



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE QUÍMICA**

João Pedro Brussolo da Silva

**Utilização de acetilacetato de cromo (III) para diminuição dos tempos
de relaxação longitudinal em Ressonância Magnética Nuclear.**

CAMPINAS 2024

João Pedro Brussolo da Silva

Utilização de acetilacetato de cromo (III) para diminuição dos tempos de relaxação longitudinal em Ressonância Magnética Nuclear.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestre em Química na área de Química Orgânica.

Orientador: Prof. Dr. Claudio Francisco Tormena

O arquivo digital corresponde à versão final da Dissertação defendida pelo aluno João Pedro Brussolo da Silva e orientada pelo Prof. Dr. Claudio Francisco Tormena.

CAMPINAS 2024

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)
Biblioteca do Instituto de Química
Simone Luiz Alves - CRB 8/9094

Si38u Silva, João Pedro Brussolo da, 1998-
Utilização de acetilacetato de cromo (III) para diminuição dos
tempos de relaxação longitudinal em Ressonância Magnética Nuclear /
João Pedro Brussolo da Silva. – Campinas, SP : [s.n.], 2024.

Orientador: Claudio Francisco Tormena.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas
(UNICAMP), Instituto de Química.

1. Ressonância magnética nuclear. I. Tormena, Claudio Francisco,
1972-. II. Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Instituto de
Química. III. Título.

Informações Complementares

Título em outro idioma: Use of chromium (III) acetylacetonate to reduce longitudinal
relaxation times in Nuclear Magnetic Resonance

Palavras-chave em inglês:

Nuclear magnetic resonance

Área de concentração: Química Orgânica

Titulação: Mestre em Química na área de Química Orgânica

Banca examinadora:

Claudio Francisco Tormena

Luiz Alberto Colnago

Denize Cristina Favero

Data de defesa: 26-07-2024

Programa de Pós-Graduação: Química

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0009-0009-4303-3148>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/8924183672505053>

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Claudio Francisco Tormena (Orientador)

Profa. Dra. Denize Cristina Favero (City University of New York)

Prof. Dr. Luiz Alberto Colnago (Universidade de São Paulo)

A Ata de defesa assinada pelos membros da Comissão Examinadora, consta no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa da Unidade.

Este exemplar corresponde à redação final da Dissertação de Mestrado defendida pelo aluno **JOÃO PEDRO BRUSSOLO DA SILVA**, aprovada pelo Comissão Julgadora em 26 de julho de 2024.

“Do ódio, nada nascerá.”
Naoki Urasawa.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a minha família, principalmente meus pais, Maristela e Dirceu, e meu irmão Vinicius (além do meu amado Marley), por todo o apoio, incentivo e amor que me deram ao longo da vida. Aproveito ainda para agradecer minha madrinha Lilian, meu padrinho Henrique e meu primo Murilo, por todo o carinho envolvido.

Agradeço em especial minha avó Maria Neuza e meu tio João, que em toda a minha vida possibilitaram meus estudos; os quais me trouxeram até aqui.

Ao meu orientador, Claudio Francisco Tormena, não apenas por toda a paciência, apoio e ensino desde antes do início do meu mestrado, mas também pela agradável convivência, conselhos e cuidado desprendidos ao longo desses dois anos.

Aos estimados amigos que a USP me deu, que sempre foram fonte de apoio, alegrias e histórias, os quais faço questão de citar: Quinze, Stoppa, Capivara, Alho, Frozen, Toledo, Besta, Jhonson, Truta, Pacu, Kinha, Vô, Túlio, Xileno, Whey, Smille, Cunha, Wendell, Indi, Manilha e Teco. Um agradecimento especial a Victória, a qual sempre me ajudou nos momentos mais difíceis da minha vida, e que considero a minha irmã de vida.

Aos meus companheiros de laboratório, que antes disso, foram e são amigos e minha segunda família em uma cidade desconhecida: Maria, Kennedy, Amanda, Tadeu, Patrick, Julia, Beatriz, Cassia, Leo, Uenifer e Giulia. Um agradecimento especial a Laiza e Rodolfo, por todo o amparo e carinho fornecidos.

Aos técnicos de laboratório Anderson e Carol, que sempre me forneceram ajuda e atenção, além de aguentarem os incontáveis “posso usar equipamento amanhã?” de minha parte.

Estas breves e simples palavras são muito rasas para expressar verdadeiramente minha gratidão por todos aqui citados e os demais que passaram por minha vida.

Agradeço, por fim, à CNPq (processo nº 88887.990530/2024-00) pela bolsa concedida.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Resumo

A ressonância magnética nuclear (RMN) é uma técnica espectroscópica baseada na propriedade magnética dos núcleos atômicos que possuem spin diferente de zero. Entre suas diversas aplicações, podemos destacar experimentos onde o objetivo faz valer a característica quantitativa da técnica, em que cada sinal do espectro é diretamente proporcional ao número de núcleos que o originaram. Isso capacita sua utilização para análises como adulteração de alimentos, teste de pureza, quantificação de fármacos, medidas de efeito cinético isotópico, dentre outras aplicações.

Apesar da natureza não destrutiva da RMN e de praticidades no preparo de amostras em comparação com outras técnicas analíticas, um ponto negativo são os elevados tempos desses experimentos quantitativos. Isso se deve a necessidade de um número adequado de aquisições dos sinais, denominadas *scans*, e que entre eles tenha-se um tempo de espera que respeite uma propriedade nuclear intrínseca denominada de relaxação. Esta, apesar de ocorrer de forma natural, pode ser acelerada através da utilização de compostos paramagnéticos, como o $\text{Cr}(\text{acac})_3$, que diminuem os T_1 's dos núcleos e conseqüentemente os tempos necessários para as medidas.

O objetivo do presente trabalho é avaliar o efeito da concentração de $\text{Cr}(\text{acac})_3$ na redução do T_1 para os núcleos de ^1H , ^{13}C e ^{19}F visando reduzir o tempo experimental em medidas quantitativas (RMNq). Para isso, compostos orgânicos com diferentes grupos funcionais foram escolhidos e utilizados para realizar medidas de T_1 , empregando diferentes solventes, temperatura e campos magnéticos.

Com a metodologia, o trabalho encontrou quantidades do agente de relaxação que reduzem significativamente os tempos de relaxação dos isótopos citados, sem prejudicar as informações espectrais. Além disso, foi possível entender as condições de interação do $\text{Cr}(\text{acac})_3$ com os analitos e como a estrutura química afeta isto. Por fim, reduções de tempo experimental de análises quantitativas de 50% do valor original foram alcançadas, sem maior comprometimento dos cálculos de quantificação.

Abstract

Nuclear magnetic resonance (NMR) is a spectroscopic technique based on the magnetic properties of atomic nuclei with non-zero spin. Among its various applications, one key use is for quantitative experiments, where each signal in the spectrum is directly proportional to the number of nuclei that produced it. This makes NMR valuable for analysis such as food adulteration detection, purity testing, drug quantification, and isotopic kinetic effect measurements, among others.

Despite the non-destructive nature of NMR and its ease of sample preparation compared to other analytical techniques, a major drawback is the long duration required for quantitative experiments. This is due to the need for an adequate number of acquisitions, known as scans, and the necessary waiting time between them to respect an intrinsic nuclear property called relaxation. Although this relaxation occurs naturally, it can be accelerated using paramagnetic compounds like $\text{Cr}(\text{acac})_3$, which reduce the T_1 relaxation times of nuclei and consequently the measurement time.

The objective of this work is to evaluate the effect of $\text{Cr}(\text{acac})_3$ concentration on the reduction of T_1 for the ^1H , ^{13}C and ^{19}F nuclei to shorten the experimental time in quantitative NMR (qNMR) measurements. To achieve this, organic compounds with various functional groups were chosen and used to perform T_1 measurements under different solvents, temperatures and magnetic fields conditions.

Using this methodology, the study identified quantities of the relaxation agent that significantly reduce the relaxation times of the specified isotopes without compromising the spectral information. Furthermore, it was possible to understand the interaction conditions of $\text{Cr}(\text{acac})_3$ with the analytes and how the chemical structure affects this. Ultimately, the experimental time for quantitative analyzes was reduced by 50% without compromising quantification calculations.

SUMÁRIO

1. Ressonância magnética nuclear	12
1.1 Bases e Princípios	12
1.2 O Sinal em RMN	14
1.3 Experimentos Quantitativos em RMN (RMNq).....	17
2. Relaxação Nuclear	21
2.1 O processo da relaxação nuclear.....	21
2.2 Os movimentos moleculares e a relaxação	23
2.3 A quantificação dos movimentos moleculares	25
2.4 Os Mecanismos de Relaxação.....	28
3. Métodos	32
3.1 Preparo de Amostra e desenho experimental.....	32
3.2 Medidas experimentais de T_1	32
3.3 Experimentos Quantitativos.....	36
4. Resultados	38
Comparação das sequências nas medidas de T_1	38
Uma breve discussão sobre os valores de T_1 e a natureza química dos núcleos.....	43
4.1 Relaxação Paramagnética (PRE).....	51
A utilização do $\text{Cr}(\text{acac})_3$ e redução de T_1	51
Extensão do efeito do mecanismo de relaxação paramagnética	54
Sítio de Interação e a Intensidade do Mecanismo de Relaxação Paramagnético.....	58
O efeito do solvente.....	65
O efeito do Campo.....	68
Efeito da Temperatura	71
4.2 Diminuição dos Tempos Experimentais em RMNq.....	74
5. Conclusão	81
6. Referências.....	83

*“Digo: o real não está na
saída nem na chegada: ele
se dispõe para a gente é
no meio da travessia.”*

*João Guimarães Rosa,
Grande Sertão: Veredas.*

1. Ressonância magnética nuclear

1.1 Bases e Princípios

O fenômeno da ressonância magnética dos núcleos atômicos foi registrado primeiramente por Isidor Rabi, em 1937, que propôs um método para a medida dos momentos magnéticos nucleares¹. Isso o levou a ser laureado com o Nobel de Física em 1944. A partir desse avanço, outras evidências do fenômeno foram registradas por Purcell, Torrey e Pound em 1945, quando detectaram sinais fracos provenientes da cera de parafina, utilizando a aplicação de ondas contínuas de radiofrequência (rf)². Ao mesmo tempo, Bloch, Hansen e Packard, observaram sinais dos hidrogênios da água com a utilização de ondas rf pulsadas³. Desde então, diversos avanços levaram a criação e consolidação da técnica espectroscópica conhecida como Ressonância Magnética Nuclear (RMN)^{4,5}.

Seu fundamento se baseia na propriedade de diversos núcleos atômicos, com número de spin maior que zero, possuírem momento angular de spin (I)⁶, e sua relação com os níveis energéticos degenerados é mostrado na expressão (1):

$$\text{Número de níveis degenerados} = 2I + 1 \quad (1)$$

Além disso, o núcleo atômico também apresenta momento magnético (μ), que o concede propriedade magnética intrínseca. Essa, é associada com os diferentes níveis energéticos, e, portanto, também tem um número de componentes definidos com $(2I + 1)$, isto é, cada nível nuclear tem seu momento magnético associado. A constante conhecida como razão giromagnética (γ) relaciona as duas grandezas supracitadas, μ e I , a partir da relação dada por (2)⁷:

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

Seu valor e sinal dão informações sobre a orientação dos vetores momento magnético e momento angular de spin e sobre o magnetismo de cada núcleo, acarretando a diferença de frequência entre as espécies ativas^{6,7}.

Para entender a origem do sinal a partir dessas características, temos que pensar macroscopicamente, analisando os vetores magnéticos nucleares, constituídos de $\vec{\mu}$ e \vec{I} , orientados no espaço. Uma vez que estas grandezas são quantizadas, elas assumem valores discretos de acordo com o número quântico magnético m , que para um núcleo de $I = \frac{1}{2}$ pode admitir os valores $+\frac{1}{2}$ ou $-\frac{1}{2}$. Considerando um sistema de coordenadas cartesianas as projeções do momento angular no eixo z podem ser representadas de acordo com a equação 3⁸:

$$\vec{I}_z = (+\frac{1}{2})\hbar \quad \text{ou} \quad \vec{I}_z = (-\frac{1}{2})\hbar \quad (3)$$

, indicando que os vetores espaciais podem assumir uma orientação paralela ou antiparalela em relação a z. Na ausência de um campo magnético externo, as energias dessas orientações são equivalentes e os estados nucleares são ditos degenerados, causando uma distribuição igualitária de populações entre eles. Os vetores relacionados a essas energias apontam para direções randômicas, se anulando em direção e magnitude. Isto confere ao sistema uma resultante magnética igual a zero⁹.

Todavia, a presença de um campo magnético (B_0) causa um desdobramento dos estados nucleares, quebrando sua degenerescência, efeito denominado Interação Zeeman. Os estados agora não degenerados, conseqüentemente, assumem diferentes energias potenciais de acordo com o alinhamento do vetor \vec{I} com B_0 . Como a natureza desses estados é acompanhada de um momento magnético μ , a energia magnética dessa interação é dada pela equação 4:

$$E_m = -\vec{\mu} \cdot \vec{B}_0 \quad (4)$$

Os estados, conseqüentemente, são espaçados por uma energia ΔE , indicada pela equação 5, que depende da natureza do núcleo e da magnitude do campo¹⁰:

$$\Delta E = \frac{\gamma h B_0}{2\pi} \quad (5)$$

De acordo com a equação 4, a energia é menor quando os vetores magnéticos estão alinhados com o campo externo. A distribuição nuclear é regida pela distribuição de Boltzmann, demonstrada na equação 6^{6,8}:

$$\frac{N_{\alpha}}{N_{\beta}} = e^{\frac{\Delta E}{k_b T}} \quad (6)$$

, onde N_{α} e N_{β} são o número de núcleos no estado fundamental (α) e excitado (β), respectivamente, k_b é a constante de Boltzmann e T a temperatura. A população no nível de menor energia é ligeiramente superior, e como consequência, temos a criação de uma resultante macroscópica magnética (M_z) alinhada na direção do campo, estabelecido como eixo z. A magnitude de ΔE faz com que a resultante magnética seja pequena, já que apenas 1 spin em 100000 fica alinhado ao campo, o que é responsável pela baixa sensibilidade da técnica¹⁰.

Outra consequência do campo externo aplicado em um núcleo magnético, é a ação de uma força de torque nos momentos magnéticos, causando movimento rotacional em torno do eixo do campo magnético. Este movimento é chamado de precessão e tem uma frequência característica. De acordo com a condição de Bohr, $\Delta E = h \cdot \omega$, a diferença energética entre os subníveis pode ser descrita em termos de frequência (ω_0), como se segue na equação 7¹¹:

$$\omega_0 = -\gamma B_0 \quad (7)$$

Essa é chamada de Frequência de Larmor, e por ser dependente de γ , tem valor particular para cada espécie nuclear. Sua magnitude é pertencente ao intervalo de radiofrequência do espectro eletromagnético^{6,10}.

1.2 O Sinal em RMN

O espectrômetro de RMN tem o seu campo magnético (B_0) orientado ao longo do eixo z do plano cartesiano. O sinal de um espectro é captado por uma bobina de detecção, perpendicular (plano xy) ao campo B_0 aplicado. Essa disposição faz com que o vetor magnético macroscópico resultante (M_z) fique

também em relação perpendicular à sonda. Assim, ao precessar em relação a B_0 , as componentes do vetor magnético no plano de aquisição são canceladas, restando apenas a magnetização ao longo de z . Essa configuração é denominada como posição de equilíbrio e indicada como M_z^0 ¹².

O vetor pode ser manipulado em direções variadas com a aplicação de pulsos de radiofrequência (rf) na condição de ressonância, isto é, com frequência igual ao valor de ω do núcleo em questão. Estes pulsos são gerados pela sonda de detecção e produzem o campo oscilante B_1 . A posição do vetor após a aplicação destes pulsos é dada por um ângulo θ em relação ao eixo z , denominado de ângulo de nutação. Além de indicar a rotação, θ se relaciona com o tempo de aplicação da irradiação (t_p), como se segue na equação 8^{13,14}:

$$\theta = \frac{360 \gamma B_1 t_p}{2\pi} \quad (8)$$

A relação de perpendicularidade entre B_0 (z) e a bobina de detecção da sonda (plano xy) faz com que a aplicação de um pulso rf de $\theta = 90^\circ$ rotacione toda a magnetização para o plano de detecção¹⁵. A precessão do vetor magnético, que continua atuando sob ação de B_0 , gera um sinal elétrico oscilatório na bobina de detecção a partir do fenômeno de indução magnética, com os componentes M_x e M_y . Esse sinal elétrico é recebido por um detector e após a digitalização do sinal, o resultado é apresentado pela magnetização em função do tempo, representado na Figura 1⁹:

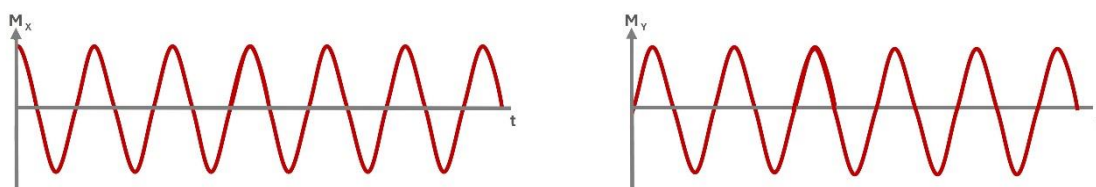


Figura 1: Representação da oscilação da magnetização nos eixos x e y . Adaptado da referência 9.

Com a digitalização do sinal, temos um gráfico da magnetização em função do tempo com a duração do tempo de aquisição. A aplicação da transformada de Fourier¹⁶ fornece o espectro no domínio de frequência.

Neste ponto, duas informações são relevantes para se entender um espectro de RMN. A primeira delas é que os núcleos de um mesmo isótopo em uma molécula podem ter interações diferentes com B_0 devido ao ambiente eletrônico em que se encontram, classificando-os como magneticamente não equivalentes. A consequência direta deste efeito são as diferentes frequências de ressonâncias destes núcleos, que originam os deslocamentos químicos dos diferentes sinais no espectro^{6,7,8}.

A segunda está relacionada com a interação que ocorre entre spins nucleares magneticamente ativos, chamada de acoplamento. Em meio isotrópico, é observado apenas o acoplamento escalar (J), que é a interação entre os núcleos magnéticos intermediada pelos elétrons. Isto causa o desdobramento dos sinais destas espécies, dando origem às multiplicidades observadas no espectro.

Após a aplicação do pulso e durante o processo de aquisição, o vetor magnético em precessão volta ao estado de equilíbrio, retornando ao eixo z . Isto faz com que as oscilações no plano xy (M_x e M_y) ao longo do tempo cheguem a zero, como mostra a figura 2. O reestabelecimento de M_z^0 é provocado por um fenômeno chamado de Relaxação Nuclear^{5,17}.

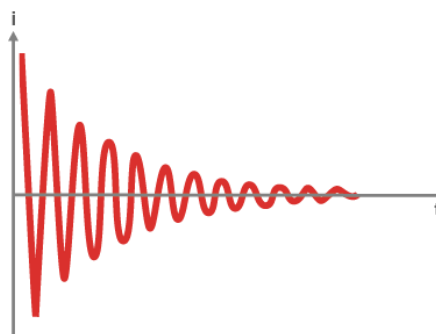


Figura 2: Representação do decaimento livre de indução em função do tempo. Adaptado da referência 9.

Dessa forma, os sinais detectados são limitados por este fenômeno e apresentam um decaimento em função do tempo, dando origem aos decaimentos livre de indução (do inglês – Free Induction Decay ou FID's)¹⁸. Uma consequência direta da relaxação é o restabelecimento total de M_z^0 , que deve ser respeitado em alguns experimentos, antes do acúmulo dos chamados transientes (*scans*) ou repetições¹¹. Isso da origem ao chamado tempo de

reciclagem das sequências⁶. A explicação aprofundada da relaxação nuclear será abordada no próximo tópico.

Assim, podemos entender a estrutura de uma sequência convencional de RMN^{6,13}, mostrada na Figura 3, compreendida na aplicação do pulso de radiofrequência e aquisição.

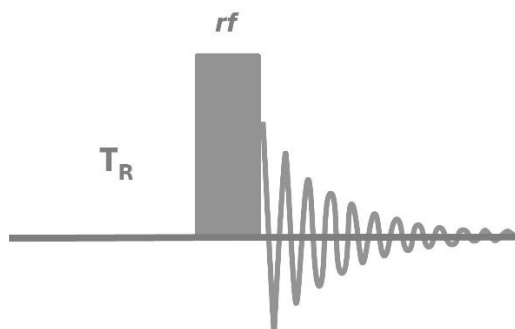


Figura 3: Representação de uma sequência de pulso convencional em RMN. Adaptado da referência 6.

O acúmulo de sinal, requerido para aumentar a razão sinal/ruído do espectro, é adquirido pela repetição desta representação, incluindo o tempo de reciclagem (T_R). Por este motivo, núcleos menos abundantes ou amostras pouco concentradas podem levar a consideráveis tempos de análise, a depender da natureza do experimento.

1.3 Experimentos Quantitativos em RMN (RMNq)

A RMN é utilizada para diversos fins, dentre eles a elucidação estrutural, informações sobre a dinâmica molecular e determinação de mecanismos de reação. Além disso, uma outra característica da técnica reside em sua natureza quantitativa quando respeitadas algumas condições experimentais¹⁹. Apesar da capacidade de outras técnicas de cunho analítico poderem aferir a quantificação de amostras, a facilidade do preparo de amostras e da utilização do mesmo equipamento para diferentes análises, a possibilidade de quantificar simultaneamente vários analitos e a característica não destrutiva da técnica de RMN a qualificam como uma escolha interessante neste tipo de análises.

Os primeiros relatos da utilização da ressonância magnética quantitativa (RMNq) datam de 1963²¹ e desde então sua aplicação é utilizada na análise de fármacos, produtos naturais, alimentos, perfis metabólicos, dentre

outros^{22,23}. Hoje em dia, análises como estudos de efeito isotópico cinético²⁴, por exemplo, também se valem da condição quantitativa da RMN. Seu princípio se baseia na proporcionalidade existente entre cada sinal do espectro e o número de núcleos que o originam, de acordo com a expressão¹⁹:

$$I_X = K_S N_X \quad (9)$$

onde I_X é a integração do sinal, N_X é a quantidade de núcleos que dá origem ao sinal e K_S é a constante do espectrômetro. A partir desta relação, a integração dos sinais de um espectro quantitativo pode dar informações diretas sobre a pureza, concentração e massa dos analitos.

Para validação dos experimentos, algumas condições de aquisição e processamento são necessárias como a existência de um padrão interno; adequação do tempo de reciclagem; uma alta razão sinal/ruído dos sinais no espectro; aplicação de pulsos de radiofrequência calibrados; e um processamento adequado do experimento²⁵. Os núcleos mais utilizados para a quantificação são o ^1H e ^{13}C , devido a sua presença na maioria dos compostos, e recentemente ^{19}F , muito presente em fármacos^{20,26}.

O preparo de amostra neste tipo de experimento é crucial para a obtenção de resultados confiáveis. Para que a quantificação seja feita, um padrão interno é necessário. Este deve ser completamente solúvel no solvente utilizado, e o deslocamento químico de seus sinais deve ser previamente conhecido, para evitar sobreposição com possíveis sinais de interesse do analito. A pureza da amostra deve ser conhecida e sua massa deve ser precisamente aferida, por isso compostos altamente voláteis e higroscópicos não são recomendados. Além disso, ele não pode interagir com os analitos e seus núcleos devem ter tempo de relaxação conhecidos ou medidos previamente. Algumas técnicas de quantificação por RMN utilizam padrões externos e até mesmo digitais^{25,27}.

A calibração dos pulsos do equipamento utilizado é recomendada para evitar perda de intensidade nas aquisições. Pulsos rf de $\theta=90^\circ$ são convencionalmente usados para garantir a máxima magnetização durante a aquisição, compreendendo que neste caso, todo o vetor M_z será deslocado para

o plano x-y. A utilização de pulsos de ângulo menores converge na necessidade de aumento do número de scans para que uma mesma intensidade dos sinais seja atingida, além de erros devido a calibração dos pulsos ser mais pronunciada em θ menores ²⁸.

A obtenção de uma adequada razão sinal/ruído é responsável por diminuir erros na integração do espectro. Esta condição é alcançada com o acúmulo de sinais, sendo seu número dependente da abundância do núcleo analisado, concentração do analito, campo magnético do equipamento e tipo de sonda de detecção utilizada. Além disso, entre cada transiente, deve-se respeitar a condição da relaxação nuclear e o consequente retorno da população de spins ao estado de equilíbrio térmico^{19,20}. O desrespeito a esta condição faz com que ao longo dos sucessivos transientes ocorra a saturação da magnetização resultante, diminuindo a intensidade dos sinais adquiridos. O parâmetro relacionado a relaxação nuclear é denominado tempo de reciclagem. A Figura 4 ilustra os casos em que estes tempos são ideais e não ideais.

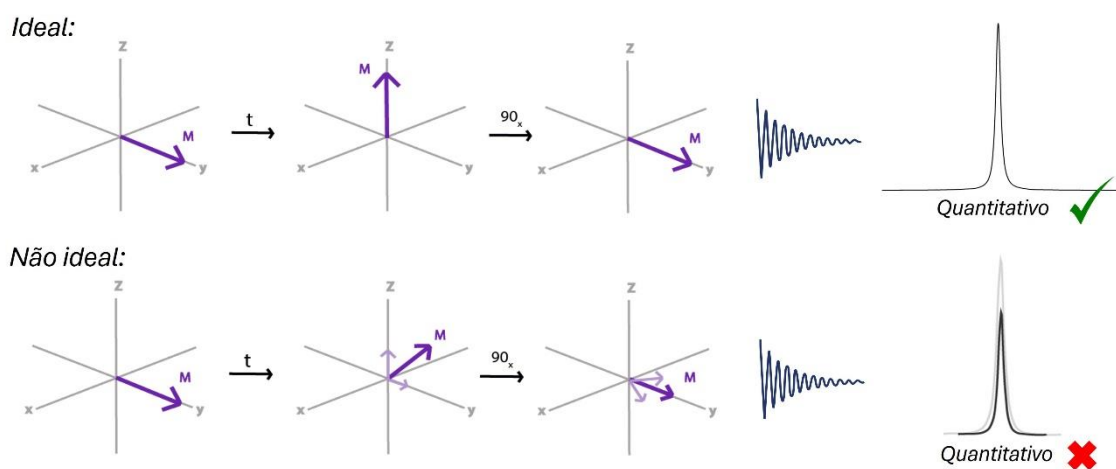


Figura 4: Ilustração das consequências em um sinal ao se respeitar o tempo de reciclagem ideal (a) e não ideal (b) antes de uma nova aquisição de transiente, representado pelo pulso 90_x .

O valor dos tempos de reciclagem pode atingir dezenas de segundos a depender da condição da amostra e do núcleo analisado. Alinhado à necessidade de elevados números de repetições em alguns casos, estes são os responsáveis pelos grandes tempos de experimentos em RMNq²⁴.

