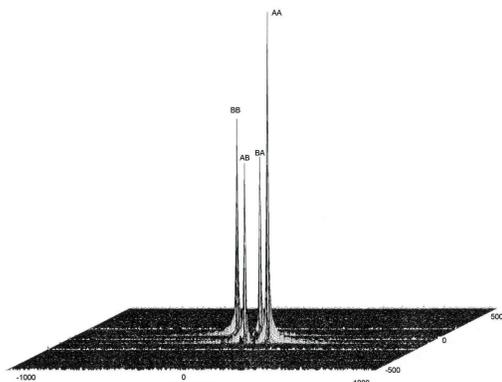


Figura 4.12: Resultado experimental para o mapa de superfície do espectro bidimensional de S_1 com $G = 6$ gauss/cm.

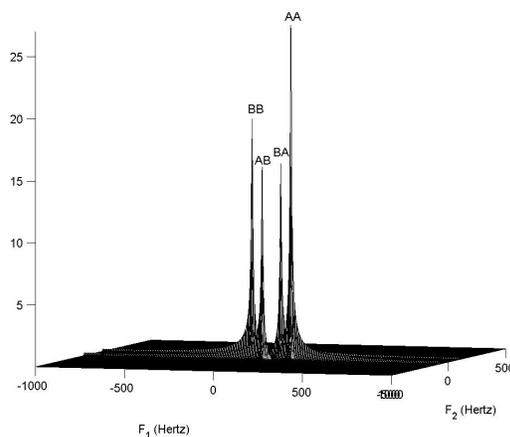


Figura 4.13: Cálculo do mapa de superfície do espectro bidimensional de S_1 para $G = 6$ gauss/cm usando a suposição I com $\alpha = 0.675$.

A figura 4.12 mostra um perfil do valor absoluto do sinal da transformada de Fourier do sistema S_1 com um gradiente de campo magnético de coerência de 6 gauss/cm equivalente a um $k = 0.798 \times 10^3 \text{ cm}^{-1}$. Ao seu lado, na figura 4.13, temos o cálculo dessa superfície usando o sinal de magnetização para o sistema $(A + B)$. Em todos os espectros que serão apresentados nesta seção, a seguinte notação será empregada: o sistema A indica as espécies que possuem o menor coeficiente de difusão: [clorofórmio em S_1] enquanto o sistema B indica o sistema com maior coeficiente [benzeno em S_1]. Além disso, a frequência no período de aquisição é chamada de F_2 e a frequência de detecção indireta no período de evolução, F_1 . Os diversos picos, que correspondem a coerências entre spins através do campo dipolar distante, serão rotuladas como: **AA**, **AB**, **BA**, e **BB**, onde **AA** é sempre o pico de maior intensidade pois envolve coerências entre a espécie que difunde mais lentamente. O pico representado por **AB**, envolvendo coerências entre prótons das espécies A e B fica deslocado de ω/π ao longo do eixo de F_1 com relação a **AA** e tem o mesmo valor de F_2 . O pico dado por **BA** está deslocado de **AB** ao longo de F_2 de ω/π e tem o mesmo valor para F_1 que **AB**. Finalmente o pico dado por **BB** está deslocado de **BA** ao longo de F_1 por ω/π ,

em uma direção oposta a AA , e tem o mesmo valor de F_2 que BA . Os quatro valores independentes para as razões de amplitude AA/AB , AA/BB , AB/BA , e AB/BB foram determinados para todos os sistemas de S_0 a S_3 usando dois valores de k . Os resultados estão nas tabelas 4.1 e 4.3. Na tabela 4.1 temos ($k = 1.06 \times 10^3 \text{ cm}^{-1}$) e na tabela 4.3, ($k = 0.798 \times 10^3 \text{ cm}^{-1}$). As larguras de linha média ΔF_1 e ΔF_2 para $k = 1.06 \times 10^3 \text{ cm}^{-1}$ estão na tabela 4.2.

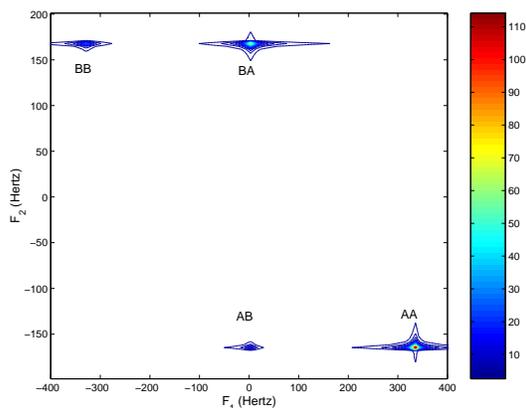


Figura 4.14: Mapa de contorno do espectro 2 D do éter de coroa (A) e água (B) [$\alpha = 0$, $G = 8$ gauss/cm].

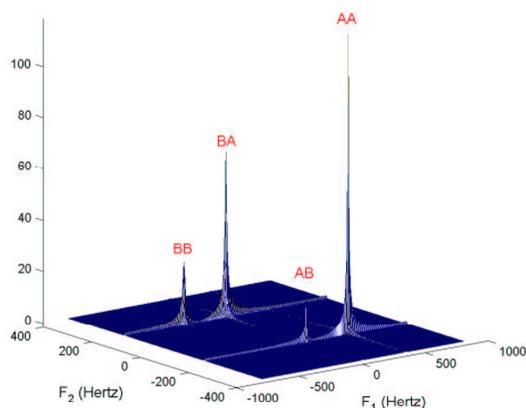


Figura 4.15: Superfície de contorno do espectro 2 D do éter de coroa (A) e água (B) [$\alpha = 0$, $G = 8$ gauss/cm].

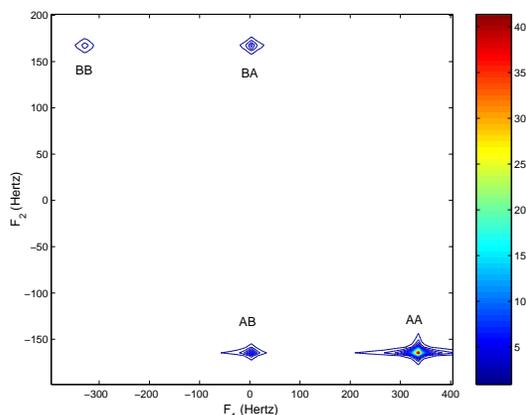


Figura 4.16: Mapa de contorno do espectro 2 D do éter de coroa (A) e da água (B) [$\alpha = 1$, $G = 8$ gauss/cm].

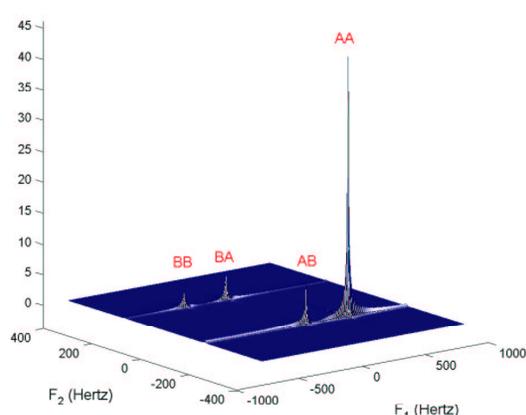


Figura 4.17: Superfície de contorno do espectro 2 D do éter de coroa (A) e da água (B) [$\alpha = 1$, $G = 8$ gauss/cm].

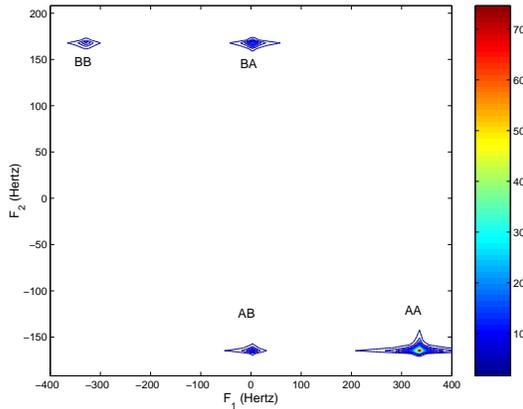


Figura 4.18: Mapa de contorno do espectro 2 D do éter de coroa (A) e da água (B) [$\alpha = 0.38$, $G = 8$ gauss/cm].

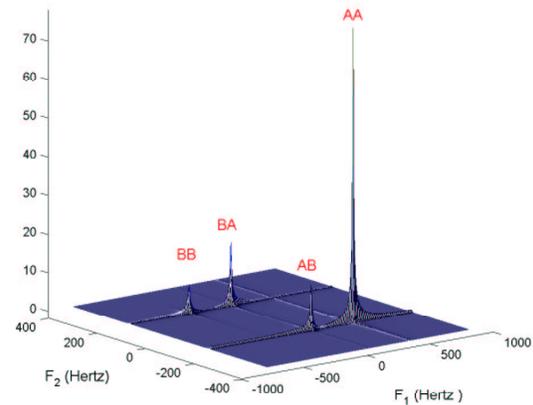


Figura 4.19: Mapa de superfície do espectro 2 D do éter de coroa (A) e água (B) [$\alpha = 0.38$, $G = 8$ gauss/cm].

Nas figuras de 4.16 até 4.21 temos alguns resultados obtidos a partir da transformada de Fourier da equação 4.49 para alguns valores de α de modo a ajustar as curvas experimentais tanto para o sistema binário A e B com $D_A \neq D_B$ e $D_A \approx D_B$. Vemos que para o último caso [figuras 4.20 e 4.21] o valor de α é irrelevante no cálculo da razão entre os picos. Porém, na primeira situação, com espécies de coeficiente de difusão diferentes, um valor de α especial deve ser usado para ajustar as curvas corretamente, pois a razão dos picos é bem sensível ao valor de α nessa situação [ver figuras de 4.14 até 4.19].

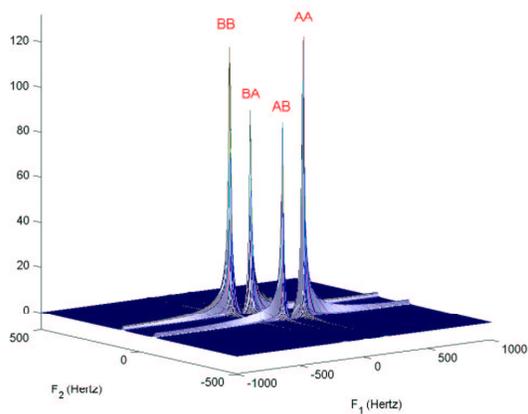


Figura 4.20: Mapa de superfície do espectro 2 D do clorofórmio (A) e benzeno (B) [$\alpha = 0$, $G = 8$ gauss/cm].

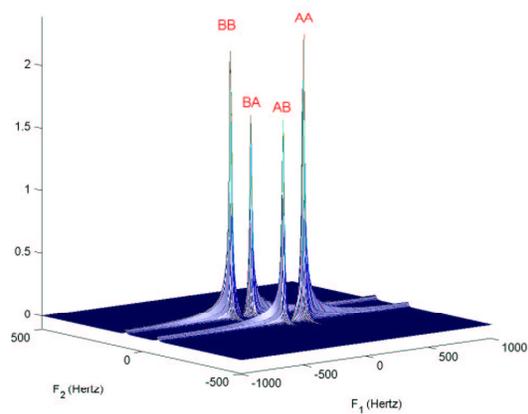


Figura 4.21: Mapa de superfície do espectro 2 D do clorofórmio (A) e benzeno (B) [$\alpha = 1$, $G = 8$ gauss/cm].

4.9 Discussão.

A tabela 4.1 confirma que a amplitude relativa dos picos para os sistemas S_0 e S_1 é praticamente independente do tipo de suposição (I ou II) para a atenuação longitudinal do campo dipolar ou do valor de α escolhido.

As diferenças entre os dois sistemas são: uma menor concentração de prótons em S_0 comparado com S_1 e $M_{0A} = M_{0B}$ em vez de $M_{0A} = 1.15 M_{0B}$, que é a razão de concentração para o sistema S_1 . Mesmo com a diferença nos tempos de coerência dipolares τ_d , apenas quatro picos foram observados em ambos os casos.

O espectro para S_0 é especialmente simples. Ele consiste de picos AA e BB de amplitudes aproximadamente iguais com picos cruzados AB e BA também de amplitudes próximas. Além disso, a razão $AB/BB = 0.69$ está muito próxima da razão $2/3$, como previsto na aproximação secular da equação 4.33 garantido nesse caso o limite da aproximação de pequeno argumento para as funções de Bessel. Esse efeito também é observado na razão $AA/AB = 1.51$.

A tabela 4.1 mostra que, à medida que a diferença nos coeficientes de difusão entre as espécies A e B se torna mais pronunciada, diferentes suposições predizem razões de amplitude bem distintas. Para $\alpha = 0$ ou $\alpha = 1$, nos sistemas S_2 e S_3 , discrepâncias entre os valores calculados e medidos para as razões das intensidades de picos são claramente observados para as suposições de Kimmich (I) ou de Jeener (II). Contudo a suposição (I) combinada com $\alpha = 0.38$ para $k = 1.06 \times 10^3 \text{ cm}^{-1}$, tem todas as razões de amplitude concordando com os valores experimentais dentro de um erro de aproximadamente 10%. Essa combinação da suposição (I) com $\alpha = 0.38$, para $k = 1.06 \times 10^3 \text{ cm}^{-1}$, não só ajusta bem os valores para as razões de intensidade como também dá uma boa aproximação para as larguras de linha ΔF_2 . Na verdade a suposição (I) com $\alpha = 1$ já consegue uma boa aproximação para as razões de amplitudes dos picos, todavia as larguras de linha se tornam muito maiores que os valores medidos.

Ao tentarmos a suposição (II) combinada com valores adequados de α , o resultado não é satisfatório. Por exemplo, se escolhermos $\alpha = 0.83$, que resulta, para o sistema S_3 , em uma concordância razoável para razão AB/BA , ainda resistem discrepâncias para as outras razões como mostra a tabela 4.1. Além disso,

Tabela 4.1: Razão das amplitudes dos picos experimentais para $k = 1.06 \times 10^3 \text{cm}^{-1}$ e valores calculados para suposições I e II.

G=8 gauss/cm	AA/AB		AA/BB		AB/BA		AB/BB	
	S_0	S_1	S_0	S_1	S_0	S_1	S_0	S_1
Experimento	1.51	1.86	1.04	1.48	0.94	1.03	0.69	0.79
I($\alpha = 0$)	1.54	1.75	1.04	1.38	0.98	0.99	0.68	0.79
I($\alpha = 1$)	1.53	1.75	1.07	1.42	1.01	1.02	0.70	0.81
I($\alpha = 0.38$)	1.53	1.75	1.06	1.40	0.99	1.01	0.69	0.80
II($\alpha = 0$)	1.54	1.79	1.08	1.41	1.00	0.96	0.70	0.79
II($\alpha = 1$)	1.54	1.76	1.08	1.42	1.00	1.00	0.70	0.80
II($\alpha = 0.83$)	1.54	1.76	1.07	1.42	1.00	1.00	0.70	0.80

	AA/AB		AA/BB		AB/BA		AB/BB	
	S_2	S_3	S_2	S_3	S_2	S_3	S_2	S_3
Experimento	3.23	6.73	2.93	11.5	0.74	0.84	0.9	1.7
I($\alpha = 0$)	3.36	6.67	2.2	4.97	0.44	0.29	0.65	0.74
I($\alpha = 1$)	3.10	6.01	5.0	19.05	1.29	1.80	1.61	3.17
I($\alpha = 0.38$)	3.31	6.40	3.30	11.43	0.73	0.80	1.00	1.79
II($\alpha = 0$)	4.42	13.3	3.24	11.42	0.35	0.15	0.73	0.86
II($\alpha = 1$)	3.74	9.09	4.97	19.05	0.97	1.01	1.33	2.09
II($\alpha = 0.83$)	3.90	9.64	4.88	18.4	0.85	0.83	1.25	1.84

a largura de linha ΔF_2 obtida nesse caso fica abaixo do valor experimental.

O valor do parâmetro ajustável $0 \leq \alpha \leq 1$ necessário para ajustar as razões das amplitudes, embora completamente insensível aos valor dos coeficientes de difusão para um dado valor de k , não é independente do valor do k . De fato α se aproxima de 1 quando os valores de k decrescem e consequentemente o tempo de refocalização dipolar aumenta. A tabela 4.3 mostra valores das razões de amplitudes calculados para $k = 0.798 \times 10^3 \text{cm}^{-1}$ onde o valor adotado de $\alpha = 0.675$ foi escolhido para dar um bom ajuste da razão AB/BA do sistema S_3 . Assim como no caso $k = 1.06 \times 10^3 \text{cm}^{-1}$, essa escolha permite bom ajuste para todas as razões nos três sistemas considerados. A concordância entre os resultados teóricos e as medidas experimentais para as larguras de linha médias estão na tabela 4.2.

Tabela 4.2: Larguras de linha experimentais para $k = 1.06 \times 10^3 \text{cm}^{-1}$ e valores calculados para a suposição I.

G=8 gauss/cm	$\Delta F_1(AA)$			$\Delta F_1(AB)$			$\Delta F_1(BB)$		
	S_0	S_2	S_3	S_0	S_2	S_3	S_0	S_2	S_3
Experimento (Hz)	22	20	8.5	22	24	13	22	27	17.5
I($\alpha = 0.38$)	23	13.5	10	23	17	15	23	22	26

	$\Delta F_2(AA)$			$\Delta F_2(AB)$			$\Delta F_2(BB)$		
	S_0	S_2	S_3	S_0	S_2	S_3	S_0	S_2	S_3
Experimento (Hz)	6	5	5	4	5	5	7	5	7
I($\alpha = 0.38$)	5	4	4	5	6	4	5.5	5	5

Tabela 4.3: Razão das amplitudes dos picos experimentais para $k = 0.798 \times 10^3 \text{cm}^{-1}$ e valores calculados para a suposição I.

