

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**

**INSTITUTO DE QUÍMICA**

**GRADUAÇÃO EM QUÍMICA INDUSTRIAL**

**UMA BREVE REVISÃO SOBRE RMN E ALGUMAS DE SUAS APLICAÇÕES**

**Luiz Guilherme de Melo Silva**

**Uberlândia, MG**

**2018**

**LUIZ GUILHERME DE MELO SILVA**

**UMA BREVE REVISÃO SOBRE RMN E ALGUMAS DE SUAS APLICAÇÕES**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Federal de Uberlândia como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Química Industrial.

**Orientador:** Prof. Dr. Welington de Oliveira Cruz

Uberlândia . MG

Abril/2018

## UMA BREVE REVISÃO SOBRE RMN E ALGUMAS DE SUAS APLICAÇÕES

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial na obtenção do título de graduação em Bacharel em Química Industrial, sob orientação do Prof. Dr. Welington de Oliveira Cruz

Área de Concentração: Química Orgânica

Aprovado em 04 de abril de 2018.



---

Prof. Dr. Welington de Oliveira Cruz

Universidade Federal de Uberlândia

*Presidente da banca examinadora*



---

Prof. Dr. Carlos Alberto de Oliveira

Universidade Federal de Uberlândia



---

Prof. Dr. Francisco José Torres de Aquino

Universidade Federal de Uberlândia

Uberlândia – MG

Abril/2018

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus por permitir a conclusão deste trabalho.

Ao professor Dr. Welington de Oliveira Cruz pelos ensinamentos, confiança e orientação durante o período universitário.

Ao secretário do curso de Química industrial Hugo Rocha pelos ensinamentos e sugestões que foram cruciais para a conclusão deste trabalho.

Agradeço a meus pais Lourival e Regina e a meu irmão Leandro pelo apoio integral aos meus estudos e também pelas orientações adquiridas dentro e fora do ambiente acadêmico.

Agradeço também a AAA. Exatas por todo apoio e incentivo durante todos os momentos que pensei em desistir.

Por fim, a todos os professores do Instituto de Química e amigos que contribuíram de forma direta ou indireta para a conclusão deste trabalho.

## RESUMO

A ressonância magnética nuclear é uma técnica analítica, baseada na absorção e reemissão de ondas eletromagnéticas, que possui ampla utilização em diversos setores, como médico, farmacêutico, agroquímico, alimentício e até na pesquisa de petróleo. Na indústria química a RMN tornou-se uma técnica essencial, pois apresenta ampla aplicação com bom custo-benefício, possibilitando quantificar e caracterizar moléculas, identificar compostos, avaliar ácidos graxos de biocombustíveis, rendimento de reações, dentro outros. Esse trabalho de revisão visa introduzir as bases teóricas da ressonância magnética e apresentar sua evolução histórica, correlacionando com a evolução de suas aplicações.

**Palavras-chave:** RMN; pesquisas; radiação magnética; melhoramento; tecnologia.

## ABSTRACT

Nuclear magnetic resonance is an analytical technique, based on the absorption and reissue of electromagnetic waves, which has wide use in several sectors, such as medical, pharmaceutical, agrochemical, food and even oil research. In the chemical industry, NMR has become an essential technique, since it presents a wide application with good cost-benefit, allowing to quantify and characterize molecules, to identify compounds, to evaluate fatty acids of biofuels, yield of reactions, in others. This revision intends to introduce theoretical bases of magnetic resonance and present its historical evolution, correlating with the evolution of its applications.