Por fim, o processamento do espectro deve ser feito com ajustes de fase e linha de base. Funções de apodização pode ocasionar melhorias, mas é importante ressaltar que apesar de aumentar a razão do sinal/ruído, pode

ocasionar diminuição na resolução do espectro. A região de integração deve ser estipulada de acordo com a largura de linha à meia altura dos sinais^{19,20}.

O problema da RMNq se estabelece nos grandes tempos de experimento, principalmente levando em conta a necessidade de replicatas para uma amostragem confiável. Isso é particularmente desvantajoso no caso de isótopos com baixa sensibilidade e abundância natural, necessitando de consideráveis acúmulo de transientes. Um exemplo disso é o caso do isótopo ^{13}C , que apresenta uma abundância isotópica de cerca de 1% e necessitam de longos tempos de reciclagem, na faixa de até dezenas de segundos. A soma desses fatores pode levar a RMNq de ^{13}C a exigir muitas horas e até dias para cada replicata. Por outro lado, seu uso é muito procurado para identificação estrutural devido a sua longa faixa de deslocamento químico, que evita a sobreposição de sinais²⁹. O motivo para alguns núcleos necessitarem de longos tempos de reciclagem em relação a outros será abordado no próximo tópico.

2. Relaxação Nuclear

2.1 O processo da relaxação nuclear

A aplicação de um pulso de radiofrequência excita os spins nucleares, aumentando a energia da população nuclear no sistema. Uma vez que a interação dos núcleos com um campo magnético não é um processo adiabático, esta energia absorvida pode ser perdida e o estado fundamental restaurado. Veremos que este processo é um dos tipos da Relaxação Nuclear^{5,17}.

O tempo no estado excitado da população de spins nos níveis nucleares é 10^9 vezes maior quando comparado ao tempo de vida dos elétrons nos níveis eletrônicos^{6,8,10}, sendo o tempo de vida nuclear na ordem de segundos. Ao passo que esta característica traz vantagens para a técnica de RMN, como exemplo a possibilidade de manipulação do vetor magnetização resultante (princípio das técnicas de múltiplo pulsos)^{30,31}, por outro lado faz com que o retorno à situação de equilíbrio seja mais lento.

Existem dois modos principais para o processo da relaxação^{32,33}, que variam de acordo com a natureza termodinâmica do processo. O primeiro deles é intitulado de relaxação spin-rede e diz respeito à perda da energia para a “rede”. Esta é estabelecida como um conjunto de spins de qualquer origem, seja da mesma molécula, das moléculas vizinhas, ou do solvente que circundam o núcleo excitado. A energia perdida é transferida em forma de calor e como o ΔE absorvido é muito pequeno, não é observada uma variação de temperatura no sistema. Macroscopicamente, este processo está relacionado com o retorno da magnetização ao eixo z, como vimos na seção “O sinal em RMN” e ilustrado na Figura 3^{6,17,34}.

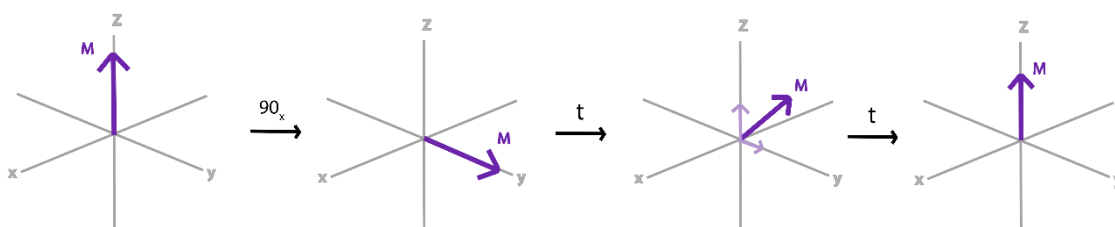


Figura 3: Representação esquemática do processo de relaxação longitudinal. Adaptado da referência 11.

Por isso, este processo também é chamado de Relaxação Longitudinal e contempla a diminuição da energia total do sistema nuclear excitado, restabelecendo o equilíbrio da população nuclear^{9,11,35}.

O outro processo é chamado de relaxação spin-spin ou transversal e está relacionado com a interação entre spins com orientações espaciais diferentes em relação a B_0 . Microscopicamente, os vetores individuais de momento magnético (μ) realizam um movimento denominado “flip-flop”, gerando mudança na orientação dos spins^{6,11}. Macroscopicamente, o sentido físico deste mecanismo é observado na perda da coerência da população de spins, que precessam com velocidades diferentes devido as ações dos campos locais^{9,11,36}. Sua ilustração é mostrada na Figura 4.

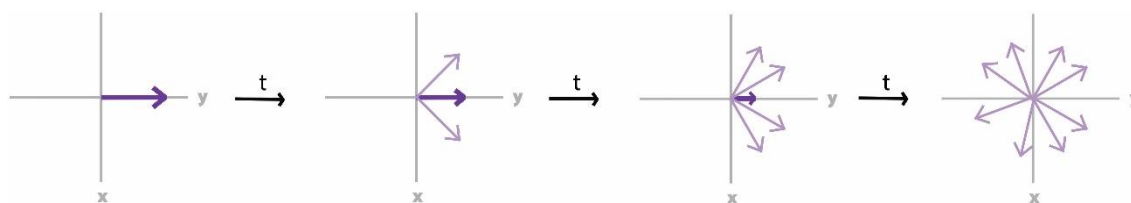


Figura 4: Representação esquemática do processo de relaxação transversal. Adaptado da referência 11.

Dessa forma, a relaxação nuclear spin-spin não causa troca energética entre o sistema nuclear e a vizinhança, e por isso esse modo tem apenas característica entrópica.

Focaremos a partir daqui no processo de relaxação spin-rede (ou longitudinal), objeto de estudo deste trabalho.

A constante de tempo T_1 , chamada de tempo de relaxação longitudinal, define o tempo necessário para que a magnetização do núcleo volte ao equilíbrio térmico^{37,38}. O processo pode ser ilustrado em um gráfico crescente de M_z^0 em função do tempo, após a aplicação de um pulso de rf na amostra (Figura 5).

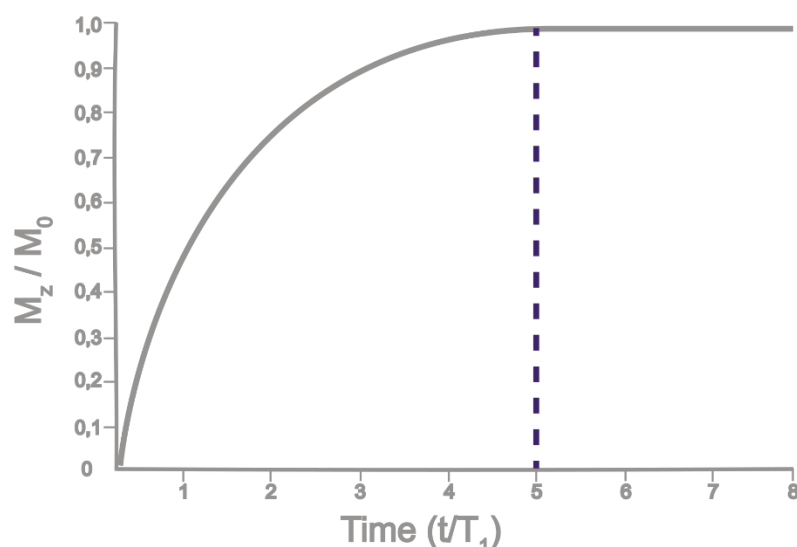


Figura 5: Retorno da magnetização em z ao longo do tempo. A linha tracejada define 99% do processo de relaxação. Adaptado da referência 11.

Como podemos ver, cerca de 99% da magnetização relaxa após um intervalo equivalente a cinco vezes o valor T_1^{10} . Esta circunstância garante que quase toda a população nuclear excitada tenha tempo suficiente para trocar energia, reestabelecendo a situação de equilíbrio térmico. O tempo de reciclagem dos experimentos quantitativos deve respeitar esta condição, se baseando no núcleo de maior T_1 da amostra, denominado como $T_1 \text{ máx.}$ Desta maneira, garantimos que nenhum sinal será saturado e os erros no processo de quantificação serão minimizados^{25,39}.

2.2 Os movimentos moleculares e a relaxação

A perda de energia dos spins ocorre quando o campo magnético que oscila na frequência de Larmor do núcleo em questão interage com ele. A proximidade do momento magnético de um núcleo com os outros momentos magnéticos existentes na rede, pode levar a formação de campos oscilantes. Estes causam pequenas variações na magnitude da interação do spin nuclear como o campo B_0 e uma vez que sua origem é estritamente dependente da vizinhança, recebem o nome de campos locais (B_{loc}). Em solução, a energia térmica das moléculas faz com que os dipolos moleculares oscilem de forma aleatória, causando assim a flutuação de B_{loc} . Quando essas flutuações têm frequência similar a ω_0 e orientação no plano transversal, são capazes de promover o processo de relaxação nuclear longitudinal. Analisaremos agora,

como esses campos locais flutuantes estimulam a liberação de energia do estado nuclear excitado^{40,41}.

O ponto de partida é que a ação de um B_{loc} transversal coloca os spins em contato com os movimentos térmicos da rede⁹. A população de spin nuclear do sistema se comporta como um reservatório de energia, proveniente das interações dos momentos magnéticos com o campo local. Da mesma forma, os movimentos térmicos moleculares juntamente com os campos locais originados, fazem com que a vizinhança também comporte uma quantidade de energia. Assim, quando sistema e vizinhança interagem, temos a troca energética até que o equilíbrio térmico seja estabelecido^{9,40,41}. Podemos, então, entender como a relaxação é estimulada a partir de um olhar termodinâmico destes dois sistemas.

Retomemos o efeito Zeeman e o excesso populacional no nível de menor energia, produzindo a magnetização resultante M_z^0 . Com a irradiação dos núcleos através da aplicação de um pulso de rf , a absorção de energia causa um aumento na população de spins no estado excitado, e o vetor magnetização se afasta do equilíbrio. De outro modo, a relaxação nuclear ocorre com a perda desta energia absorvida para a rede, aumentando novamente a população do estado fundamental à medida que a magnetização resultante retorna em direção ao estado de equilíbrio^{7,11}.

A rede, por outro lado, compreendida pela totalidade dos movimentos térmicos moleculares, representa uma quantidade de energia muito maior do que a existente na população de spins do analito. Além disso, sua população é descrita de acordo com a distribuição de Boltzmann e, no equilíbrio térmico, o estado fundamental é mais ocupado do que o nível de maior energia^{17,34}.

A medida em que a magnetização resultante se desloca do equilíbrio, os spins nucleares absorvem energia da rede, ao passo em que quando M_z se aproxima do equilíbrio, os spins liberam energia para ela. Neste ponto, é importante analisar que apesar da possibilidade da rede ceder energia para a população de spins, o processo inverso é mais provável. A razão disso reside exatamente em sua forma de distribuição das populações nos níveis de energia. O estado de menor energia é mais populoso, no equilíbrio, tornando maior a probabilidade de que a energia seja absorvida pela rede. Uma vez que sua quantidade de energia é muito maior do que a da população de spins, esse fluxo recebido não é capaz de alterar sua condição de equilíbrio⁹.

A análise energética permite constatar a naturalidade do processo de relaxação. Da mesma forma, é notada a tendência do vetor resultante em se mover em direção ao restabelecimento do estado de equilíbrio.

2.3 A quantificação dos movimentos moleculares

Após entender o processo da perda de energia dos spins, podemos analisar a quantidade dos movimentos moleculares que induzem a relaxação.

As moléculas tipicamente apresentam dois tipos de movimentos que podem levar a flutuações do campo local: a vibração e a rotação. O primeiro deles, apresenta oscilações com frequência na faixa de 10^{11} a 10^{13} Hz, enquanto o segundo tem frequências na faixa de 10^7 a 10^9 Hz. Como os valores de ω_0 típicos em RMN são da faixa de 10^9 Hz, apenas os movimentos de rotação moleculares apresentam condições de promover a relaxação nuclear⁹.

A maioria das moléculas analisadas em RMN (líquido e sólidos) não apresentam rotação molecular livre em relação ao meio. Isso faz com que estes movimentos, também chamados de *tumbling*, sejam restringidos pela ação de solventes e demais moléculas, necessitando de uma certa energia para que a rotação ocorra^{6,9}. Essa limitação faz com que a molécula como um todo execute movimentos que mudam sua orientação no espaço em pequenas quantidades ao longo do tempo e são denominados como difusão rotacional^{7,9}, esquematizados na Figura 6.

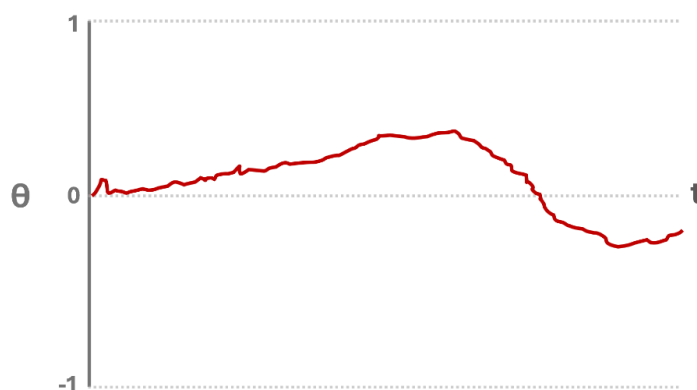


Figura 6: Representação da variação de posição, em radianos, de uma molécula em função do tempo. Adaptado da referência 7.

O regime de flutuação desses movimentos é definido como tempo de correlação (τ_c). Fisicamente, esta propriedade descreve o tempo em que a média de moléculas leva para variar sua orientação em um radiano a partir da

posição inicial. Dessa forma, podemos dizer que tempos de correlações curtos indicam movimentos rápidos, ao passo que valores maiores de τ_c definem movimentos lentos^{10,43,44}. Assim, é possível relacionar a variação do campo local em um núcleo em relação a τ_c por meio da função de autocorrelação ($G(\tau)$), apresentada na equação 9^{7,9}:

$$G(\tau) = B_{loc}^2 \exp(-\tau/\tau_c) \quad (10)$$

Para exemplificar, tomemos como exemplo uma espécie de spin $\frac{1}{2}$ sob ação de um campo externo B_0 e que experimenta um campo oscilante transversal B_x (Fig. 7).

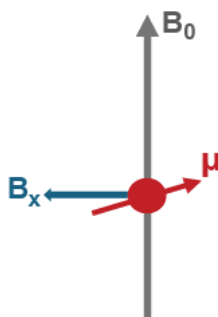


Figura 7: Representação do momento magnético de um spin sofrendo ação de um campo B_x . Adaptado da referência 7.

$G(\tau)$ indica a velocidade de variação das flutuações sentidas em um determinado intervalo $\tau + \tau_c$. É importante notar que se tratando de uma suposição estacionária, a definição de $G(\tau)$ é independente do tempo τ . Essa função define a “memória” do movimento molecular, determinando o intervalo necessário para que o campo mude de sinal. Em tempos curtos, o campo experimentado por um spin não varia em intensidade e sinal, já no caso de tempos mais longos, a magnitude de B_x varia crescentemente, como mostra a figura 8. Desta forma, a função $G(\tau)$ é dependente do tempo de correlação e seu valor tende a zero com valores longos, aumentando conforme τ_c diminui^{7,11}.

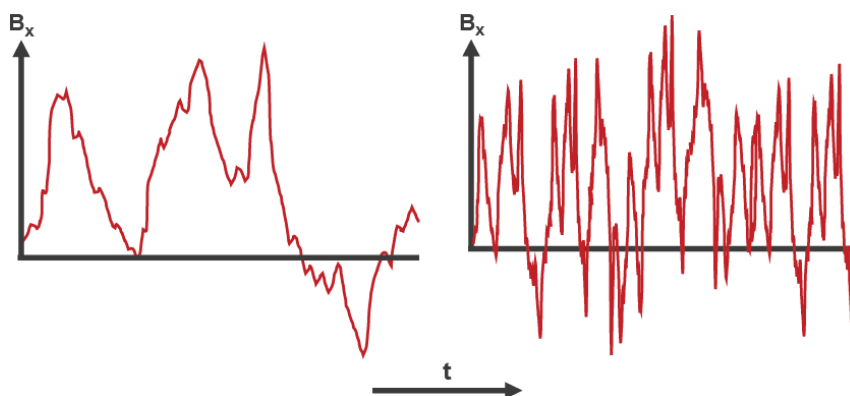


Figura 8: Representação de flutuações do campo B_x em função do tempo, para um movimento com valor de τ_c curtos (esquerda) e grandes (direita). Adaptado da referência 7.

Podemos então passar a pensar na quantidade destes movimentos que têm a frequência necessária para provocar a relaxação nuclear, sendo este o requisito para promover o fenômeno. Similarmente ao processo de transformação do FID (em função de tempo) em espectro (função de frequência), a função de autocorrelação pode ser transformada em termos de frequência a partir da aplicação de uma transformada de Fourier, originando a função de densidade espectral ($J(\omega)$), indicada na equação 10^{6,9}:

$$J(\omega_0) = B_{loc}^2 \frac{2\tau_c}{1 + \omega_0^2 \tau_c^2} \quad (11)$$

Os movimentos que apresentam oscilações na frequência de Larmor do núcleo, podem ser quantificados através de $J(\omega_0)$. A probabilidade destes componentes das oscilações promoverem a relaxação pode ser encontrada na figura 9a) para os regimes de movimento lentos, intermediários e rápidos. A linha tracejada indica um valor de frequência de Larmor característica. Em regimes de movimentos rápidos, apenas uma pequena componente das oscilações tem frequência capaz de induzir a relaxação longitudinal. A medida em que o *tumbling* diminui para movimentos intermediários e lentos, a função de densidade espectral na frequência de Larmor (ω_0) aumenta e depois diminui novamente^{9,11}. Este comportamento de $J(\omega_0)$ pode ser visto na Figura 9b) com a variação dos valores de T_1 em função dos tempos de correlação, em escala logarítmica.

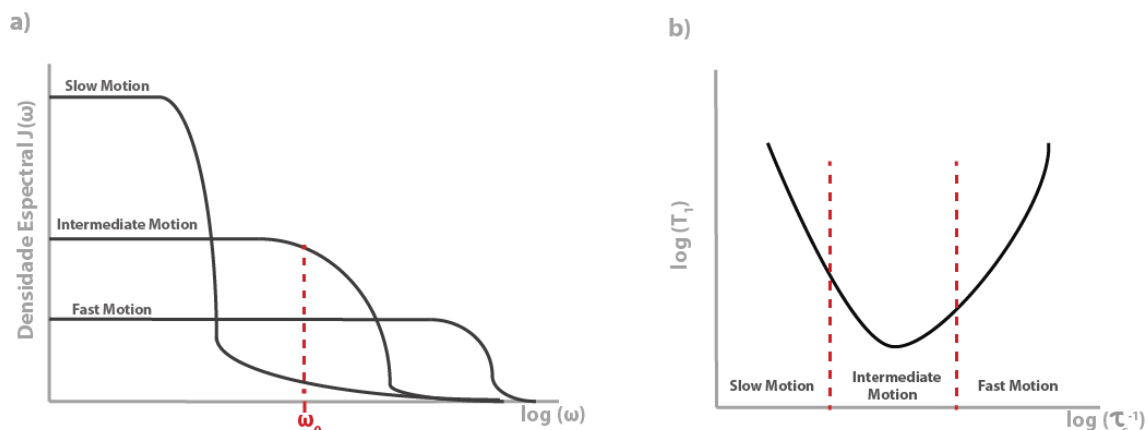


Figura 9: a) esquematização da densidade espectral em função do logaritmo da frequência, em diferentes regimes de movimento molecular. A linha pontilhada define a frequência de Larmor específica (ω_0), utilizada para a curva de \log de T_1 em função do logaritmo do tempo de correlação apresentado em b). Adaptado da referência 11.

Uma vez que a maior probabilidade de as oscilações terem a frequência adequada para promover a relaxação é encontrada em regimes intermediários, como mostrado em a), o ponto mínimo dos tempos de relaxação longitudinal, em b), é também encontrado neste regime.

Finalmente, os meios que originam esses campos magnéticos locais são chamados de mecanismos de relaxação. A seguir, discutiremos brevemente os mais importantes.

2.4 Os Mecanismos de Relaxação

Os campos flutuantes que promovem a transição dos spins e causam a relaxação nuclear são originados através dos mecanismos de relaxação. Os principais são: dipolo-dipolo (DD), anisotropia do deslocamento químico (CSA), rotação de spin (SR) e quadrupolar (Q). Estes podem ser mais ou menos importantes para determinadas estruturas moleculares e condições experimentais^{6,9,11}. Para um núcleo com $I = \frac{1}{2}$, a importância destes mecanismos segue a ordem:

$$\text{Dipolo-dipolo} > \text{CSA} > \text{Rotação de Spin}$$

Nos casos de $I > \frac{1}{2}$, o mecanismo de relaxação quadrupolar ganha maior dominância, devido a característica não esférica de distribuição de cargas de seus núcleos⁷. A seguir, as razões e consequências dos principais mecanismos comumente dominantes serão apresentadas.

O primeiro e mais importante para núcleos de spin $\frac{1}{2}$ é o mecanismo de relaxação dipolo-dipolo, que está relacionado com as interações dipolares

entre os spins. Neste mecanismo, os campos locais são gerados a partir da interação entre os momentos magnéticos dos núcleos em uma molécula. À medida em que os movimentos de tombamento moleculares são executados, a posição dos núcleos no espaço varia. Dessa forma, as diferentes interações dipolares com B_0 podem causar oscilações nos campos locais da molécula. Uma consequência disso, é a promoção da relaxação, desde que essas flutuações tenham a frequência requerida. Considerando a interação de dois spins, um deles sentirá as oscilações provocadas pelo outro e sua contribuição na relaxação nuclear é definida com base no acoplamento dipolar entre eles. As expressões 12 e 13 indica os fatores que contribuem para acoplamentos dipolares homonucleares e heteronucleares, respectivamente.

$$DC_{H-H} = 0,3 \left(\frac{\mu_0}{4\pi} \right)^2 \gamma_H^4 \hbar^2 r(H-H)^{-6} \quad (12)$$

$$DC_{H-B} = \frac{4}{30} \left(\frac{\mu_0}{4\pi} \right)^2 r(H-B)^{-6} \gamma_H^2 \gamma_B^2 \hbar^2 I_B (I_B + 1) \quad (13)$$

, onde μ_0 é a permeabilidade magnética; \hbar é a constante de Planck dividido por 2π ; r é a distância entre os núcleos; e I o spin do núcleo. Como podemos ver, a relaxação dipolo-dipolo é dependente da distância entre os spins. Além disso, por depender da existência dos campos locais, este mecanismo é mais intenso à medida que a razão giromagnética do spin tem maior magnitude. Altos valores de γ estão relacionados com momentos magnéticos maiores, e conseqüentemente, maiores B_{loc} ^{45,46}.

O mecanismo de relaxação de anisotropia do deslocamento químico está relacionado com a interação do campo magnético com os elétrons existentes na molécula. Isto promove a criação de campos induzidos, que interferem na interação dos spins com B_0 , levando a uma mudança na frequência de Larmor. Uma vez que esta interação é dependente da orientação espacial, os movimentos de tombamentos moleculares geram flutuações nestes campos induzidos e podem levar a relaxação nuclear. A expressão que define sua contribuição na relaxação nuclear é (14):

$$\frac{1}{T_{1\text{ CSA}}} = \frac{1}{15} \gamma_I^2 B_0^2 \Delta\sigma^2 \left[\frac{2\tau_c}{(1+\omega_I^2\tau_c^2)} \right] \quad (14)$$

, onde $\Delta\sigma$ é a variação do deslocamento químico. A origem deste mecanismo é a mesma interação que origina os deslocamentos químicos dos núcleos em RMN, que pode ser considerado uma medida da blindagem eletrônica. Assim, como podemos ver na expressão, sua importância cresce em núcleos com grandes faixas de deslocamento químico ($\Delta\sigma$), sendo mais efetivo em ressonâncias de ^{13}C , ^{19}F e ^{31}P , por exemplo. Além disso, a CSA é dependente do quadrado do campo B_0 , sendo mais dominante em campos de maiores magnitudes^{46,47}.

As flutuações de campo e conseqüentemente os tempos de correlação dos spins nucleares, também são influenciados pela temperatura da amostra. O aumento desta grandeza faz com que as flutuações fiquem mais rápidas, levando a valores menores de τ_c . Em pequenas moléculas e em situações de pouca viscosidade, este efeito faz com que os tempos de relaxação apresentem valores maiores sob aquecimento. Porém, em alguns núcleos o aumento da temperatura faz com o mecanismo de relaxação de rotação de spin (RS, do inglês *spin rotation*) tenha cada vez mais contribuição, diminuindo os tempos de relaxação^{48,49}. A razão disto reside na reorientação rápida das moléculas, causando uma flutuação dos momentos magnéticos dos elétrons. A expressão 15 mostra a taxa de relaxação relacionada ao mecanismo SR:

$$\frac{1}{T_{1RS}} = \frac{I_r^2 C^2}{9h^2 \tau_c} \quad (15)$$

, onde I_r representa o momento molecular de inércia e C a constante de rotação de spin. Este último tem valores grandes para núcleos pesados, fazendo com que o isótopo ^{19}F , por exemplo, tenha uma contribuição grande do mecanismo⁶. No caso de núcleos de ^{13}C desidrogenados, onde a contribuição do mecanismo DD é pequena, este mecanismo passa a também ser significativo com o aquecimento.

Os mecanismos apresentados e discutidos até aqui, se originam a partir de características intrínsecas das moléculas, como número de spin, densidade eletrônica e constituição. Assim, os tempos de relaxação são diretamente condicionados a estrutura molecular^{6,9,11}.

Todavia, um tipo de mecanismo de relaxação dipolo-dipolo é interessante devido ao fato de poder depender de um fator externo. A adição de espécies paramagnéticas em uma amostra promove a interação entre um spin nuclear e o elétron desemparelhado^{50,51}. Este, por sua vez, apresenta um momento magnético de magnitude 658 vezes maior que o do núcleo¹¹. Devido a proporcionalidade entre μ e o campo local gerado, esta interação apresenta uma intensa fonte de relaxação nuclear. Esse mecanismo é denominado Relaxação Paramagnética, exemplificado na Figura 10.

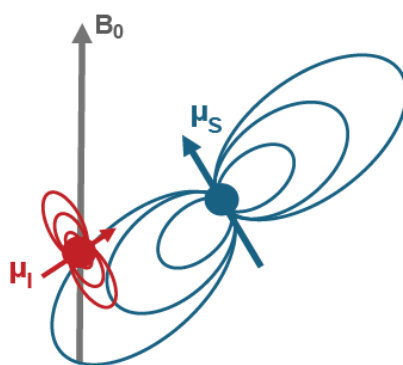


Figura 10: Representação da interação entre o momento magnético do elétron (μ_S) com o momento magnético do núcleo (μ_I). Adaptado da referência 7.

Recentemente, diversos estudos exploram a utilização deste tipo de composto, denominados com agentes de relaxação (AR), para a diminuição de T_1 visando reduzir os tempos experimentais^{52,53,54,55}. Os mais comuns deles são o acetilacetato de Crômio ($\text{Cr}(\text{acac})_3$), em soluções orgânicas, e compostos a base de gadolínio e manganês para soluções aquosas^{56,57}.