G = 6 gauss/cm	AA/AB			AA/BB		
	S_1	S_2	S_3	S_1	S_2	S_3
Experimento	1.86	2.93	4.23	1.38	2.96	7.53
I($\alpha = 0.675$)	1.75	2.50	4.52	1.40	2.45	7.55

	AB/BA			AB/BB		
	S_1	S_2	S_3	S_1	S_2	S_3
Experimento	0.92	0.89	1.06	0.74	1.00	1.78
I($\alpha = 0.675$)	1.00	0.86	0.99	0.79	0.98	1.67

4.10 Conclusões.

Podemos concluir que para duas espécies com coeficientes de difusão diferentes, espectros bidimensionais CRAZED são capazes de investigar a forma da atenuação do sinal por difusão, que pode ser mascarada em um experimento envolvendo apenas uma espécie química. No regime em que a condição $k^2 D \tau_d \gg 1$ é satisfeita, a aproximação de pequeno argumento para as funções de Bessel é bem razoável produzindo assim um espectro com quatro picos. Desses picos, os picos cruzados AB e BA são especialmente importantes pois a razão de amplitude AB/BA parece ser sensível a simetria do termo de atenuação por uma troca do tipo $A \leftrightarrow B$.

Seguindo o trabalho de outros autores(114; 121) tentamos compreender o problema de atenuações induzidas por difusão em um experimento CRAZED através de uma expressão analítica em contrapartida às possíveis soluções numéricas(116). A expressão proposta, através do teorema de Graff(119), consiste no produto de dois termos: um envolvendo a atenuação por difusão da componente transversal de magnetização durante o período de detecção t_2 ; e a outra, dando conta da precessão em função do campo dipolar durante o processo de refocalização. Porém, com o intuito de tratar a relação entre atenuação e refocalização, um parâmetro ajustável $0 \leq \alpha \leq 1$ que pode ser explicado de maneira qualitativa, foi introduzido de forma eurística.

A razão das amplitudes AB/BA é especialmente sensível à escolha adequada de α e da função de atenuação para o campo dipolar. Se consideramos, por exemplo, a função $\lambda^{(II)}$ da equação 4.24 com $\alpha = 1$, temos o único caso em que os termos principais de uma expansão em série para os picos cruzados pode ser tratada como simétrica por uma troca do tipo $A \leftrightarrow B$. Como consequência o valor calculado da razão AB/BA torna-se muito próximo de um em todos os casos, como visto na tabela 4.1 para a suposição (II) com $\alpha = 1$. O tratamento do valor experimental da razão AB/BA , que em alguns casos parece diferir bastante de um, só pode ser feito usando um valor $0 \leq \alpha \leq 1$ para ajustar a solução.

A união da suposição (I) com o valor de α que dá uma boa aproximação para a razão de amplitude AB/BA responde por uma série de outros detalhes do espectro em duas dimensões como por exemplo as larguras de linha tanto em F_1

quanto em F_2 . Apesar de ser um parâmetro bem razoável, não devemos colocar muito peso em uma interpretação em termos dos valores de α obtidos nos ajustes. Esses valores são extremamente dependentes da forma usada para atenuação por difusão, que em um tratamento exato, se fosse possível, certamente apresentaria uma forma diferente da proposta pelas suposições contidas em $\lambda^{(I)}$ ou $\lambda^{(II)}$.

A impossibilidade de ajustar as razões de amplitude e larguras de linha para alguns de nossos experimentos, ao utilizar suposições bem aceitas na literatura sem o parâmetro de ajuste empírico α nos dá indicativos de que, dentro do maior alcance do tipo de experimento escolhido para testar os modelos, essas teorias precisam ser melhoradas.

O tratamento quantitativo de experimentos envolvendo efeitos de coerência de duplo quanta intermolecular precisam de uma expressão que leve em conta a atenuação por difusão, uma vez que essa contribuição é importante na maioria das situações. Oferecemos uma forma de testar as expressões analíticas presentes na literatura e propusemos um fator α para corrigir discrepâncias observadas em um experimento mais geral em duas dimensões. Apesar da forma proposta ainda não ser a forma final, temos nesse momento algumas pistas de como devam ser as correções para os modelos teóricos vigentes.

Capítulo 5

Imagens Overhauser usando coerência de duplo quanta intermolecular

5.1 Introdução.

O efeito de coerência de múltiplos quanta intermoleculares [MQC, intermolecular multiple quantum coherences] possibilita novas formas de contraste o que é muito importantes em IRMN. Ao permitir que o acoplamento de spins seja feito via um campo dipolar distante geralmente modulado através de gradientes aplicados externamente, esse campo dipolar distante, além de produzir picos de correlação em espectros bidimensionais de moléculas quimicamente isoladas, pode ser uma maneira de produzir contraste sensível a variações de susceptibilidade magnética em regiões menores que aquelas alcançadas pelo limite de resolução da imagem(122). Um parâmetro definido como distância de correlação $d_c = \pi/\gamma G\delta$ poderia ser ajustado de modo a fornecer, a partir das propriedades do campo dipolar distante, um parâmetro de contraste subvoxel.

A possibilidade de usar o efeito de coerência múltipla intermolecular em imagens por RMN foi proposta por Richter et al.(123) em 95. Os autore observaram que as coerências quânticas, agora entre moléculas separadas espacialmente, poderiam fornecer informações bem distintas daquelas obtidas com IRMN convencional. Warren et al.(122) usaram o efeito de transições de múltiplos quanta in-

termoleculares, selecionando as coerências de zero quanta [excitação de dois spins orientados em sentido oposto], para produzir imagens em cérebros de ratos em um campo de 4 T. Foram usados comprimentos de correlação bem menores que a resolução das imagens. Comparando os resultados, especialmente para regiões próximas de tumores, com imagens obtidas via seqüência Spin-Eco de Hahn foram constatadas diferenças marcantes no contraste. Acredita-se que o aumento de densidade em microvasos é um indicador do potencial para crescimento de tumores logo essa técnica de contraste subvoxel poderia ser bastante promissora nesse estudo.

Um outra aplicação importante seria em imagens funcionais [fMRI, functional magnetic resonance imaging]. A atividade neuronal está associada com um aumento local da concentração de oxigênio nos tecidos [BOLD, blood oxygen level dependent]. Acredita-se que variações na susceptibilidade de magnetização local dos prótons da água presente nos tecidos seja a responsável pelo contraste em imagens funcionais . Usando contraste em T_2^* , verifica-se um aumento de sinal na região de atividade neuronal. Essa dependência com a susceptibilidade local criou a possibilidade de usar o contraste obtido por iMQC nesse tipo de imagem(124; 125).

Outros grupos como o de Jianhui Zhong passaram a estudar, também em imagens médicas, propriedades da coerência de duplo quanta em seres vivos(126; 127). Além de otimizar a seqüência de pulsos para este tipo de imagem(128; 129), Zhong também verificou que o contraste por duplo quanta exibia características semelhantes ao de zero quanta e que podia, em alguns casos, apresentar maior relação sinal-ruído.

O efeito de coerência intermolecular para obter informação sobre sistemas estruturados foi bastante investigado nos últimos anos(100; 130; 131). O contraste através de iMQC também pode ser usado para obter informações estruturais por IRMN(132; 133; 134). A partir do estudo sobre o efeito do campo dipolar desmagnetizante no sinal de eco em sistemas estruturados simples(135; 136) e também em detecção indireta(137) de núcleos não abundantes, Bowtell et al.(138) usaram o campo dipolar para obter contraste em imagens de sistemas estruturados. Para

criar o campo dipolar, eles usaram uma seqüência do tipo CRAZED com $n = 2$. Em um de seus experimentos, ao variar a intensidade do gradiente aplicado eles obtiveram imagens com contraste entre dois sistemas [água e acetona] colocados em tubos separados. Utilizando a abordagem clássica a partir da solução das equações de Bloch, eles conseguiram explicar os perfis das imagens obtidas. Usando o tratamento quântico Bouchard et al.(139) obtiveram o mesmo tipo de contraste para o campo desmagnetizante usado por Bowtell. O nome campo dipolar distante [ver 4.3.1] parece mais adequado nesse tipo de tratamento.

Um dos grandes problemas encontrados até agora tanto em espectroscopia com em imagens usando iMQC diz respeito a refocalizações do eco de Hahn devido a gradientes de campos locais muito comuns em sistemas estruturados. O controle do contraste através do comprimento de correlação d_c pode não representar nessas condições a informação correta sobre a estrutura do sistema. O uso de técnicas modernas de ciclagem de fase(140; 141) para selecionar o eco gerado por coerência de n -quanta é uma das maneiras de resolver o problema pelo menos em sistemas simples.

O efeito do campo dipolar distante, até agora, tem sido um fenômeno típico de experimentos usando soluções concentradas em campos intensos(142). As imagens usando iMQC com menor campo que se tem notícia foram feitas em 1.5 T(143). O sinal de coerência múltipla intermolecular, na situação ideal, produz um sinal em torno de 30% do sinal de RMN convencional. Campos elevados são sempre necessários para se obter boa relação sinal-ruído para o estudo em líquidos. O aumento da intensidade do campo todavia também agrega desvantagens a começar pelo efeito de gradiente de susceptibilidade local(144). Esse efeito, proporcional ao campo aplicado, pode produzir gradientes de campo principalmente nas interfaces entre duas regiões. Além de imagens distorcidas, o contraste devido ao campo dipolar distante pode ficar comprometido. Uma tentativa de eliminar esse tipo de efeito é através de imagens em campos fracos.

5.1.1 Proposta do capítulo.

Neste capítulo temos como objetivo demonstrar a viabilidade de realizar ima-

gens usando coerência de duplo quanta intermolecular [iDQC, intermolecular double-quantum coherence] em um campo de apenas 16 mT. Para isso usaremos o ganho de polarização obtido com a técnica PEDRI discutida no capítulo 2. De início indicamos a maneira como realizar imagens usando a seqüência PEDRI-CRAZED. Em seguida propomos uma maneira de garantir que as imagens nas condições experimentais do laboratório são provenientes da coerência de 2-quanta intermolecular. Nas conclusões discutimos possíveis vantagens e aplicações de experimentos feitos nessas condições de campo fraco.

5.2 Imagens Overhauser-CRAZED.

Não é simples obter uma imagem em campos da ordem de militesla onde a relação sinal-ruído Zeeman é muito pequena. Para imagens usando iDQC essa tarefa se torna ainda mais difícil. Não somente pela intensidade do sinal mas também pelo tempo de desmagnetização τ_d . Esse tempo, que para campos de militesla esta na faixa de minutos, fornece o tempo médio necessário para a ação do campo dipolar ser eficiente na refocalização da coerência de n-quanta. Nesse intervalo a maioria do sinal, pelo menos em amostras líquidas, desaparece quase que totalmente devido a efeitos de relaxação [T_1 e T_2] que ocorrem na escala temporal de segundos. Com o efeito de polarização dinâmica Overhauser, podemos deslocar τ_d para valores em milisegundos e assim recuperar o efeito de refocalização pelo campo dipolar mesmo em campos muito baixos.

A extensão da seqüência PEDRI para incluir a seqüência CRAZED é trivial(145). Na direção z acrescentamos dois pulsos de gradiente responsáveis pela filtragem da coerência de n-quanta.

A direção dos gradientes de coerência é uma escolha importante. O máximo de sinal é obtido com gradientes na direção do campo $B_0\hat{z}$ tendo o mínimo na direção do ângulo mágico. Essa dependência angular pode ser usada inclusive para detectar fluxo em imagens usando contraste por iMQC(146). Um outro problema é escolher a orientação da amostra de modo a privilegiar algum tipo de simetria. Com isso podemos de uma maneira fácil garantir a condição $1/kL \ll 1$ para validar as aproximações feitas nos cálculos do campo dipolar distante. A intensidade dos gradientes de coerência deve ser maior que a dos gradientes de leitura usados na imagem. Sinais provenientes do eco de Hahn podem ser recuperados se essa condição não for respeitada.

5.3 Evolução de iDQC no intervalo t_1 .

A abordagem quântica fornece imediatamente informações sobre qual efeito de um gradiente de campo aplicado no período de evolução t_1 onde todas as coerências de múltiplo quanta estão evoluindo. Como explicado no apêndice D com a seleção de $n = 2$ somente as coerências envolvendo dois spins serão refocalizadas pelo campo dipolar distante no intervalo t_2 . Assim escrevemos a evolução para a matriz densidade só para termos envolvendo dois spins com um campo dipolar fraco, i.e. para o número mínimo de comutações com o campo dipolar que produza um sinal observável [1-quanta] no período t_2 de aquisição.

Tomando a matriz densidade até o termo quadrático temos, sem fator de normalização,

$$\rho \propto \mathbf{1} - \frac{\hbar\omega}{kT} \sum_{i=1}^N I_{zi} + \frac{1}{2} \left(\frac{\hbar\omega}{kT} \right)^2 \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N I_{zi} I_{zj}. \quad (5.1)$$

onde N representa o número de spins [moléculas] envolvidas no processo. Para líquidos esse é um número bem grande da ordem do número de Avogadro. Podemos fazer uma aproximação, válida para campos dipolares fracos (147), verificando que somente o sinal proveniente do termo quadrático irá sobreviver ao gradiente de duplo quanta ($n = 2$). Assim após o pulso de $\pi/2$ temos

$$\rho \propto \frac{1}{2} \left(\frac{\hbar\omega}{kT} \right)^2 \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N I_{xi} I_{xj}. \quad (5.2)$$

Após o primeiro gradiente G e ao final do intervalo t_1 vem

$$\begin{aligned} \rho(t_1) \propto \frac{1}{2} \left(\frac{\hbar\omega}{kT} \right)^2 \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N [I_{xi} \cos(\omega t_1 + kz_i) + I_{yi} \text{sen}(\omega t_1 + kz_i)] \times \\ [I_{xj} \cos(\omega t_1 + kz_j) + I_{yj} \text{sen}(\omega t_1 + kz_j)]. \end{aligned} \quad (5.3)$$

Usando a notação de eco e anti-eco, i.e., escrevendo as contribuições de seno e cosseno em suas formas exponenciais complexas $e^{\pm i\phi}$, temos

$$\rho(t_1) \propto \frac{1}{2} \left(\frac{\hbar\omega}{kT} \right)^2 \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N \frac{1}{4} \left\{ \begin{aligned} & I_{xi} I_{xj} [e^{i2(\omega t_1 + kz_i)} + 2 + e^{-i2(\omega t_1 + kz_i)}] + \frac{1}{i} I_{xi} I_{yj} [e^{i2(\omega t_1 + kz_i)} + e^{-i2(\omega t_1 + kz_i)}] + \\ & \frac{1}{i} I_{yi} I_{xj} [e^{i2(\omega t_1 + kz_i)} + e^{-i2(\omega t_1 + kz_i)}] - I_{yi} I_{yj} [e^{i2(\omega t_1 + kz_i)} - 2 + e^{-i2(\omega t_1 + kz_i)}] \end{aligned} \right\} \quad (5.4)$$

A matriz densidade possui termos de zero e duplo quanta, ambos os termos envolvendo dois spins. O termo de duplo quanta que será o único a sobreviver possui o termo 2 em todas as exponenciais. Assim um gradiente G aplicado nesse período na verdade tem efeito de um gradiente $2G$ para os termos de duplo quanta.

No período de detecção t_2 , onde o sinal é convertido em sinal de um quanta pela ação do campo dipolar distante, as evoluções na presença de um gradiente G sofrem um efeito idêntico na fase de magnetização.

Em linhas gerais aplicar gradientes no intervalo t_1 ou no intervalo t_2 pode ser uma maneira de detectar evoluções de múltiplo quanta.

5.4 Parte experimental.

5.4.1 Instrumentação.

As imagens foram realizadas no tomógrafo de campo fraco descrito no capítulo 2. Mais uma vez fizemos uso do efeito Overhauser para obter sinal suficiente para fazer as imagens.

A saturação da linha de ressonância RPE do radical foi feita usando a bobina de irradiação do tipo birdcage sintonizada em 445 MHz e usando uma potência de saída de 10 Watts durante um intervalo de 500 ms.

Uma bobina solenóide com seu eixo perpendicular ao campo de 16 mT foi usada

como receptora do sinal de RMN em 680 KHz. O volume da bobina comparado com a amostra permitiu um tempo de amortecimento por radiação $\tau_r \approx 650$ ms, onde $Q = 330$ é o fator de qualidade da bobina de recepção e $\eta = 0.05$, o fator de preenchimento.

A codificação de [fase] foi feita na direção x durante um intervalo $\delta = 9$ ms. O gradiente de fase foi aplicado em duas situações: durante o intervalo de aquisição t_2 , após os gradientes de seleção da coerência dupla; ou no intervalo de evolução t_1 entre os pulsos de $(\pi/2)_x$. Neste último, a evolução do termo de coerência dupla reduz o FOV da imagem na direção de fase pelo fator 2 comparado com a situação da codificação no intervalo t_2 . Essa redução pode ser usada como teste para garantir a ordem da coerência usada para produzir a imagem.

Gradientes de leitura com duração $\delta = 9$ ms e $\delta = 18$ ms também foram aplicados na direção z de modo a centralizar na janela de aquisição o sinal de RMN. Para a distância de correlação $d_c = 0.55$ mm, efeitos de variação na susceptibilidade da magnetização causada pela presença dos tubos foi considerada desprezível. Refocalizações do eco de Hahn pelo gradiente de leitura ou pelas susceptibilidades também foram consideradas desprezíveis. Para evitar algum tipo de refocalização do eco de Hahn [$n = 1$] pelo gradiente de leitura temos que usar gradientes de coerência bem intensos. Usando $\delta = 9$ ms e $G = 2.4$ mT conseguimos uma distância de correlação d_c em torno de 0.55 mm que é um valor bem menor que os comprimentos típicos da amostra usada.

5.4.2 Sistemas para testes das imagens iDQC.

As imagens são de três tubos concêntricos com diâmetros 25 mm, 10 mm e 4 mm, respectivamente. Os tubos foram preenchidos, até uma altura de 20 mm, com uma solução aquosa de radical livre trityl 5 mM e colocados no interior da bobina de excitação de RPE. O eixo de simetria do conjunto fica perpendicular ao campo $B_0\hat{z}$.