**Keywords:** NMR; researches; magnetic radiation; improvement; technology.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Representação do espectro eletromagnético .....	12
<b>Figura 2.</b> Esquema representativo da orientação dos spins nucleares em campo magnético.....	13
<b>Figura 3.</b> Esquema representativo do equipamento de RMN .....	14
<b>Figura 4.</b> Esquema representativo do efeito de prótons na RMN $^1\text{H}$ .....	15
<b>Figura 5</b> Estrutura Química do Tetrametilsilano .....	15
<b>Figura 6.</b> Esquema representativo da técnica DEPT aplicada à RMN $^{13}\text{C}$ .....	19
<b>Figura 7.</b> Foto de Isidor Isaac Rabi.....	22
<b>Figura 8.</b> Foto de Edward Purcell e Felix Bloch.....	23

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Valores de deslocamentos químicos na RMN $^1\text{H}$ .....	16
<b>Tabela 2:</b> Referência de multiplicidades .....	18



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>AIDS.</b>	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
<b>CW.</b>	Onda Contínua
<b>DEPT.</b>	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
<b>DRX.</b>	Difração de raios-X
<b>FID.</b>	Free Induction Decay
<b>FT-RMN.</b>	Ressonância Magnética Nuclear com Transformadas de Fourier
<b>HDL.</b>	Lipoproteína de Alta Densidade
<b>LDL.</b>	Lipoproteína de Baixa Densidade
<b>MHz.</b>	Mega-Hertz
<b>pH.</b>	Potencial Hidrogeniônico
<b>Ppm.</b>	Partículas por milhão
<b>Rf.</b>	Radiofrequência
<b>RMN.</b>	Ressonância Magnética Nuclear
<b>TMS.</b>	Tetrametilsilano
<b>VLDL.</b>	Lipoproteína de Densidade Muito Baixa
<b>E.</b>	Diferença de energia

## Sumário

<b>Sumário</b> .....	10
1. INTRODUÇÃO .....	11
2. OBJETIVO.....	20
3. METODOLOGIA.....	20
4. REVISÃO .....	21
<b>4.1. Histórico</b> .....	<b>21</b>
<b>4.2. Aplicações</b> .....	<b>27</b>
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	31
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	32

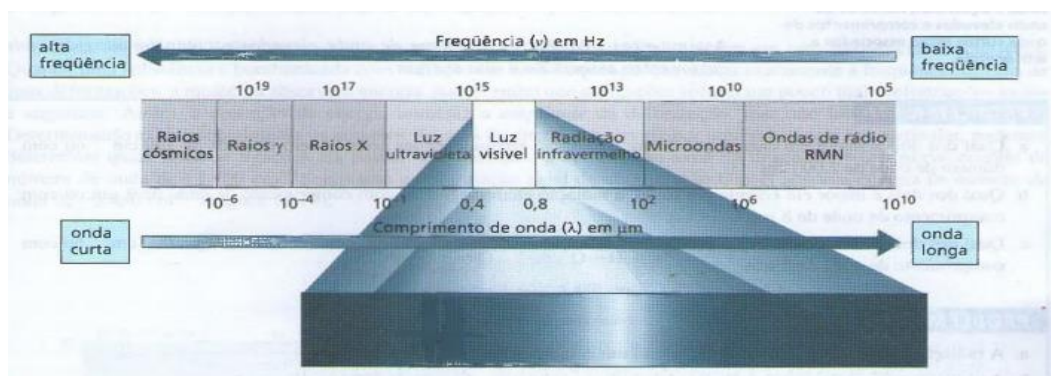
## 1. INTRODUÇÃO

As técnicas de elucidação de moléculas e estruturas de compostos orgânicos por meio da RMN são importantes para o cotidiano da química orgânica. Sendo assim, os profissionais da área que realizam trabalhos voltados para descobrimento, estudos, organização e produção em larga escala de novas substâncias baseadas em compostos naturais, sintéticos ou misturas complexas, necessitam de equipamentos que tornem essa tarefa mais ágil. Dessa forma, a espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) foi desenvolvida ao longo dos anos em busca de aperfeiçoar os trabalhos realizados no campo da química orgânica. A espectroscopia de RMN busca identificar o esqueleto carbono-hidrogênio de uma substância orgânica. Essa técnica não só consegue identificar a função de um carbono específico, como também é capaz de indicar a semelhança entre os carbonos vizinhos (BRUICE, 2006).

A RMN é uma técnica analítica que se baseia em absorção e reemissão de radiação eletromagnética e possui aplicação diversa em distintos setores, podendo ser citados o farmacêutico, agroquímico, médico, alimentício, entre outros.