O $\text{Cr}(\text{acac})_3$ vem sendo estudado desde 1966⁵⁸, sendo o agente de relaxação mais comum em meios orgânicos devido ao seu baixo custo. Estudos que buscam entender sua interação com analitos⁵⁹ e dinâmica em solução^{60,61} são realizados desde então. Entretanto, seu mecanismo de ação e resposta a diversas condições experimentais carecem de dados e elucidação. Além disso, informações acerca da quantidade necessária desses agentes não são encontradas na literatura. Desta forma, o presente trabalho tem o objetivo de fornecer estudos e comparações para fomentar estes tópicos.

3. Métodos

3.1 Preparo de Amostra e desenho experimental

Para todos os ensaios realizados no intuito de compreender e analisar o efeito da relaxação paramagnética, as amostras foram preparadas da mesma forma. Os analitos foram utilizados em uma concentração fixa de $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ em uma solução do solvente deuterado adequado em um volume final igual a $600 \mu\text{L}$ e as soluções resultantes foram transferidas para tubos de RMN de 5mm de diâmetro. Esses tubos, que compreendem apenas analito e solvente, serão nomeados como analitos puros até o fim deste texto.

O efeito do mecanismo de relaxação paramagnética na redução de T_1 foi analisada quantitativamente, por meio da variação da quantidade do agente de relaxação, e qualitativamente, mediante analitos com diferentes características moleculares, funções orgânicas, solventes diferentes, variações na temperatura e do campo magnético B_0 .

O agente de relaxação (AR) utilizado neste estudo foi o acetilacetonato de cromo III, o $\text{Cr}(\text{acac})_3$, complexo de cor púrpura avermelhado com propriedade paramagnética devido ao metal Cr^{3+} . A adição nas amostras foi realizada através de preparo de soluções estoques do agente e o solvente requerido. Mantendo o volume final de todas as amostras em $600 \mu\text{L}$, a solução do AR foi adicionada juntamente com o analito e solvente a fim de obter três proporções molares entre analito e AR como se segue: 1, 5 e 10 mmol de $\text{Cr}(\text{acac})_3$ para cada 1 mol de analito na amostra. Dessa forma, considerando o analito puro, cada bateria deste tipo de experimento teve 4 ensaios.

3.2 Medidas experimentais de T_1

De acordo com a teoria de Bloch, podemos descrever o comportamento da magnetização longitudinal no tempo t de acordo com a expressão 16:

$$\frac{dM_z}{dt} = \frac{(M_z - M_z^0)}{T_1} \quad (16)$$

onde M_z^0 é a magnetização no equilíbrio térmico. É a partir desta expressão que o gráfico de recuperação M_z da Figura 5 é construído. Com isso, variando um

período τ e obtendo o valor de M_z em cada ponto, podemos extrair uma curva do retorno da magnetização ao equilíbrio em função do tempo, sendo T_1 a constante do gráfico.

Algumas sequências conhecidas utilizam esta relação para fornecer medidas experimentais dos tempos de relaxação longitudinal dos núcleos. Este é o caso dos experimentos de Inversão-Recuperação (IR) e Saturação-Recuperação (SR), representados nas Figuras 11 e 12 respectivamente^{62,63}.

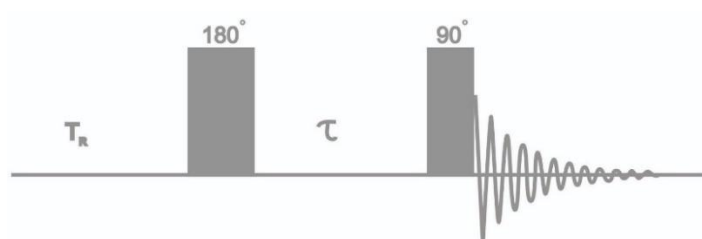


Figura 11: Esquema de blocos representativos da sequência de pulsos de Inversão-Recuperação.

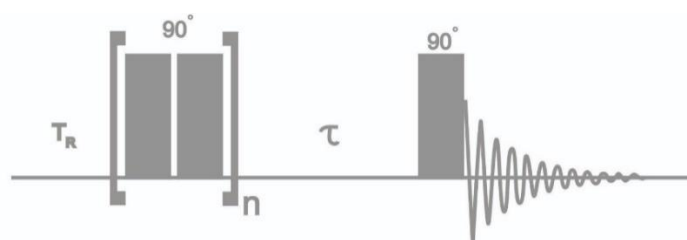


Figura 12: Esquema de blocos representativos da sequência de pulsos de Saturação-Recuperação.

Nestes experimentos, dois blocos de pulsos de radiofrequência são separados por um tempo variável, τ .

No caso da IR, a aplicação de um pulso de $\theta=180^\circ$ rotaciona a magnetização ao eixo -z. Após um intervalo de tempo τ curto, é aplicado um pulso de $\theta=90^\circ$ o qual rotaciona a magnetização para -x, e então é feita a aquisição. O sinal nesta condição é obtido em fase negativa. Conforme o intervalo de tempo τ aumenta, a contribuição da magnetização no eixo x fica maior antes da aquisição, deixando o espectro gradualmente com fase positiva. É importante notar que entre cada transiente, o tempo de reciclagem deve ser maior ou igual a cinco vezes o maior T_1 da amostra, para evitar a saturação dos sinais e medidas incorretas. Assim, ao final do experimento a fase dos sinais é

modulada pelo tempo variável τ (Figura 13), de onde a constante T_1 pode ser obtida através do fittings experimentais da curva de recuperação.

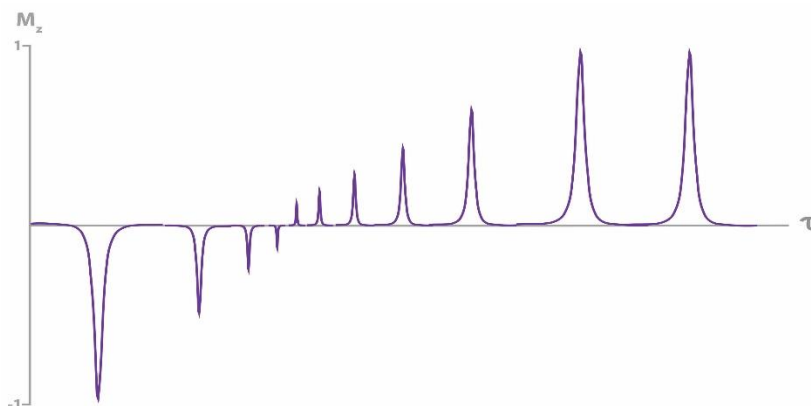


Figura 13: Representação da curva da magnetização M_z em função do tempo variável τ obtida na sequência de Inversão Recuperação.

O uso da SR se baseia na saturação da magnetização por meio da aplicação dos repetidos pulsos no início da sequência, seguido de um período τ antes da aplicação de um pulso de $\theta=90^\circ$ que antecede a aquisição. A quantidade de pulsos iniciais (n) é definida pelo tempo de saturação, que leva em consideração a duração de cada pulso e um período de espera entre cada pulso aplicado. É importante pontuar que o ângulo de nutação dos pulsos de saturação podem variar de acordo com a construção da sequência e a carga do usuário.

Além disso, neste caso, o tempo de reciclagem não precisa respeitar a condição de relaxação total. O motivo reside no fato de que a construção da sequência parte de uma magnetização saturada para assim aumentar em intensidade conforme os valores de τ ficam maiores. Logo, no caso de o sistema não estar completamente relaxado após a aquisição, a saturação do sinal provocada pela população de spins excitada conforme ilustrado na figura 4 servirá ao propósito do experimento. A intensidade dos espectros é modulada pela variação do tempo τ , como mostra a Figura 14. Em intervalos curtos, o sinal obtido é praticamente nulo, devido a saturação da magnetização. Com o aumento do intervalo de tempo, os sinais aparecem gradativamente mais intensos, configurando a curva utilizada para as medidas.

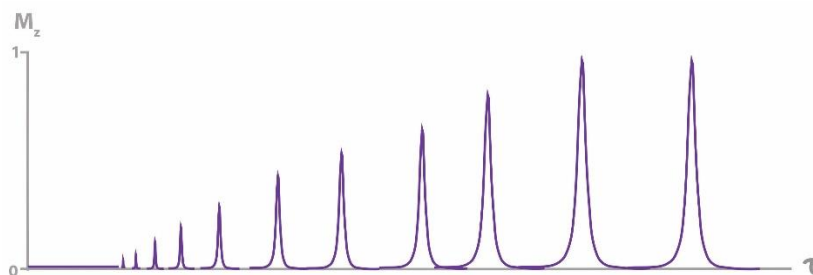


Figura 14: Representação da curva da magnetização M_z em função do tempo variável τ obtida na sequência de Saturação Recuperação.

O tempo variável τ deve compreender uma varredura de intervalos curtos o suficiente para compreender fase negativa em IR e na saturação dos sinais em SR, além de intervalos grandes o suficiente para que se observe valores de intensidade máximos na curva da magnetização.

As medidas de tempo de relaxação longitudinal (T_1) foram realizadas em equipamentos de RMN Bruker Avance III de 9,4T (400 MHz) e 14,1T (600 MHz), utilizando sondas de detecção inversa e direta, respectivamente. Para as medidas, as duas sequências de pulsos foram utilizadas: Inversão Recuperação e Saturação Recuperação.

O procedimento adotado em cada medida se estabeleceu com a estimativa prévia dos valores de T_1 de cada núcleo analisado. O tempo de reciclagem (T_R) utilizado em cada experimento foi extrapolado para 6 vezes o maior tempo de relaxação da molécula para IR. O delay variável (τ) foi varrido logaritmicamente em uma faixa de $0,1 \cdot T_1$ até $5 \cdot T_1$ para cada molécula, em um total de 16 pontos, a fim de se observar a curva completa da variação de magnitude do sinal até atingir a intensidade máxima. Os experimentos foram realizados com 8 repetições para cada valor de τ . Dessa forma, as medidas de T_1 foram obtidas com dezesseis FID's, relacionadas com o número de variáveis de τ , composta de oito transientes.

No caso da sequência de saturação recuperação, o tempo de saturação foi definido como duas vezes o valor estimado para $T_{1 \text{ máx.}}$ do analito, para que todos os sinais do espectro fossem uniformemente saturados. Os demais parâmetros experimentais foram análogos ao procedimento da IR.

O processamento desses experimentos foi realizado no software TopSpin 4.1.4. Para tal, os espectros foram processados com aplicação da transformada de Fourier, utilizando função de apodização apenas para ^{13}C , e

tiveram fase e linha de base ajustadas. Para realizar o cálculo de cada sinal, o espectro correspondente ao maior valor de τ , isto é, de maior intensidade, foi integrado e teve os picos selecionados. A integração foi realizada mantendo constante as áreas em cada experimento, excluindo os satélites e demais sobreposições^{20,25}. Após estes procedimentos, o software realizou o ajuste gráfico e forneceu os valores de T_1 calculados com base nas equações (17) e (18), para IR e SR respectivamente.

$$I_t = I_0 \left(2e^{-\tau/T_1} \right) \quad (17)$$

$$I_t = I_0 \left(1 - e^{-\tau/T_1} \right) \quad (18)$$

, onde I_t representa a magnetização no tempo t e I_0 representa a magnetização no equilíbrio. O desvio padrão (σ) das medidas também foi gerado pelo software e utilizado como parâmetro de qualidade do experimento.

3.3 Experimentos Quantitativos

As amostras utilizadas para experimentos quantitativos foram preparadas utilizando balanças balança Shimadzu auw220d, com precisão de 4 casas decimais, para a pesagem dos analitos e padrões internos. Após a pesagem, as amostras foram solubilizadas em volume final de 600 μL . O deslocamento químico dos sinais do padrão interno foi previamente conferido, além da pureza indicada pelo fabricante. Sua quantidade na amostra foi otimizada para que a intensidade de seus sinais não seja muito diferente do que o sinal de interesse da amostra.

A amostra do analito puro foi analisado e quantificado, e, posteriormente submetido a adição do agente de relaxação em quantidade específica para atingir a proporção de 10 mmol de $\text{Cr}(\text{acac})_3$ para cada mol de analito. Também, os tubos foram homogeneizados, adequadamente fechados e armazenados em freezer quando necessário, além de limpos cuidadosamente em sua parte exterior previamente a inserção no equipamento.

Os experimentos de RMN quantitativos foram realizados em um equipamento de RMN Bruker Avance III de 9,4 e 14,1 T. Inicialmente, os tempos de relaxação do padrão interno e dos analitos foram obtidos seguindo o procedimento experimental anteriormente relatado. Os experimentos

quantitativos seguiram o protocolo discutido na sessão “Experimentos Quantitativos por ressonância magnética nuclear (RMNq)”, e se basearam na utilização de pulsos de radiofrequência de 90° ; tempo de reciclagem de sete vezes o valor de $T_{1\text{ máx}}$ e número de repetições (transientes) suficientes para que a razão sinal/ruído seja adequada. Confrontando a literatura, os números ideais foram estabelecidos acima de 150:1 para os isótopos de ^1H e ^{13}C . O centro de frequência da aplicação dos pulsos, isto é, o centro da janela espectral, foi definido entre o sinal do padrão interno e o sinal visado para quantificação do analito. Este processo visa evitar erros no perfil de excitação dos sinais pelo pulso de radiofrequência.

O processamento dos espectros foi realizado de forma sistemática. A função de apodização quando utilizada, visou o aumento da razão sinal/ruído, mas sem comprometer o alargamento dos sinais. O número de pontos foi otimizado com base em cada analito, ao passo em que a adição de pontos por meio do zero filling não ultrapassou um fator de 2 vezes o número de pontos da aquisição. As integrações dos sinais foram feitas usando limites que se basearam na largura de linha de cada sinal multiplicado por 32 ou 64 vezes²⁵, a depender do núcleo. Também houve cuidado para que os sinais satélites não fossem contabilizados nas integrais.

Os cálculos de quantificação foram realizados a partir do método absoluto de determinação de concentração^{19,20}, apresentado abaixo (19):

$$P_x = \frac{I_x}{I_{cal}} \frac{N_{cal}}{N_x} \frac{M.M_x}{M.M_{cal}} \frac{m_{cal}}{m_x} P_{cal} \quad (19)$$

, onde P representa a pureza da substância, I a integral do sinal, N o número de spins que compõem a integral, $M.M$ a massa molar das substâncias, e m a massa. Os subscritos se referem ao analito, no caso de X ; e ao padrão interno utilizado no caso de cal .

4. Resultados

Comparação das sequências nas medidas de T_1

Inicialmente, as medidas dos tempos de relaxação longitudinal eram feitas por meio da sequência de pulso de inversão recuperação (IR), implementada nos espectrômetros utilizados. Com a revisão bibliográfica feita nos primeiros meses de projeto, a sequência de saturação recuperação (SR) se tornou objeto de interesse por demandar menos tempo para a análise.

Assim, os resultados obtidos por IR e SR foram comparados a fim de atestar a precisão na medida das sequências. As mesmas amostras, equipamentos e condições experimentais foram utilizadas para tal. A Figura 15 mostra a comparação das medidas de T_1 para os átomos de carbono do hexanol, adquiridos em equipamento Bruker Avance III 9,6 T (100 MHz para ^{13}C).

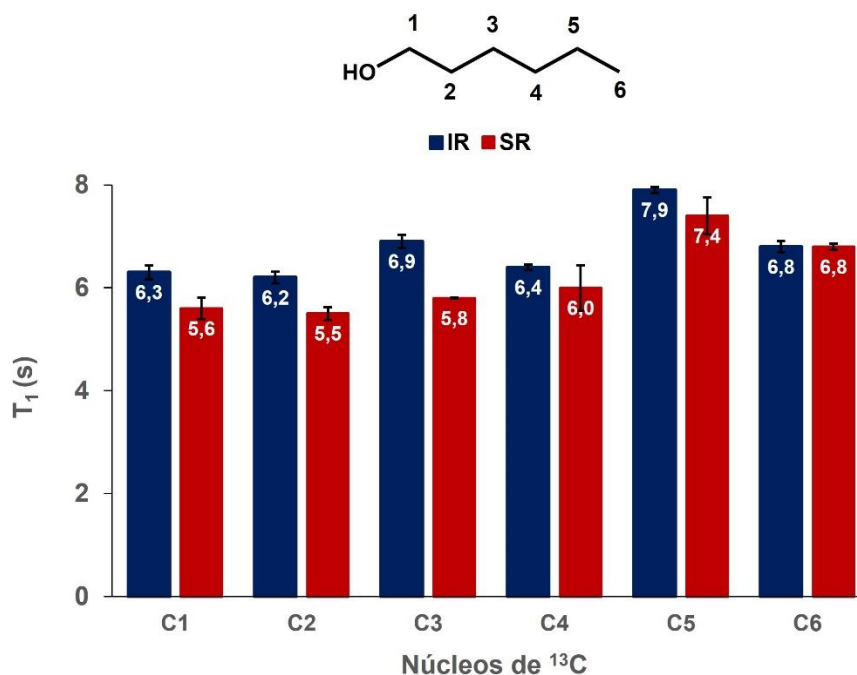


Figura 15: Valores de T_1 medidos para os núcleos de ^{13}C do hexanol. Em azul, obtidos a partir da IR; em vermelho a partir da SR. A barra de erro representa o desvio médio de cada núcleo. Medida realizada em equipamento Bruker Avance III 9,6 T (100 MHz para ^{13}C). O solvente utilizado foi CDCl_3 .

A comparação mostra que os valores medidos por IR e SR diferem minimamente para todos os núcleos de ^{13}C da molécula, com a variação máxima em torno de um segundo. A grande diferença entre as sequências se baseia, portanto, apenas no tempo necessário para a medida. Os tempos experimentais referentes aos resultados apresentados do hexanol acima foram de 1 hora e 14

minutos para SR e de 3 horas e 19 minutos para IR utilizando um valor predeterminado de 10 segundos para o $T_{1 \text{ máx.}}$ e o mesmo delay variável τ para ambas.

De forma similar, comparamos as medidas das sequências ao longo da curva de adição do agente paramagnético, como mostra a Figura 16, para o carbono 6 da mesma molécula:

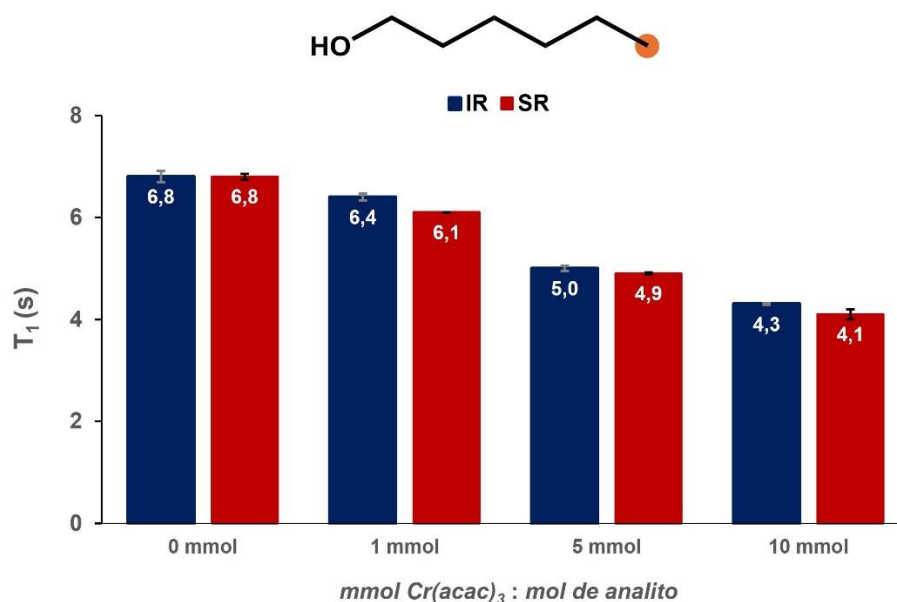


Figura 16: Comparação dos valores de T_1 medidos para o carbono 6 do hexanol (destacado) com a adição de $Cr(acac)_3$, utilizando IR (em azul) e SR (em vermelho). Medida realizada em equipamento Bruker Avance III 9,6 T (100 MHz para ^{13}C). O solvente utilizado foi $CDCl_3$.

Mais uma vez, os resultados da utilização IR e SR demonstraram valores próximos. Assim como para o carbono, a mesma similaridade nos valores de tempos de relaxação para 1H foi encontrada e com menor tempo experimental requerido para a SR.

Os valores de T_1 dos dois gráficos acima representam uma média dos valores obtidos de replicatas experimentais utilizando as duas sequências, com a barra de erro representado o desvio médio entre as medidas. Assim, seu valor revela a diferença entre duas medidas para o mesmo preparo de amostra em cada sequência. Podemos perceber que para alguns núcleos da Figura 15, a diferença na SR é mais acentuada, como para o carbono 5, que apresenta desvio de $\pm 0,8$ segundos entre as medidas. Além disso, como no caso do carbono 3, observamos a maior diferença (1,1 s) para os valores obtidos entre as sequências. Tanto o maior desvio entre as replicatas e a diferença observada dos valores, podem ser atribuídas a construção da SR.

O primeiro ponto importante de se notar é que devido a quantidade de pulsos utilizados na saturação dos sinais, pode ser observado um aquecimento da ordem de 0,5 ~ 1 °C na temperatura do equipamento durante o experimento. Apesar do acúmulo de 4 scans de descarte (*dummy scans*) antes da aquisição, essa variação pode ser a causa da diferença dos valores entre as sequências e dos erros apresentados.

Um ponto que corrobora com esta discussão reside no fato de que os valores medidos para os núcleos de hidrogênio apresentam menor discrepância entre as sequências. Como já mencionado, o tempo de saturação define o número de pulsos aplicados e é dependente dos valores de T_1 dos núcleos. Como no caso do ^1H a faixa de tempo de relaxação é menor em relação aos núcleos de carbono, menos pulsos são aplicados para alcançar a saturação ideal da magnetização. Dessa forma, observamos uma menor variação de temperatura no equipamento durante as medidas. A Figura 17 mostra os tempos de relaxação medidos em IR e SR para os núcleos de hidrogênio da molécula 4-dimetilamino benzaldeído, onde os valores representam os resultados de apenas uma medida. Podemos observar uma diferença menor entre os resultados obtidos para as duas sequências.

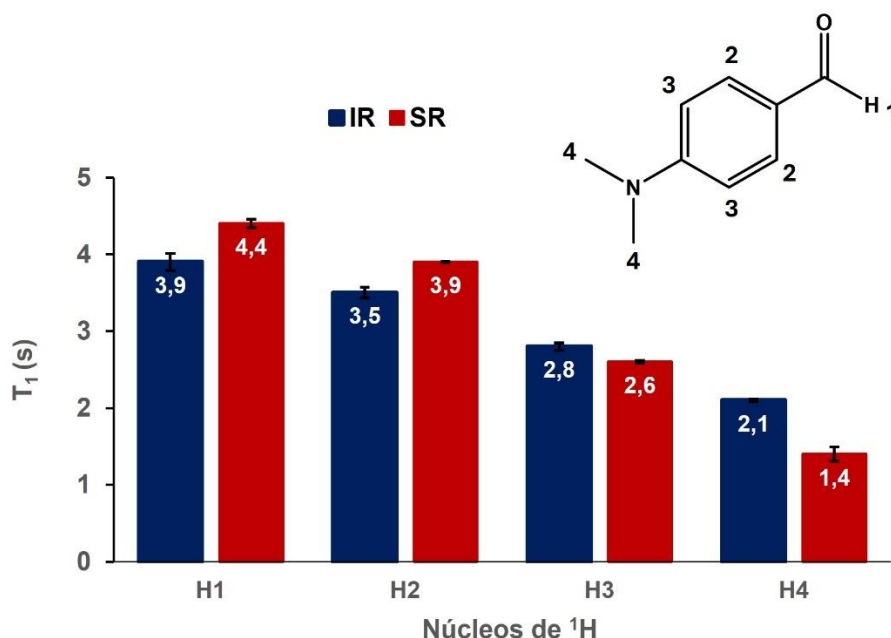


Figura 17: Valores de T_1 medidos para os núcleos de ^1H da 4-dimetilamino benzaldeído. Em azul, obtidos a partir da IR; em vermelho a partir da SR. A barra de erro representa o desvio padrão de cada núcleo. Medida realizada em equipamento Bruker Avance III 9,6 T (400 MHz para ^1H). O solvente utilizado foi CDCl_3 .

Além disso, outro importante requerimento da saturação recuperação é o perfil de saturação dos espectros ao longo de τ . Quanto menor a diferença de intensidade alcançada entre o espectro de maior e menor valor de τ , maior o erro na construção da curva da recuperação da magnetização. Isso pode servir de parâmetro para adequar o tempo de saturação da sequência. A Figura 18 mostra um exemplo de perfil de saturação dos sinais dos carbonos 2 e 3 do *orto*-fluortolueno. Podemos perceber que a atenuação obtida para o carbono 2 é consideravelmente menor do que a do carbono 3. Este perfil pode levar a medidas errôneas dos valores de T_1 , além de aumentar o erro associado a medida. Desta forma, é importante certificar que as análises apresentem saturação praticamente completa dos sinais espectrais. Isto é alcançado ao utilizar um tempo de saturação igual a duas vezes o valor de T_1 .

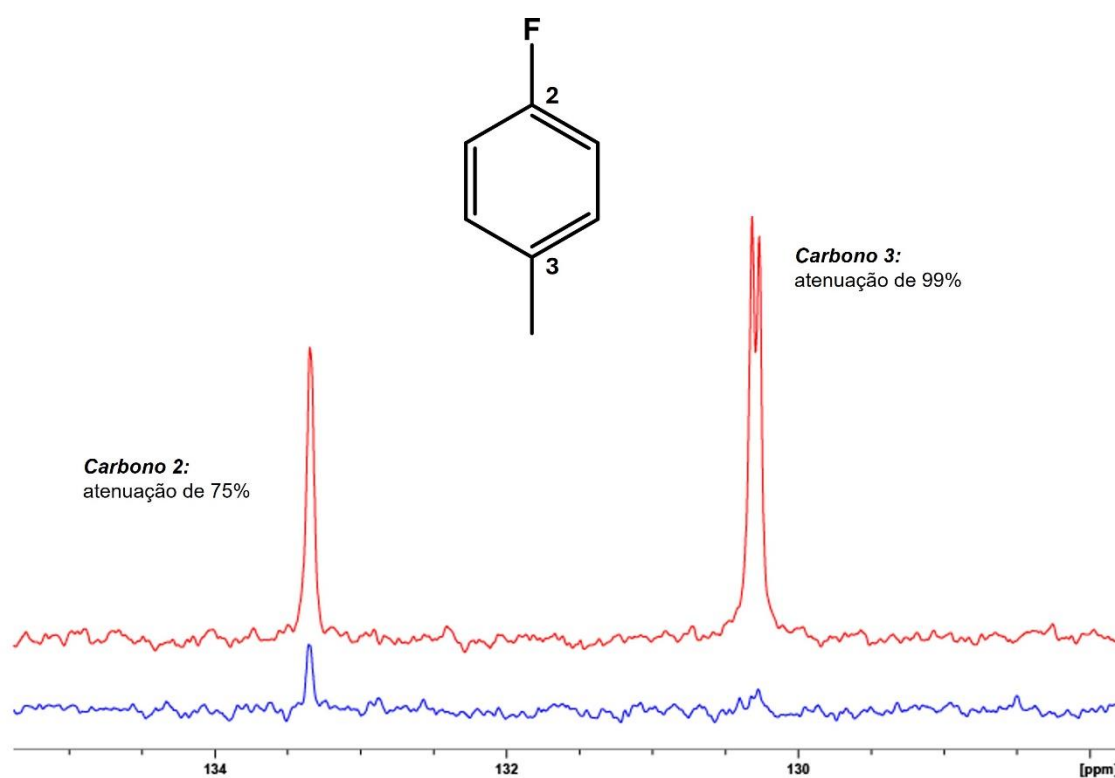


Figura 18: Saturação dos sinais do carbono 2 (esquerda) e 3 (direita) do *orto*-fluortolueno obtida ao longo do experimento de saturação recuperação. O espectro vermelho representa o de maior intensidade e o azul o de menor.