O arranjo experimental limitou a escolha dos gradientes de seleção de coerência na mesma direção [$z \parallel B_0$] do gradiente de leitura G_r .

5.5 Resultados.

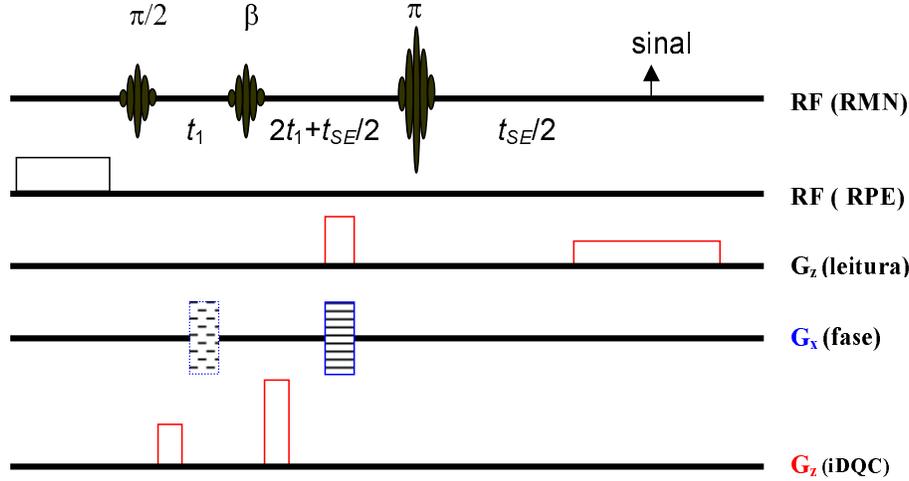


Figura 5.1: Sequência para imagens PEDRI–CRAZED. Usamos $t_1 = 20$ ms, $\beta = \pi/2$, $t_{SE}/2 = 80$ ms e $t_2 = t_1 + t_{SE}/2 = 200$ ms.

A figura 5.1 descreve a sequência PEDRI modificada para incorporar os pulsos de gradiente necessários para CRAZED. Um pulso $(\pi/2)_x$ aplicado na frequência de ressonância de prótons 680 KHz [16 mT] é seguido no instante $t_1 = 20$ ms, por um outro pulso $(\pi/2)_x$. Esses dois pulsos de RF, juntamente com os pulsos de gradiente ao longo da direção z , produzem um sinal de eco em $t_2 = 40$ ms após o segundo pulso de $(\pi/2)_x$. Embora no momento seguinte as isocromátas comecem a defasar, o sinal de iDQC continua crescendo podendo ser refocalizado em qualquer momento com a aplicação de um pulso de π . Escolhendo $t_{SE}/2 = 80$ ms, o tempo total de iDQC durante o período t_2 em nossas imagens foi de 200 ms.

Os gradientes de criação do campo dipolar são aplicados imediatamente após cada um dos pulsos de $\pi/2$ na intenção de defasar o sinal de magnetização coerente no plano xy e assim diminuir o efeito de amortecimento por radiação.

Para as imagens apresentadas neste capítulo, um ganho de magnetização de 30 vezes foi obtido usando o efeito Overhauser. Esse ganho corresponde a um tempo de coerência dipolar $\tau_d \approx 1.95$ s. Sem o ganho de polarização em um campo de 16 mT, o tempo vai para 59 s o que para os tempos de relaxação em questão inviabiliza a imagem.

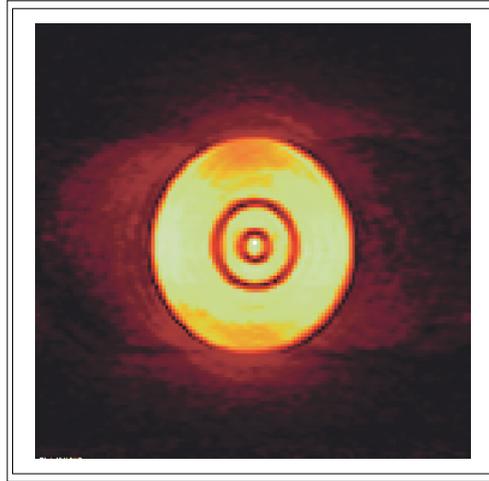


Figura 5.2: Imagem de referência obtida com a seqüência PEDRI para o sistema de tubos usados nos experimentos de iDQC.

A figura 5.2 mostra uma imagem normal obtida com a seqüência PEDRI do sistema teste com tamanho de pixel de 0.43 mm, seleção de fatia de 15 mm, 128 aquisições de fase e duas médias.

Aproveitando a idéia de Velan et al.(148), produzimos imagens usando a seqüência PEDRI-CRAZED (5.3) nas seguintes condições para um mesmo valor de k_ϕ : **(a)** escolhemos a fase durante o tempo de evolução t_1 e em **(b)** colocamos k_ϕ durante o tempo t_2 de aquisição.

A figura 5.3 mostra duas imagens obtidas usando coerência de duplo quanta intermolecular e seus respectivos espaços transformados. Na imagem **(a)** temos a mesma amostra teste onde o gradiente de fase é aplicado no intervalo t_1 de evolução do duplo quanta ajustado para produzir uma imagem com o mesmo FOV. O tamanho de pixel é de 0.86 mm [o dobro do valor da imagem de controle] também com seleção de fatia de 15 mm, a aquisição de fase com 128 elementos e 4 médias tomadas. A imagem **(b)** é obtida nas mesmas condições de **(a)**, mas com a codificação de fase feita no intervalo de aquisição t_2 . A seleção durante t_2 faz com que o FOV aumente de um fator 2 na direção do gradiente de fase resultando na forma elíptica da imagem.

Para garantir que não há vazamento de eco de Hahn no sinal do duplo quanta,

visto que não usamos nenhum tipo de ciclagem de fase, observamos os perfis das imagens no espaço \mathbf{k} . Segundo Chin et al.(149) podemos observar e identificar nesse espaço tipos de sinais que não sejam da coerência n que selecionamos com os gradientes.

A figura 5.4 mostra a curva de eco produzida por iDQC para a seqüência PEDRI-CRAZED. Usamos $T_1 \approx T_2 = 650$ ms. O valor de G foi de 2.4 mT aplicado durante um intervalo $\delta = 9$ ms. As curvas representam ganhos de polarização Overhauser E de 30 e 60 vezes. As linhas contínuas são ajustes a partir da expressão 4.32 onde além da difusão levamos em conta o decaimento do sinal por relaxação em T_1 e T_2 análogo ao caso da amostra binária na expressão 4.49. Como se trata de um sistema homonuclear, qualquer umas das suposições para atenuação do campo dipolar vistas na seção 4.4.4 são satisfatórias para qualquer valor de α .

A figura 5.5 mostra uma imagem, usando a seqüência PEDRI nas mesmas condições da seção 2.6, de uma amostra contendo esferas de sephadex com diâmetro médio de 2 mm dopadas com o radical trityl 5 mM de maneira não-uniforme. O tamanho de pixel é de $600 \mu\text{m}$. A região de sinal mais intenso na amostra indica a região com maior concentração de radical colocada de maneira controlada nessa região. Para garantir que as imagens são realmente da estrutura e não de alguma inomogeneidade da bobina de RPE por exemplo, giramos a amostra de 180° em torno do eixo do cilindro e adquirimos outra imagem. O sinal de uma amostra de sephadex em um campo de 7 T mostra uma largura de linha próxima a 1 KHz demonstrando os efeitos de susceptibilidade na criação de gradientes internos responsáveis por esse alargamento.

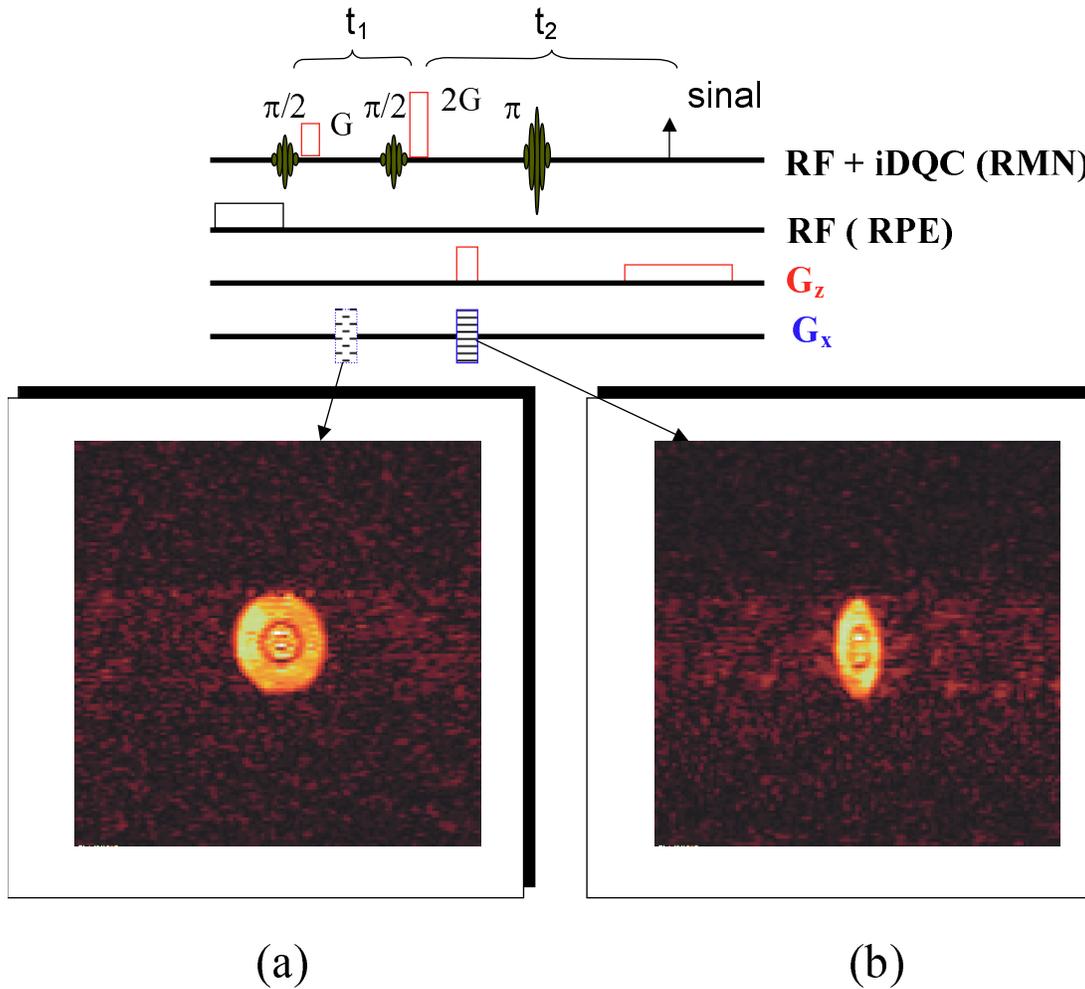


Figura 5.3: Seqüência PEDRI usando iDQC com k_ϕ escolhido durante o intervalo t_1 ou durante o intervalo t_2 . Usando o mesmo valor $k = G_\phi \delta$ para a codificação de fase, na imagem (a) codificamos a fase somente durante t_1 e na imagem (b) codificamos a fase somente durante t_2 .

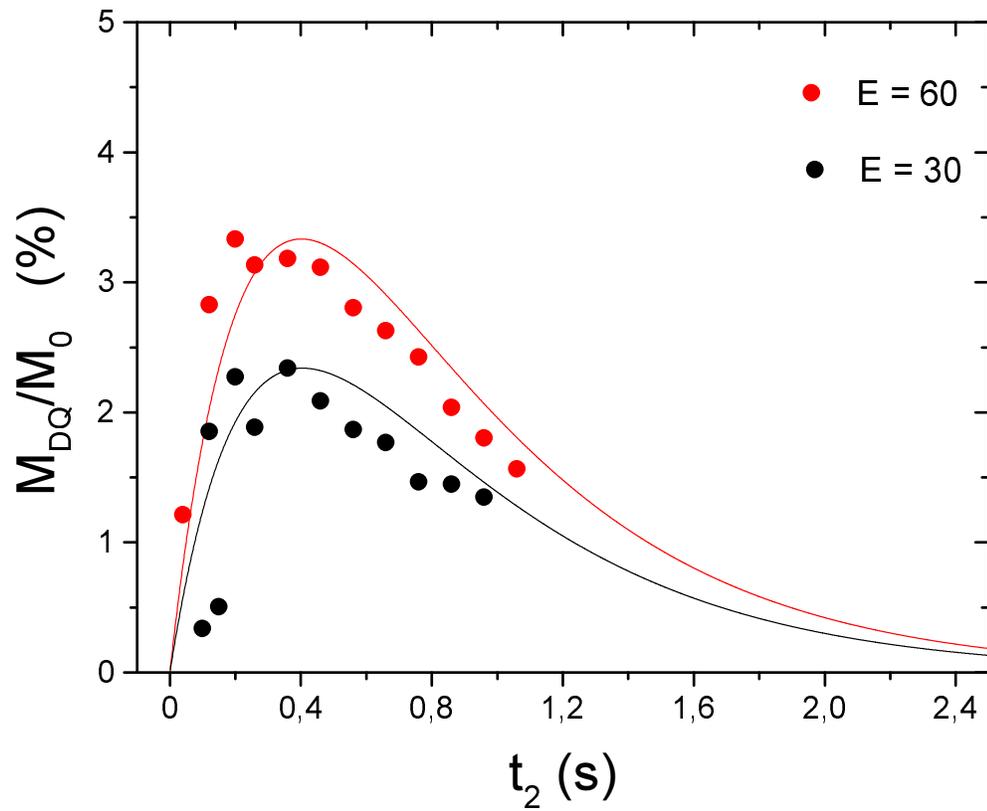


Figura 5.4: Sinal de duplo quanta intermolecular em função do tempo t_2 obtido através da seqüência PEDRI-CRAZED. Mantemos $t_1 = 20$ ms e $k = \gamma G \delta$ fixos. Variando a posição do pulso de π obtemos o eco em um intervalo t_2 indicado no eixo horizontal.

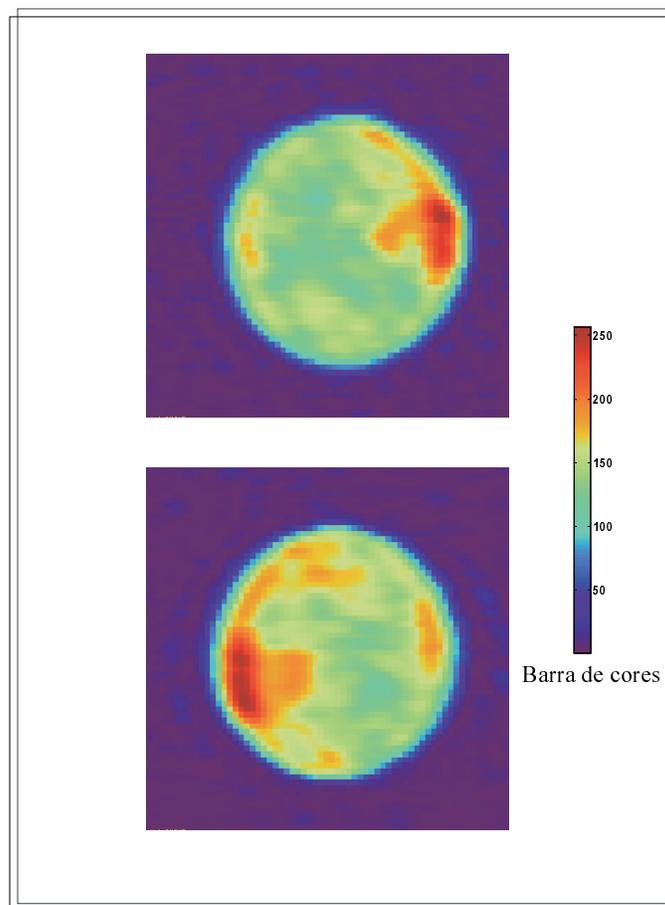


Figura 5.5: Imagem de um tubo contendo esferas de sephadex [$d = 2$ mm] dopadas com radical trityl de maneira não-uniforme. As duas imagens mostram a mesma amostra, a menos de um giro de π em torno do eixo do cilindro de diferença entre as duas.

5.6 Discussão.

Como visto na seção 5.3, a evolução da fase de magnetização no período t_1 é diferente daquela no período t_2 . Na figura 5.3 utilizamos essa característica para produzir duas imagens usando as mesmas intensidades de gradiente onde mudamos somente a posição do gradiente de fase. No período t_1 o efeito do gradiente sobre os spins é duplicado nos operadores de 2-quanta. Escolhemos os gradientes de modo a deixar a imagem cilíndrica com o gradiente de fase em t_1 . Ao mudar a posição do gradiente de fase para $t_2 > 2t_1$, entre o segundo pulso de $\pi/2$ e o pulso de π , temos um gradiente aplicado sobre operadores de um único spin I_x ou I_y e assim a imagem fica reduzida pela metade na direção da codificação de fase. As imagens no espaço \mathbf{k} não indicam a presença de ecos vindos de outras coerências intermoleculares(149). Também podemos usar o argumento clássico para explicar o efeito. Nessa abordagem a diferença na codificação de fase nos dois intervalos está na modulação da magnetização do campo dipolar somente no caso em que a fase é codificada durante t_1 . Nesse caso temos a contribuição de fase atuando duas vezes: na magnetização transversal e também na magnetização longitudinal responsável pelo campo dipolar. No caso do gradiente de fase aplicado durante t_2 só codificamos fase para magnetização transversal visto que o campo dipolar já se encontra na direção longitudinal e fica insensível ao efeito do gradiente.