Um espectro eletromagnético é composto por diversos tipos distintos de radiação (Figura 1) e cada qual é associada a uma faixa específica de energia. As radiações em região de rádio frequência possuem a energia mais baixa, são capazes de causar transição de spin nuclear sendo, desse modo, utilizadas para RMN (PAVIA, 2010).

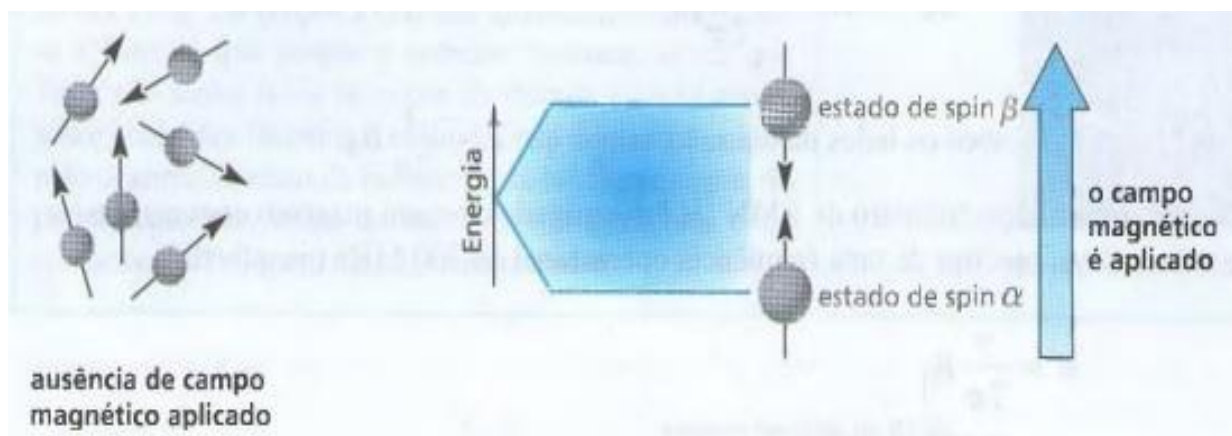
**Figura 1:** Representação do espectro eletromagnético



Fonte: BRUICE, 2006.

Quando núcleos atômicos se comportam como se estivessem desenvolvendo movimento circular, tem-se uma propriedade conhecida como spin, ou seja, qualquer átomo que tenha número atômico ou de massa ímpar, propriedade denominada como momento angular de spin e momento magnético. A carga de um núcleo de spin é capaz de gerar um campo magnético. A partir do momento em que os prótons são colocados em um campo magnético externo é formada uma barreira magnética. Dessa forma, o campo magnético externo ao núcleo é capaz de gerar um alinhamento que será contra ou a favor dos spins. A partir disso, sabe-se que os spins magnéticos que se alinham a favor do campo estão no seu estado de menor energia denominado como estado de spin  $\downarrow$ , ao passo que os spins que se alinham contra o campo estão no seu estado de maior energia que é denominado como estado de spin  $\uparrow$ , como pode ser observado na Figura 2 (NASCIMENTO, 2011).

**Figura 2:** Esquema representativo da orientação dos spins nucleares em campo magnético



Fonte: BRUICE,2006.

A diferença de energia entre os estados de spin  $\alpha$  e  $\beta$  é maior quanto mais forte for o campo magnético no qual o núcleo é exposto. Quando um pulso de radiação é aplicado a uma amostra, cuja a energia corresponde a diferença de energia ( $E$ ) entre os estados de spin  $\alpha$  e  $\beta$ , o núcleo de spin  $\alpha$  é promovido ao estado de spin  $\beta$  em um fenômeno denominado de excitação.