Problemas no perfil de saturação também podem ser atribuídos a pulsos descalibrados ou a não homogeneidade de saturação na janela espectral. Em casos de sinais muito intensos, como no caso de metilas, é mais comum que este perfil apareça.

Os valores de todos os analitos comparados no estudo não diferem em um intervalo maior que ± 1 na utilização das suas sequências de pulsos e em replicatas experimentais adequadas. Por se tratar de uma constante obtida pela curva do experimento, valor de T_1 pode sofrer pequenas variações devido as condições do equipamento ou preparo de amostra, ainda que as mesmas condições experimentais sejam desejadas. Uma vez que as variações das medidas entre as sequências são da mesma faixa das variações encontradas nas replicatas experimentais, as diferenças entre os valores podem ser atribuídas a erros sistemáticos das medidas. Além disso, mesmos nos casos em que os desvios são maiores, o resultado obtido não faz com que a medida perca sentido.

Os demais resultados deste trabalho não serão apresentados pelas médias, mas sim com os valores de uma única replicata. O software TopSpin 4.1.4. utilizado para processamento dos valores de T_1 fornece o desvio padrão das curvas de recuperação da magnetização. Alguns valores são mostrados para os núcleos de carbono do hexanol na Tabela 1, para a IR; e na Tabela 2 para a SR.

Tabela 1: Valores de desvio padrão (σ) e percentual de erro associado a medidas de T_1 dos núcleos de ^{13}C do hexanol, para a sequência de inversão recuperação. Análise realizada em equipamento com frequência de 100 MHz para ^{13}C (9,4 T). O solvente utilizado foi CDCl_3 .

Inversão Recuperação						
	C1	C2	C3	C4	C5	C6
T1 (s)	6,1	6,1	6,8	6,4	7,9	6,7
σ	0,01	0,02	0,03	0,02	0,02	0,02
% de erro	0,24	0,26	0,38	0,26	0,21	0,32

Tabela 2: Valores de desvio padrão (σ) e percentual de erro associado a medidas de T_1 dos núcleos de ^{13}C do hexanol, para a sequência de saturação recuperação. Análise realizada em equipamento com frequência de 100 MHz para ^{13}C (9,4 T). O solvente utilizado foi CDCl_3 .

Saturação Recuperação						
	C1	C2	C3	C4	C5	C6
T1 (s)	5,8	5,6	5,8	5,5	7,7	6,8
σ	0,05	0,03	0,04	0,02	0,03	0,03
% de erro	0,87	0,57	0,69	0,30	0,48	0,42

Como podemos observar, os desvios representam uma diferença muito pequena das medidas. Os percentuais de erros para os valores de tempo de relaxação em ambas as sequências são de mesma ordem de magnitude. Devido a isso, as demais figuras deste trabalho não apresentam os erros das medidas, já que serão imperceptíveis nas representações.

Diante disso, o projeto prosseguiu utilizando majoritariamente a sequência de saturação recuperação por motivos de economia de tempo de máquina, ainda que a qualidade da sua medida dependa de um ajuste mais fino dos parâmetros da sequência.

Uma breve discussão sobre os valores de T_1 e a natureza química dos núcleos

O tempo de relaxação longitudinal representa uma constante relacionada com o processo do retorno da magnetização ao equilíbrio. Seu valor é dependente dos fatores intrínsecos das moléculas e das condições experimentais utilizadas (concentração, temperatura, solvente, campo magnético). Devido à existência dessas diversas variáveis, a criação de uma espécie de tabela de valores de T_1 não é factível, sendo apenas conhecidos alguns intervalos de valores de tempo de relaxação para cada núcleo. Portanto, esta seção visa discutir os valores de T_1 medidos, relacionando-os com características químicas e magnéticas de variados analitos e núcleos estudados. É importante salientar, no entanto, que esta abordagem terá um aspecto qualitativo e não quantitativo, visto que os valores são válidos apenas para a mesma condição experimental empregada aqui. Além disso, os dados se baseiam nos valores de T_1 do analito puro e não visa abordar o efeito da relaxação paramagnética, que será discutida mais à frente.

Os núcleos analisados ao longo da execução do trabalho foram majoritariamente os de ^1H , ^{13}C e ^{19}F . Os valores de T_1 de núcleos de ^1H e ^{19}F apresentaram a mesma magnitude, variando de 1 a 7 segundos. Os tempos de relaxação longitudinal de ^{13}C mostraram valores mais elevados, além de uma faixa de variação maior a depender do ambiente molecular, exibindo uma variação entre 2 e 50 segundos.

Essas diferenças significativas nos valores de T_1 para carbono têm influência do mecanismo de relaxação dipolar, dependente da razão

giromagnética dos núcleos. Conforme essa constante aumenta em magnitude nos núcleos vizinhos, o mecanismo é intensificado e tem maior contribuição na relaxação, diminuindo assim o valor de T_1 . Para exemplificar isso, foi analisada a variação dos valores de T_1 de carbonos similares de uma mesma molécula, *orto*-fluorotolueno, variando apenas um núcleo ligante: ^1H para C3; ^{19}F para C2 e ^{13}C para C1. Os valores de razão giromagnética para estes núcleos são, respectivamente, 42,6; 40,1 e 10,7 MHz/T. A Figura 19 apresenta os resultados.

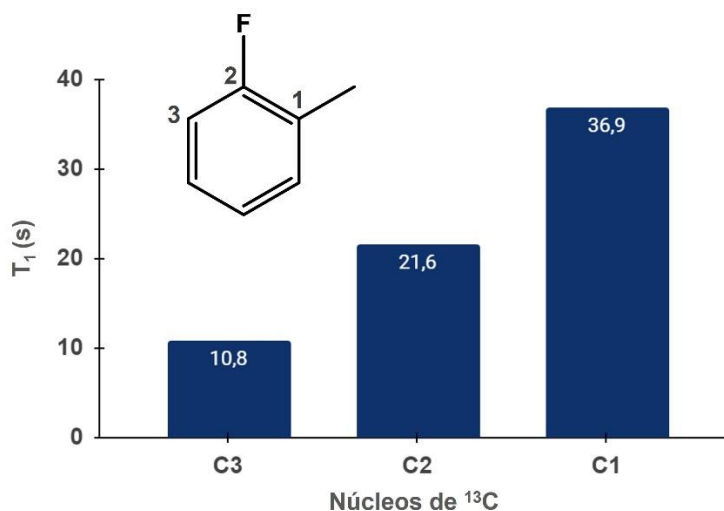


Figura 19: Comparação dos valores de T_1 para os carbonos destacados do *o*-fluorotolueno, adquiridos em equipamento Bruker Avance III 9,4 T (100 MHz para ^{13}C). O solvente utilizado foi CDCl_3 .

Dessa forma, percebemos que os valores de T_1 crescem à medida que os valores de γ diminuem. Este aspecto define a importância do mecanismo dipolar na relaxação longitudinal. Outra prova deste efeito pode ser feita com a comparação dos carbonos com diferentes números de hidrogênios ligados diretamente. A Figura 20 mostra os valores de tempos de relaxação de um carbono primário (C6), secundário (C2), terciário (C4) e quaternário (C5) da molécula *trans* 4-*t*-butil-cicloexanol.

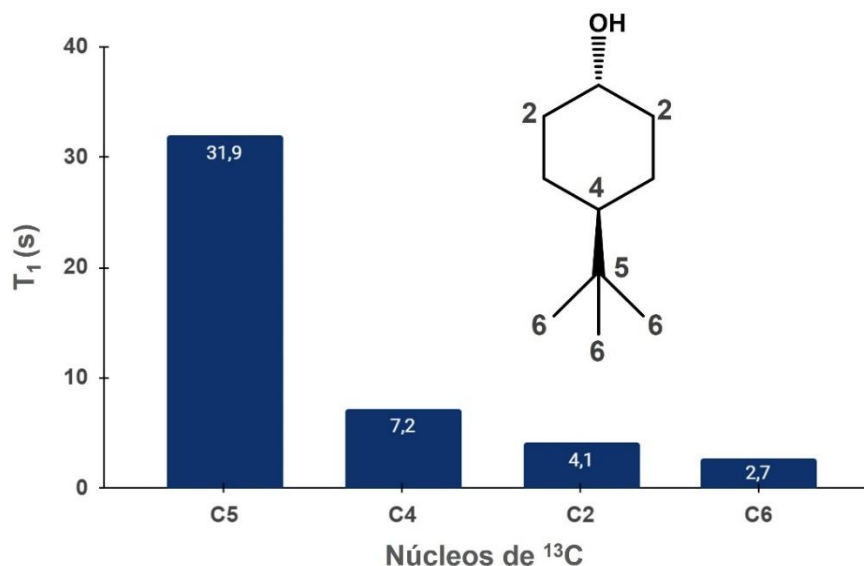


Figura 20: Valores dos tempos de relaxação dos carbonos destacados da molécula *trans* 4-*t*-butil-cicloexanol. Resultados obtidos utilizando equipamento Bruker Avance III 9,4 T (100 MHz para ^{13}C). O solvente utilizado foi CDCl_3 .

É evidente que os valores de T_1 se tornam menores à medida em que o número de hidrogênios ligados ao carbono aumenta. Outros fatores moleculares podem também causarem mudanças significativas nos valores de T_1 ao passo em que a relaxação tem forte influência do ambiente químico do núcleo e dos movimentos moleculares. Assim, observaremos a questão eletrônica e como ela também tem influência nestas medidas.

Para isso, analisaremos como os valores do tempo de relaxação longitudinal variam para carbonos com o mesmo nível de hidrogenação, mas com apenas um núcleo vizinho diferente. A Figura 21 compara os valores de T_1 de ^{13}C ligados a grupos com diferentes capacidades doadoras/aceptoras de densidade eletrônica.

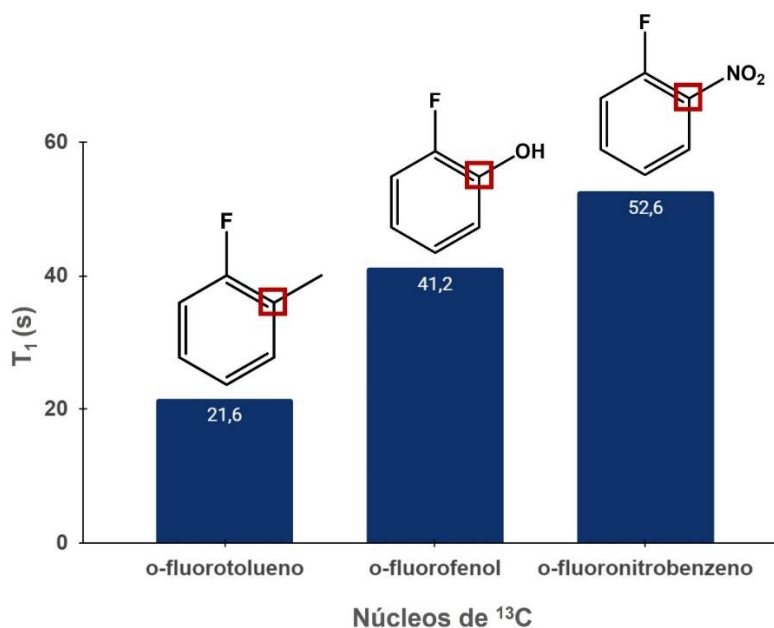


Figura 21: Comparação dos valores de T_1 para os carbonos destacados nas estruturas esquematizadas. Todas as medidas foram realizadas utilizando equipamento Bruker Avance III 9,4 T (100 MHz para ^{13}C). O solvente utilizado foi CDCl_3 .

Mantendo a similaridade da estrutura, podemos relacionar o aumento do valor T_1 com a diminuição do efeito doador. Os elétrons levam a criação dos campos locais, abordados na introdução, e a variação da densidade eletrônica próxima ao núcleo impacta diretamente na capacidade do núcleo em promover a relaxação.

Ao longo da execução do projeto, as relações estruturais observadas acima e os tempos de T_1 medidos possibilitaram a estimativa dos tempos adotados nas sequências, como o tempo de reciclagem e a determinação da faixa do delay variável τ . Como exemplo, alguns compostos carbonílicos foram estudadas e os valores de tempo de relaxação encontrados para os carbonos da carbonila se concentraram em uma faixa de 35 a 40 segundos. Da mesma forma, o valor médio de T_1 para os núcleos de ^1H em metilas foi de 3 a 4 segundos. Estes valores foram considerados em estudos posteriores contendo os mesmos tipos de estrutura.

Para além dos efeitos da estrutura, fatores externos como a variação de solvente, intensidade do campo magnético, e variação de temperatura trouxeram informações sobre o comportamento do tempo de relaxação.

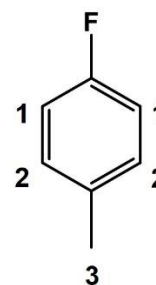
O papel do solvente em uma amostra de RMN está diretamente relacionado com a qualidade do espectro, de acordo com a solubilidade da

amostra. Tendo a relação dos tempos de relaxação nuclear com os movimentos moleculares, alguns compostos foram analisados sob a utilização de diferentes solventes. Dentro das opções escolhidas, nenhuma delas apresentou qualquer relação clara, e isso pode ser atribuído as baixas diferenças de viscosidades, que não levaram a diferenças significativas nos tombamentos moleculares.

A análise de T_1 de moléculas sob essa variação do campo magnético, possibilitou observar a influência da magnitude de B_0 nos valores dos tempos de relaxação dos núcleos estudados. Para os núcleos de ^1H , não houve diferença significativa nas medidas, como mostra a Tabela 3, que apresenta os valores de T_1 para os hidrogênios da molécula *p*-fluorotolueno, medidos em frequência de 400 e 600 MHz para ^1H (campos magnéticos de 9,4 e 14,1 T respectivamente).

Tabela 3: Comparação dos valores de T_1 para os hidrogênios do *p*-fluorotolueno medidos em equipamentos com frequências de 400 e 600 MHz para ^1H e CDCl_3 como solvente.

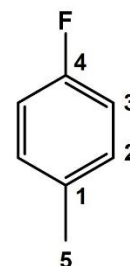
<i>para</i> -fluortolueno T_1 (s)			
^1H	H1	H2	H3
400 MHz	6,5	6,5	4,5
600 MHz	6,5	6,3	4,6



Já na análise dos carbonos da mesma molécula, podemos observar uma variação nos tempos de relaxação medidos para alguns dos núcleos. Os dados são apresentados na Tabela 4, medidos em frequência de 100 e 125 MHz para ^{13}C (campos magnéticos de 9,4 e 14,1 T respectivamente).

Tabela 4: Comparação dos valores de T_1 para os carbonos do *p*-fluorotolueno medidos em equipamentos com frequências de 100 e 150 MHz para ^{13}C e CDCl_3 como solvente.

<i>para</i> -fluorotolueno T_1 (s)					
^{13}C	C1	C2	C3	C4	C5
100 MHz	23,2	31,2	9,8	10,9	8,1
150 MHz	20,8	16,1	11,2	11,2	8,7



O carbono 2 apresentou a maior diferença de T_1 ante a variação do campo magnético utilizado. De fato, esse comportamento é observado para o

mesmo tipo de carbono, ligado a metila, nos demais padrões de substituições análogos da molécula, como mostra a Figura 22.

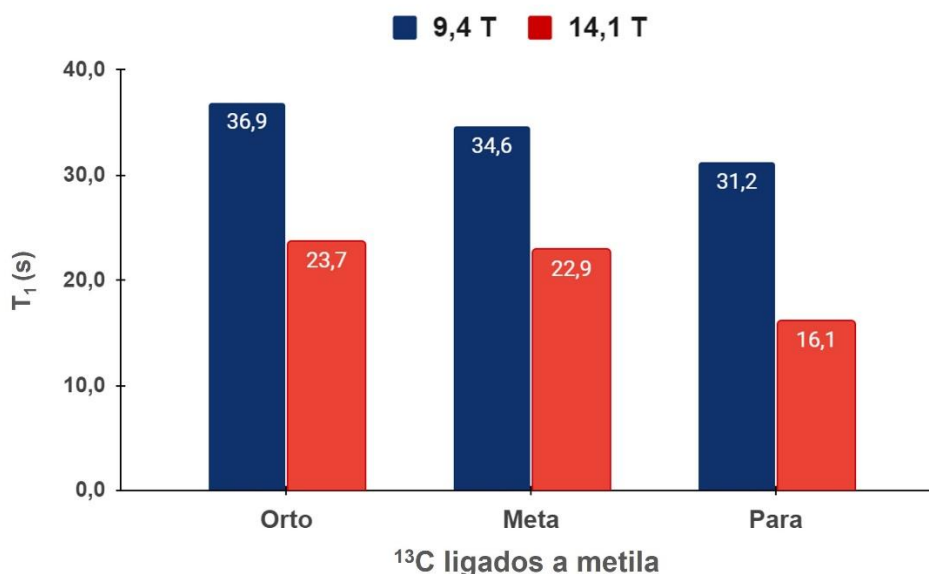
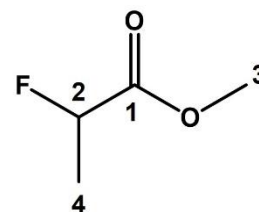


Figura 22: Comparação dos valores de T_1 para os carbonos ligados a metila nas moléculas de o, m e p fluorotolueno, obtidos em equipamentos com campo de 9,4 T (azul, frequência de 100 para ^{13}C) e 14,1 T (vermelho, frequência de 150 para ^{13}C). O solvente utilizado foi CDCl_3 .

Uma associação pode ser feita relacionando a maior discrepância de valores encontrados para o núcleo quanto menor a razão giromagnética de seus ligantes. Dessa forma, os núcleos de carbono com menor índice de hidrogenação, tem diferenças de T_1 mais acentuadas na variação do campo B_0 . O mesmo tipo de comparação, utilizando como analito metil-2-fluoropropanoato, reforça esta hipótese, mostrado na Tabela 5, medidos em frequência de 100 e 125 MHz para ^{13}C (campos magnéticos de 9,6 e 14,1 T respectivamente).

Tabela 5: Comparação dos valores de T_1 para os carbonos do metil-2-fluoropropanoato, medidos em equipamentos com frequências de 100 e 150 MHz para ^{13}C e CDCl_3 como solvente.

metil-2-fluoropropanoato T_1 (s)				
^{13}C	C1	C2	C3	C4
100 MHz	30,7	9,0	9,7	4,9
150 MHz	13,8	9,4	9,3	4,0



De fato, essa observação está associada com a influência do mecanismo de relaxação CSA. Este é predominantemente importante em núcleos que têm variações grandes de deslocamento químico nos espectros, como carbono e flúor. Além disso, o mecanismo é mais pronunciado em centros

com maiores simetria, graças a sua interação anisotrópica com o campo magnético. Conforme discutido na introdução, a taxa de relaxação deste mecanismo é proporcional ao quadrado de B_0 , tendo maiores valores de T_1 à medida que o campo diminui. Assim, na ausência de hidrogênios, o mecanismo CSA tem maior dominância, fato que é demonstrado pela diferença acentuada entre os tempos de relaxação medidos para o carbono 2 do *p*-fluorotolueno. Podemos ainda perceber que o carbono C1, ligado ao átomo de flúor, tem uma variação pequena, já que o núcleo ^{19}F tem um valor de γ maior que o carbono, contribuindo com uma maior parcela do mecanismo dipolar.

Dessa forma, a magnitude de B_0 também pode ter relação direta com as análises de RMN. Como nos casos comentados acima, um equipamento de campo magnético maior pode levar naturalmente a menores tempos de relaxação, diminuindo o tempo experimental de análises quantitativas, além de apresentar maior sensibilidade.

Outra importante variável física dos experimentos de RMN é a temperatura. Algumas análises podem ser feitas com sua variação a fim de acelerar ou desacelerar alguns equilíbrios conformacionais⁶³. Como já comentado, sua grandeza tem influência direta nos tempos de relaxação, fazendo com que os valores de T_1 fiquem gradativamente maiores com seu aumento. Este efeito pode ser visto na Figura 23, que apresenta os valores de T_1 de hidrogênio em diferentes temperaturas.

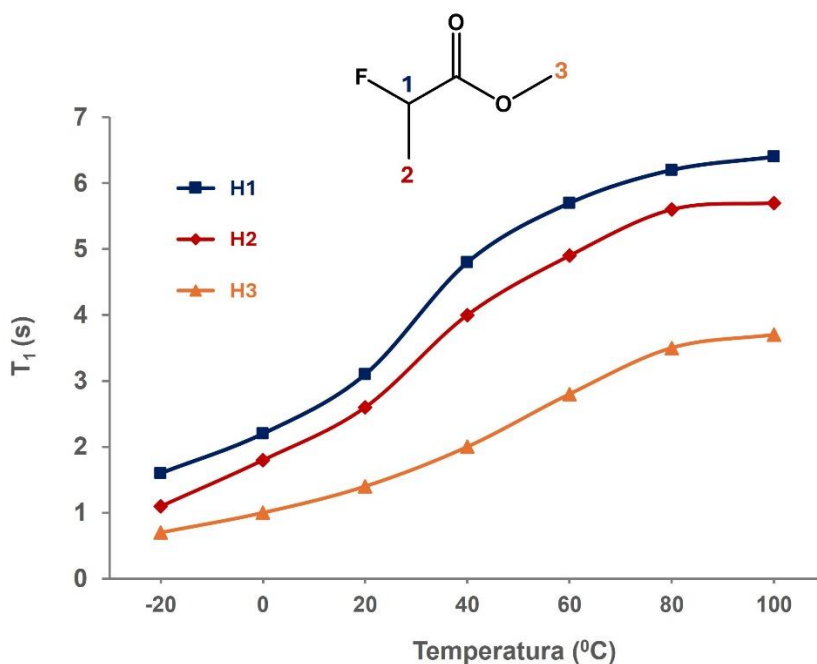


Figura 23: Dependência dos valores de T_1 dos núcleos de hidrogênio da molécula metil-2-fluoropropanoato em relação a temperatura. O solvente utilizado foi $C_2D_2Cl_4$ e o experimento foi conduzido no equipamento com campo magnético de 14,1T (frequência de 600 MHz para 1H).

No entanto, em núcleos mais pesados, como é o caso do ^{19}F , temperaturas maiores também podem induzir o mecanismo de relaxação de rotação de spin. Neste caso, as flutuações de campo promovem a relaxação nuclear, fazendo com que os valores de T_1 sejam menores que o esperado. A Figura 24 mostra a comparação dos isótopos 1H e ^{19}F para a mesma amostra sob aquecimento. É possível observar que a partir de uma certa temperatura ($60^\circ C$), o mecanismo de rotação de spin parece ter contribuição efetiva no tempo de relaxação do flúor.

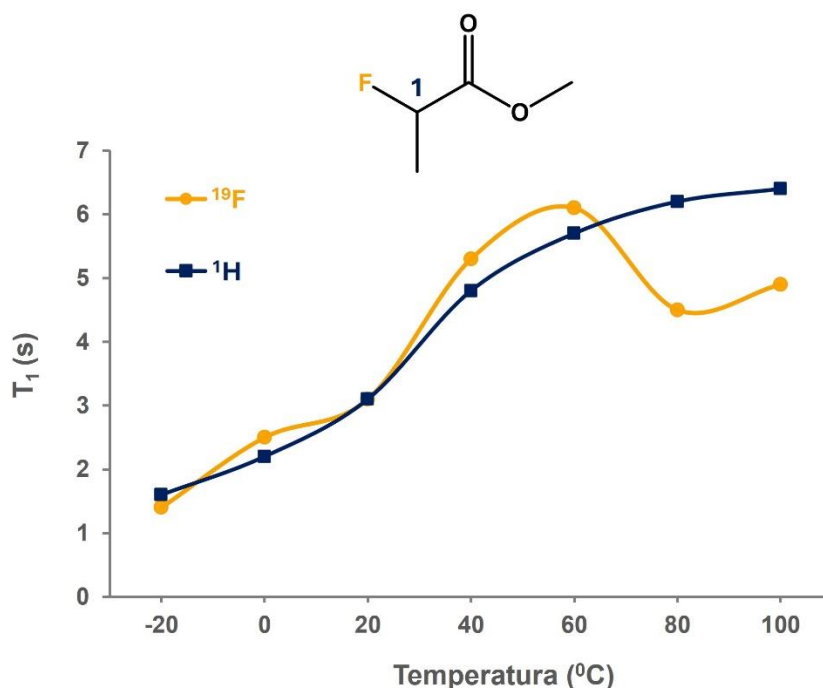


Figura 24: Comparação dos valores de T_1 dos núcleos de hidrogênio e flúor da molécula metil-2-fluoropropanoato sob variação de temperatura. O solvente utilizado foi $C_2D_2Cl_4$ e o experimento foi conduzido no equipamento com campo magnético de 14,1T (frequência de 600 MHz para 1H e 565 MHz para ^{19}F).

Além disso, podemos perceber que o abaixamento da temperatura leva a uma diminuição dos tempos de relaxação, o que é explicado pelo comportamento de T_1 com a variação do movimento molecular, apresentado na Figura 9. Em baixas temperaturas, as moléculas pequenas tendem para um regime de movimento mais lento, se aproximando de um regime moderado, passando pelo valor mínimo de T_1 da curva.

A seguir, os parâmetros abordados até aqui serão avaliados sob o olhar de sua interferência no mecanismo de relaxação paramagnético.

4.1 A Relaxação Paramagnética

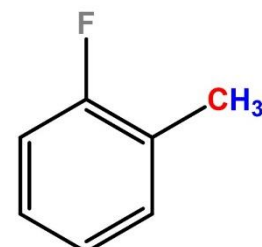
A utilização do $\text{Cr}(\text{acac})_3$ e redução de T_1

Inicialmente, testes variando a quantidade do agente de relaxação empregada nas análises foram realizados com a finalidade de avaliar sua faixa de ação e assim definir o desenho experimental do projeto. Para isso, foram testadas diferentes proporções molares entre o analito e o agente de relaxação.

Como já adiantado na seção “métodos”, as proporções molares de $\text{Cr}(\text{acac})_3$ escolhidas em relação aos analitos foi de 1, 5 e 10 mmol para cada 1 mol da molécula analisada. Quantidades menores do agente de relaxação foram testadas, e o efeito pode ser observado na Tabela 6, para os núcleos destacados de ^1H , ^{13}C e ^{19}F do *o*-fluorotolueno.