A figura 5.4 mostra o sinal do eco de duplo quanta intermolecular gerado pelo efeito de refocalização pelo campo dipolar distante. Os gradientes são aplicados na direção $z \parallel B_0$ na seqüência PEDRI-CRAZED [figura 5.1] mas sem os gradientes de codificação para imagem. Variando a posição do pulso de π refocalizamos o eco de duplo quanta para alguns valores de t_2 . Mudando o ganho de polarização E [e.g. diminuindo a potência de saturação de RPE], observamos uma queda no máximo de intensidade do sinal recuperado. O valor de τ_d para a máxima recuperação do sinal é de 1.95 s e 1 s para $E = 30$ e 60, respectivamente. Os tempos de relaxação da amostra aquosa contendo o radical trityl são $T_1 \approx T_2 = 650$ ms. Nessas condições, o deslocamento da posição de refocalização máxima para valores maiores de t_2 para o caso $E = 30$ não é observado devido ao decaimento do sinal por relaxação em T_2 . Um pico em torno do valor $t_2 = 200$ ms para ambas

156 Imagens Overhauser usando coerência de duplo quanta intermolecular

as curvas pode ser devido a alguma refocalização de eco de 1-quanta(140; 150). As curvas contínuas indicam o valor teórico calculado a partir da equação tal incluindo os termos de relaxação de tal. O valor teórico para o máximo de sinal fica em torno de $t_2 = 400 \text{ ms}$.

Recuperação do eco de 1-quanta dentro da janela de aquisição para valores menores de G não permitiram detectar efeitos de susceptibilidade nas amostras contendo tubos de 4 mm e 10 mm.

5.7 Conclusões.

Demonstramos, pela primeira vez(145), que imagens Overhauser em um campo de apenas 16 mT, mesmo em condições não otimizadas, podem fornecer sinal suficiente para realizar imagens usando coerência de duplo quanta intermolecular.

O sinal de eco de duplo quanta obtido para diversos valores do intervalo t_2 é bem ajustado usando a equação 4.32 juntamente com os termos de relaxação colocados de forma análoga ao caso de uma amostra binária na expressão 4.49. O ajuste é razoável para qualquer uma das suposições (I ou II) da seção 4.4.4. Isto se deve ao fato de estarmos tratando um sistema com uma única espécie A , no caso a água, onde a diferença entre as suposições não se faz tão sensível como no caso da amostra binária.

Essa nova forma de contraste demonstrou maior sensibilidade em vários tipos de imagens tanto clínicas com em sistemas estruturados simples(122; 126; 135; 138). Contudo o estudo quantitativo em sistemas reais desordenados tem esbarado em problemas relacionados a variações de susceptibilidade magnética inerentes a esses sistemas em campos elevados. Em determinadas regiões da amostra em estudo, os gradientes internos podem ser intensos ao ponto de competir com os gradientes externos usados, especificamente os usados para seleção de coerência. Esse efeito inviabiliza a seletividade em termos da distância de coerência dipolar d_c . Em uma situação(140) em que as áreas sob os gradientes $[G\delta]$ responsáveis pela codificação das imagens e os gradientes de coerência são semelhantes, pode ocorrer inclusive refocalização do eco de Hahn que é o sinal obtido na situação em que $n = 1$ e que é muito maior que o sinal de iDQC.

Os gradientes internos são proporcionais à intensidade do campo externo usado. Tendo essa relação em vista, o uso de PEDRI apresenta-se como uma maneira de eliminar o efeito de susceptibilidade. Imagens convencionais em um sistema composto de um conjunto de esferas de sephadex [$d=2$ mm] saturado de maneira não-uniforme com o radical tritly foi capaz de simular as condições de uma estrutura porosa e demonstrar o potencial da técnica para eliminar os efeitos de susceptibilidade interna. Na figura 5.5 mostramos uma imagem usando a seqüência PEDRI que não seria obtida nessas mesmas condições em um campo de 7 T,

onde observamos que a largura de linha, que é um fator limitante por exemplo para imagens de sólidos(151), era da ordem de algumas centenas de Hertz.

Uma vez feito isso, tentamos produzir imagens PEDRI tentando observar o contraste iDQC, i.e., variando o valor G para o gradiente de coerência, mas preservando a razão 2. A intensidade dos gradientes disponíveis no tomógrafo foi insuficiente para atingir distâncias de correlação compatíveis com as distâncias típicas presentes na amostra que é a região onde efeitos de contraste devido à estrutura costumam ocorrerem(138). Ao diminuir a intensidade dos gradientes de coerência, a ausência de um esquema de ciclagem de fase impossibilitou a eliminação do sinal do eco de Hahn que era refocalizado em condições de gradientes de coerência da ordem dos gradientes de fase ou leitura.

Implementando uma ciclagem de fase, usando uma seqüência de pulsos otimizada e gradientes de maior potência teremos, em uma próxima etapa, condições ideais para explorar o efeito de variações na susceptibilidade da amostra em função da distância de correlação dipolar. Assim poderíamos explorar a ausência de gradientes internos para amostras estruturadas nesse campo e garantir o efeito de contraste somente por variações no parâmetro externo d_c .

Apêndice A

Difusão de partículas carregadas e equações de Nernst-Planck-Poisson

A.1 Difusão de partículas carregadas

Vamos explicar a origem dos termos da expressão

$$J_q = -d_q \left[\frac{\partial C_q}{\partial R} - z_q C_q \Xi \right] \quad (\text{A.1})$$

O primeiro termo do segundo membro é o termo de difusão convencional extraído da lei de Fick. O segundo termo pode ser obtido da seguinte forma: suponhamos um cilindro imaginário onde temos um fluxo de partículas q com carga $z_q e$. O fluxo de corrente elétrica pode ser escrito como

$$J_q = v_q C_q z_q e \quad (\text{A.2})$$

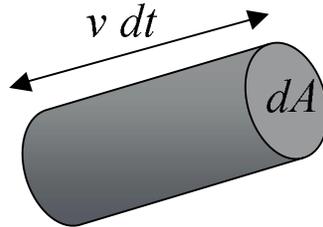


Figura A.1: Diagrama indicando o fluxo de partículas com velocidade v em uma seção infinitesimal dA durante um intervalo temporal dt .

onde v_q é a velocidade da partícula

Podemos usar um modelo mecânico simples para tratar o movimento de uma partícula carregada difundindo na presença de um campo elétrico E . A equação de movimento pode ser escrita como

$$m \frac{dv_q}{dt} + \beta v_q = z_q e E \quad (\text{A.3})$$

onde no regime estacionário, onde $(dv_q/dt) = 0$, temos

$$v_q = \frac{z_q e E}{\beta} \quad (\text{A.4})$$

A partir da relação de Einstein para o movimento Browniano, podemos encontrar um vínculo entre a viscosidade e o coeficiente de difusão.

$$\langle x^2 \rangle = \frac{2k_B T}{\beta} t, \text{ onde } D_q = \frac{k_B T}{\beta}. \quad (\text{A.5})$$

Usando as expressões A.4 e A.5 em A.2 temos

$$J_q = C_q (z_q e)^2 E \frac{D_q}{k_B T} \quad (\text{A.6})$$

Dividindo A.6 por $z_q e$ obtemos o número de partículas por unidade de área e tempo devido ao campo elétrico.

A.2 Solução numérica das equações NPP (Nernst-Planck e Poisson).

A.2.1 Método de Newton-Raphson.

Dada uma função $f(x)$, queremos encontrar as raízes desta equação. Tomamos a derivada primeira dessa função em um ponto x_0 qualquer, de preferência próximo do valor onde se encontra a raiz. Se $|x_r - x_0| \ll 0$ podemos expandir a função

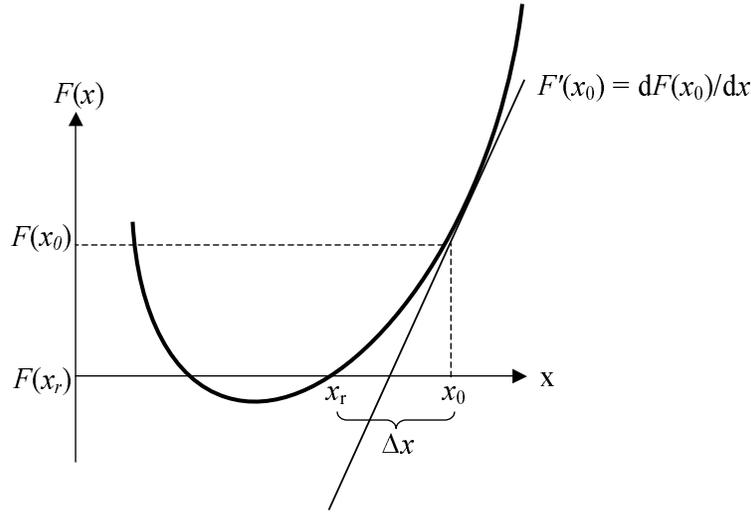


Figura A.2: Gráfico ilustrando o método de Newton-Raphson unidimensional usado para encontrar as raízes de funções polinomiais.

$f(x)$ em série de Taylor até primeira ordem:

$$F(x) \approx -(\Delta x) \left(\frac{dF}{dx} \right)_{x_r+x_0}, \quad (\text{A.7})$$

onde $F = f(x_r + x_0) - f(x_0)$ e $\Delta x = x_r - x_0$. Podemos verificar que na raiz tanto F quanto Δx se anulam. Assim, escolhemos o primeiro passo x_0 , que chamamos de semente, e substituímos na expressão A.7 obtendo o valor de Δx . Esse valor será adicionado a próxima semente $x_1 = x_0 + \Delta x$ até que haja convergência.

O método generalizado de Newton-Raphson para n funções de n variáveis pode ser definido de forma análoga: dadas n funções F_i não-lineares na variável X_i tal que $F_i(X) = 0$ ou $F_i(X_1, X_2, \dots, X_n) = 0$ podemos definir uma matriz, chamada Jacobiana J , onde seus coeficientes são definidos a partir da relação $J_{ij} = \partial F_i(X) / \partial X_j$.

Criamos uma primeira solução tentativa $X^{(k)} (k = 1)$. Uma nova aproximação para solução é obtida acrescentando a próxima solução o valor da aproximação calculado no passo anterior $X_i^{k+1} = X_i^k + \Delta X_i$. O processo é repetido até que uma condição de convergência seja atingido.

Podemos escrever o método em forma matricial como segue logo abaixo

$$\begin{pmatrix} J_{11} & J_{12} & J_{13} & \cdots & J_{1n} \\ J_{21} & J_{22} & J_{23} & \cdots & J_{2n} \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ J_{n1} & J_{n2} & J_{n3} & \cdots & J_{nn} \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} \Delta X_1 \\ \Delta X_2 \\ \vdots \\ \Delta X_n \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} -F_1^k(X) \\ -F_2^k(X) \\ \vdots \\ -F_n^k(X) \end{pmatrix}$$

A.2.2 Formação do alginato de cálcio.

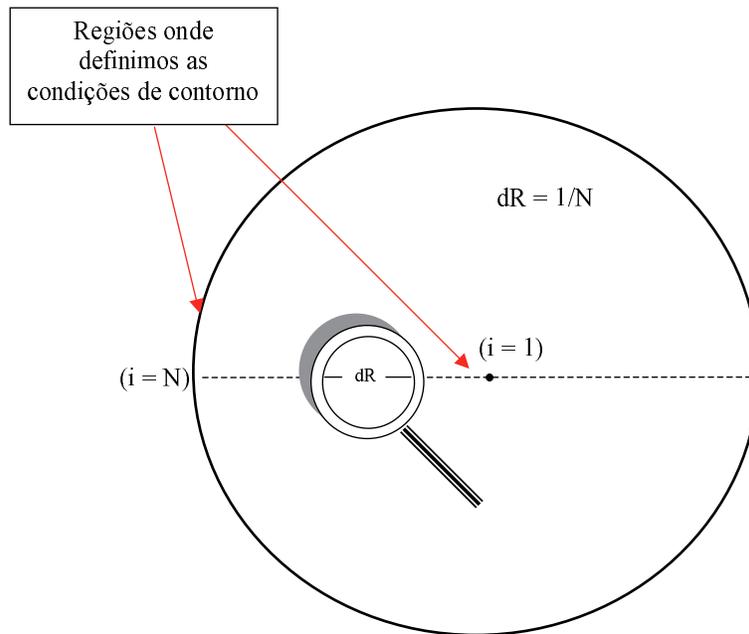


Figura A.3: Discretização do espaço e indicação das condições de contorno para o processo de gelificação do alginato de cálcio

As equações para o processo de gelificação do Alginato podem ser discretizadas através do método implícito das diferenças finitas. Como o problema apresenta simetria cilíndrica, as concentrações e o campo elétrico são funções somente da direção radial r . Tomando i como a posição espacial radial, a partir do centro, temos que $r_i = i(b/N)$. Vamos ainda definir os seguintes parâmetros que, além de simplificar as expressões, usaremos para controlar o processo de cálculo numérico.

A seguir temos: N é o número de divisões espaciais da rede, $dR=1/N$ é o passo espacial, dT é o passo temporal, $P=dT/dR^2$.

$$\begin{aligned}
 & [Ca(i) - Ca_{to}(i)]/dT = & (A.8) \\
 & +d_1 \left\{ (1 + 1/2i)Ca(i + 1) + (1 - 1/2i)Ca(i - 1) - 2Ca(i) \right\} /dR^2 \\
 & +z_1d_1 \left\{ (1 - 1/i)E(i - 1)[Ca(i - 1) + Ca(i)]/2dR \right. \\
 & \left. +E(i)[Ca(i) + Ca(i + 1)]/2dR \right\} - 2KA(i)A(i)Ca(i),
 \end{aligned}$$

onde os três termos representam respectivamente: a lei de Fick, a contribuição do campo elétrico, e a reação química. O termo Ca_{to} que nas outras equações será representado pelas iniciais do elemento em questão representa a concentração para o tempo anterior, $T - dT$, a concentração que está sendo calculada. Começamos com um valor que é aquele da situação de equilíbrio. Dessa forma conseguimos a semente que, para $dT \ll 1$, fica próximo da raiz a ser calculada e certamente garante as condições para o funcionamento do método. Uma vez calculado os perfis para um dado instante dT , esses são substituído nos $[Ca,A,G,\dots]_{to}$. A partir deles obtemos o perfil para o intervalo $2dT$ e assim sucessivamente.

A equação acima, assim como todas as equações do processo de gelificação, podem ser colocadas na forma adequada para utilizarmos o método de Newton-Raphson discutido acima. Abaixo escrevemos as equações 3.8 até 3.12 na seguinte forma:

$$\begin{aligned}
 & F^{Ca}(i) = Ca(i) - Ca_{to}(i) & (A.9) \\
 & -Pd_1 \left\{ (1 + 1/2i)Ca(i + 1) + (1 - 1/2i)Ca(i - 1) - 2Ca(i) \right\} \\
 & -z_1d_1 \left\{ (1 - 1/i)E(i - 1)[Ca(i - 1) + Ca(i)] \right. \\
 & \left. -E(i)[Ca(i) + Ca(i + 1)] \right\} \frac{dT}{2dR} + 2KA(i)A(i)Ca(i)dT
 \end{aligned}$$

para o Cálcio.

$$\begin{aligned}
 F^A(i) &= A(i) - A_{to}(i) & (A.10) \\
 &-Pd_2 \left\{ (1 + 1/(2i))A(i+1) + (1 - 1/(2i))A(i-1) - 2A(i) \right\} \\
 &-z_2d_2 \left\{ (1 - 1/i)E(i-1)[A(i-1) + A(i)] - E(i)[A(i) + A(i+1)] \right\} \frac{dT}{2dR} \\
 &+4KA(i)A(i)Ca(i)dT;
 \end{aligned}$$

para o alginato. Para o sódio e o cálcio temos, respectivamente,

$$\begin{aligned}
 F^{Na}(i) &= Na(i) - Na_{to}(i) & (A.11) \\
 &-Pd_3 \left[(1 + 1/(2i))Na(i+1) + (1 - 1/(2i))Na(i-1) - 2Na(i) \right] \\
 &-z_3d_3 \left\{ (1 - 1/i)E(i-1)[Na(i-1) + Na(i)] - E(i)[Na(i) + Na(i+1)] \right\} \frac{dT}{2dR},
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 F^{Cl}(i) &= Cl(i) - Cl_{to}(i) & (A.12) \\
 &-Pd_4 \left\{ (1 + 1/(2i))Cl(i+1) + (1 - 1/(2i))Cl(i-1) - 2Cl(i) \right\} \\
 &-z_4d_4 \left\{ (1 - 1/i)E(i-1)[Cl(i-1) + Cl(i)] - E(i)[Cl(i) + Cl(i+1)] \right\} \frac{dT}{2dR}.
 \end{aligned}$$

Vale observar que como esses íons não participam da reação química diretamente não aparecem termos referentes a ela nas duas expressões acima.

Para o gel formado, que é considerado fixo e eletricamente neutro, não há termo de difusão e nem de campo elétrico. Assim, temos para o gel a expressão

$$F^G(i) = G(i) - G_{to}(i) - 4KA(i)A(i)Ca(i)dT \quad (A.13)$$

para o gel formado.

E finalmente

$$F^E(i) = E(i) - E_{to}(i) + k_d \sum_j z_j d_j \left\{ \begin{array}{l} \\ - [\text{Ion}_j(i+1) - \text{Ion}_j(i)] \text{PdR} + E(i) z_j [\text{Ion}_j(i) + \text{Ion}_j(i+1)] \frac{dT}{2} \end{array} \right\} \quad (\text{A.14})$$

para o campo elétrico. Os íons considerados no somatório são todas as espécies participantes do processo que possuam carga não-nula.

Agora, tomamos as derivadas parciais em relação aos diversos parâmetros de concentração e campo nas equações acima e a partir dessas derivadas montamos a matriz Jacobiana. Assim, de posse de uma boa semente, que são os perfis no início da reação, podemos calcular os F' s, a Jacobiana e, através de uma inversão de matrizes, obtemos ΔX . A implementação computacional do método é feita usando o programa **MATLAB 6** com $N=50$ e todos os parâmetros já descritos no capítulo 3.

Apêndice B

Campo dipolar distante

B.1 Cálculo do campo dipolar médio.