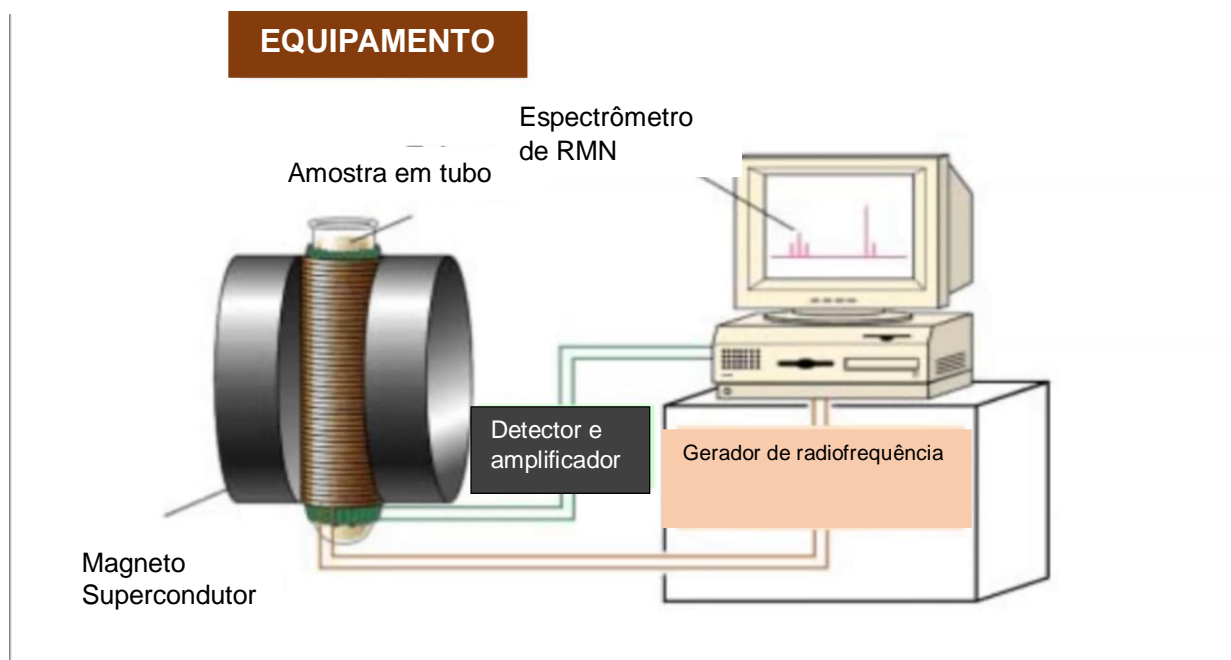
Ao sofrerem relaxamento e voltarem ao seu estado de origem esses spins emitem sinais eletromagnéticos em que a frequência depende da diferença de energia dos estados de spin  $\alpha$  e  $\beta$ . O espectrômetro de RMN registra a frequência do sinal versus a intensidade. Devido os núcleos estarem em ressonância com a radiação de radiofrequência (rf), que é a região de radiofrequência de um espectro eletromagnético e é determinada pela energia necessária para excitar um núcleo de spin  $\alpha$ . Por isso, ressonância relaciona-se ao giro em várias direções do núcleo entre os estados de spin  $\alpha$  e  $\beta$  em resposta a esta radiação.

O aparelho de RMN moderno é denominado espectrômetro de pulso com transformada de Fourier, onde um pulso de rf com curta duração é capaz de excitar todos os prótons no mesmo momento, sobre a presença de um campo magnético constante (GIL, 1987). Os prótons absorvem frequência necessária para entrarem em ressonância, ou seja, excitar seus spins e ao retornarem ao equilíbrio produzem

um sinal que é denominado de decaimento de indução livre (FID - Free Induction Decay) que corresponde a uma frequência  $E$ . Os núcleos perdem a energia que ganharam do pulso de rf, com isso, a intensidade do sinal cai.

Um computador coleta todas as informações e transforma os dados de intensidade versus tempo em intensidade versus frequência, por meio da transformada de Fourier. A Figura 3 esquematiza tal funcionamento (SILVERSTEIN,2008).