Tabela 6: Comparação dos valores de T_1 para os núcleos de ^1H , ^{19}F e ^{13}C destacados do *p*-fluorotolueno; utilizando as condições experimentais de analito puro e proporção molar de 0,5 mmol do AR para 1 mol de *o*-fluorotolueno. Análises realizadas em equipamento Bruker Avance III 14,1 T e CDCl_3 como solvente.

	Tempo de relaxação longitudinal (s)		
	^1H	^{19}F	^{13}C
Analito Puro	4,9	4,5	10,8
0,5 mmol	4,0	3,4	11,0



Apesar de uma pequena mudança nos valores dos núcleos de ^1H e ^{19}F , os núcleos de ^{13}C da molécula não sofreram efeito considerável nas medidas de T_1 . Dessa forma, a proporção mínima efetiva delimitada para provocar a relaxação em todos os núcleos estudados foi de 1 mmol por 1 mol de analito.

Maiores quantidades de $\text{Cr}(\text{acac})_3$ também foram testadas, mas acarretaram uma diminuição acentuada da razão sinal ruído, além de promoverem grande perda da informação espectral no caso da existência de acoplamentos (Fig. 25).

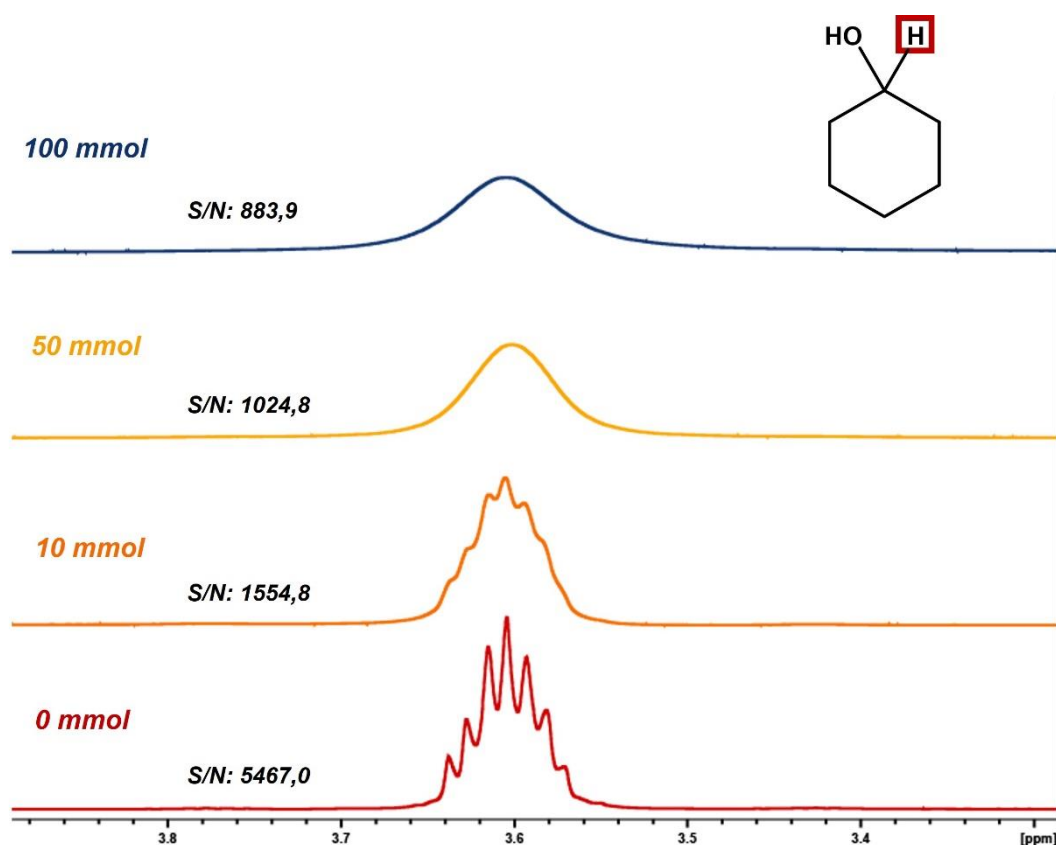


Figura 25: Alargamento do sinal do hidrogênio 1 destacado no espectro de RMN de ^1H gerado pela adição de $\text{Cr}(\text{acac})_3$ e conseqüentemente perda da informação espectral para o cicloexanol. Análises realizadas em equipamento Bruker Avance III 14,1 T (600 MHz para ^1H) e CDCl_3 como solvente.

Uma das conseqüências da utilização do $\text{Cr}(\text{acac})_3$ é o alargamento de linhas do espectro, provocada pela relaxação transversal^{6,8}. Além da perda total da informação de acoplamentos do sinal a partir da proporção de 50 mmol de $\text{Cr}(\text{acac})_3$ para cada mol de analito, a razão sinal ruído também é acentuadamente reduzida. Este efeito é também observado no caso dos núcleos de ^{13}C , como mostrado abaixo na Figura 26, que contempla os sinais espectrais dos carbonos C2, C3 e C4 para o cicloexanol. Os tempos de relaxação referentes aos espectros apresentados estão na Tabela 7.

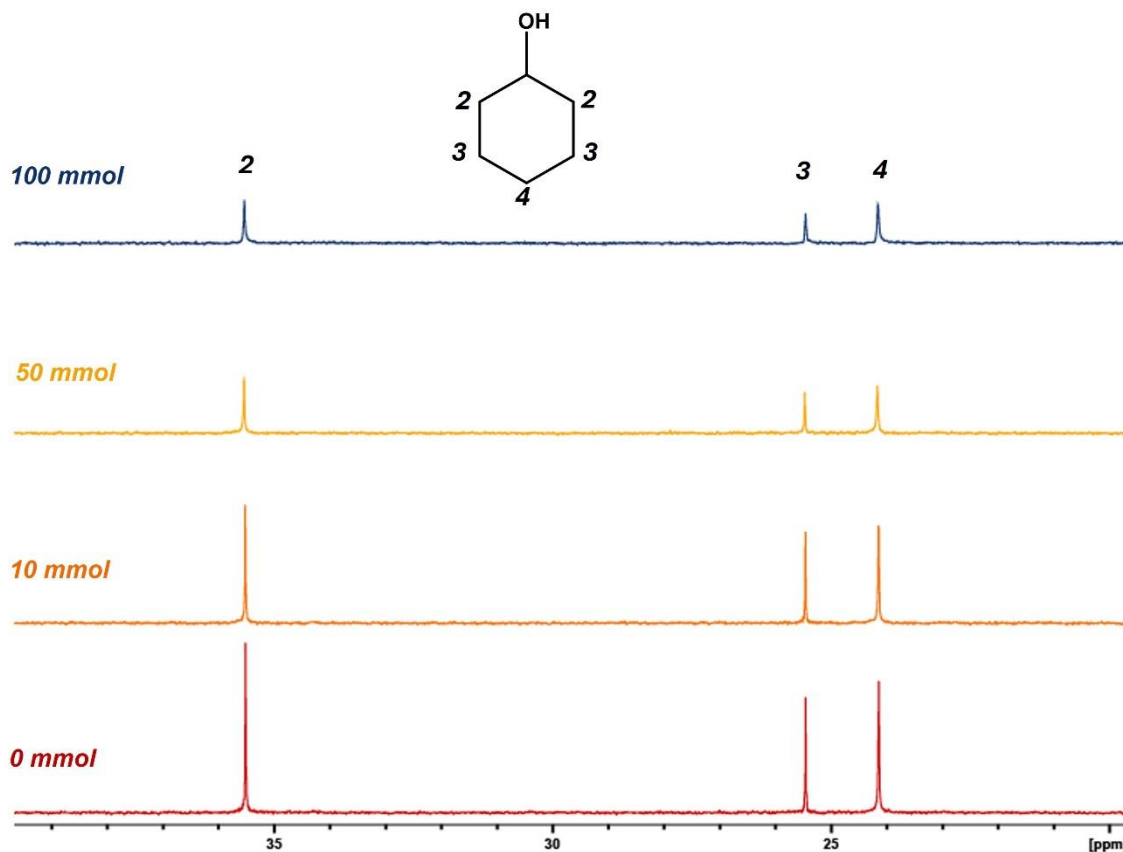


Figura 26: Alargamento dos sinais dos carbonos destacados no espectro de RMN de ^{13}C gerado pela adição de $\text{Cr}(\text{acac})_3$ para o cicloexanol. Análises realizadas em equipamento Bruker Avance III 14,1 T (150 MHz para ^{13}C) e CDCl_3 como solvente.

Tabela 7: Variação dos valores de T_1 através da adição do AR medidos para os carbonos destacados relacionados aos sinais apresentados na figura 26.

	T1 (s)		
	C2	C3	C4
0 mmol	8,8	6,3	8,5
10 mmol	4,3	4,1	4,8
50 mmol	1,0	1,3	1,3
100 mmol	0,6	0,9	0,8

Apesar da diminuição nos tempos de relaxação ainda ser pronunciada, a perda da intensidade e informações dos sinais prejudica a qualidade do espectro. Dessa forma, para o estudo do efeito da relaxação paramagnética, a utilização da proporção de 10 mmol de $\text{Cr}(\text{acac})_3$ para cada mol de analito, é considerada satisfatória. Além disso, essa condição experimental alcançou uma redução nos tempos de relaxação máximos, de todos os núcleos analisados, de pelo menos 50%. Observando a Figura 27,

podemos perceber a manutenção parcial das informações dos sinais de ^1H para as concentrações utilizadas:

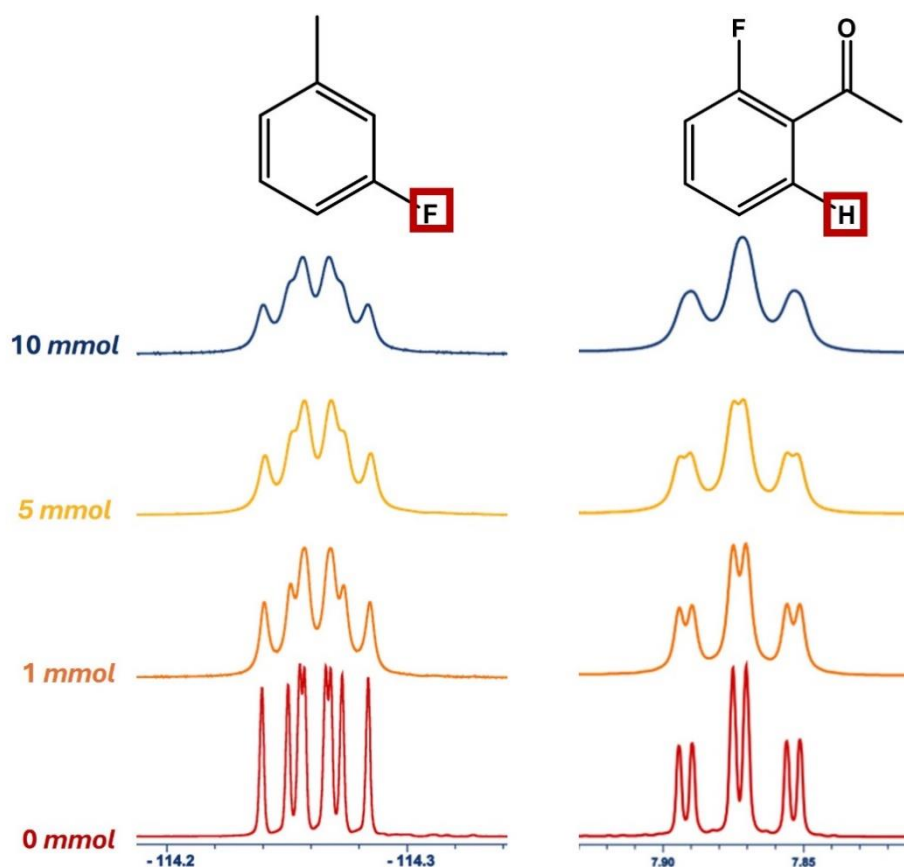


Figura 27: Alargamento dos sinais de ^1H e ^{19}F , destacados nas estruturas do orto-fluorotolueno e orto-fluoroacetofenona, gerado pela adição de $\text{Cr}(\text{acac})_3$. Análises realizadas em equipamento Bruker Avance III 14,1 T (600 MHz para ^1H) e CDCl_3 como solvente.

Ao longo da adição de $\text{Cr}(\text{acac})_3$ no desenho experimental, os espectros de ^1H e ^{19}F não apresentam coalescência de linhas que são separadas em uma distância maior que três hertz. Esta tendência foi observada para os três isótopos analisados e se mantém ao longo dos compostos estudados. Tal característica experimental endossa o uso limite desta proporção molar nos experimentos.

Extensão do efeito do mecanismo de relaxação paramagnética

A ação do mecanismo de relaxação paramagnética é descrita como a interação do momento magnético do elétron desemparelhado com as moléculas do analito, conforme explicado na introdução. Esta interação é facilitada por grupos na estrutura molecular com maior densidade eletrônica, que promovem a complexação do agente de relaxação com o analito. A Figura 28 mostra a

variação dos tempos de relaxação dos núcleos de carbono (destacados) das moléculas cicloexano, cicloexeno e cicloexanol. Podemos perceber que a existência de uma ligação dupla na estrutura faz com que a interação com o $\text{Cr}(\text{acac})_3$ seja mais intensa, se traduzindo em uma diminuição de T_1 mais acentuada. Ainda, podemos perceber a redução do tempo de relaxação ainda mais acentuada no cicloexanol, possivelmente devido a hidroxila se portar como sítio de interação mais eficiente.

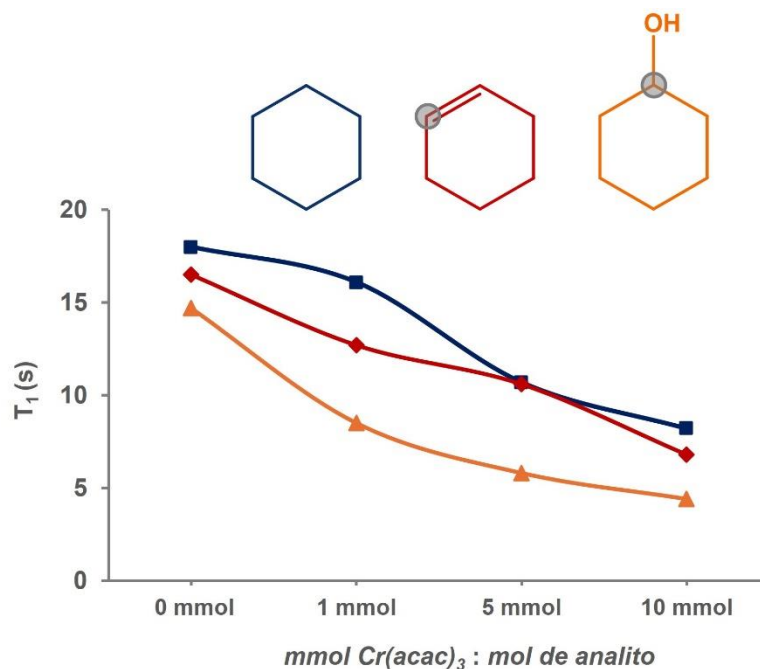


Figura 28: Variação dos tempos de relaxação dos núcleos de ^{13}C do cicloexeno, cicloexeno e cicloexanol, com o aumento da quantidade de $\text{Cr}(\text{acac})_3$. Medidas realizadas em equipamento Bruker Avance III 9,4 T (100 MHz para ^{13}C). O solvente utilizado foi CDCl_3 .

Além disso, as interações que promovem o mecanismo de relaxação paramagnético são dependentes da distância dos spins do elétron e do núcleo a partir da complexação do metal paramagnético com o analito. Dessa forma, buscamos entender como este efeito se estende pelas moléculas com relação à distância do sítio de complexação. O enfoque desta seção será analisar moléculas com diferentes tamanhos e tipos de cadeias carbônicas, submetidas a faixa de variação do $\text{Cr}(\text{acac})_3$. Assim, a intensidade do efeito ao longo dos esqueletos moleculares e comparações entre os diferentes núcleos estudados serão abordadas.

A Figura 29 compara os núcleos de hidrogênio do hexanol mais próximos (1) e mais distantes (6) da hidroxila, proposta como sítio de

complexação, mostrando a variação dos tempos de relaxação longitudinal ao longo da adição do agente paramagnético.

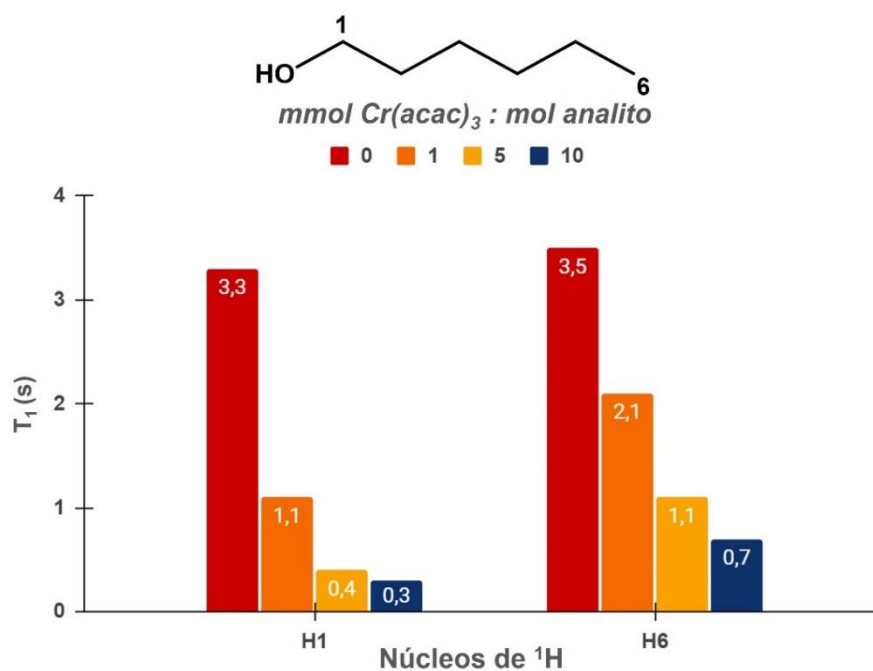


Figura 29: Variação dos tempos de relaxação dos núcleos de ¹H destacados do hexanol, com o aumento da quantidade de Cr(acac)₃. Medidas realizadas em equipamento Bruker Avance III 9,4 T (400 MHz para ¹H). O solvente utilizado foi CDCl₃.

É mostrado um notável decréscimo mais acentuado nos valores de T₁ de H1, que teve uma redução de 91% em seu tempo de relaxação, ao passo em que o hidrogênio 6 alcançou 80% de diminuição. Apesar da pouca diferença, este padrão é observado em todas as moléculas analisadas. Este comportamento também é visto no caso dos átomos de carbonos, como mostra a Figura 30, que compara os valores de T₁ dos carbonos mais próximos (1) e mais distantes (6) da hidroxila na mesma molécula.

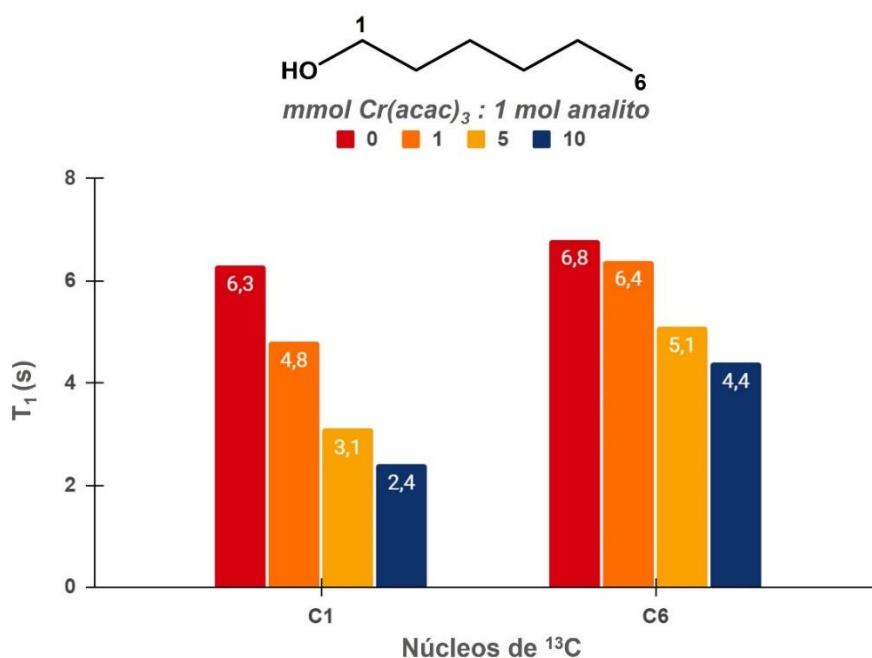


Figura 30: Variação dos tempos de relaxação dos núcleos de ¹³C destacados do hexanol, com o aumento da quantidade de Cr(acac)₃. Medidas realizadas em equipamento Bruker Avance III 9,4 T (100 MHz para ¹³C). O solvente utilizado foi CDCl₃.

Observamos uma redução de 62% para o carbono 1 e 36% para o carbono 6. Fica evidente que a diminuição em T₁ é favorecida pela maior proximidade do núcleo com o local da complexação do Cr(acac)₃. Isto evidencia a dependência da distância dos spins na efetividade do mecanismo de relaxação paramagnética.

A eficiência do Cr(acac)₃ nos diferentes tipos de núcleos analisados no projeto também foi avaliada. Para minimizar diferenças estruturais na comparação, os núcleos mais externos de ¹H, ¹⁹F e ¹³C no *o*-fluorotolueno foram escolhidos e tiveram seus tempos de relaxação medidos ao longo da curva de adição de Cr(acac)₃. O resultado é mostrado na Figura 31:

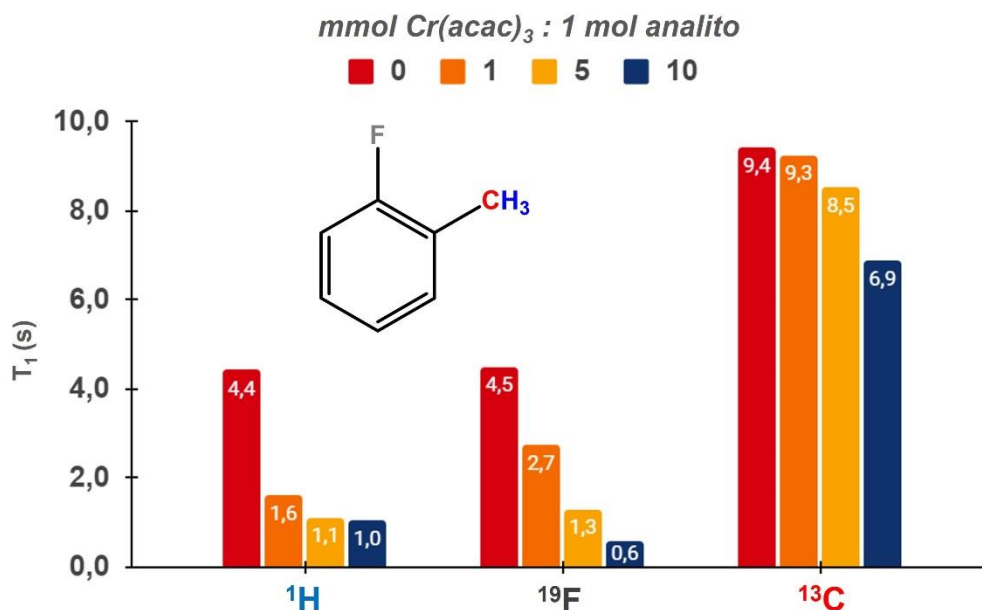


Figura 31: Variação dos tempos de relaxação dos núcleos de ¹H, ¹⁹F e ¹³C destacados do o-fluorotolueno, com o aumento da quantidade de Cr(acac)₃. Medidas realizadas em equipamento Bruker Avance III 14,1 T. O solvente utilizado foi CDCl₃.

É evidente que a diminuição dos valores de T₁ é mais efetiva nos núcleos de hidrogênio e flúor, o que os elegem como mais sensíveis ao efeito do mecanismo de relaxação paramagnético em relação ao carbono. De fato, os núcleos de ¹H e ¹⁹F alcançam uma diminuição de 77% e 88%, respectivamente, ao passo em que o núcleo de ¹³C alcançou apenas 27%.

Este padrão também ocorre em todas as moléculas estudadas neste trabalho e pode ser associado ao fato dos núcleos de ¹³C estarem inerentemente mais internos nas moléculas, dificultando seu contato com o agente de relaxação. Com esta análise, podemos entender como o mecanismo de relaxação paramagnética se estende ao esqueleto molecular e assim, prever a quantidade necessária do agente de relaxação para alcançar a diminuição desejada de T₁ em certa porção molecular.

Sítio de Interação e a Intensidade do Mecanismo de Relaxação Paramagnético

A parcela molecular responsável pela interação com agente de relaxação é diretamente relevante para a promoção do mecanismo paramagnético. Esta seção foca em evidenciar a relação entre a complexação do Cr(acac)₃ com sítios de natureza químicas distintas, com o objetivo de elucidar a sua interação com o analito. Para isso diferentes padrões de

substituição em anel aromático, utilizando análogos estruturais do fluorotolueno foram analisados.

Inicialmente, buscamos comparar a relação entre o impedimento estérico causado pelo substituinte metil, nas moléculas *orto*-, *meta*- e *para*-fluorotolueno. Para isso, primeiro foi atestado a capacidade do flúor como provável e principal sítio de complexação. Em direção a endossar esta hipótese, podemos comparar a intensidade da relaxação paramagnética na molécula de *orto*-fluorotolueno, avaliando a diferença no decréscimo dos tempos de relaxação nos carbonos indicados na figura 32.

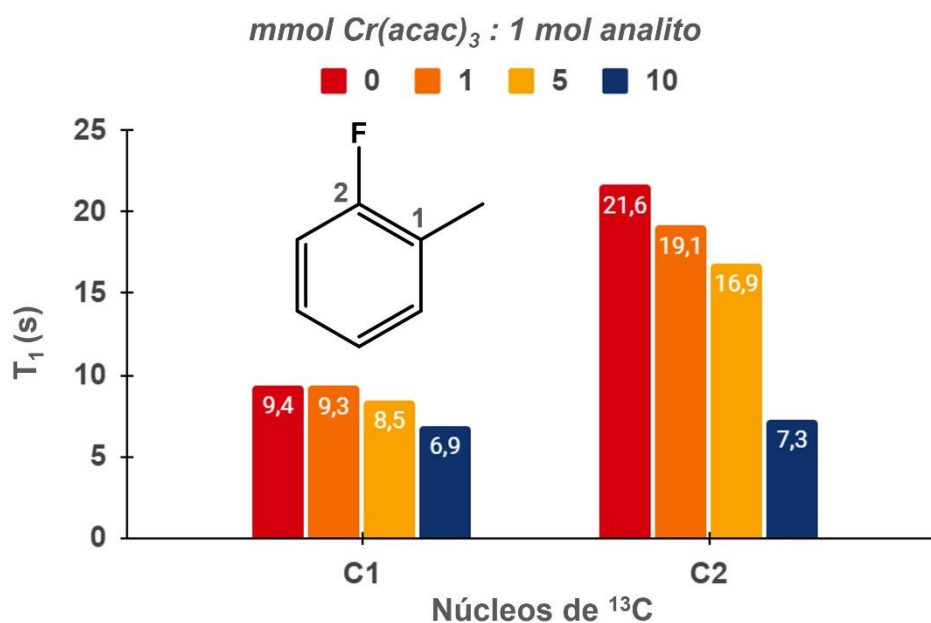


Figura 32: Variação dos tempos de relaxação dos núcleos de ¹³C destacados do *o*-fluorotolueno, com o aumento da quantidade de Cr(acac)₃. Medidas realizadas em equipamento Bruker Avance III 9,4 T (100 MHz para ¹³C). O solvente utilizado foi CDCl₃.