A expressão geral para $B_d(r)$ é dada a partir da equação 4.4 e vamos rescrevê-la a seguir

$$\mathbf{B}_d(\mathbf{r}) = \int \frac{(1 - 3 \cos^2 \theta)}{2|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|^3} \left\{ 3M_z(\mathbf{r}')\hat{z} - \mathbf{M}(\mathbf{r}') \right\} d^3r'. \quad (\text{B.1})$$

onde θ é o ângulo entre o vetor $\mathbf{r} - \mathbf{r}'$ que liga dois elementos de dipolo e o campo externo aplicado B_0 .

Vamos agora encontrar a expressão para o campo dipolar distante para a situação de um gradiente aplicado na direção s . Nessas condições a magnetização fica modulada na direção s do gradiente.

Vamos utilizar a espaço recíproco \mathbf{k} que será definido como

$$\mathbf{B}_d(\mathbf{k}) = \int e^{i\mathbf{k}\cdot\mathbf{r}} \mathbf{B}_d(\mathbf{r}) d^3r \quad (\text{B.2})$$

$$\mathbf{M}(\mathbf{k}) = \int e^{i\mathbf{k}\cdot\mathbf{r}} \mathbf{M}(\mathbf{r}) d^3r \quad (\text{B.3})$$

Usando essas relações podemos escrever o campo no espaço \mathbf{k}

$$\mathbf{B}_d(\mathbf{k}) = \int \left\{ 3M_z(\mathbf{r}')\hat{z} - \mathbf{M}(\mathbf{r}') \right\} e^{i\mathbf{k}\cdot\mathbf{r}'} d^3r' \int \frac{e^{i\mathbf{k}\cdot(\mathbf{r}-\mathbf{r}')} (1 - 3\cos^2\theta)}{2|\mathbf{r}-\mathbf{r}'|^3} d^3r. \quad (\text{B.4})$$

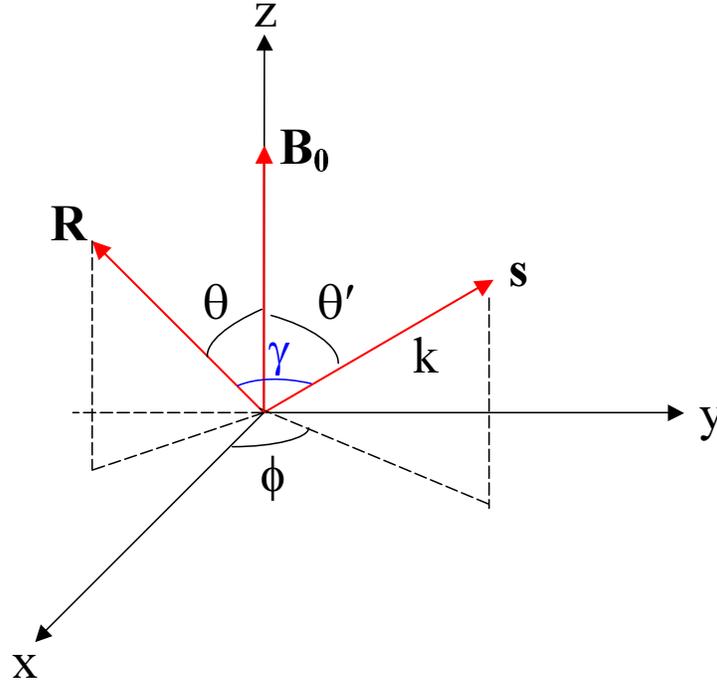


Figura B.1: Diagrama representando as direções e ângulos entre o campo externo B_0 o gradiente de seleção de iMQC e a ação do campo dipolar.

A integral $I = \int \frac{e^{i\mathbf{k}\cdot(\mathbf{r}-\mathbf{r}')} (1-3\cos^2\theta)}{2|\mathbf{r}-\mathbf{r}'|^3} d^3r$ pode ser resolvida fazendo as seguintes transformações $\mathbf{R} = \mathbf{r} - \mathbf{r}'$ e expandindo $P_2(\cos\theta) = \frac{1}{2}(3\cos^2\theta - 1)$ em função de γ e θ' usando o teorema da adição de harmônicos esféricos. Observando a simetria azimutal da representação da figura B.1 escrevemos

$$P_2(\cos\theta) = \sum_l P_l(\cos\gamma) P_l(\cos\theta') \quad (\text{B.5})$$

onde γ , θ e θ' são os ângulos entre os vetores indicados em B.1. I pode ser rescrita

como

$$I = -P_2(\cos \theta') \int \frac{e^{ikR \cos \gamma} P_2(\cos \gamma)}{R} \sin \gamma d\gamma d\phi dR. \quad (\text{B.6})$$

cuja solução pode ser encontrada em tal como $I = -\frac{4\pi}{3}P_2(\cos \theta')$.

$$\mathbf{B}_d(\mathbf{k}) = -\frac{4\pi}{3}P_2(\cos \theta') \int \{3M_z(\mathbf{r}')\hat{z} - \mathbf{M}(\mathbf{r}')\} e^{i\mathbf{k}\cdot\mathbf{r}'} d^3r' \quad (\text{B.7})$$

onde novamente na figura B.1 temos que $\cos \theta' = \hat{k} \cdot \hat{z}$ independente de r ou r' .

Identificamos facilmente as expressões para as transformadas de Fourier da magnetização [expressões B.2 e B.3] na equação acima. Escrevemos o campo no espaço recíproco como

$$\mathbf{B}_d(\mathbf{k}) = \frac{2\pi}{3} \{3M_z(\mathbf{k})\hat{z} - \mathbf{M}(\mathbf{k})\} [1 - 3(\hat{k} \cdot \hat{z})^2] \quad (\text{B.8})$$

onde agora temos uma expressão que é local; isto é, o campo em um dado ponto do espaço \mathbf{k} é calculado a partir da magnetização no mesmo ponto.

Queremos agora calcular o campo $\mathbf{B}_d(\mathbf{r})$ a partir da transformada de Fourier da expressão acima

$$\mathbf{B}_d(\mathbf{r}) = \frac{1}{2} \int \{3M_z(\mathbf{k})\hat{z} - \mathbf{M}(\mathbf{k})\} [1 - 3(\hat{k} \cdot \hat{z})^2] e^{-i\mathbf{k}\cdot\mathbf{r}} d^3k \quad (\text{B.9})$$

Aplicando um gradiente na direção \mathbf{s} temos que a transformada de Fourier de $M(\mathbf{k})$ fica unidimensional $M(\mathbf{k}) = M_0\delta(\zeta)\delta(\eta) \int e^{ik_s s} M(s) ds$, onde ζ e η são outras duas direções perpendiculares à s em que a magnetização fica uniforme. Introduzindo $M(\mathbf{k})$ em B.9 e observando a presença das funções delta temos

$$\frac{1}{2} [3(\hat{k} \cdot \hat{z})^2 - 1] \longrightarrow \frac{1}{2} [3(\hat{s} \cdot \hat{z})^2 - 1] \quad (\text{B.10})$$

e

$$\mathbf{B}_d(\mathbf{r}) = [1 - 3(\hat{\mathbf{s}} \cdot \hat{\mathbf{z}})^2] \int e^{-ik_s s} \int e^{ik_s s} \{3M_z(s)\hat{\mathbf{z}} - \mathbf{M}(s)\} ds. \quad (\text{B.11})$$

Finalmente identificando a transformada de Fourier e sua inversa temos

$$\begin{aligned} \mathbf{B}_d(\mathbf{s}) &= \Delta_s \left\{ M_z(\mathbf{s})\hat{\mathbf{z}} - \frac{\mathbf{M}(\mathbf{s})}{3} \right\}, \\ \Delta_s &= \frac{1}{2} [3(\hat{\mathbf{s}} \cdot \hat{\mathbf{z}})^2 - 1] \end{aligned} \quad (\text{B.12})$$

que é a expressão 4.7.

Apêndice C

Atenuação do campo dipolar por difusão

Usando a seqüência CRAZED vamos calcular a expressão de Kimmich na situação em que o efeito do campo dipolar pode ser desprezado, em primeira aproximação, com relação ao termo difusivo. Vamos considerar os tempos de relaxação T_1 e T_2 longos o suficiente para serem desprezados durante o tempo de medida. Vamos considerar inicialmente o efeito da difusão somente a partir do segundo pulso de $(\pi/2)_x$ partindo das condições iniciais calculadas seguindo a evolução da magnetização durante o tempo t_1 após o primeiro pulso $(\pi/2)_x$. A ação do primeiro gradiente G produz uma modulação na magnetização permitindo que essa possa ser escrita em termos de harmônicos de Fourier como

$$M^+(z, t) = \sum_{m=-\infty}^{\infty} a_m(t) e^{imkz}, \quad (\text{C.1})$$

$$M_z(z, t) = \sum_{m=-\infty}^{\infty} b_m(t) e^{imkz}. \quad (\text{C.2})$$

Substituindo essas expressões nas equações de Bloch-Torrey, desprezando o efeito de relaxação, vem

$$\frac{d}{dt} a_m(t) = -m^2 D k^2 a_m(t) - i\gamma\mu_0 \sum_{p=-\infty}^{\infty} a_p(t) b_{m-p}(t), \quad (\text{C.3})$$

$$\frac{d}{dt} b_m(t) = -m^2 D k^2 b_m(t), \quad (\text{C.4})$$

onde $k = \gamma \int G(t) dt$. Após o segundo pulso de $(\pi/2)_x$ temos a seguinte situação para a magnetização longitudinal em $T_2 = 0$

$$M_z(0) = -\frac{M_0}{2} (e^{ikz} + e^{-ikz}). \quad (\text{C.5})$$

C.2 quando comparada com C.5 produz como únicos termos não-nulos $b_{-1}(0) = -M_0/2$ e $b_1(0) = -M_0/2$. Substituindo C.5 em C.4 após o segundo pulso de $(\pi/2)_x$ temos

$$b_{-1}(t) = -\frac{M_0}{2} e^{-Dk^2 t}, \quad (\text{C.6})$$

$$b_1(t) = -\frac{M_0}{2} e^{-Dk^2 t}. \quad (\text{C.7})$$

Os únicos termos de $b_m(t)$ em C.2 são $m = 1$ e $m = -1$. Sendo assim temos a expressão C.3 rescrita como

$$\frac{d}{dt} a_m(t) = -m^2 D k^2 a_m(t) - i\gamma\mu_0 [a_{m+1}(t) b_{-1}(t) + a_{m-1}(t) b_1(t)]. \quad (\text{C.8})$$

A magnetização transversal em $t_2 = 0$ imediatamente após o segundo pulso de $(\pi/2)_x$ é

$$M^+(t) = \frac{M_0}{2} [e^{-ikz} - e^{ikz}], \quad (\text{C.9})$$

onde n é a razão entre as áreas dos gradientes responsável pela seleção de coerência.

Após a aplicação do segundo pulso de gradiente podemos rescrever C.1 como

$$M^+(z, t) = e^{-nkz} \sum_{m=-\infty}^{\infty} a_m(t) e^{imkz}, \quad (\text{C.10})$$

Substituindo a condição inicial C.9 na solução C.10 obtemos $a_{n-1}(0) = -M_0/2$ e $a_{n+1}(0) = +M_0/2$ para que os elementos não possuam modulação espacial e assim sejam observáveis.

Suponhamos que a atenuação por difusão ocorra num regime temporal mais rápido do que a refocalização pelo campo dipolar onde $1/Dk^2 \ll 1/\gamma\mu_0 M_0$. Essa condição pode ser atingida em campos magnéticos fracos, em amostras diluídas, ou aplicando gradientes intensos. Nesse regime podemos resolver C.8 desprezando no segundo membro o termo relativo ao campo dipolar. Usando as condições iniciais de C.9 temos

$$a_{n-1}(t) \approx a_{n-1}(0)e^{-(n-1)^2 Dk^2 t} \quad (\text{C.11})$$

$$a_{n+1}(t) \approx a_{n+1}(0)e^{-(n+1)^2 Dk^2 t} \quad (\text{C.12})$$

Para $n = 2$, teremos as seguinte solução de C.8

$$\frac{d}{dt} a_2(t) \approx -i\gamma\mu_0 a_1(t)b_{-1}(t) \quad (\text{C.13})$$

onde desprezamos o termo $a_3(t)$ devido ao termo de atenuação de ordem $(n+1)^2$. $a_2(t)$ é o único termo que sobrevive a integração sobre toda amostra. Substituindo o resultado de C.11 e de C.6 acima temos

$$\begin{aligned} a_2(t_2) &= -i\gamma\mu_0 \int_0^{t_2} a_1(0)b_{-1}(0)e^{-2Dk^2 t} dt \\ &= i\frac{M_0}{2\tau_d} \left(\frac{1 - e^{-2Dk^2 t_2}}{2Dk^2 t_2} \right) \end{aligned} \quad (\text{C.14})$$

O resultado obtido, nessa aproximação, é idêntico ao caso tratado no capítulo 4 no regime $J_n(x) \approx x^n$ para $x \ll 1$.

Apêndice D

Interpretação quântica para iDQC

D.1 Introdução.

No início dos anos 90 Warren et al.(152) observaram em espectros bidimensionais de ^1H em água sob temperatura ambiente em um campo de 500 MHz [11 T], sinais com características típicas de coerências de múltiplos quanta [MQC, multiple quantum coherences] que contrariavam as previsões teóricas(153). Até então MQC era observada em núcleos isolados somente para spins nucleares com momento angular maior que $S = 1/2$. De outra forma os spins precisam estar correlacionados entre si para que seja possível transições envolvendo mais de um quanta. Essa correlação pode ser estabelecida via interação de contato [acoplamento \mathbf{J}] como geralmente ocorre para spins distintos com momento angular $S = 1/2$ presentes em uma mesma molécula; ou por interação à distância via campo dipolar, como no caso de sólidos. Para o caso da água os dois spins protônicos são idênticos, não permitindo acoplamento J e mais ainda o acoplamento dipolar em líquidos é nulo em média. Nenhum desses dois campos então pode contribuir para o acoplamento dos spins em uma amostra contendo somente água. Nesse cenário, Warren propôs que as coerências observadas originavam-se na verdade de interações intermoleculares [iMQC, intermolecular multiple quantum coherences] mediadas pelo efeito coletivo do amortecimento por radiação [radiation damping]. As coerências múltiplas seriam, nessa abordagem, permitidas devido ao acoplamento das moléculas de água por meio da cavidade ressonadora. O método oferecia, em

substituição ao tratamento clássico, uma interpretação do amortecimento por radiação considerando a quantização do campo de radiação na bobina de recepção. Em uma análise mais cuidadosa, Abergel et al.(154; 155) demonstraram que o tratamento quântico do amortecimento de radiação, além de produzir o mesmo resultado do tratamento clássico para as condições usuais em RMN, não possui as características necessárias para causar o efeito de acoplamento entre os spins. Nessa ocasião, a preocupação com efeitos de amortecimento por radiação contribuiu para a criação de métodos, demonstrados experimentalmente(156), que eliminavam o efeito em situações usuais. Apesar de produzir picos adicionais em espectros de RMN bidimensional(157; 158), o amortecimento por radiação não era a explicação para o aparecimento dos picos extras no espectro bidimensional da água.

A surpresa revelada pelos novos resultados experimentais e a interpretação do sinal detectado como proveniente de evoluções de MQC entre moléculas não-acopladas, levou a especulações sobre a validade da estrutura teórica da RMN bidimensional para líquidos e sobre a necessidade urgente de modificações. O grupo de Warren(90) questionou uma possível interpretação clássica do efeito em termos da solução das equações de Bloch com um termo de campo dipolar médio que surgia de anisotropias espaciais criadas por gradientes de campo magnéticos. Utilizando uma abordagem quântica(86; 159), onde trataram explicitamente todas as interações dipolares entre os spins, Warren conseguiu interpretar corretamente os picos de coerência múltipla de uma maneira clara avaliando a contribuição de cada uma das coerências geradas. Contudo, nessa abordagem Warren precisou abrir mão da hipótese de altas temperaturas amplamente aceita no tratamento clássico.

D.2 Formalismo da matriz densidade.

A mecânica quântica prediz que a evolução temporal de qualquer sistema pode ser obtida através da solução da equação de Schrödinger $i\hbar\frac{\partial}{\partial t}|\psi\rangle = H|\psi\rangle$, onde H é o operador Hermitiano associado a energia do sistema em estudo, e $|\psi\rangle$ é a função que descreve com a melhor precisão possível o estado do sistema.

Essa equação é válida para qualquer $|\psi\rangle$ e $H(t)$ é independente do estado considerado. Uma solução geral pode ser formalmente escrita como

$$|\psi(t)\rangle = U(t, t_0)|\psi(0)\rangle, \text{ com } \frac{\partial}{\partial t}U(t, t_0) = \frac{1}{i\hbar}H(t)U(t, t_0) \quad (\text{D.1})$$

Quando o estado do sistema é conhecido apenas estatisticamente, como na maioria das situações em RMN, é mais conveniente descrever esse estado médio pelo operador densidade $\rho(t)$, que o operador projeção de todos os estados $|\psi\rangle_i(t)$ e suas respectivas probabilidades de ocorrência

$$\rho(t) = \sum_i p_i |\psi_i(t)\rangle \langle \psi_i(t)| \quad (\text{D.2})$$

Quando $\rho(t)$ é conhecido podemos encontrar a média de qualquer observável O do sistema através da relação

$$\langle O \rangle = \text{Tr}\{\rho O\} \quad (\text{D.3})$$

A evolução em termos do operador densidade é

$$\frac{\partial}{\partial t}\rho(t) = \frac{1}{i\hbar}[H(t), \rho(t)], \text{ onde } \rho(t) = U(t, t_0)\rho(0)U^\dagger(t, t_0), \quad (\text{D.4})$$

Para o caso em que $[\rho, H] = 0$, temos o estado de equilíbrio onde podemos escrever ρ na forma diagonalizada para a mesma base dos autoestados de H . Nessa situação não temos nenhuma coerência (elementos não nulos fora da diagonal) entre os estados do sistema.