**Figura 3:** Esquema representativo do equipamento de RMN.

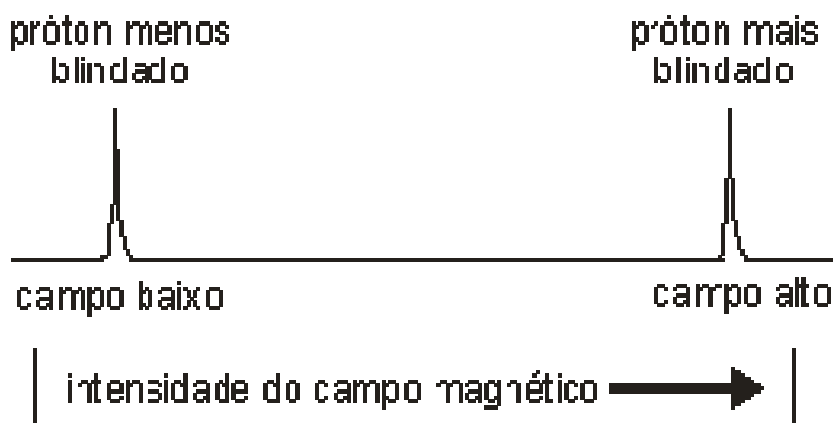


Fonte: BRUICE, 2006.

Na RMN nem todos os prótons de uma molécula possuem ressonância de mesma frequência, por isso, indica-se como um método muito útil. Essa versatilidade se deve ao fato dos elétrons rodearem os prótons, sendo que, essas cargas negativas se encontram em ambientes magnéticos diferentes em relação aos demais elétrons. Por esse fato, os elétrons rodeiam os prótons blindando-os, e a amplitude será dependente da densidade eletrônica gerada ao seu redor. Os elétrons de valência dos prótons em um campo magnético são obrigados a exercer movimento circular, chamado de corrente diamagnética local que gera um campo opos-

to ao inicialmente aplicado, esse efeito denomina-se por blindagem diamagnética ou anisotropia diamagnética (Figura 4) (PAVIA,2010).

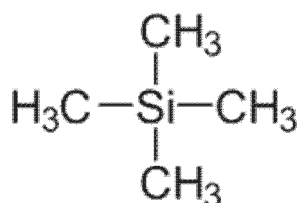
Figura 4: Esquema representativo do efeito de prótons na RMN  $^1\text{H}$ .



Fonte: Adaptado de BRUICE, 2006

Uma substância inerte denominada tetrametilsilano ( $\text{C}_4\text{H}_{12}\text{Si}$ ) (Figura 5) é adicionada à amostra, como o silício é mais eletropositivo que os seus grupamentos metilas, os sinais desses grupos são mais baixos do que os prótons envolvidos na amostra, por isso os sinais dos compostos orgânicos são detectados à esquerda do TMS (tetrametilsilano) que é definido como sinal de referência. Por ser altamente volátil tal substância evapora logo após o término da confecção do espectro da RMN (SILVERSTEIN, 2008).

**Figura 5:** Estrutura Química do Tetrametilsilano



Fonte: ScienceBlogs

Em casos de medidas relacionadas ao deslocamento químico é comum a utilização da escala delta (  $\delta$  ), em que a posição zero da escala é o TMS. A medida da distância do sinal do TMS em Hertz dividido pela frequência do instrumento em MHz é o que foi definido como deslocamento químico e sua unidade é ppm (partes por milhão de frequência operacional). A medida do deslocamento químico independe da frequência do espectrômetro.

Para a localização dos sinais dos grupos metila no espectrômetro de  $^1\text{H}$  percebe-se que grupos metilas que estão próximos a átomos mais eletronegativos obtêm valores de deslocamentos maiores, isso ocorre, pois, esses grupos metilas estão menos blindados em relação ao campo magnético aplicado. Em contrapartida, grupos metilas que sofrem maior ação do campo magnético, ou seja, possuem maior densidade eletrônica apresentam valores de deslocamento menores (BRUI-CE,2006).