Os resultados apresentados indicam uma diminuição muito mais acentuada para o carbono ligado ao flúor. A porcentagem de diminuição, usada para padronizar os valores, reforça isso. O carbono da metila alcançou uma diminuição de 27% do valor referente ao analito puro, enquanto o carbono ligado ao flúor obteve 66%, indicando que o átomo de flúor deve servir como sítio de complexação. Os resultados são similares para os análogos moleculares *meta* e *para* substituídos, como demonstrados na Figura 33:

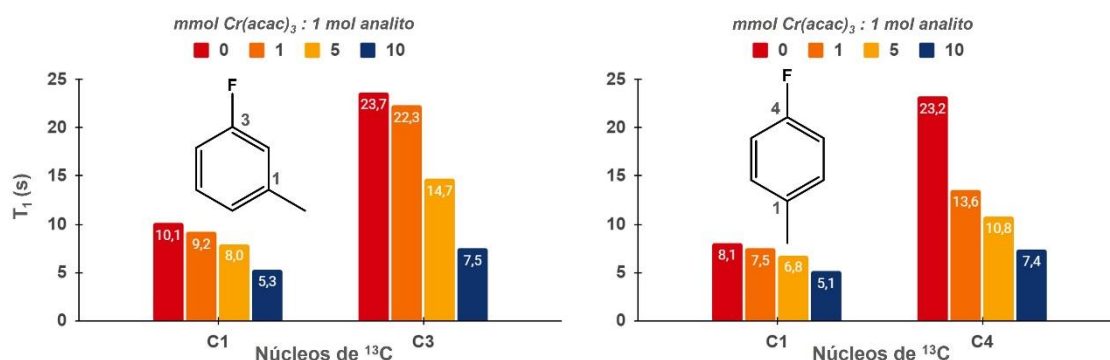


Figura 33: Variação dos tempos de relaxação dos núcleos de ¹³C destacados do *m*-fluorotolueno (esquerda) e *p*-fluorotolueno (direita), com o aumento da quantidade de Cr(acac)₃. Medidas realizadas em equipamento Bruker Avance III 14,1 T (150 MHz para ¹³C). O solvente utilizado foi CDCl₃.

Tanto o substituinte meta quanto o orto tiveram reduções de T₁ maiores no carbono ligado ao átomo de flúor. Dessa forma, podemos assumi-lo como a principal região de interação com o Cr(acac)₃ nas moléculas analisadas.

Assim, foi proposto apenas relacionar o impedimento estérico causado por um mesmo grupo, em diferentes posições e proximidade com o sítio de interação. A Figura 34 mostra a comparação do efeito do mecanismo de relaxação paramagnética nos núcleos de carbono destacados.

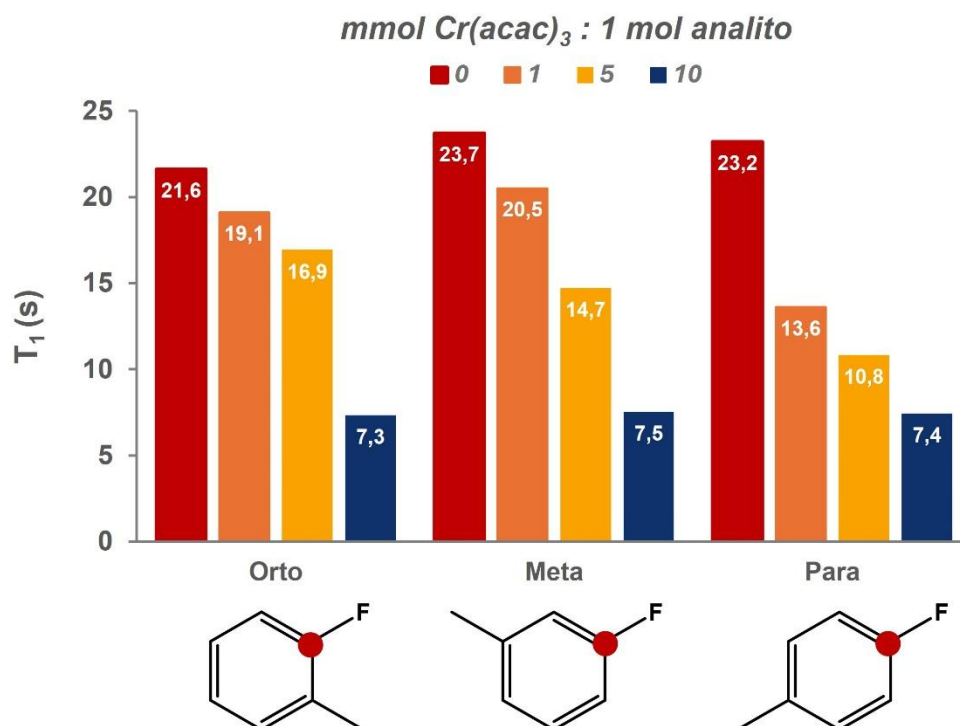


Figura 35: Comparação da variação dos tempos de relaxação dos núcleos de ¹³C destacados das moléculas de *o*-, *m*- e *p*-fluorotolueno, com o aumento da quantidade de Cr(acac)₃. Medidas realizadas em equipamento Bruker Avance III 14,1 T (150 MHz para ¹³C). O solvente utilizado foi CDCl₃.

Quando comparamos as menores proporções do agente de relaxação, fica nítido que o composto menos impedido, *p*-fluortolueno, apresenta um decréscimo muito mais acentuado em T_1 em comparação aos análogos *orto* e *meta*. No composto *para* substituído, o carbono analisado na proporção de 1 mmol tem uma diminuição de 41% no valor de seu tempo de relaxação inicial (sem AR), enquanto *orto* e *meta* tiveram uma diminuição de 12% e 6% respectivamente. A medida em que a quantidade de $\text{Cr}(\text{acac})_3$ aumenta, a ação do mecanismo de relaxação paramagnética se torna equiparável e os valores de T_1 se nivelam.

Para reforçar essa observação, a mesma comparação foi realizada com relação ao tempo de relaxação do próprio flúor. A Figura 36 mostra graficamente esses dados.

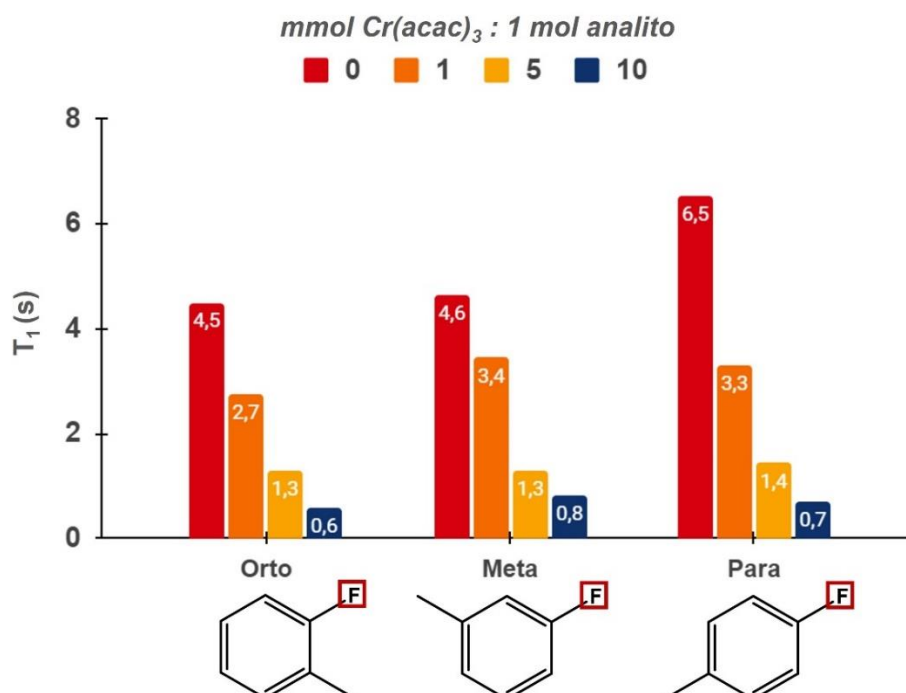


Figura 36: Comparação da variação dos tempos de relaxação dos núcleos de ^{19}F das moléculas de *o*-, *m*- e *p*-fluorotolueno, com o aumento da quantidade de $\text{Cr}(\text{acac})_3$. Medidas realizadas em equipamento Bruker Avance III 14,1 T (565 MHz para ^{19}F). O solvente utilizado foi CDCl_3 .

Apesar do perfil de redução ser similar para os analitos estudados, ainda é observada uma tendência maior de interação para o analito *para* substituído em menores proporções molares do AR. Este fato é demonstrado em seu maior percentual de redução de T_1 , que atinge 50% do valor inicial, ao passo que para os equivalentes *orto* e *meta* a diminuição chega a apenas de 39% e 26% respectivamente. A menor diferença dos valores em relação a análise de

^{13}C pode ser explicada devido ao átomo de flúor estar mais exposto na molécula, de modo que é possível que este se aproxime mais do AR mesmo quando a metila se encontra em um arranjo que provoque maior impedimento. Além disso, similaridade dos valores de T_1 nas proporções maiores em ambos os casos, pode ser entendido como uma saturação do metal paramagnético em solução. Neste ponto, o impedimento estérico não é mais capaz de prejudicar a interação do $\text{Cr}(\text{acac})_3$ com o analito.

A capacidade de diferentes sítios em promover a complexação também foi analisada. O fundamento desta análise é buscar evidenciar a facilidade da interação entre o $\text{Cr}(\text{acac})_3$ e o analito a depender dos grupos existentes e de suas naturezas eletrônicas.

Dessa forma, mantendo a estrutura aromática e fluorada dos analitos, o grupo metila foi comparado com outros de natureza quimicamente diferentes. As escolhas de grupos substituintes para essa análise contemplam capacidades distintas de habilidade doadora/acceptora de elétrons. Seguindo a análise anterior, o mesmo núcleo de carbono ligado diretamente ao flúor foi comparado para as diferentes moléculas estudadas. O padrão de substituição *orto* foi mantido para todas as moléculas devido sua maior proximidade estrutural. Os resultados obtidos mostrados na Figura 37, juntamente com as estruturas dos analitos.

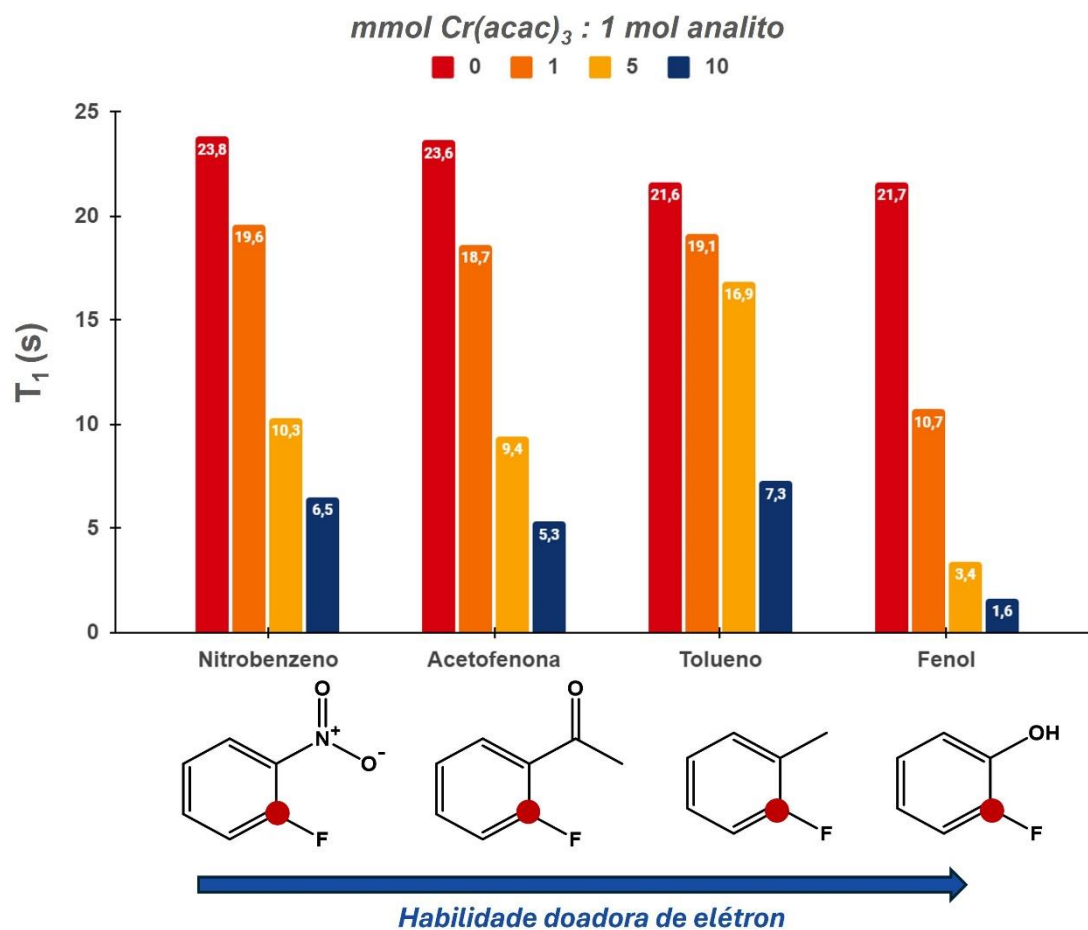


Figura 37: Comparação da variação dos tempos de relaxação com o aumento da quantidade de $\text{Cr}(\text{acac})_3$ dos núcleos de ^{13}C destacados nas estruturas esquematizadas, em ordem crescente de capacidade doadora de densidade para o anel. Medidas realizadas em equipamento Bruker Avance III 14,1 T (150 MHz para ^{13}C). O solvente utilizado foi CDCl_3 .

Uma diminuição mais pronunciada nos tempos de relaxação em relação a maior habilidade doadora de elétrons, crescente do grupo substituinte nitro a hidroxila, é observada. A exceção a esta correlação é observada no caso do grupo metila, que apresenta um efeito inferior na diminuição do que o previsto na série, principalmente em menores quantidades do agente de relaxação. Este efeito pode ser visualizado na comparação de porcentagem de redução, como exemplo, observemos a proporção molar de 5 mmol de $\text{Cr}(\text{acac})_3$. Os analitos de grupo nitro, carbonila e hidroxila apresentam uma linearidade na diminuição de T_1 , que segue respectivamente 57%, 60% e 85%, enquanto o contendo o grupo metila alcança apenas 22%, mesmo este tendo maior capacidade doadora em relação aos dois primeiros. Uma hipótese que busca explicar este comportamento é a inefetividade do grupo metila em complexar o metal, já que ele não apresenta diferença de polaridade acentuada em sua constituição. Além

disso, devido a sua capacidade de doar densidade eletrônica apenas para o sistema sigma, o grupo não melhora a interação do sistema π com o metal, sendo esta outra possível fonte de interação.

Assim, em relação ao estabelecimento de uma interação efetiva entre o $\text{Cr}(\text{acac})_3$ e uma molécula aromática, a existência de grupos capazes de interagir com o metal paramagnético parece se sobressair em relação a natureza doadora de densidade eletrônica. Dessa forma, em conjunto com as relações estabelecidas na seção anterior, que competem a extensão do efeito de ação do $\text{Cr}(\text{acac})_3$, evidenciamos os efeitos estruturais que podem facilitar a ação do mecanismo paramagnético.

Por fim, podemos analisar a competição de interação do agente de relaxação com diferentes sítios de complexação presentes na estrutura de uma molécula. A Figura 38 mostra a redução de T_1 dos carbonos 1 e 6 do analito 4-dimetilamino benzaldeído, ao longo da adição de $\text{Cr}(\text{acac})_3$.

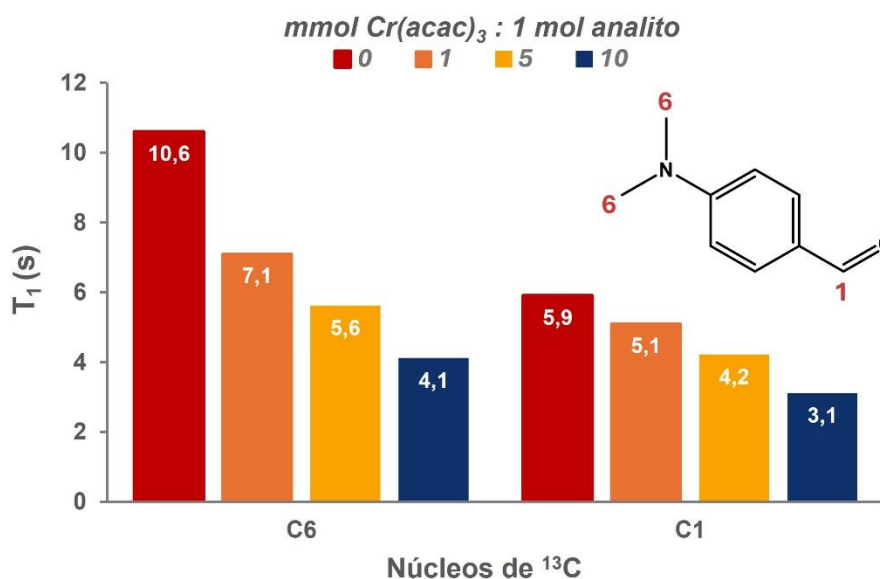


Figura 38: Diminuição dos tempos de relaxação dos carbonos 1 e 6 do 4-dimetilamino benzaldeído com o aumento da quantidade de $\text{Cr}(\text{acac})_3$. Medidas realizadas em equipamento Bruker Avance III 14,1 T (150 MHz para ^{13}C). O solvente utilizado foi CDCl_3 .

Como podemos perceber, os carbonos ligados ao nitrogênio têm uma diminuição dos valores de T_1 mais acentuada em comparação com o carbono do aldeído. Isto fica mais claro ao analisarmos a porcentagem de redução destes núcleos. O carbono 1 apresenta diminuição de 47,5% com a maior proporção molar de $\text{Cr}(\text{acac})_3$, ao passo em que o carbono 6 alcançou 61,3%. Este efeito

pode ser atribuído a maior facilidade do nitrogênio em atuar como base de Lewis, fazendo com que a interação com o cromo seja favorecida.

O efeito do solvente

O solvente tem um papel importante no preparo de amostras na RMN. Devido à baixa sensibilidade da técnica, a solubilidade dos analitos é imprescindível para análises ideais. Também, a mudança das propriedades físicas dos solventes, como viscosidade e constante dielétrica, mudam a dinâmica do analito em solução. Isso pode resultar na observação de acoplamentos e deslocamento químicos específicos em cada solvente. Além disso, por influenciar na dinâmica da solução, essas propriedades físicas têm potencial de promover a variação dos tempos de relaxação dos spins nucleares. Solventes mais viscosos, por exemplo, fazem com que os movimentos de *tumbling* moleculares admitam um regime mais lento, fazendo com que os valores de T_1 passem por um mínimo e até que comecem a aumentar. Isto pode ser visto na Figura 9 apresentada na introdução.

Desta forma, a intensidade da ação de um agente de relaxação pode ser condicionada ao solvente empregado na amostra. Por isso, um estudo envolvendo a utilização de solventes com diferentes propriedades físicas foi realizado a fim de elucidar possíveis interferências na ação do mecanismo de relaxação paramagnético.

Utilizando a cânfora como analito, a redução do tempo de relaxação com adição do $\text{Cr}(\text{acac})_3$ foi comparada em solventes deuterado com diferentes valores de constante dielétrica (ϵ). A Figura 39 mostra os resultados obtidos para o carbono 1 do analito, nas condições de analito puro e 10 mmol de $\text{Cr}(\text{acac})_3$ para cada mol de cânfora. Os solventes escolhidos foram acetona e acetonitrila, que tem valores de ϵ de 20,5 e 35,7 respectivamente⁶⁵.

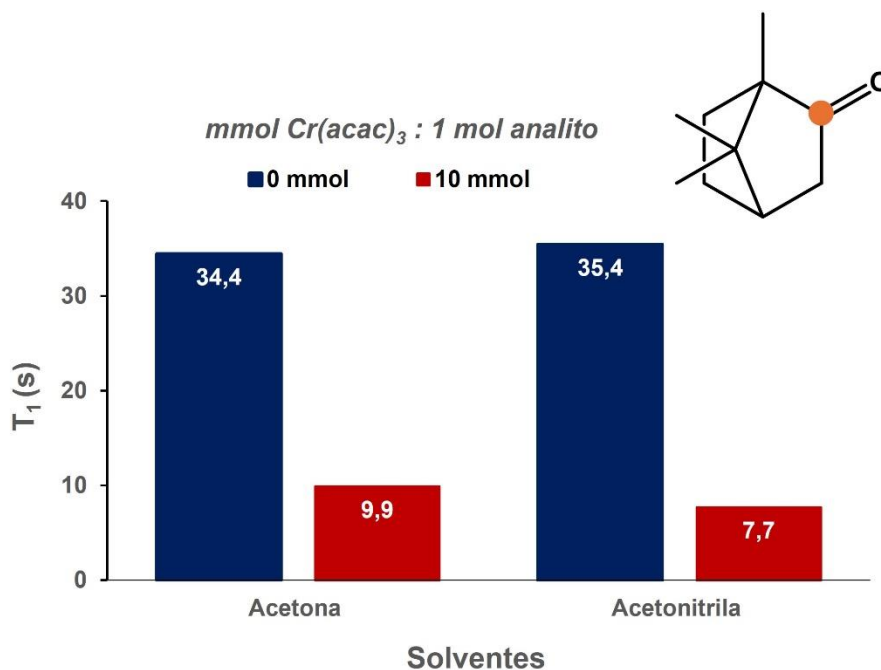


Figura 39: Comparação da variação dos tempos de relaxação do carbono 1 (destacado) da cânfora nos solventes acetona e acetonitrila na ausência (azul) e presença (vermelho) de 10 mmol de Cr(acac)₃ para cada mol de analito. Medidas realizadas em equipamento Bruker Avance III 9,6 T (100 MHz para ¹³C). O solvente utilizado foi CDCl₃.

Como podemos ver, a redução dos tempos de relaxação é similar em ambos os casos, assim como o percentual de diminuição, que apresentou 71% para a acetona e 78% para a acetonitrila. Os solventes analisados possuem valores de viscosidade similares. Para analisar a interferência desta propriedade, o mesmo estudo foi realizado utilizando o diclorometano e o tetracloreto de carbono como solventes, que possuem valores de constante dielétrica similares e viscosidade de 0,43 e 1,6 centiPoise (cP) respectivamente⁶⁵. Os valores de T₁ medidos na ausência e presença de 10 mmol de Cr(acac)₃ para os dois solventes são mostrados na Figura 40, usando mais uma vez o carbono 1 da cânfora para comparação.

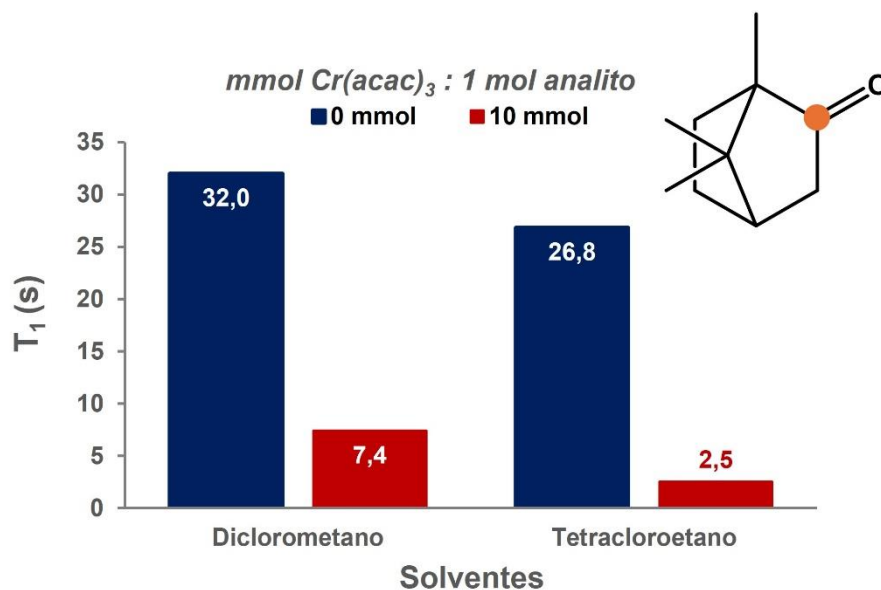


Figura 41: Comparação da variação dos tempos de relaxação do carbono 1 (destacado) da cânfora nos solventes diclorometano e tetracloroetano na ausência (azul) e presença (vermelho) de 10 mmol de Cr(acac)₃ para cada mol de analito. Medidas realizadas em equipamento Bruker Avance III 9,6 T (100 MHz para ¹³C). O solvente utilizado foi CDCl₃.

Percebemos também, uma similaridade no perfil de diminuição de T₁ em ambos os casos. Ao analisarmos o percentual de redução, encontramos reduções de 77% e 91% para dicloroetano e tetracloroetano respectivamente. Dessa forma, podemos perceber que o solvente de maior viscosidade aparenta ter maior intensidade do mecanismo de relaxação paramagnética. De fato, este mesmo efeito é observado para o carbono 10 da cânfora, quando comparamos solventes com valores de viscosidades crescentes, como mostrado na figura 42.