A expressão D.4 descreve, em termos de todos os estados quânticos probabilisticamente possíveis, a evolução do sistema. Entretanto o cálculo apresentado diz respeito a um único estado inicial. Uma outra média sobre todos os estados iniciais possíveis deve ser tomada para descrever a real evolução do sistema. Quando a Hamiltoniana independe do estado do sistema essa média é trivial e não acres-

cente nova informação. Porém, como veremos adiante, quando a hamiltoniana depende sim das condições iniciais do sistema devemos ter cuidado ao realizar a média sobre todas as configurações iniciais possíveis.

Para o caso de um único spin $1/2$, em equilíbrio com um banho térmico ideal, sob efeito de um campo estático B_0 na direção \hat{z} temos

$$\sigma_0 = \sum_i \frac{e^{-\beta E_i}}{Z} |\psi_i\rangle\langle\psi_i| = \sum_i \frac{e^{-\beta H_i}}{Z} |\psi_i\rangle\langle\psi_i| = \frac{e^{-\beta\hbar\omega_0 I_z}}{\text{tr}[e^{-\beta\hbar\omega_0 I_z}]} \quad (\text{D.5})$$

onde usamos a relação de completeza para as autofunções de energia que também são autofunções do operador densidade já que estamos no equilíbrio.

A solução para este caso é obtida trivialmente a partir das relações para um sistema de dois níveis

$$\begin{aligned} \exp(-\beta\hbar\omega_0 I_z) &= \cosh\left(\frac{\beta\hbar\omega_0}{2}\right)\mathbf{1} - 2\sinh\left(\frac{\beta\hbar\omega_0}{2}\right)I_z, \\ \text{tr}\left\{\exp(-\beta\hbar\omega_0 I_z)\right\} &= 2\cosh\left(\frac{\beta\hbar\omega_0}{2}\right). \end{aligned} \quad (\text{D.6})$$

$$\sigma_0 = \frac{1}{2}\left[\mathbf{1} - 2\tanh\left(\frac{\beta\hbar\omega_0}{2}\right)I_z\right] \quad (\text{D.7})$$

D.2.1 Evolução da matriz densidade na presença do campo dipolar distante.

O uso do operador densidade considerando os spins isoladamente em cada molécula produz, na presença do campo dipolar distante, a seguinte expressão para evolução do operador densidade

$$\frac{\partial}{\partial t}\sigma(t) = \frac{1}{i\hbar}[H_0 - \mathbf{m} \cdot B_d(r, t), \sigma(t)], \quad (\text{D.8})$$

onde $B_d(r, t)$ é a contribuição para um dado spin do campo dipolar calculado em toda amostra e $\mathbf{m} = \gamma\hbar I$ é o operador de momento dipolar. O termo dipolar adicionado depende explicitamente do estado inicial do conjunto de spins que compõem a amostra. A equação D.8 torna-se não-linear quando é feita a média sobre todos os estados iniciais possíveis. Além disso a equação também torna-se não-local, isto é, o que acontece em uma dada região do espaço depende do estado dos spins em toda a amostra.

Substituindo o operador densidade para um spin $S = 1/2$ $\sigma(t) = \frac{1}{2}(\mathbf{1} + 4\langle I \rangle(t) \cdot I)$ e $\langle \mathbf{m} \rangle(t) = \text{tr}\{\sigma(t)\gamma\hbar I\}$ na expressão D.8, temos para o primeiro membro, cancelando já todas as constantes comuns aos dois lados

$$\frac{\partial}{\partial t}\sigma(t) = \frac{\partial}{\partial t}\langle m \rangle(t) \cdot I \quad (\text{D.9})$$

Agora desenvolvendo o segundo membro supondo, sem perda de generalidade, o campo externo na direção \hat{z}

$$\begin{aligned} [I_z B_0, \sigma] &= \gamma B_0 [I_z, \langle m \rangle \cdot I] = \gamma B_0 [I_z, \langle m \rangle_x I_x + \langle m \rangle_y I_y] = \\ &= \gamma B_0 \langle m \rangle_x I_y - \gamma B_0 \langle m \rangle_y I_x = -\gamma B_0 (\hat{z} \times \langle m \rangle) \cdot I \end{aligned} \quad (\text{D.10})$$

$$\begin{aligned} [\langle m \rangle \cdot \mathbf{B}_d, \sigma] &= \gamma [\langle m \rangle \cdot \mathbf{B}_d, \langle m \rangle \cdot I] = [\langle m \rangle_x B_{dx}, I_y] + \\ &+ [\langle m \rangle_y B_{dy}, I_x] + [\langle m \rangle_z B_{dz}, I_y] + \dots = -\gamma B_d (\hat{r} \times \langle m \rangle) \cdot I \end{aligned}$$

onde usamos a relação de comutação $[I_i, I_j] = \varepsilon_{ijk} I_k$. A direção \hat{r} absorve componentes de B_d que possam estar no plano xy .

Sabendo que a magnetização total por unidade de volume é dada por $n\langle m \rangle$ temos ao igualar os dois membros das equações D.9 e D.10 o termo de campo dipolar na equação de Bloch.

D.2.2 Evolução na presença do campo dipolar.

A Hamiltoniana secular para interação dipolar, como já vimos no apêndice anterior, pode ser escrita em unidades de frequência como

$$\begin{aligned}\frac{H_d^s}{\hbar} &= \sum_{i=0}^N \sum_{j=0}^N D_{ij} (3I_{iz}I_{jz} - \mathbf{I}_i \cdot \mathbf{I}_j) \\ D_{ij} &= \frac{\hbar\gamma_i\gamma_j}{4r_{ij}^3} (1 - 3\cos^2\theta_{ij}).\end{aligned}\tag{D.11}$$

Evolução dos operadores sob ação da hamiltoniana dipolar

$$\begin{aligned}e^{-iD_{ij}I_{zi}I_{zj}t} I_{xi} e^{iD_{ij}I_{zi}I_{zj}t} &= I_{xi} \cos(D_{ij}t/2) + 2I_{yi}I_{zj} \sin(D_{ij}t/2), \\ e^{-iD_{ij}I_{zi}I_{zj}t} 2I_{xi}I_{zj} e^{iD_{ij}I_{zi}I_{zj}t} &= 2I_{xi}I_{zj} \cos(D_{ij}t/2) + I_{yi} \sin(D_{ij}t/2), \\ e^{-iD_{ij}I_{zi}I_{zj}t} I_{yi} e^{iD_{ij}I_{zi}I_{zj}t} &= I_{yi} \cos(D_{ij}t/2) - 2I_{xi}I_{zj} \sin(D_{ij}t/2), \\ e^{-iD_{ij}I_{zi}I_{zj}t} 2I_{yi}I_{zj} e^{iD_{ij}I_{zi}I_{zj}t} &= 2I_{yi}I_{zj} \cos(D_{ij}t/2) - I_{xi} \sin(D_{ij}t/2).\end{aligned}$$

Os operadores I_{zi} , $I_{xi}I_{xj}$ e $I_{xi}I_{yj}$ são invariantes por essa operação. A parte do cosseno fica inalterada pela ação da interação dipolar. Cada operação pode criar ou aniquilar um operador de spin deixando um fator $\sin(D_{ij}t/2)$.

D.3 Aproximações para matriz densidade.

A matriz densidade de sistemas sólidos onde um número reduzido de spins interagem entre si pode ser aproximada pelo seu valor no limite em que as energias envolvidas são muito menores que a energia térmica $\beta = kT$. Já no caso de líquidos essa aproximação não é garantida. Todavia apesar de mais termos serem possíveis na matriz densidade, eles não podem ser observados. Os observáveis de RMN envolvem operadores de um único quanta $\langle I_x \rangle = \text{tr}[\rho I_x]$.

D.3.1 Aproximação de altas temperaturas.

Supondo a energia total para um sistema de N partículas devido somente a interação Zeeman. Essa energia varia entre $-N\gamma\hbar B_0 I$ e $N\gamma\hbar B_0 I$. É claro que esses dois extremos são bastante improváveis para sistemas nucleares em condições normais. Para uma distribuição aleatória de spins $E_a = \sqrt{N}\gamma\hbar B_0 I$.

A aproximação de altas temperaturas pede que $E_a = \sum_i E_i \ll kT$. Para $N = 10^{23}$ não é óbvio a condição pretendida. Não é verdade entretanto que os N spins interajam todos entre si. Apenas vizinhos mais próximos devem interagir. Um único spin interage com o banho térmico. Sendo assim trataremos a função partição para N spins não interagentes e a hipótese $E_i \ll kT$ é mais paupável.

$$Z = \text{tr} [\exp(-\beta\mathbf{H})] = \sum_a \exp(-\beta E_a) \quad (\text{D.12})$$

Podemos desenvolver a expressão acima da seguinte forma

$$Z = \sum_a \exp\left(-\beta \sum_i E_i\right) = \left(\sum_{m_1} e^{(-\beta E_1)}\right) \left(\sum_{m_2} e^{(-\beta E_2)}\right) \dots \left(\sum_{m_N} e^{(-\beta E_N)}\right)$$

Para interação Zeeman em um sistema de spins $S = 1/2$, no limite de altas temperaturas $E_i \ll kT$ temos

$$\rho_0 = \frac{\exp(-\beta\hbar\omega_0 \sum_i I_{zi})}{\text{tr} [\exp(-\beta\mathbf{H})]} \approx 2^{-N} \left(\mathbf{1} - \beta\hbar\omega_0 \sum_i I_{zi} \right), \quad (\text{D.13})$$

onde levamos a expansão somente até primeira ordem.

D.3.2 Caso geral.

Uma forma alternativa pode ser obtida fazendo

$$\rho_0 = \frac{\exp(-\beta\hbar\omega_0 \sum_i I_{zi})}{\text{tr} [\exp(-\beta\mathbf{H})]} = \frac{\prod_i \exp(-\beta\hbar\omega_0 I_{zi})}{\text{tr} [\exp(-\beta\mathbf{H})]} \quad (\text{D.14})$$

No equilíbrio, supondo que todas as interações entre spins possam ser desprezadas quando comparadas com a interação Zeeman, podemos escrever a matriz densidade total como sendo um produto direto das matrizes de todos os spins isoladamente:

$$\rho_0 = \sigma_{10} \otimes \sigma_{20} \otimes \sigma_{30} \otimes \cdots \sigma_{N0}. \quad (\text{D.15})$$

Essa construção tem um número finito N de termos. Assim ela não apresenta os problemas de convergência associados com a expansão em série de Taylor de ρ_0 . Além disso ela permite-nos o tratamento de cada bloco de n -operadores de spin separadamente.

A expressão final para a matriz densidade será, a partir da substituição de D.7 em D.15,

$$\rho_0 = 2^{-N} \prod_i (\mathbf{1} - \mathfrak{S} I_{zi}), \quad \text{onde } \mathfrak{S} = 2 \tanh \left(\beta \frac{\hbar \omega_0}{2} \right) \quad (\text{D.16})$$

Operadores do tipo $I_{zi} I_{zj}$ por exemplo só aparecem em termos de ordem \mathfrak{S}^2 e em mais nenhum termo da expansão.

D.3.3 Expansão de altas temperaturas no sinal de RMN.

$$S(t, T) = \frac{1}{T} C \sin \theta \exp \{i(\omega_0 + \omega_d)t\}, \quad (\text{D.17})$$

onde $\omega_d = \frac{K}{T} C \cos \theta$

Podemos fazer a expansão do sinal em função da temperatura de spin T

$$S(t, T) = \frac{1}{T} S_1(t) + \left(\frac{1}{T}\right)^2 S_2(t) \cdots \quad (\text{D.18})$$

onde temos

$$\begin{aligned} S_1(t) &= C \operatorname{sen} \theta \exp(i\omega_0 t), \\ S_2(t) &= C \operatorname{sen} \theta \exp(i\omega_0 t) i K C \cos \theta t \dots \end{aligned} \quad (\text{D.19})$$

Essa expansão é vantajosa em espectroscopia bidimensional, pois com ela, podemos separar o sinal dos picos satélites para diferentes grupos de spins que possuem propriedades de fase semelhantes em função da fase dos pulsos de excitação.

Warren mostrou que a separação do sinal acima para um único spin sob a ação do campo dipolar médio pode ser obtida fazendo a expansão na matriz densidade do conjunto de todos os spins da amostra.

D.4 Sinal de RMN em sólidos

Em sólidos a interação dipolar pode produzir correlações via transferência de coerência múltipla. O efeito mais conhecido da interação dipolar em é o efeito de alargamento reversível da linha de ressonância devido à transformação de operadores I_x e I_y em multi-operadores. Esse efeito pode ser revertido por seqüências de pulso adequadas(108; 109) como a de precessão no ângulo mágico (magic angle spinning).

Em geral a dependência com r^{-3} da interação dipolar complica bastante o cálculo exato da evolução da matriz densidade para um sólido. Entretanto é sempre possível um cálculo para tempos curtos. Embora essas aproximações se tornem inválidas bem antes do sinal desaparecer totalmente, veremos que elas são muito boas para o tratamento de líquidos.

Vamos tomar inicialmente a matriz densidade na aproximação de altas tem-

peraturas. Assim, após um pulso de $(\pi/2)_x$ temos

$$\rho(t_1 = 0) = 2^{-N} \left(\mathbf{1} + \beta \hbar \omega_0 \sum_i I_{yi} \right). \quad (\text{D.20})$$

A matriz densidade no regime de altas temperaturas consiste de operadores de 1-spin somente. O comutador dessa matriz com operadores da Hamiltoniana dipolar geram operadores de 2-spin (e.g. $I_{y1}I_{z2}$) que não são diretamente observáveis não importando a rotação dos pulsos de RF usados. Pelo menos mais uma comutação, com o mesmo operador ou com outros, é necessária para converter esses elementos novamente em operadores de 1-spin observáveis. Assim todos os efeitos da interação dipolar em sólidos serão proporcionais a produtos de dois ou mais acoplamentos dipolares D_{ij} . No caso de líquidos, com o rompimento da aproximação de altas temperaturas. Nos termos de produtos do tipo quadrado apenas uma comutação é suficiente para produzir um sinal observável(160).

D.5 Seqüência CRAZED.

Partindo da matriz densidade D.16, após o primeiro pulso de $(\pi/2)_x$ e do primeiro gradiente G temos

$$\rho(t_1) = 2^{-N} \prod_i [\mathbf{1}_i - \Im I_{xi} \cos(\Delta\omega t_1 + kz_i) - \Im I_{yi} \text{sen}(\Delta\omega t_1 + kz_i)], \quad (\text{D.21})$$

Aplicando o segundo pulso de $(\pi/2)_x$ e o segundo gradiente $2G$

$$\begin{aligned} \rho(t_1, t_2 = 0) = & \\ & 2^{-N} \prod_i [\mathbf{1}_i + \Im I_{zi} \cos(\Delta\omega t_1 + kz_i) - \Im I_{yi} \text{sen}(\Delta\omega t_1 + kz_i) \cos(2kz_i) \\ & + \Im I_{xi} \text{sen}(\Delta\omega t_1 + kz_i) \text{sen}(2kz_i)]. \end{aligned} \quad (\text{D.22})$$

Usando as relações

$$\begin{aligned}\operatorname{sen}(a) \cos(b) &= \frac{1}{2} [\operatorname{sen}(a+b) + \operatorname{sen}(a-b)], \\ \operatorname{sen}(a) \operatorname{sen}(b) &= \frac{1}{2} [\cos(a-b) - \cos(a+b)], \\ \cos(a) \cos(b) &= \frac{1}{2} [\cos(a-b) + \cos(a+b)],\end{aligned}\tag{D.23}$$

em D.22 temos

$$\begin{aligned}\rho(t_1, t_2 = 0) &= 2^{-N} \prod_i \\ &\left\{ \mathbf{1}_i + \Im I_{zi} \cos(\Delta\omega t_1 + kz_i) - \frac{1}{2} \Im I_{yi} [\operatorname{sen}(\Delta\omega t_1 - kz_i) + \operatorname{sen}(\Delta\omega t_1 + 3kz_i)] \right. \\ &\left. + \frac{1}{2} \Im I_{xi} [\cos(\Delta\omega t_1 - kz_i) - \cos(\Delta\omega t_1 + 3kz_i)] \right\}.\end{aligned}\tag{D.24}$$

A equação D.24 descreve uma soma de produtos de operadores modulados pela evolução durante t_1 e pelos pulsos de gradiente. Podemos simplificá-la tomando a média espacial sobre os termos dependentes da posição.

Em geral no somatório D.24 um termo de n -operadores de spin se tornará observável(159) na presença de um campo dipolar se puder ser escrito como

$$I_{xi} I_{(yi)} \prod_{\substack{j=1 \\ j \neq i}}^{n-1} I_{zj}.\tag{D.25}$$

Somente operadores de 1-quanta, do tipo I_x ou I_y , podem ser detectados. A comutação com termos do tipo $D_{ij} I_{zi} I_{zj}$ não afeta os operadores transversais. O operador do tipo dipolar só pode produzir um sinal observável quando comutado

com operadores do tipo D.25. O que teremos é uma série de termos representando n comutações com a Hamiltoniana dipolar. No caso de tempos de refocalização curtos, ou para campos dipolares fracos, apenas uma comutação será suficiente para determinar o sinal de magnetização(86; 147).