**Tabela 1:** Valores de deslocamentos químicos na RMN  $^1\text{H}$ .

Tipo de próton	Sinal aproximado na Escala Delta ( $\delta$ )
$\text{CH}_3$	0,9
$\text{CH}_2$	1,3
$\text{CH}$	1,4
O	2,1
$\begin{array}{c} \text{C} \quad \text{CH}_3 \\   \quad   \\ \text{C} \quad \text{C} \quad \text{H} \end{array}$	2,5
$\text{R} \quad \text{CH}_2 \quad \text{X}$	3-4
$\begin{array}{c} \diagup \text{C} = \text{C} \diagdown \\   \quad   \\ \text{H} \end{array}$	5-6

Fonte: Adaptado de PAVIA, 2010.








As áreas referentes aos sinais são proporcionais ao número de prótons que originam o sinal. Dessa forma, os dois sinais apresentados nos gráficos de RMN serão de tamanhos diferentes. A integral é capaz de determinar a área sobre uma curva, essas integrais serão calculadas eletronicamente por um computador acoplado ao espectrômetro. Sendo assim, as integrais serão calculadas a partir de uma linha sobreposta ao espectro original. Os degraus de integração irão apresentar alturas diferentes que serão proporcionais à intensidade fornecida pela área do sinal e esta altura é proporcional ao número de prótons que dá origem ao sinal. Por isso, a proporção referente às integrais é determinada pela altura dos degraus de integração (PAVIA, 2010).

Prótons ligados a carbonos adjacentes, ou seja, ligado diretamente a um determinado carbono promovem o desdobramento de sinal. Esse desdobramento de sinal pode ser representado pela regra de  $N+1$ , onde  $n$  é o número de prótons equivalentes ligados aos carbonos adjacentes. A multiplicidade é definida como o número de picos de um determinado sinal, sendo assim, o desdobramento é sempre semelhante, e se um próton  $X$  desdobra o próton  $Y$ , o próton  $Y$  deve desdobra o próton  $X$ .

Esses desdobramentos receberão nomenclaturas específicas de acordo com a quantidade de picos observadas. Ao analisar os carbonos adjacentes que não estão ligados a nenhum próton, tem-se a multiplicidade denominada de singleto, devido ao  $N$  (número de prótons equivalentes ligados ao carbono adjacente) ser zero, com isso, pela regra  $N+1$  o número de picos é igual a um. Quando um carbono adjacente está ligado a um próton temos o valor de  $N$  igual a 1, dessa forma, o número de picos observados é 2, sendo que a multiplicidade é denominada como dubleto. Já ao passo que o carbono adjacente se encontra ligado a 2 prótons tem-se uma conformação onde  $N$  equivale a 2, dessa maneira, afirma-se que a multiplicidade equivale a um tripleto (SILVERSTEIN, 2008).

**Tabela 2:** Referência de multiplicidades

n	intensidade relativa	nome
0		singleto
1		dublete
2		triplete
3		quarteto
4		quinteto
-		

Fonte: Adaptado de BRUICE,2006

A constante de acoplamento é definida como a distância em Hertz entre dois picos adjacentes do desdobramento de um sinal. Os prótons que possuem constantes de acoplamento iguais são capazes de desdobrar o sinal um do outro. Dessa forma, essas constantes são úteis na RMN, já que os prótons dos carbonos adjacentes são verificados a partir da observação de constantes de acoplamento iguais. Por fim, as constantes de acoplamento são independentes do campo magnético externo, sendo a mesma para os diferentes valores apresentados pelos aparelhos.

O espectro de RMN do  $^{13}\text{C}$  fornece informações das diferentes formas de carbonos que estão presentes em uma substância, enquanto que o espectro de hidrogênio informa sobre os diferentes tipos de hidrogênio contidos em uma substância. O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  começou a ser utilizado como ferramenta analítica quando ocorreu a evolução dos computadores e foi incrementada a transformada de Fourier. Os espectros  $^{13}\text{C}$  necessitam da transformada de Fourier, pois os sinais de uma simples varredura são muito fracos sendo confundidos com os ruídos eletrônicos. Com isso, a incorporação da FT-RMN  $^{13}\text{C}$  permitiu que várias varreduras