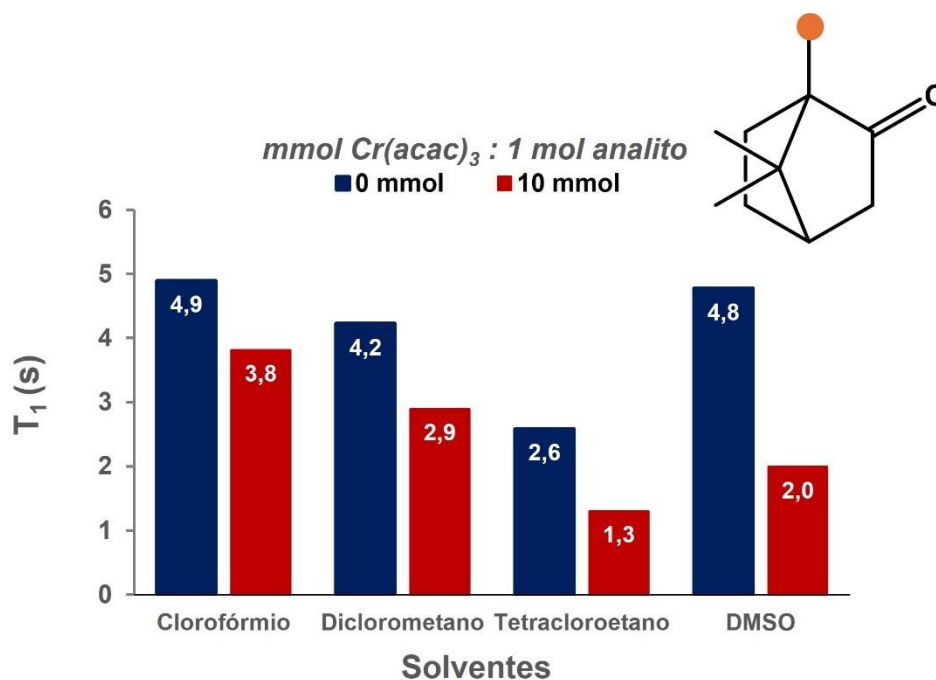


Figura 42: Comparação da variação dos tempos de relaxação do carbono 10 (destacado) da cânfora nos solventes clorofórmio, diclorometano, tetracloroetano e DMSO; na ausência (azul) e presença (vermelho) de 10 mmol de Cr(acac)₃ para cada mol de analito. Medidas realizadas em equipamento Bruker Avance III 9,6 T (100 MHz para ¹³C). O solvente utilizado foi CDCl₃.

A viscosidade do clorofórmio e DMSO são 0,55 e 2,14 cP respectivamente, e como já mencionado, 0,43 cP para o diclorometano e 1,6 cP para o tetracloroetano⁶¹. Comparando as porcentagens de redução de T₁ à medida em que os solventes crescem em viscosidade, é notado uma diminuição progressivamente maior, passando de 22%, 31%, 49% e 58% de clorofórmio, diclorometano, tetracloroetano e DMSO respectivamente.

Assim, a viscosidade do solvente utilizado parece facilitar a interação do Cr(acac)₃ com o analito, intensificando assim o mecanismo de relaxação paramagnética. Por outro lado, a constante dielétrica não apresenta quaisquer interferências na diminuição de T₁ por adição de agente de relaxação dentro dos solventes estudados.

O efeito do Campo

As comparações postuladas neste tópico visam observar a relação de predominância entre os mecanismos de relaxação paramagnética e CSA. Para isso, foi analisada a influência do campo magnético na diminuição dos tempos de relaxação provocadas pela adição do Cr(acac)₃.

Os núcleos de ^1H não apresentam influência significativa do mecanismo CSA. Dessa forma, seus tempos de relaxação não sofrem diferenças consideráveis nas variações de magnitude de B_0 e a adição de $\text{Cr}(\text{acac})_3$ tem perfil de redução de T_1 similar nos campos magnéticos analisados, como mostra a Figura 43.

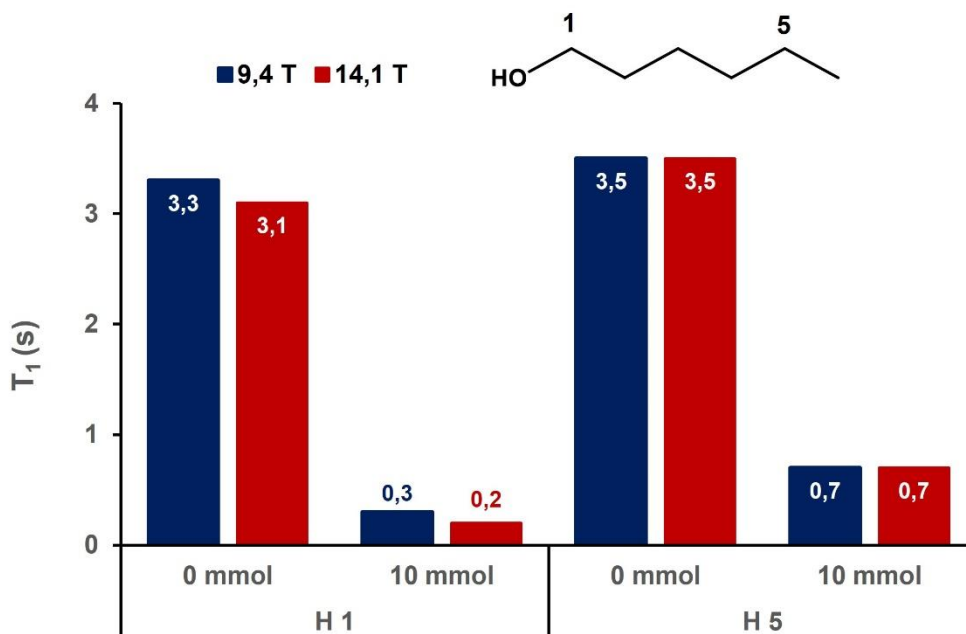


Figura 43: Comparação da variação dos tempos de relaxação dos hidrogênios 1 e 5 do hexanol nos campos magnéticos de 9,4T (azul) e 14,1T (vermelho) na ausência e presença de 10 mmol de $\text{Cr}(\text{acac})_3$ para cada mol de analito. O solvente utilizado foi CDCl_3 .

Já para os núcleos de ^{13}C , onde o mecanismo de anisotropia do deslocamento químico é mais significativo, podemos mensurar a competição dos mecanismos analisando os tempos de relaxação da molécula metil-2-fluoropropanato. A Tabela 4 apresentou os valores medidos de tempo de relaxação para os carbonos do analito nas magnitudes de B_0 de 9,4 e 14,1 T, os quais são ilustrados na Figura 44.

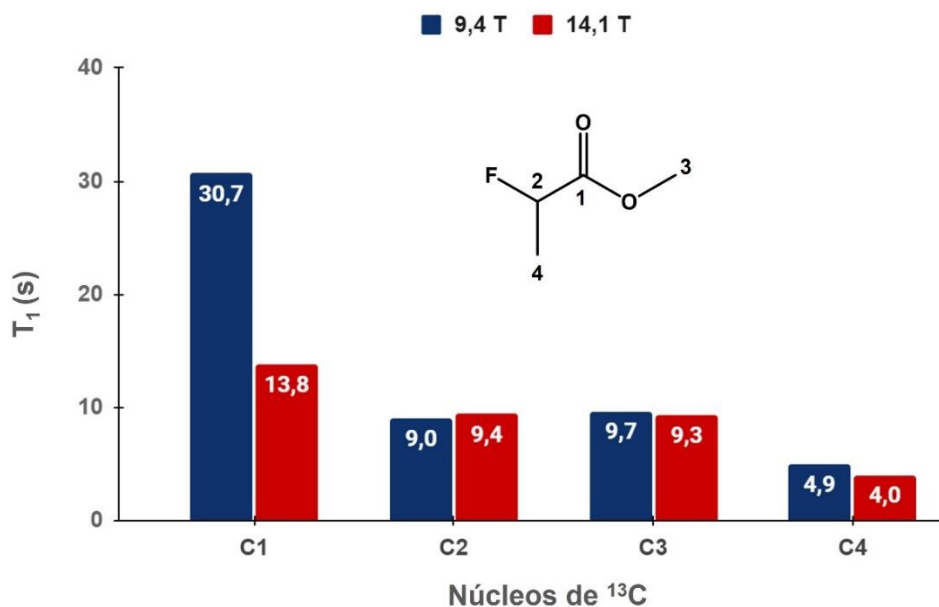


Figura 44: Comparação dos tempos de relaxação dos carbonos da metil-2-fluoropropanato nos campos magnéticos de 9,4 T (azul) e 14,1 T (vermelho) na condição de analito puro. O solvente utilizado foi CDCl_3 .

O carbono 1 apresenta uma diferença considerável nos valores de T_1 medidos. Isso ocorre graças à sua maior assimetria, consequência da dupla ligação, que faz com que o mecanismo CSA seja mais pronunciado.

Quando o agente de relaxação $\text{Cr}(\text{acac})_3$ é adicionado, percebemos que os tempos de relaxação se equiparam em valor, conforme mostrado na Figura 45.

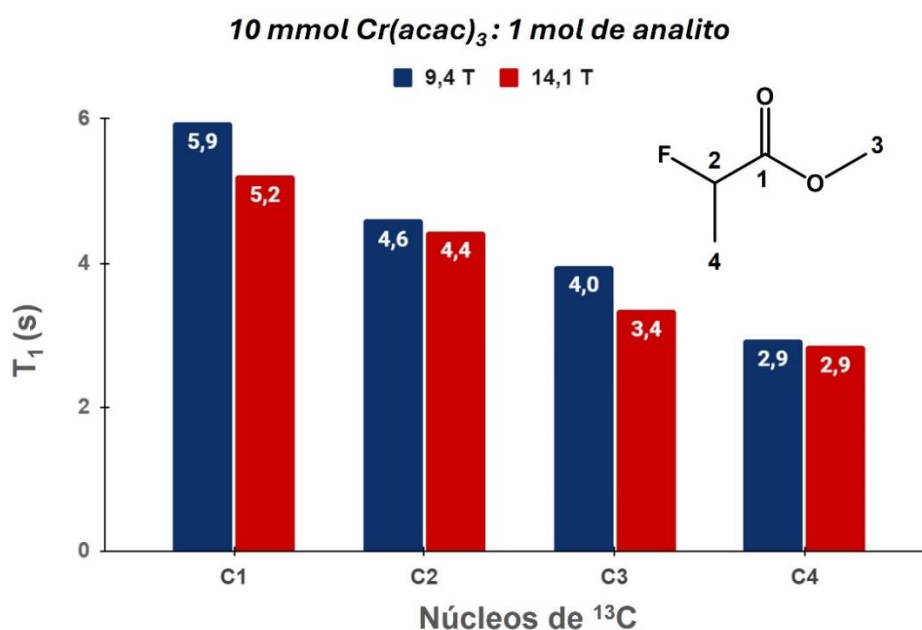


Figura 45: Comparação dos tempos de relaxação dos carbonos da metil-2-fluoropropanato nos campos magnéticos de 9,4 T (azul) e 14,1 T (vermelho) com a proporção de 10 mmol de $\text{Cr}(\text{acac})_3$ para cada mol de analito. O solvente utilizado foi CDCl_3 .

Os resultados mostram que a adição de $\text{Cr}(\text{acac})_3$ resultou em valores similares dos tempos de relaxação em ambas as magnitudes de campo magnético, mesmo para núcleos que apresentam forte contribuição do mecanismo CSA. Isto sugere que o mecanismo de relaxação paramagnética compete e aparenta ter maior contribuição em comparação ao mecanismo de relaxação de anisotropia do deslocamento químico.

Quando comparamos as porcentagens de relaxação alcançadas, observamos que os equipamentos com menores campos magnéticos apresentam taxas maiores de diminuição, devido aos seus valores maiores de T_1 . No caso acima, por exemplo, o carbono 1 obteve uma diminuição de 41% em 14,1 T e 64% em 9,4 T. Apesar dos valores, isso não sugere que o mecanismo de relaxação paramagnética é mais acentuado em menores magnitudes de B_0 , mas sim que as flutuações dos campos locais que promovem a relaxação nuclear sejam originadas por ele em sua grande maioria, uma vez que o mecanismo CSA não apresenta grande contribuição em campos menores.

Finalmente, a discussão apresentada nesse tópico demonstra que a ação do $\text{Cr}(\text{acac})_3$ na diminuição dos tempos de relaxação não tem influência do campo magnético utilizado nos experimentos. Além disso, provam que a contribuição do mecanismo de relaxação paramagnético nos valores de T_1 dos núcleos de carbono é maior do que a contribuição do mecanismo de relaxação CSA, na presença do agente de relaxação.

Efeito da Temperatura

Retomando o exemplo apresentado, a Figura 23 mostrou que os tempos de relaxação dos núcleos de hidrogênio aumentam com o aquecimento. De forma comparativa, a Figura 46 mostra estes mesmos valores de T_1 com a adição do agente de relaxação $\text{Cr}(\text{acac})_3$, na condição proporção experimental de 10 mmol: mol de analito, para a mesma molécula.

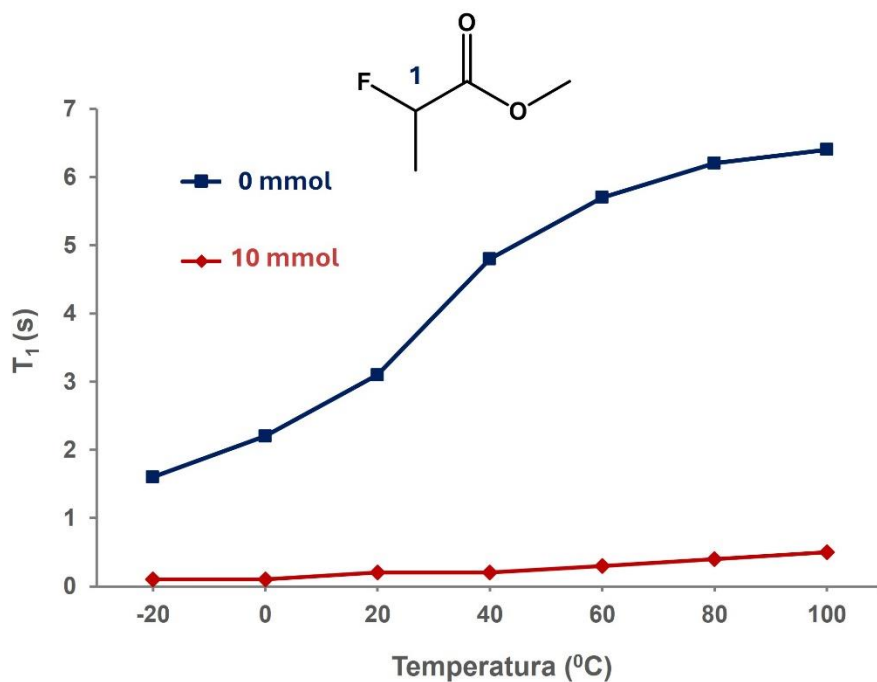


Figura 46: Dependência dos valores de T_1 do hidrogênio 1 (apontado na estrutura) da molécula metil-2-fluoropropanoato em relação a temperatura, na ausência (curva azul) e na presença (curva vermelha) de 10 mmol de $\text{Cr}(\text{acac})_3$ por mol de analito. O solvente utilizado foi $\text{C}_2\text{D}_2\text{Cl}_4$ e o experimento foi conduzido no equipamento com campo magnético de 14,1 T (600 MHz para ^1H).

Podemos perceber que apesar dos valores de tempo de correlação terem menor valor, contribuindo para o aumento de T_1 , os tempos de relaxação não variam muito em magnitude apesar do aumento da temperatura. Além disso, é perceptível que a redução percentual dos valores é maior em temperaturas altas, uma vez que a diferença entre o tempo de relaxação obtido na ausência e presença do $\text{Cr}(\text{acac})_3$ também é maior.

Também foi avaliado a ação do $\text{Cr}(\text{acac})_3$ em núcleos que apresentam o mecanismo de relaxação de rotação de spin com o aumento da temperatura. Isto pode ser observado na Figura 47, que compara os tempos de relaxação do núcleo de flúor na molécula metil-2-fluoropropanoato com a variação de temperatura, na ausência e presença de $\text{Cr}(\text{acac})_3$.

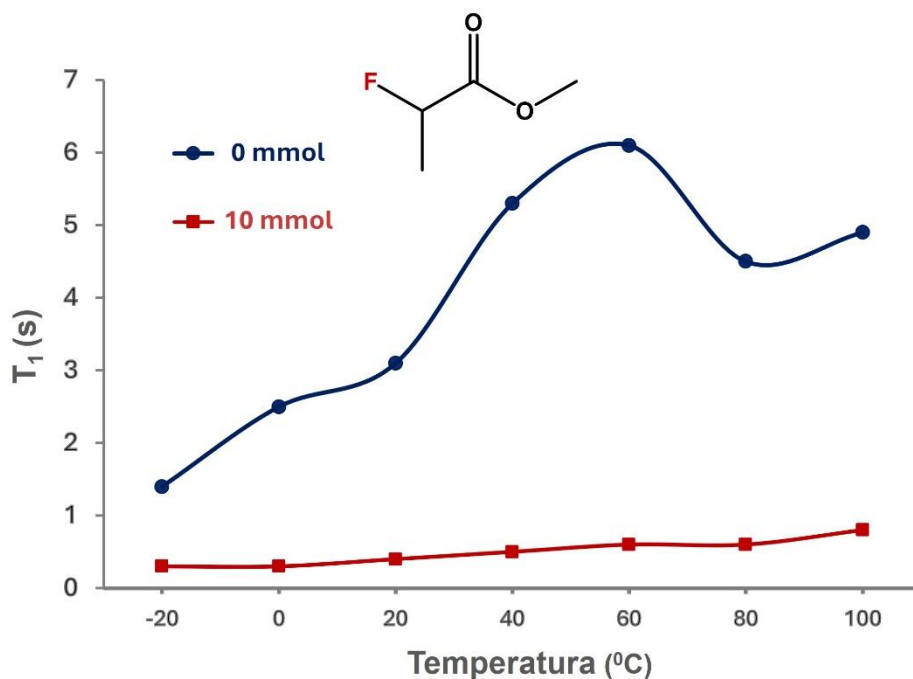


Figura 47: Dependência dos valores de T_1 do núcleo de flúor (destacado na estrutura) da molécula metil-2-fluoropropanoato em relação a temperatura, na ausência (curva azul) e na presença (curva vermelha) de 10 mmol de $\text{Cr}(\text{acac})_3$ por mol de analito. O solvente utilizado foi $\text{C}_2\text{D}_2\text{Cl}_4$ e o experimento foi conduzido no equipamento com campo magnético de 14,1 T (565 MHz para ^{19}F).

Podemos perceber que os valores de T_1 com a adição do agente de relaxação apresentam o mesmo comportamento observado no caso dos núcleos de hidrogênio. A partir de 60° C, onde o mecanismo de rotação de spin passa a ter contribuição, poderíamos esperar uma maior diminuição dos valores de T_1 , devido a “soma” das contribuições dos dois mecanismos. Isto dá indícios de que o efeito do mecanismo de relaxação paramagnético pode não ser mais pronunciado em altas temperaturas, mas sim que há o domínio do processo na relaxação nuclear do sistema em relação ao mecanismo de rotação de spin.

Por fim, o mesmo tipo de estudo foi feito com núcleos de carbono, objeto de interesse do estudo. A Figura 48 mostra os tempos de relaxação do carbono 1 da molécula metil-2-fluoropropanoato obtidos sob variação de temperatura, na ausência a e presença do $\text{Cr}(\text{acac})_3$. Em uma primeira análise, os dados mostram que temos uma redução do valor de T_1 no último ponto de aquecimento na condição de analito puro, indicando a ocorrência do mecanismo de rotação de spin. Este resultado é plausível, visto que por se tratar de um carbono desidrogenado, o mecanismo de relaxação dipolo-dipolo tem baixa contribuição.

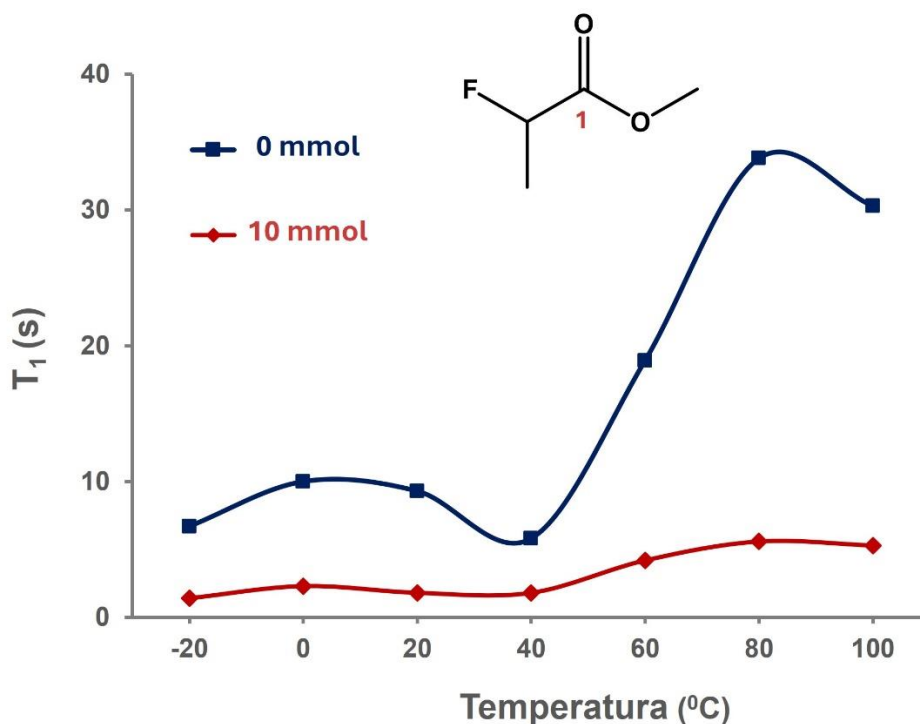


Figura 48: Dependência dos valores de T_1 do núcleo de carbono 1 (apontado na estrutura) da molécula metil-2-fluoropropanoato em relação a temperatura, na ausência (curva azul) e na presença (curva vermelha) de 10 mmol de $\text{Cr}(\text{acac})_3$ por mol de analito. O solvente utilizado foi $\text{C}_2\text{D}_2\text{Cl}_4$ e o experimento foi conduzido no equipamento com campo magnético de 14,1 T (125 MHz para ^{13}C).

Podemos ver, que mais uma vez o agente de relaxação consegue conter o aumento do tempo de relaxação originados pelo aquecimento. A variação máxima de T_1 do carbono estudado na condição de analito puro chegou ao valor de 33 segundos na temperatura de 80 °C, enquanto na presença de $\text{Cr}(\text{acac})_3$ o valor máximo foi de 5,6 segundos.

As análises desta seção mostraram a grande efetividade do $\text{Cr}(\text{acac})_3$ em promover a redução dos tempos de relaxação mesmo em condições experimentais que levam ao seu acréscimo. Além disso, podemos observar que o mecanismo de relaxação paramagnética compete e aparenta ser mais importante em relação ao mecanismo de relaxação de rotação de spin na faixa de temperatura analisada.

4.2 Diminuição dos Tempos Experimentais em RMNq

Esta seção final visa aplicar a metodologia analisada durante o trabalho sobre o efeito do $\text{Cr}(\text{acac})_3$ na diminuição dos tempos de relaxação,

buscando diminuir os tempos experimentais sem comprometer o resultado analítico da quantificação. Para isso, o fármaco Ibuprofeno foi selecionado para o estudo, onde análises quantitativas foram realizadas na ausência e na presença de $\text{Cr}(\text{acac})_3$, utilizando a dimetilsulfona (DMSO_2) como padrão interno. O volume final de cada amostra foi de 600 μL , utilizando CDCl_3 como solvente.

A atribuição dos sinais do espectro de hidrogênio e carbono para este estudo são mostradas nas Figuras 49 e 50, respectivamente. Os números e letras serão usados como referência para o restante da discussão.

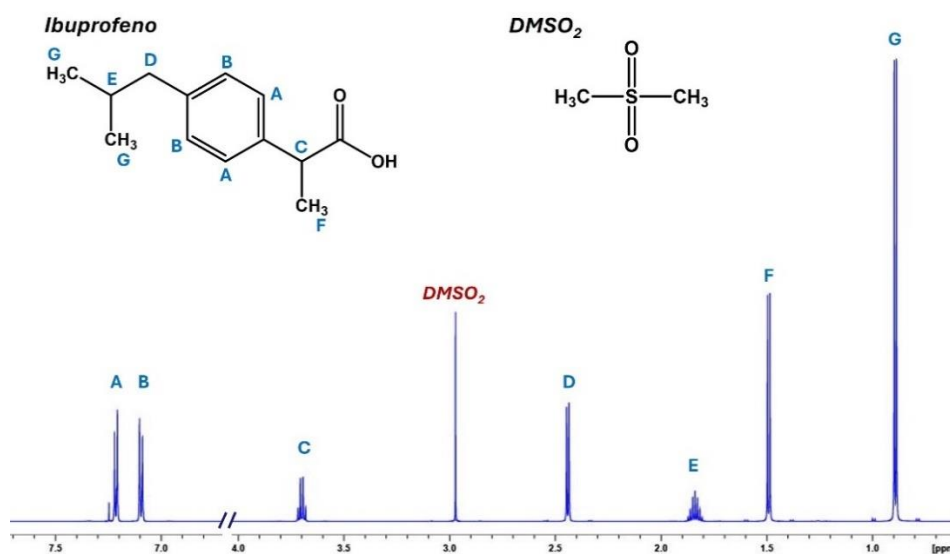


Figura 49: Atribuição dos sinais do espectro de RMN de ^1H da amostra contendo Ibuprofeno e DMSO_2 , obtido em equipamento de 9,4 T (400 MHz para ^1H), em CDCl_3 .

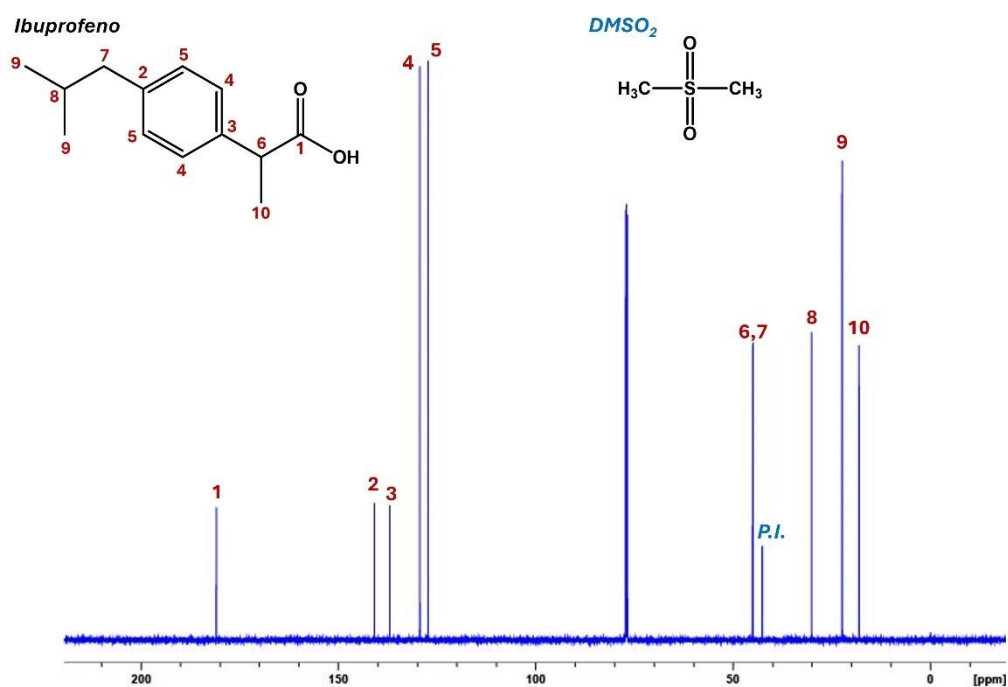


Figura 50: Atribuição dos sinais do espectro de RMN de ^{13}C da amostra contendo Ibuprofeno e DMSO_2 , obtido em equipamento de 9,4 T (100 MHz para ^{13}C), em CDCl_3 .