Somente operadores independentes da posição na amostra contribuem. Cada spin isoladamente é modulado por um número ímpar de z_i no argumento. Logo, somente produtos de operadores com um número par de spins não se anulará quando feita a média espacial. Todos os termos de ordem $2n$ para a matriz densidade podem ser calculados e somados resultando na equação

$$\rho^{obs} = 2^{-N} \mathfrak{S} \sum_{i=1}^N [I_{xi} \text{sen}(2\Delta\omega t_1) + I_{yi} \text{cos}(2\Delta\omega t_1)] (\Lambda_i^{-1}) \sum_{n=1}^{N/2} \frac{(-1)^{n+1}}{(n-1)!(n+1)!} (\Lambda_i^{2n}) \quad (\text{D.26})$$

onde

$$\Lambda_i = \frac{3t_2}{4} \mathfrak{S} \sum_{j=1}^N D_{ij} \text{cos}(k[z_j - z_i]). \quad (\text{D.27})$$

Através da expansão em série das funções de Bessel

$$J_\nu(x) = \sum_{k=0}^{\infty} \frac{(-1)^k}{k!(\nu+k)!} \left(\frac{x}{2}\right)^{\nu+2k} = \sum_{k=1}^{\infty} \frac{(-1)^{k+1}}{(k-1)!(\nu+k-1)!} \left(\frac{x}{2}\right)^{\nu+2k-2} \quad (\text{D.28})$$

temos

$$\rho^{obs} = 2^{-N} \Im \sum_{i=1}^N [I_{xi} \text{sen}(2\Delta\omega t_1) + I_{yi} \cos(2\Delta\omega t_1)] (\Lambda_i^{-1}) J_2(2\Lambda_i). \quad (\text{D.29})$$

Durante o intervalo t_2 a evolução da matriz densidade do sinal observável será

$$\begin{aligned} \rho^{obs}(t_1, t_2) = & \quad (\text{D.30}) \\ & -2^{-N} \Im \sum_{i=1}^N \left\{ I_{xi} [\text{sen}(2\Delta\omega t_1) \cos(\Delta\omega t_2) - \cos(2\Delta\omega t_1) \text{sen}(\Delta\omega t_2)] + \right. \\ & \left. I_{yi} [\cos(2\Delta\omega t_1) \cos(\Delta\omega t_2) + \text{sen}(2\Delta\omega t_1) \text{sen}(\Delta\omega t_2)] \left(\frac{2\tau_d}{t_2} \right) J_2 \left(\frac{-t_2}{\tau_d} \right) \right\}. \end{aligned}$$

O sinal de magnetização de RMN é obtido pelo traço do operador densidade com o operador de magnetização transversal. Sendo assim temos

$$\begin{aligned} M^+(t_1, t_2) = \text{tr} [\rho(t_1, t_2) \gamma \hbar (I_x + I_y)] = \\ iM_0 e^{-2i\Delta\omega t_1} e^{i\Delta\omega t_2} \left(\frac{2\tau_d}{t_2} \right) J_2 \left(\frac{-t_2}{\tau_d} \right). \quad (\text{D.31}) \end{aligned}$$

Essa expressão é idêntica a expressão 4.32 para uma única espécie A sem levar em conta o efeito de difusão ($D_A \approx 0$).

O tratamento quântico e clássico produzem o mesmo resultado para situações onde podem ser desprezados os efeitos de difusão (93). Todavia é incrível como uma teoria clássica de campo médio possa reproduzir os resultados obtidos quanticamente. A estranheza do resultado se deve ao fato de que o tratamento de campo médio elimina todas as contribuições de correlação entre os spins. Es-

tas contribuições são levadas em consideração na abordagem quântica. Todavia Warren et al.(159) e Jeener(92) mostraram que as contribuições de correlação não produzem sinais observáveis no tratamento quântico. Na verdade são as contribuições de n -coerência que produzem o sinal de n -quanta intermolecular. A distinção entre coerência e correlação não existe na aproximação de primeira ordem da matriz densidade (aproximação de altas temperaturas) mas é marcante quando a mesma não é mais válida(92).

Referências Bibliográficas

- [1] I. I. Rabi, J. R. Zacharias, S. Millman, and P. Kusch. A new method of measuring nuclear magnetic moment. *Phys. Rev.*, 53:318, 1938.
- [2] E. M. Purcell, H. C. Torrey, and R. V. Pound. Resonance absorption by nuclear magnetic moments in a solid. *Phys. Rev.*, 69:37, 1946.
- [3] F. Bloch, W. W. Hansen, and M. Packard. Nuclear induction. *Phys. Rev.*, 69:127, 1946.
- [4] J. S. Rigden. Quantum states and precession: The two discoveries of NMR. *Rev. Mod. Phys.*, 58:433, 1986.
- [5] F. Bloch. Nuclear induction. *Phys. Rev.*, 70:460, 1946.
- [6] N. Bloembergen, E. M. Purcell, and R. V. Pound. Relaxation effects in nuclear magnetic resonance absorption. *Phys. Rev.*, 73:679, 1948.
- [7] H. C. Torrey. Transient nutations in nuclear magnetic resonance. *Phys. Rev.*, 76:1059, 1949.
- [8] E. L. Hahn. Spin echoes. *Phys. Rev.*, 80:580, 1950.
- [9] H. Y. Carr and E. M. Purcell. Effects of diffusion on free precession in nuclear magnetic resonance experiments. *Phys. Rev.*, 94:630, 1954.
- [10] I. J. Lowe and R. E. Norberg. Free-induction decays in solids. *Phys. Rev.*, 107:46, 1957.

-
- [11] W. A. Anderson. Fourier transform spectroscopy. *Encyclopedia of Nuclear Magnetic Resonance*, edited by G. M. Grant and R. K. Harris, Wiley, 1996.
- [12] W. D. Knight. Nuclear magnetic resonance shifts in metals. *Phys. Rev.*, 76:1259, 1949.
- [13] W. G. Proctor and F. C. Yu. The dependence of a nuclear magnetic resonance frequency upon chemical compound. *Phys. Rev.*, 77:717, 1950.
- [14] J. N. Shoolery. The development of experimental and analytical high resolution NMR. *Prog. NMR Spectrosc.*, 28:37, 1995.
- [15] E. R. Andrew. Imaging: A historical overview. *Encyclopedia of Nuclear Magnetic Resonance*, edited by G. M. Grant and R. K. Harris, Wiley, page 2462, 1996.
- [16] P. C. Lauterbur. Image formation by induced local interactions: examples employing nuclear magnetic resonance. *Nature*, 242:190, 1973.
- [17] P. Mansfield, A. A. Maudsley, and T. Baines. Fast scan proton density imaging by NMR. *J. Phys. E*, 9:271, 1976.
- [18] D. I. Hoult and R. E. Richards. The signal-to-noise ratio of the nuclear magnetic resonance experiment. *J. Magn. Reson.*, 24:71, 1976.
- [19] P. L. Kuhns, A. Kleinhammes, W. G. Moulton, and N. S. Sullivan. NMR in resistive magnets at fields up to 30 T. *J. Magn. Reson. Ser. A*, 115:270, 1995.
- [20] H. T. Edzes. The nuclear magnetization as the origin of transient changes in the magnetic field in pulsed NMR experiments. *J. Magn. Reson.*, 86:293, 1990.
- [21] S. R. Hartmann and E. L. Hahn. Nuclear double resonance in the rotating frame. *Phys. Rev.*, 128:2042, 1962.

- [22] K. Golman, J. H. Ardenkjær-Larsen, J. S. Petersson, S. Månsson, and I. Leunbach. Molecular imaging with endogenous substances. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 100:10435, 2003.
- [23] J. H. Ardenkjær-Larsen, B. Fridlund, A. Gram, G. Hansson, L. Hansson, M. H. Lerche, R. Servin, M. Thaning, and K. Golman. Increase in signal-to-noise ratio of $> 10,000$ times in liquid state NMR. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 100:10158, 2003.
- [24] B. C. Grover. Noble-gas NMR detection through noble-gas-Rubidium hyperfine contact interaction. *Phys. Rev. Lett.*, 40:391, 1978.
- [25] C. H. Tseng, G. P. Wong, V. R. Pomeroy, R. W. Mair, D. P. Hinton, D. Hoffmann, R. E. Stoner, F. W. Hersman, D. G. Cory, and R. L. Walsworth. Low-field MRI of laser polarized noble gas. *Phys. Rev. Lett.*, 81:3785, 1998.
- [26] Y. S. Greenberg. Application of superconducting quantum interference devices to nuclear magnetic resonance. *Rev. Mod. Phys.*, 70:175, 1998.
- [27] A. J. Moulé, M. M. Spence, S. I. Han, J. A. Seeley, K. L. Pierce, S. Saxena, and A. Pines. Amplification of xenon NMR and MRI by remote detection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 100:9122, 2003.
- [28] S. H. Kroenig, R. D. Brown, D. Adams, D. Emerson, and C. G. Harrison. Magnetic field dependence of $1/T_1$ of proton tissues. *Invest. Radiol.*, 19:76, 1984.
- [29] G. C. do Nascimento, R. E. de Souza, and M. Engelsberg. A simple, ultralow magnetic field NMR imaging system. *J. Phys. E*, 22:774, 1989.
- [30] M. Emswiler, E. L. Hahn, and D. Kaplan. Pulsed nuclear resonance spectroscopy. *Phys. Rev.*, 118:414, 1960.
- [31] D. Grucker. In vivo detection of injected free radicals by Overhauser effect imaging. *Magn. Reson. Med.*, 14:140, 1990.

- [32] P. L. de Sousa, R. E. de Souza, M. Engelsberg, and L. A. Colnago. Mobility and free radical concentration effects in proton-electron double-resonance imaging. *Meas. Sci. Technol.*, 135:118, 1998.
- [33] A. Martinsen, G. Skjåk-Bræk, and O. Smidsrød. Alginate as immobilization material: I. correlation between chemical and physical properties of alginate gel beads. *Biotechnol. Bioeng.*, 33:79, 1989.
- [34] K. I. Draget, K. Østgaard, and O. Smidsrød. Alginate-based solid media for plant tissue culture. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 31:79, 1989.
- [35] N. E. Simpson, S. C. Grant, S. J. Blackband, and I. Constantinidis. NMR properties of alginate microbeads. *Biomaterials*, 24:4941, 2003.
- [36] A. S. Waldman, L. Schechinger, G. Govindarajoo, and J. S. Nowick. The alginate demonstration: polymers, food science, and ion exchange. *J. Chem. Educ.*, 75:1430, 1998.
- [37] T. D. Hart, J. M. Lynch, and A. H. L. Chamberlain. Anion exclusion in microbial and soil polysaccharides. *Biol. Fertil. Soils*, 34:201, 2001.
- [38] R. J. Gummerson, C. Hall, W. D. Hoff, R. Hawkes, G. N. Holland, and W. S. Moore. Unsaturated water flow within porous materials observed by NMR imaging. *Nature*, 281:56, 1979.
- [39] S. Blackband and P. Mansfield. Diffusion in liquids solid systems by NMR imaging. *J. Phys. C*, 19:L49, 1986.
- [40] P. Mansfield and P. G. Morris. *NMR imaging in biomedicine*. Advances in Magnetic Resonance, edited by J. S. Waugh. Academic Press, New York, 1982.
- [41] I. Nicholson, D. J. Lurie, and F. J. L. Robb. The application of proton-electron double-resonance imaging techniques to proton mobility studies. *J. Magn. Reson. Ser. B*, 104:250, 1994.

- [42] P. L. de Sousa, M. Engelsberg, M. A. Matos, and L. A. Colnago. Measurements of water transport in a gel by Overhauser magnetic resonance imaging. *Meas. Sci. Technol.*, 9:1982, 1998.
- [43] R. E. de Souza, W. Barros Jr., M. Engelsberg, and L. B. Carvalho. Ultralow field Overhauser images of calcium alginate gel formation. *Mol. Cryst. Liq. Cryst.*, 374:249, 2002.
- [44] W. Barros Jr., R. E. de Souza, M. Engelsberg, K. Golman, and J. H. Ardenkjær-Larsen. Low field Overhauser images of the formation process of a hydrogel. *Appl. Phys. Lett.*, 80:160, 2002.
- [45] A. W. Overhauser. Paramagnetic relaxation in metals. *Phys. Rev.*, 89:689, 1952.
- [46] A. W. Overhauser. Polarization of nuclei in metals. *Phys. Rev.*, 92:411, 1953.
- [47] T. R. Carver and C. P. Slichter. Experimental verification of the Overhauser nuclear polarization effect. *Phys. Rev.*, 102:975, 1956.
- [48] J. Korringa. Orientation of nuclei by saturation of paramagnetic resonance. *Phys. Rev.*, 94:1388, 1954.
- [49] A. Abragam. Overhauser effect in nonmetals. *Phys. Rev.*, 98:1729, 1955.
- [50] A. W. Overhauser. Dynamic nuclear polarization. *Encyclopedia of Nuclear Magnetic Resonance*, edited by G. M. Grant and R. K. Harris, Wiley, page 513, 1996.
- [51] A. Abragam. *Principles of nuclear magnetism, paperback edition* Oxford Univ. Press, Oxford, 1983.
- [52] I. Solomon. Relaxation processes in a system of two spins. *Phys. Rev.*, 99:559, 1955.

- [53] D. Kivelson. Theory of ESR linewidths of free radicals. *J. Chem. Phys.*, 33:1094, 1960.
- [54] P. Mansfield and P. K. Grannell. “Diffraction” and microscopy in solids and liquids by NMR. *Phys. Rev. B*, 12:3618, 1975.
- [55] D. J. Lurie, J. M. S. Hutchison, L. H. Bell, I. Nicholson, D. M. Bussel, and J. R. Mallard. Field-cycled proton-electron double-resonance imaging of free radicals in large aqueous samples. *J. Magn. Reson.*, 84:431, 1989.
- [56] D. J. Lurie. Imaging using the electronic Overhauser effect. *Encyclopedia of Nuclear Magnetic Resonance*, edited by G. M. Grant and R. K. Harris, Wiley., page 2481, 1996.
- [57] I. Nicholson, F. J. L. Robb, J. M. S. Hutchison, and D. J. Lurie. In vivo imaging of nitroxide-free-radical clearance in the rat, using radiofrequency longitudinal detected ESR imaging. *J. Magn. Reson. Ser. B*, 113:256, 1996.
- [58] E. Vahala, M. Ylihautala, G. Ehnholm, N. Etelä, I. Young, K. Golman, and I. Leunbach. A study of the use of Overhauser enhancement to assist with needle and catheter placement during interventional MRI. *J. Magn. Reson.*, 157:298, 2002.
- [59] T. M. S. Chang. Semipermeable microcapsules. *Science*, 146:524, 1964.
- [60] S. Sakai, T. Ono, H. Ijima, and K. Kawakami. In vitro and in vivo evaluation of alginate/sol-gel synthesized aminopropyl-silicate/alginate membrane for bioartificial pancreas. *Biomaterials*, 23:4177, 2002.
- [61] D. Avnir, S. Braun, O. Lev, and M. Ottolenghi. Enzymes and other proteins entrapped in sol-gel materials. *Chem. Mater.*, 6:1605, 1994.
- [62] P. Soon-Shiong, E. Feldman, R. Nelson, R. Heintz, Q. Yao, Z. Yao, T. Zheng, N. Merideth, G. Skjak-Bræk, T. Espevik, O. Smidsrød, and P. Sandford. Long-term of diabetes by injection of immunoprotected islets. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:5843, 1993.

- [63] T. M. Allen and P. R. Cullis. Drug delivery systems: Entering the mainstream. *Science*, 303:1818, 2004.
- [64] A. P. Nowak, V. Breedveld, L. Pakstis, B. Ozbas, D. J. Pine, D. Pochan, and T. J. Deming. Rapidly recovering hydrogel scaffolds from self-assembling diblock copolypeptide amphiphiles. *Nature*, 417:424, 2002.
- [65] R. Turner. Gradient coil systems. *Encyclopedia of Nuclear Magnetic Resonance*, edited by G. M. Grant and R. K. Harris, Wiley, page 2223, 1996.
- [66] J. Tropp. The theory of bird-cage resonator. *J. Magn. Reson.*, 82:51, 1989.
- [67] Nycomed innovation AB, Malmö, Sweden (proprietary compound). *US patent 5530140*, 1996.
- [68] J. H. Ardenkjær-Larsen, I. Laursen, I. Leunbach, G. Ehnholm, L. G. Wisstrand, J. S. Petersson, and K. Golman. EPR and DNP properties of certain novel single electron contrast agents intended for oximetric imaging. *J. Magn. Reson.*, 133:1, 1998.
- [69] R. A. Wind and J. H. Ardenkjær-Larsen. ^1H DNP of water doped with triarylmethyl-based radical. *J. Magn. Reson.*, 141:347, 1999.
- [70] K. I. Draget, K. Østgaard, and O. Smidsrød. Homogeneous alginate gels: A technical approach. *Carbohydr. Polym.*, 14:159, 1991.
- [71] K. Potter, B. J. Balcom, T. A. Carpenter, and L. D. Hall. The gelation of sodium alginate with calcium ions studied by magnetic resonance imaging (MRI). *Carbohydr. Res.*, 257:117, 1994.
- [72] Z. Y. Wang, Q. Z. Zhang, M. Konno, and S. Saito. Sol-gel transition of alginate solution by additions of various divalent cations: critical behavior of relative viscosity. *Chem. Phys. Lett.*, 186:463, 1991.
- [73] A Mikkelsen and A. Elgsæter. Density distribution of calcium-induced alginate gels. A numerical study. *Biopolymers*, 36:17, 1995.

- [74] W. Barros Jr. and M. Engelsberg. Ionic transport, reaction kinetics, and gel formation. A low-field Overhauser magnetic resonance imaging study. *J. Phys. Chem. A*, 106:7251, 2002.
- [75] B. R. Gossick. *Potential barriers in semiconductors*. Academic Press, New York, 1964.
- [76] R. Panikkar and D. J. Brasch. Composition and block structure of alginates from New Zealand brown seaweeds. *Carbohydr. Res.*, 293:119, 1996.
- [77] T. Brumleve and R. P. Buck. Numerical solution of the Nernst-Planck and Poisson equation system with applications to membrane electrochemistry and solid state physics. *J. Electroanal. Chem.*, 90:1, 1978.
- [78] P. L. de Sousa, M. Engelsberg, and F. G. B. Moreira. Tensile water transport in a porous gel. *Phys. Rev. E*, 60:R1174, 1999.
- [79] P. L. de Sousa and M. Engelsberg. Monte carlo simulation of non-Fickian water transport in a saturated porous gel. *Phys. Rev. E*, 60:7541, 1999.
- [80] J. H. Wang. Tracer diffusion in liquids. IV. Self diffusion of calcium and chloride ion in aqueous calcium chloride solutions. *J. Am. Chem. Soc.*, 75:1769, 1953.
- [81] R. Chang. *Physical chemistry with applications to biological systems* Macmillan publish CO., 2th edition, 1981.
- [82] W. Barros Jr. and M. Engelsberg. Enhanced migration and ionic transport through membranes. *Phys. Rev. E*, 67:021905, 2003.
- [83] B. Thu, O. Gaserød, 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*, 53:60, 2000.