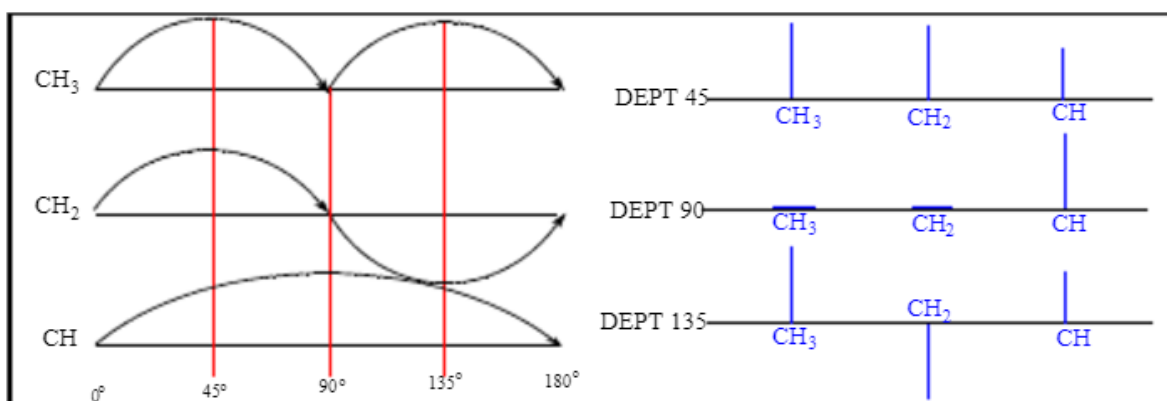
fossem feitas e somadas num tempo curto. O espectro de  $^{13}\text{C}$  é formado pela soma das varreduras, sendo que sem a transformada de Fourier isso poderia demorar até dias (PAVIA,2010).

Os sinais de  $^{13}\text{C}$  são menos intensos, pois o isótopo que dá origem a esse sinal constitui apenas 1,11% dos átomos de  $^{12}\text{C}$ . Os sinais do RMN de  $^{13}\text{C}$  são reduzidos na casa de 100 unidades se comparados com RMN de  $^1\text{H}$ . Um dos benefícios da espectroscopia do  $^{13}\text{C}$  é o fato dos deslocamentos químicos aparecerem por volta de 220 ppm, enquanto que no espectro de  $^1\text{H}$  os sinais aparecem em torno de 12 ppm, a vantagem disso, é que os sinais têm menores chances de se sobreporem.

O número de carbonos que origina o sinal é proporcional ao tamanho dos picos, os carbonos que não apresentam hidrogênios possuem sinais muito pequenos, enquanto carbonos ligados a hidrogênio apresentam os maiores sinais.

Uma técnica chamada de RMN de  $^{13}\text{C}$  DEPT foi criada para diferenciar os grupos  $\text{CH}_3$ ,  $\text{CH}_2$  e  $\text{CH}$ . O DEPT faz a leitura de intensidades de pequenas alterações a partir da transferência de polarização. Hoje, essa técnica é mais utilizada que o acoplamento de prótons, em busca de identificar o número de hidrogênios que estão ligados a um carbono. O espectro do DEPT apresenta os sinais de carbonos ligados a hidrogênios, sendo  $\text{CH}$ ,  $\text{CH}_2$  e  $\text{CH}_3$ . Sendo assim, o espectro de DEPT não mostra sinais de carbonos que não estão ligados a hidrogênio. Na imagem a seguir o espectro  $\text{CH}_3$  e  $\text{CH}$  estão em fase e  $\text{CH}_2$  em fase invertida (SILVERSTEIN, 2008).

**Figura 6:** Esquema representativo da técnica DEPT aplicada à RMN  $^{13}\text{C}$ .



Fonte: Apostila de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ . (2011).

Dentre as vantagens da RMN pode-se destacar que se trata de um método não invasivo, ou seja, não provoca ruptura de barreiras naturais, sendo capaz de gerar informações confiáveis relacionadas ao estado químico, físico e fisiológico de diversos materiais ou sistemas biológicos sem que haja qualquer degradação amostral, fato que confere benefício à utilização da técnica (BOTTOMLEY, 1982; CLARK et al., 1997).