O primeiro ensaio foi realizado no equipamento de 9,4 T, utilizando a amostra de analito puro (amostra 1) e com 10 mmol de $\text{Cr}(\text{acac})_3$ para cada mol de Ibuprofeno (amostra 2). A massa dos analitos utilizada foi de $20,3 \pm 0,1$ mg e $20,2 \pm 0,1$ mg de analito para a amostra 1 e 2, respectivamente. O padrão interno foi preparado como solução estoque, utilizando um volume equivalente a 9,5 mg de DMSO_2 por amostra.

Inicialmente, os tempos de relaxação dos núcleos de ^1H e ^{13}C foram medidos. As tabelas 7 e 8 mostram os valores de T_1 obtidos para a amostra 1 e 2, para os núcleos de hidrogênio e carbono, respectivamente.

Tabela 7: Valores de tempos de relaxação para os núcleos de hidrogênio do Ibuprofeno e do DMSO_2 , na presença e ausência de $\text{Cr}(\text{acac})_3$, obtidos em equipamento de 9,4 T (400 MHz para ^1H).

		Ibuprofeno							DMSO_2	
		Ha	Hb	Hc	Hd	He	Hf	Hg	P.I.	
T_1 (S)	0 mmol	2,2	0,8	1,9	0,8	2,3	0,7	0,8	3,4	
	10 mmol	0,6	0,6	0,4	0,6	0,9	0,4	0,6	0,5	

Tabela 8: Valores de tempos de relaxação para os núcleos de carbono do Ibuprofeno e do DMSO_2 , na presença e ausência de $\text{Cr}(\text{acac})_3$, obtidos em equipamento de 9,4 T (100 MHz para ^{13}C).

		Ibuprofeno										DMSO_2	
		C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	P.I.	
T_1 (s)	0 mmol	6,7	6,5	10,9	1,9	1,6	6	2,4	3,9	1,9	1,2	5,8	
	10 mmol	3,1	4,6	3,8	1,7	1,6	1	1	2,5	1,3	0,8	3,4	

Como é mostrado, para a amostra 1, o valor de T_1 máx. para os hidrogênios é de 3,4 segundos, correspondendo aos hidrogênios do padrão interno; e 10,9 segundos para ^{13}C , correspondendo ao carbono 3 do analito. O tempo de reciclagem para o experimento quantitativo de ^1H foi estabelecido como 24 segundos, cerca de sete vezes o valor de T_1 máx. Da mesma forma, tempo de reciclagem para os experimentos de carbono foi de 77 segundos. O número de transientes foi estabelecido como o menor possível para que o espectro apresentasse razão sinal ruído de no mínimo 150:1. Para hidrogênio, foram requeridas 64 repetições, ao passo que para carbono foram adquiridos

2048 transientes. O tempo necessário para o experimento quantitativo da amostra 1 foi de 37 minutos para ^1H e de 1 dia e 10 horas para ^{13}C .

Para o cálculo de quantificação, o sinal do analito mais próximo ao sinal do padrão interno foi utilizado na integração, para evitar desvios devido a não homogeneidade do pulso. Para os cálculos de ^1H , o sinal escolhido foi o do hidrogênio D. Utilizando a expressão de determinação absoluta (equação 19), o valor calculado foi de 22,4 mg, correspondendo a um erro de 10,4% do valor pesado. Para o caso do experimento de ^{13}C , o sinal referente ao carbono 8 foi utilizado para quantificação. O cálculo chegou ao valor de massa de 23,5 mg, correspondendo a um erro de 16% na medida.

Para a amostra 2, os mesmos procedimentos foram adotados para quantificação, com mesmo número de *scans* e processamento. O experimento quantitativo de hidrogênio foi realizado com tempo de reciclagem de 7 segundos, utilizando como $T_{1 \text{ máx.}}$ 0,9 segundos, levando a um tempo experimental de 11 minutos. O cálculo da quantificação resultou em uma massa calculada de 21,1 mg, representando um erro de 4,3% na medida. No caso do núcleo de carbono, o tempo de reciclagem utilizado foi de 33 segundos, utilizando como $T_{1 \text{ máx.}}$ 4,6 segundos e totalizando em 17 horas e 30 minutos de experimento. Na quantificação, a massa calculada foi de 22,3 mg, representando um erro de 10,2% para o valor pesado.

Apesar da diminuição do tempo experimental ser bem acentuada com a utilização do $\text{Cr}(\text{acac})_3$, correspondendo a uma redução de 51% do uso do equipamento, os erros das medidas são considerados altos. Além disso, a redução dos valores de $T_{1 \text{ máx.}}$, principalmente no caso de carbono, foi pequena. Como discutido na seção “Quantificação do uso do $\text{Cr}(\text{acac})_3$ ”, o uso de concentrações maiores do agente de relaxação pode acarretar grandes perdas de intensidade no espectro, mesmo que os valores de T_1 possam ainda ser reduzidos. Desta forma, outro ensaio foi realizado utilizando a proporção de 50 mmol de $\text{Cr}(\text{acac})_3$ para cada mol de ibuprofeno. Além disso, este foi submetido utilizando o equipamento de 14,6 T, para que também o mecanismo de relaxação CSA fosse mais pronunciado, além da necessidade de menos transientes para alcançar a razão sinal ruído desejada.

As amostras foram preparadas na ausência (amostra 1) e na presença de 50 mmol de $\text{Cr}(\text{acac})_3$ (amostra 2) para cada mol do analito. As

massas pesadas de ibuprofeno e de DMSO₂ foram de 23,2 ± 0,1 mg e 10,0 ± 0,1 mg respectivamente para a amostra 1, e 20,2 ± 0,1 mg e 10,7 ± 0,1 mg respectivamente para a amostra 2. Os tempos de relaxação medidos para os isótopos de ¹H e ¹³C para ambas as amostras são mostradas na tabela 9 e 10.

Tabela 9: Valores de tempos de relaxação para os núcleos de hidrogênio do Ibuprofeno e do DMSO₂, na presença e ausência de Cr(acac)₃, obtidos em equipamento de 14,1 T (400 MHz para ¹H).

		Ibuprofeno							DMSO ₂
		Ha	Hb	Hc	Hd	He	Hf	Hg	P.I.
T ₁ (s)	0 mmol	2,2	2,1	2,3	1,1	2,1	0,7	1,0	3,1
	50 mmol	0,2	0,3	0,1	0,3	0,4	0,2	0,3	0,2

Tabela 10: Valores de tempos de relaxação para os núcleos de carbono do Ibuprofeno e do DMSO₂, na presença e ausência de Cr(acac)₃, obtidos em equipamento de 14,1 T 100 MHz para ¹³C).

		Ibuprofeno									DMSO ₂	
		C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	P.I.
T ₁ (s)	0 mmol	8,2	3,4	4,2	1,3	1,4	1,3	1,3	2,3	1,3	0,6	4,4
	50 mmol	1,3	2,7	1,9	1,2	1,3	1,1	1,1	2,0	1,3	0,7	0,4

Para a amostra 1, o experimento quantitativo foi realizado utilizando um tempo de reciclagem de 22 segundos, relacionado ao T_{1 máx.} de 3,1 segundos. O experimento contou com um número de transientes de 64 transientes, correspondendo a um tempo experimental de 30 minutos. Utilizando os mesmos procedimentos de cálculo mencionados no ensaio anterior, a massa calculada foi de 22,0 mg, representando um erro de 6% do valor pesado. No caso dos experimentos de carbono, o tempo de reciclagem adotado foi de 58 segundos, correspondente a sete vezes o T_{1 máx.} de 8,2 segundos. O número de repetições adquiridas para alcançar uma razão sinal ruído adequada foi de 1024 transientes, o que totalizou em um experimento de 20 horas. A quantificação experimental levou a uma massa calculada de 24,1 mg, correspondendo a um erro de 4% do valor pesado.

Para a amostra 2, o tempo de reciclagem para o experimento quantitativo de hidrogênio foi de 2,8 segundos, referente ao T_{1 máx.} de 0,4 segundos. O mesmo número de transiente foi mantido, e o tempo experimental para a análise foi de 7 minutos. O cálculo de quantificação levou a uma massa de 21,7 mg, com um erro de 8% da massa pesada para a amostra. No caso do

núcleo de ^{13}C , o tempo de reciclagem foi de sete vezes o valor do T_1 máx. 2,7 segundos, totalizando em 18,2 segundos. Utilizando também 1024 transientes, o experimento foi realizado com 6 horas de duração. A quantificação levou a uma massa calculada de 22,4 mg, totalizando em um erro de 12% na medida.

É importante notar, no entanto, que a razão sinal ruído dos espectros da amostra 2 apresentaram uma diminuição considerável devido ao alargamento por adição do agente de relaxação. A Figura 51 mostra a perda da intensidade do sinal do hidrogênio C do ibuprofeno com a proporção molar de $\text{Cr}(\text{acac})_3$ utilizada.

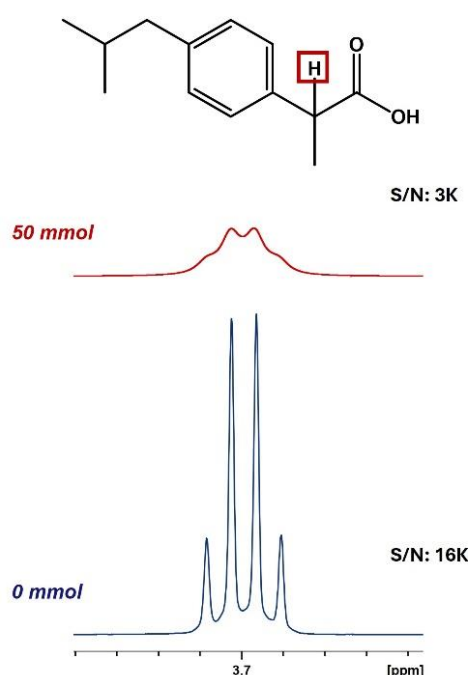


Figura 51: Perda da informação espectral e razão sinal ruído do hidrogênio C (destacado) do ibuprofeno com a utilização de 50 mmol de $\text{Cr}(\text{acac})_3$ para cada mol de analito.

No espectro de ^{13}C , que já tem menor sensibilidade, o alargamento dos sinais fez com que a razão sinal ruído fosse mais prejudicada, com o sinal referente ao DMSO_2 decaindo de 270:1 para 145:1. Desta forma, para evitar erros na integração e conseqüentemente nos cálculos de quantificação, uma nova medida foi realizada com a mesma amostra, porém, aumentando o número de transientes para 1280 repetições. Este experimento contou com o mesmo tempo de reciclagem empregado na primeira análise (18,2 segundos) e a análise foi realizada em 8 horas experimentais. A quantificação resultou a um valor de massa de 21,2 mg, reduzindo o erro da medida para 6% da massa pesada para a amostra.

Os resultados apontam que o erro é menor nas medidas que utilizaram a pesagem direta das substâncias em comparação com soluções estoque. Além disso, a proporção molar de 50 mmol de $\text{Cr}(\text{acac})_3$ para cada mol de analito diminuiu consideravelmente o tempo experimental. Para hidrogênio, a análise saiu de 30 minutos para 7 minutos, reduzindo cerca de 77% do valor original. O experimento de carbono contou com uma economia de 60%, saindo de um tempo original de 20 horas, para 8 horas de análise. Porém é importante ressaltar que informações espectrais de interesse podem ser perdidas nesta condição. Além disso, a depender da proximidade dos sinais de interesse para a integração, o alargamento das linhas pode provocar sobreposição. Desta forma, apesar do grande ganho no tempo de análise, é importante o conhecimento prévio dos sinais característicos dos analitos, assim sobre os respectivos deslocamentos químicos.

5. Conclusão

O trabalho compilou análises que visaram esclarecer o fenômeno da relaxação nuclear paramagnética utilizando a espectroscopia de RMN. Os resultados obtidos preenchem uma lacuna existente na literatura acerca de discussões sobre as bases do fenômeno.

As medidas dos tempos de relaxação apresentadas no projeto possibilitaram a implementação de novas sequências de pulso no instituto. As sequências IR e SR, mostraram boa concordância nos resultados. Os parâmetros particulares para a boa execução experimental foram analisados e otimizados em ambos os casos. O ganho experimental da sequência de saturação recuperação fez com que esta fosse preferencialmente utilizada para a obtenção dos resultados apresentados, ainda que sua utilização necessite de mais cuidados.

Os mecanismos de relaxação mais dominantes em uma molécula, de acordo com sua estrutura e condições experimentais foram evidenciados. Em campos magnéticos maiores o mecanismo CSA passa a ter contribuição significativa em sítios de simetria, como os carbonos carbonílicos. Em temperaturas maiores, o isótopo ^{19}F tem maior contribuição do mecanismo de relaxação de rotação de spin. Com a adição do $\text{Cr}(\text{acac})_3$, o mecanismo de relaxação paramagnética teve a maior contribuição para a relaxação nuclear, superando CSA e RS.

Os núcleos de ^1H e ^{19}F apresentaram diminuição dos tempos de relaxação mais acentuada com a adição do $\text{Cr}(\text{acac})_3$ em relação ao ^{13}C . A dependência da distância na intensidade do efeito do mecanismo foi evidenciada, mostrando que o efeito de diminuição do tempo de relação de um núcleo é menor conforme esse núcleo se afasta do sítio de complexação com o AR. Além disso, sítios de complexação com naturezas distintas provaram ter influência na intensidade do efeito e em como ele se estende por toda a estrutura molecular. Foi demonstrado que alguns grupos podem interagir preferencialmente com o agente de relaxação em detrimento de outros e que sua disponibilidade é fundamental para a promoção da relaxação.

Quantidades otimizadas de $\text{Cr}(\text{acac})_3$ foram determinadas para a promoção da diminuição dos tempos de relaxação sem prejudicar a qualidade do espectro. Os analitos estudados apresentaram redução dos maiores valores

de T_1 ($T_{1 \text{ máx.}}$) em 85-96%, 42%-94% e 77%-96%, para os isótopos de ^1H , ^{13}C e ^{19}F respectivamente. Podemos concluir, com os valores de redução obtidos, que os núcleos que apresentam maiores tempos de relaxação têm a maior porcentagem de diminuição. Isto pode ser atribuído a baixa influência dos demais mecanismos de relaxação, sendo o paramagnético completamente dominante após a adição do $\text{Cr}(\text{acac})_3$.

Paralelamente, foi possível concluir que, dentro do esboço do estudo, o uso das proporções molares escolhidas não acarretou grandes prejuízos qualitativos nos espectros. A maior quantidade do agente de relaxação utilizada levou a uma diminuição dos tempos de relaxação máximos dos analitos em no mínimo 50%, indicando um grande ganho de tempo experimental. Ainda, as linhas espectrais espaçadas em mais de 4 Hz não coalesceram devido a largura de linha aumentada pelo uso do $\text{Cr}(\text{acac})_3$. A diminuição da razão sinal ruído, apesar de não muito acentuada nas concentrações escolhidas, pode ser contornada com uma maior aquisição de repetições nos experimentos. Contudo, devido aos menores valores de T_1 , o ganho no tempo experimental pode compensar esta desvantagem.

Por fim, a metodologia proposta permitiu a realização de experimentos quantitativos com diminuição experimental de 77% do tempo original para ^1H e 60% para ^{13}C , sem maior comprometimento dos resultados obtidos. Foi demonstrado também que mesmo em casos em que a razão sinal/ruído é prejudicada, a aquisição de mais transientes pode ser compensada pela grande diminuição dos tempos de relaxação. A desvantagem fica na perda de informações do espectro, como os acoplamentos. Em casos em que a análise quantitativa não vise este tipo de informação, o uso de maiores concentrações de AR resulta em um grande ganho de tempo de análise.

6. Referências

1. Rabi, Isidor Isaac, et al. "A new method of measuring nuclear magnetic moment." *Physical review* 53.4 (1938): 318.
2. Purcell, E. M., Torrey, H. C., & Pound, R. V. (1946). Resonance absorption by nuclear magnetic moments in a solid. *Physical review*, 69(1-2), 37.
3. Bloch, F. (1946). Nuclear induction. *Physical review*, 70(7-8), 460.
4. Aue, W. P., Bartholdi, E., & Ernst, R. R. (1976). Two-dimensional spectroscopy. Application to nuclear magnetic resonance. *The Journal of Chemical Physics*, 64(5), 2229-2246.
5. Bodenhausen, G. (1980). Multiple-quantum NMR. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, 14(3), 137-173.
6. Bakhmutov, V. I. (2005). *Practical nuclear magnetic resonance relaxation for chemists*. John Wiley & Sons.
7. Levitt, M. H. (2013). *Spin dynamics: basics of nuclear magnetic resonance*. John Wiley & Sons.
8. Rule, G. S., & Hitchens, T. K. (2006). *NMR spectroscopy* (pp. 1-27). Springer Netherlands.
9. Keeler, J. (2010). *Understanding NMR spectroscopy*. John Wiley & Sons.
10. Abragam, A. (1961). *The principles of nuclear magnetism* (No. 32). Oxford university press.
11. Claridge, T. D. (2016). *High-resolution NMR techniques in organic chemistry* (Vol. 27). Elsevier.
12. Jacobsen, N. E. (2007). *NMR spectroscopy explained: simplified theory, applications and examples for organic chemistry and structural biology*. John Wiley & Sons.
13. Akitt, J. W., & Mann, B. E. (2017). *NMR and Chemistry: An introduction to modern NMR spectroscopy*. Crc Press.
14. Abraham, R. J., Fisher, J., & Loftus, P. (1988). *Introduction to NMR spectroscopy*.
15. Figueroa Villar, J. D. (2000). Aspectos quânticos da ressonância magnética nuclear. *Fundamentos e Aplicações da Ressonância Magnética Nuclear*, 2.

16. Lindon, J. C., & Ferrige, A. G. (1980). Digitisation and data processing in Fourier transform NMR. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, 14(1), 27-66.
17. Kowalewski, J., & Maler, L. (2017). *Nuclear spin relaxation in liquids: theory, experiments, and applications*. CRC press.
18. Lowe, I. J., & Norberg, R. E. (1957). Free-induction decays in solids. *Physical Review*, 107(1), 46.
19. Evilia, Ronald F. Quantitative NMR spectroscopy. *Analytical Letters*, v. 34, n. 13, p. 2227-2236, 2001.
20. Holzgrabe, Ulrike. Quantitative NMR spectroscopy in pharmaceutical applications. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, v. 57, n. 2, p. 229-240, 2010.
21. Hollis, Donald P. Quantitative Analysis of Aspirin, Phenacetin, and Caffeine Mixtures by Nuclear Magnetic Resonance Spectrometry. *Analytical Chemistry*, v. 35, n. 11, p. 1682-1684, 1963.
22. Kawamura, Meire Y. et al. Mechanistic Aspects on [3+ 2] Cycloaddition (32CA) Reactions of Azides to Nitroolefins: A Computational and Kinetic Study. *Chemistry—A European Journal*, v. 28, n. 69, p. e202202294, 2022.
23. Kwan, Eugene E. et al. Concerted nucleophilic aromatic substitutions. *Nature chemistry*, v. 10, n. 9, p. 917-923, 2018.
24. Kwan, Eugene E. et al. Sensitive and accurate ¹³C kinetic isotope effect measurements enabled by polarization transfer. *Journal of the American Chemical Society*, v. 139, n. 1, p. 43-46, 2017.
25. Malz, Frank; Jancke, Harald. Validation of quantitative NMR. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, v. 38, n. 5, p. 813-823, 2005.
26. Yamazaki, T. et al. "A new approach for accurate quantitative determination using fluorine nuclear magnetic resonance spectroscopy." *Journal of Chemical Metrology* 11.1 (2017): 16-22.
27. Akoka, S. et al. "Concentration measurement by proton NMR using the ERETIC method." *Analytical Chemistry* 71.13 (1999): 2554-2557.
28. Bharti, S. K., and Raja, R. "Quantitative ¹H NMR spectroscopy." *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 35 (2012): 5-26.

29. Shoolery, J. N. Some quantitative applications of ^{13}C NMR spectroscopy. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, v. 11, n. 2, p. 79-93, 1977.
30. Jeener, J. (1971). Lecture at International Ampère Summer School. *Basko Polje, Yugoslavia*.
31. Aue, W. P., Bartholdi, E., & Ernst, R. R. (1976). Two-dimensional spectroscopy. Application to nuclear magnetic resonance. *The Journal of Chemical Physics*, 64(5), 2229-2246.
32. Leeb, S. et al. (2020). Connecting longitudinal and transverse relaxation rates in live-cell NMR. *The Journal of Physical Chemistry B*, 124(47), 10698-10707.
33. Carper, W. R., & Keller, C. E. (1997). Direct determination of NMR correlation times from spin-lattice and spin-spin relaxation times. *The Journal of Physical Chemistry A*, 101(18), 3246-3250.
34. Cowan, B., & Cowan, B. P. (1997). *Nuclear magnetic resonance and relaxation* (Vol. 427). Cambridge: Cambridge university press.
35. Torchia, D. A., & Szabo, A. (1982). Spin-lattice relaxation in solids. *Journal of Magnetic Resonance (1969)*, 49(1), 107-121.
36. Freeman, R., & Hill, H. D. W. (1971). Fourier transform study of NMR spin-spin relaxation. *The Journal of chemical physics*, 55(4), 1985-1986.
37. Bloembergen, N., Purcell, E. M., & Pound, R. V. (1948). Relaxation effects in nuclear magnetic resonance absorption. *Physical review*, 73(7), 679.
38. Schleker, P. P. M., Eichel, R. A., & Granwehr, J. (2023). Revealing the interdiffusion equilibrium of lithium cations across a solid-electrolyte interface by T1 NMR relaxation.
39. Diehl, B., et al. (2020). Quo vadis qNMR? *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 177, 112847.
40. Argyres, P. N., & Kelley, P. L. (1964). Theory of spin resonance and relaxation. *Physical Review*, 134(1A), A98.
41. Redfield, A. G. (1957). On the theory of relaxation processes. *IBM Journal of Research and Development*, 1(1), 19-31.
42. Smith, A. A., Ernst, M., & Meier, B. H. (2017). Because the Light is Better Here: Correlation-Time Analysis by NMR Spectroscopy. *Angewandte Chemie*, 129(44), 13778-13783.

43. Mukherjee, K., Palchowdhury, S., & Maroncelli, M. (2024). Do Electrostatics Control the Diffusive Dynamics of Solitary Water? NMR and MD Studies of Water Translation and Rotation in Dipolar and Ionic Solvents. *The Journal of Physical Chemistry B*.
44. Freeman, R., Hill, H. D. W., Tomlinson, B. L., & Hall, L. D. (1974). Dipolar contribution to NMR spin-lattice relaxation of protons. *The Journal of Chemical Physics*, 61(11), 4466-4473.
45. Annabestani, R., & Cory, D. G. (2018). Dipolar relaxation mechanism of long-lived states of methyl groups. *Quantum information processing*, 17, 1-25.
46. Wong, T. C., et al (1984). The chemical-shift anisotropy mechanism in ^{77}Se spin-lattice relaxation. Measurement of ^{77}Se T1 at several magnetic fields. *Journal of Magnetic Resonance (1969)*, 57(3), 463-470.
47. Anet, F. A., & O'leary, D. J. (1992). The shielding tensor part II: Understanding its strange effects on relaxation. *Concepts in Magnetic Resonance*, 4(1), 35-52.
48. Walton, J. H., et al. "Spin—rotation relaxation in C60." *Chemical physics letters* 203.2-3 (1993): 237-242.
49. Matson, Gerald B. "Methyl NMR relaxation: The effects of spin rotation and chemical shift anisotropy mechanisms." *The Journal of Chemical Physics* 67.11 (1977): 5152-5161.
50. Sharp, R., Lohr, L., & Miller, J. (2001). Paramagnetic NMR relaxation enhancement: recent advances in theory. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, 38(2), 115-158.
51. Miller, J., Schaeffle, N., & Sharp, R. (2003). Calculating NMR paramagnetic relaxation enhancements without adjustable parameters: the spin-3/2 complex Cr (III)(AcAc) 3. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 41(10), 806-812.
52. Mulder, F. A., Tenori, L., & Luchinat, C. (2019). Fast and quantitative NMR metabolite analysis afforded by a paramagnetic co-solute. *Angewandte Chemie*, 131(43), 15427-15430.
53. Peat, D. T., et al (2013). Achievement of high nuclear spin polarization using lanthanides as low-temperature NMR relaxation agents. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 15(20), 7586-7591.

54. Spirk, S., Madl, T., & Pietschnig, R. (2008). Relax with TEMPO: a paramagnetic relaxation agent useful also for silicon-29 NMR spectroscopy. *Organometallics*, 27(4), 500-502.
55. Kawamura, M. Y., et al. (2022). Mechanistic Aspects on [3+ 2] Cycloaddition (32CA) Reactions of Azides to Nitroolefins: A Computational and Kinetic Study. *Chemistry—A European Journal*, 28(69), e202202294.
56. Zhou, Z., et al (2013). Optimum Cr (acac) 3 concentration for NMR quantitative analysis of polyolefins. In *Macromolecular Symposia* (Vol. 330, No. 1, pp. 115-122).
57. Aime, S., Botta, M., Crich, S. G., Giovenzana, G., Pagliarin, R., Sisti, M., & Terreno, E. (1998). NMR relaxometric studies of Gd (III) complexes with heptadentate macrocyclic ligands. *Magnetic resonance in chemistry*, 36(S1), S200-S208.
58. Galya, L. G., McCord, E. F., & Adamsons, K. (1996). Use of Paramagnetic Relaxation Agents in the Characterization of Acrylic Polymers: Application of Chromium (III) Acetylacetonate and Iron (III) Acetylacetonate. *International Journal of Polymer Analysis and Characterization*, 2(3), 293-303.
59. Levy, G. C., Edlund, U., & Holloway, C. E. (1976). Mechanisms for interactions between organic molecules and paramagnetic relaxation reagents. *Journal of Magnetic Resonance (1969)*, 24(3), 375-387.
60. Levy, G. C., & Cargioli, J. D. (1973). Spin-lattice relaxation in solutions containing Cr (III) paramagnetic relaxation agents. *Journal of Magnetic Resonance (1969)*, 10(2), 231-234.
61. Vigee, G. S., & Watkins, C. L. (1977). Solution dynamics of tris (acetylacetonato) chromium (III). *Inorganic Chemistry*, 16(3), 709-711.
62. Berger, S., & Braun, S. (2004). *200 and more NMR experiments: a practical course*. John Wiley & Sons.
63. Reynolds, L. A., et al (2023). Nonaqueous magnetization following adiabatic and selective pulses in brain: T1 and cross-relaxation dynamics. *NMR in Biomedicine*, 36(8), e4936.
64. Reeves, L. W. "NMR Measurements of Reaction Velocities and Equilibrium Constants as a Function of Temperature." *Advances in Physical Organic Chemistry* 3 (1965): 187-269.

65. Smallwood, I. (2012). *Handbook of organic solvent properties*. Butterworth-Heinemann.