- [84] T. D. Hart, R. J. Hill, P. M. Glover, J. M. Lynch, and A. H. L. Chamberlain. Effect of range of microbial polysaccharides on the diffusion of manganese ions using spatially resolved NMR relaxatometry. *Enzyme and Microbial Technology*, 28:370, 2001.
- [85] N. V. Bloembergen and R. V. Pound. Radiation damping in magnetic resonance experiments. *Phys. Rev.*, 95:8, 1954.
- [86] W. S. Warren, W. Richter, A. H. Andreotti, and B. T. Farmer II. Generation of impossible cross-peaks between bulk water and biomolecules in solution NMR. *Science*, 262:2005, 1993.
- [87] G. Deville, M. Bernier, and J. M. Delrieux. NMR multiple echoes observed in solid ^3He . *Phys. Rev. B*, 19:5666, 1979.
- [88] R. Bowtell, R. M. Bowley, and P. Glover. Multiple spin echos in liquids in a high magnetic field. *J. Magn. Reson.*, 88:643, 1990.
- [89] H. Kölber, E. Dormann, and G. Eska. Multiple spin echoes for protons in water. *J. Magn. Reson.*, 93:589, 1991.
- [90] Q. He, W. Richter, S. Vathyam, and W. S. Warren. Intermolecular multiple-quantum coherences and cross correlations in solution nuclear magnetic resonance. *J. Chem. Phys.*, 98:6779, 1993.
- [91] R. Kimmich and I. Ardelean. Intermolecular multiple-quantum coherence transfer echos and multiple echoes in nuclear magnetic resonance. *J. Chem. Phys.*, 110:3708, 1999.
- [92] J. Jeener, A. Vlassenbroek, and P. Broekaert. Unified derivation of dipolar field and relaxation terms in the Bloch-Redfield equations of liquid NMR. *J. Chem. Phys.*, 103:1309, 1995.
- [93] J. Jeener. Equivalence between the “Classical” and the “Warren” approaches for the effects of long range dipolar couplings in nuclear magnetic resonance. *J. Chem. Phys.*, 112:5091, 2000.

- [94] E. D. Minot, P. T. Callaghan, and N. Kaplan. Multiple echoes, multiple quantum coherence, and the dipolar field: demonstrating the significance of higher orders terms in the equilibrium density matrix. *J. Magn. Reson.*, 140:200, 1999.
- [95] P. R. Bachiller, S. Ahn, and W. S. Warren. Detection of intermolecular heteronuclear multiple-quantum coherences in solution NMR. *J. Magn. Reson. Ser. A*, 122:94, 1996.
- [96] Z. Chen and J. Zhong. Unconventional diffusion behaviors in intermolecular multiple-quantum coherences in nuclear magnetic resonance. *J. Chem. Phys.*, 114:5642, 2001.
- [97] J. Zhong, Z. Chen, E. Kwok, and S. Kennedy. Enhanced sensitivity to molecular diffusion with intermolecular double-quantum coherences: implications and potential applications. *Magn. Reson. Imaging*, 19:33, 2001.
- [98] Z. Chen, Z. Chen, and J. Zhong. Quantitative study of longitudinal relaxation related to intermolecular dipolar interactions in solution NMR. *J. Chem. Phys.*, 333:126, 2001.
- [99] J. Zhong, Z. Chen, S. Zheng, and S. D. Kennedy. Theoretical and experimental characterization of NMR transverse relaxation process related to intermolecular dipolar interactions. *Chem. Phys. Lett.*, 350:260, 2001.
- [100] S. Capuani, M. Alesiani, F. M. Alessandri, and B. Maraviglia. Characterization of porous media structure by non linear NMR methods. *Magn. Reson. Imaging*, 19:319, 2001.
- [101] S. Capuani, R. T. Branca, M. Alesiani, and B. Maraviglia. Intermolecular double-quantum NMR techniques to probe microstructure on porous media. *Magn. Reson. Imaging*, 21:413, 2003.
- [102] Y. Y. Lin, S. Ahn, N. Murali, W. Brey, C. R. Bowers, and W. S. Warren. High-resolution, > 1 GHz NMR in unstable magnetic field. *Phys. Rev. Lett.*, 85:3732, 2000.

- [103] Z. Chen, Z. Chen, and J. Zhong. High resolution NMR spectra in inhomogeneous fields via IDEAL (Intermolecular Dipolar-Interaction Enhanced All Lines) method. *J. Am. Chem. Soc.*, 446:126, 2004.
- [104] C. Ramanathan and R. Bowtell. Mapping the absolute value of M_0 using dipolar field effects. *Phys. Rev. E*, 66:041201, 2002.
- [105] R. R. Ernst, G. Bodenhausen, and A. Wokaun. *Principles of nuclear magnetic resonance in one and two dimensions*. Claredon Press-Oxford, 2th edition, 1991.
- [106] G. E. Pake. Nuclear resonance absorption in hydrated crystals: Fine structure of the proton line. *J. Chem. Phys.*, 16:327, 1948.
- [107] S. G. Roe and W. S. Warren. Numerical studies of intermolecular multiple quantum coherences: High-resolution NMR in inhomogeneous fields and contrast enhancement in MRI. *J. Magn. Reson.*, 146:1, 2000.
- [108] E. R. Andrew, A. Bradbury, and R. G. Eades. NMR spectra from a crystal rotated at high speeds. *Nature*, 182:1659, 1958.
- [109] I. J. Lowe. Induction decays in rotating solids. *Phys. Rev. Lett.*, 2:285, 1959.
- [110] H. C. Torrey. Bloch equations with diffusion terms. *Phys. Rev.*, 104:563, 1956.
- [111] I. I. Rabi, N. E. Ramsey, and J. Schwinger. Use of rotating coordinates in magnetic resonance problems. *Rev. Mod. Phys.*, 26:167, 1954.
- [112] E. O. Stejskal and J. E. Tanner. Spin diffusion measurements: spin echoes in the presence of a time-dependent field gradient. *Phys. Rev.*, 42:288, 1965.
- [113] M. Engelsberg, W. Barros Jr., and F. Hallwass. Intermolecular double-quantum coherences in two-dimensional spectra of binary mixtures in solution. the role of diffusion. *J. Chem. Phys.*, 120:10659, 2004.

- [114] I. Ardelean and R. Kimmich. Diffusion measurements with pulsed gradient nonlinear spin echo method. *J. Chem. Phys.*, 112:5275, 2000.
- [115] I. Ardelean and R. Kimmich. Comment on “Diffusion measurements with pulsed gradient nonlinear spin echo method” [J. Chem. Phys., 112, 5275, 2000]. *J. Chem. Phys.*, 116:1204, 2002.
- [116] J. Jeener. Macroscopic molecular diffusion in liquid NMR revisited. *Concepts Magn. Reson*, 14:79, 2002.
- [117] Z. Chen, Z. Chen, and J. Zhong. Quantitative characterization of intermolecular dipolar interactions of two-component systems in solution nuclear magnetic resonance. *J. Chem. Phys.*, 115:10769, 2001.
- [118] M. Guéron and P. Plateau. Water signal suppression in NMR of biomolecules. *Encyclopedia of Nuclear Magnetic Resonance*, edited by G. M. Grant and R. K. Harris, Wiley, page 4931, 1996.
- [119] G. N. Watson. *A treatise on the theory of Bessel functions*. Cambridge university press, Cambridge, 2th edition, 1966.
- [120] C. P. Slichter. *Principles of magnetic resonance, enlarged and updated*. Springer-Verlag, Berlin/New York, 3th edition, 1990.
- [121] Z. Chen, G. Lin, and J. Zhong. Diffusion of intermolecular zero- and double-quantum coherences in two-component spin systems. *Chem. Phys. Lett.*, 333:96, 2001.
- [122] W. S. Warren, S. Ahn, M. Mescher, M. Garwood, K. Ugurbil, W. Richter, R. R. Rizi, J. Hopkins, and J. S. Leigh. MR imaging contrast enhancement based on intermolecular zero quantum coherences. *Science*, 281:247, 1998.
- [123] W. Richter, S. Lee, W. S. Warren, and Q. He. Imaging with intermolecular multiple-quantum coherences in solution nuclear magnetic resonance. *Science*, 267:654, 1995.

- [124] W. Richter, M. Richter, W. S. Warren, H. Merkle, P. Andersen, G. Adriany, and K. Ugurbil. Functional magnetic resonance imaging with intermolecular multiple-quantum coherences. *Magn. Reson. Imaging*, 18:489, 2000.
- [125] J. Zhong, E. Kwok, and Z. Chen. fMRI of auditory stimulation with intermolecular double-quantum coherences (iDQCs) at 1.5 T. *Magn. Reson. Med.*, 45:356, 2001.
- [126] J. Zhong, Z. Chen, and E. Kwok. New contrast mechanism in intermolecular double-quantum coherence human MR imaging. *J. Magn. Reson. Imaging*, 12:311, 2000.
- [127] T. Hou, Z. Chen, D. W. Hwang, J. h. Zhong, and L. P. Hwang. Intermolecular double-quantum coherence MR microimaging of pig tail with unique image contrast. *Magn. Reson. Imaging*, 22:543, 2004.
- [128] Z. Chen, S. Zheng, and J. Zhong. Optimal rf flip angles for multiple spin-echoes and iMQC of different orders with the CRAZED pulse sequence. *Chem. Phys. Lett.*, 347:143, 2001.
- [129] J. Zhong, Z. Chen, W. E. Kwok, S. D. Kennedy, and Z. You. Optimization of blood oxygenation level-dependent sensitivity in magnetic resonance imaging using intermolecular double-quantum coherence. *J. Magn. Reson. Imaging*, 16:733, 2002.
- [130] R. Bowtell and P. Robyr. Structural investigations with dipolar demagnetizing field in solution NMR. *Phys. Rev. Lett.*, 76:4971, 1996.
- [131] T. Enss, S. Ahn, and W. S. Warren. Visualizing the dipolar field in solution NMR and MR imaging: three-dimensional structure simulations. *Chem. Phys. Lett.*, 305:101, 1999.
- [132] S. Capuani, F. Curzi, F. M. Alessandri, M. Alessandri, B. Maraviglia, and A. Bifone. Characterization of trabecular bone by dipolar demagnetizing field MRI. *Magn. Reson. Med*, 46:683, 2001.

- [133] S. Capuani, F. M. Alessandri, A. Bifone, and B. Maraviglia. Multiple spin echoes for the evaluation of trabecular bone quality. *MAGMA*, 14:3, 2002.
- [134] C. Ramanathan and R. Bowtell. NMR imaging and structure measurements using the long-range dipolar field in liquids. *Phys. Rev. E*, 66:041201, 2002.
- [135] P. Robyr and R. Bowtell. Nuclear magnetic resonance microscopy in liquids using the dipolar field. *J. Chem. Phys.*, 106:467, 1996.
- [136] P. Robyr and R. Bowtell. Measuring Patterson functions of inhomogeneous liquids using the nuclear dipolar field. *J. Chem. Phys.*, 107:702, 1997.
- [137] R. Bowtell. Indirect detection via the dipolar demagnetizing field. *J. Magn. Reson.*, 100:1, 1992.
- [138] R. Bowtell, S. Gutteridge, and C. Ramanathan. Imaging the long-range dipolar field in structure liquid state samples. *J. Magn. Reson.*, 150:147, 2001.
- [139] L. S. Bouchard, R. R. Rizi, and W. S. Warren. Magnetization structure contrast based on intermolecular multiple-quantum coherences. *Magn. Reson. Med.*, 48:973, 2002.
- [140] G. D. C. Edwards, G. S. Payne, M. O. Leach, and A. Bifone. Effects of residual single-quantum coherences in intermolecular multiple-quantum coherence studies. *J. Magn. Reson.*, 166:215, 2004.
- [141] R. T. Branca, S. Capuani, and B. Maraviglia. About the crazed sequence. *Concepts Magn. Reson. A*, 21:22, 2004.
- [142] W. S. Warren and W. Richter. Concentrated solutions effects. *supplement to Encyclopedia of nuclear magnetic resonance, edited by G. M. Grant and R. K. Harris, Wiley.*, 1996.
- [143] J. Zhong, Z. Chen, and E. Kwok. In vivo intermolecular double-quantum imaging on a clinical 1.5 T MR scanner. *Magn. Reson. Med.*, 43:335, 2000.

- [144] P. T. Callaghan. Susceptibility and diffusion effects in NMR microscopy. *Encyclopedia of Nuclear Magnetic Resonance*, edited by G. M. Grant and R. K. Harris, Wiley., page 4671, 1996.
- [145] W. Barros Jr., P. L. de Sousa, and M. Engelsberg. Low field intermolecular double-quantum coherence imaging via the Overhauser effect. *J. Magn. Reson.*, 165:175, 2003.
- [146] P. L. de Sousa, D. Gounot, and D. Grucker. Flow effects in long-range dipolar field MRI. *J. Magn. Reson.*, 162:356, 2003.
- [147] W. Richter and W. S. Warren. Intermolecular multiple quantum coherences in liquids. *Concepts Magn. Reson.*, 12:396, 2000.
- [148] S. S. Velan, P. T. Narasimhan, and R. E. Jacobs. MR imaging with phase encoding of intermolecular multiple quantum coherences. *J. Magn. Reson.*, 152:189, 2001.
- [149] C. L. Chin, X. Tang, L. S. Bouchard, P. K. Saha, W. S. Warren, and F. W. Wehrli. Isolating quantum coherences in structural imaging using intermolecular double-quantum coherence MRI. *J. Magn. Reson.*, 165:309, 2003.
- [150] F. M. Alessandri, S. Capuani, and B. Maraviglia. Multiple spin echoes in heterogeneous systems: physical origin of the observed dips. *J. Magn. Reson.*, 156:72, 2002.
- [151] P. T. Callaghan. *Principles of nuclear magnetic resonance microscopy*, paperback. Clarendon Press-Oxford, 1th edition, 1995.
- [152] M. A. McCoy and W. S. Warren. Three-quantum nuclear magnetic resonance spectroscopy of liquid water: Intermolecular multiple-quantum coherence generated by spin-cavity coupling. *J. Chem. Phys.*, 93:858, 1990.
- [153] G. Bodenhausen. Multiple-quantum NMR. *Prog. NMR Spectrosc.*, 14:137, 1981.

- [154] D. Abergel, M. A. Delsuc, and J. Y. Lallemand. Comment on: Is multiple quantum nuclear magnetic resonance spectroscopy of liquid water real ? *J. Chem. Phys.*, 96:1657, 1992.
- [155] D. Abergel and J. Y. Lallemand. Some microscopic aspects of radiation damping in NMR. *J. Magn. Reson. A*, 110:45, 1994.
- [156] P. Broekaert and J. Jeener. Suppression of radiation damping in NMR in liquids by active electronic feedback. *J. Magn. Reson. Ser. A*, 113:60, 1995.
- [157] W. S. Warren, , Q. He, M. McCoy, and F. C. Spano. Reply to the Comment on: Is multiple quantum nuclear magnetic resonance of water real ? *J. Chem. Phys.*, 96:1659, 1992.
- [158] J. Jeener. Collective effects in liquid NMR: dipolar field and radiation damping. *Supplement of Encyclopedia of Nuclear Magnetic Resonance*, edited by G. M. Grant and R. K. Harris, Wiley, page 642, 2002.
- [159] S. Lee, W. Richter, S. Vathyam, and W. S. Warren. Quantum treatment of the effects of dipole-dipole interactions in liquid nuclear magnetic resonance. *J. Chem. Phys.*, 105:874, 1996.
- [160] W. S. Warren and S. Ahn. The boundary between liquidlike and solidlike behavior in magnetic resonance. *J. Chem. Phys.*, 108:1313, 1998.

Lista de publicações

Low field Overhauser images of the formation process of a hydrogel, Wilson Barros, Jr., Ricardo E. de Souza, M. Engelsberg, K. Golman and J. H. Ardenkjær-Larsen, *Appl. Phys. Lett.*, **80**, 160, 2002.

Ionic transport, reaction kinetics, and gel formation. A low-field Overhauser magnetic resonance imaging study, Wilson Barros, Jr. and M. Engelsberg, *J. Phys. Chem. A*, **106**, 7251, 2002.

Ultralow field Overhauser images of calcium alginate gel Formation, Ricardo E. de Souza, Wilson Barros, Jr., M. Engelsberg and L. B. Carvalho, *Mol. Cryst. Liq. Cryst.*, **374**, 249, 2002.

Enhanced migration and ionic transport through membranes, W. Barros, Jr. and M. Engelsberg, *Phys. Rev. E*, **67**, 021905, 2003 (Trabalho selecionado para o “Virtual Journal of Biological Physics Research”, edição de 1 de março de 2003).

Low field intermolecular double-quantum coherence imaging via the Overhauser effect, Wilson Barros, Jr., Paulo Loureiro de Sousa and M. Engelsberg, *J. Magn. Reson.*, **165**, 175, 2003 (Trabalho **convidado** para a “45th Experimental NMR Conference” (ENC), Pacific Grove, CA, USA, 2004).

Intermolecular double-quantum coherences in two-dimensional spectra of binary mixtures in solution. The role of diffusion, M. Engelsberg, Wilson Barros, Jr., and F. Hallwass, *J. Chem. Phys.*, **120**, 10659, 2004 (Trabalho selecionado para a “45th Experimental NMR Conference” (ENC), Pacific Grove, CA, USA, 2004).

Intermolecular double quantum coherence and diffusion. A perturbative approach, M. Engelsberg and Wilson Barros Jr., submetido ao *J. Chem. Phys.* 2004.