## **2. OBJETIVO**

Este trabalho teve como objetivo avaliar a importância do estudo da Ressonância Magnética Nuclear, levando em consideração suas propriedades e utilizações.

## **3. METODOLOGIA**

Foi realizada uma pesquisa bibliográfica e as fontes utilizadas para o desenvolvimento do trabalho foram de origem científica na grande área: Química.

Uma revisão bibliográfica reúne ideias oriundas de diversas fontes, pretendendo construir uma nova teoria ou uma nova forma de apresentação para um assunto antes conhecido (ALVES; ARRUDA, 2007). Tendo isto por base, foram feitas análises de artigos, teses, livros, notícias e revistas que abordavam assuntos sobre a RMN, com publicações referentes ao período de 1933 até 2017.

As considerações feitas em referência à RMN buscaram conhecer a visão de vários autores sobre o Tema. Para o melhor desenvolvimento e compreensão do assunto, foram elaborados, a partir destes registros, a análise e organização dos dados bibliográficos, permitindo uma melhor interpretação crítica das fontes pesquisadas.

O levantamento foi fundamentado em artigos publicados nos últimos anos disponíveis nas bases Web of Science, Lilacs e Google Acadêmico. Também foram consultados capítulos de livros pertinentes ao tema e páginas eletrônicas, os des-

critérios utilizados para a busca dos artigos **RMN**, **RMN** e **quantitativa** e suas respectivas traduções para o Inglês, **NMR**, **NMR** and **quantitative**.

Por fim, a confecção do trabalho seguiu algumas etapas que foram relevantes para o meu aprimoramento, fazendo com que artigos escolhidos fossem analisados e classificados de acordo com as aplicações citadas no texto.

## 4. REVISÃO

### 4.1. Histórico

A técnica de RMN é proveniente de vários experimentos realizados que buscavam demonstrar o momento angular de spins associados a núcleos que posteriormente foram usados para detectar.

Já no início do século XX, através do experimento de Stern-Gerlach, os conceitos referentes ao spin eletrônico do momento magnético foram comprovados. A partir das separações de faces de átomos expostas a um campo magnético não homogêneo. Com isso, a orientação do momento magnético de seus elétrons desparelhados, comprovou que o momento angular de um átomo é quantizado.

Pauli determinou que as características das estruturas hiperfinas dos espectros atômicos poderiam ser determinadas quando alguns núcleos apresentassem spin e um correspondente momento magnético. Em 1933, algumas revisões feitas no experimento foram capazes de revelar um valor aproximado referente ao momento magnético do próton. Dessa forma, ficaram comprovados experimentalmente a existência de spin nuclear para certos átomos, inclusive o de hidrogênio, e que era necessária uma precisão nas suas medidas (SANCHEZ-FERRANDO, 2006).

A expressão Ressonância Magnética Nuclear, teve sua inserção em artigos científicos por volta do ano de 1936, com o cientista alemão Cornelius Jacobus Gorter (GORTER, 1936). No entanto, a descoberta da técnica sempre foi atribuída à Isidor Isaac Rabi (SANCHEZ-FERRANDO, 2006).

Em 1937, B. G. Lasarew e L. W. Schubnikow demonstraram que o momento magnético nuclear tem maior propensão de ocorrer em baixas temperaturas, como foi observado pelos pesquisadores no hidrogênio sólido.

O físico estadunidense, Isidor Isaac Rabi (Figura 7), que ganhou Prêmio Nobel em 1944, devido ao seu método de registro de propriedades de Ressonância Magnética de Núcleos Atômicos explicou e demonstrou o momento magnético de um próton em 1939, um feixe de molécula passou por um campo magnético não homogêneo, a fim de desviá-los e por um segundo campo também não homogêneo mais com cargas opostas, buscando orientá-las. Entre esses dois campos não homogêneos havia um terceiro campo central, variável e homogêneo. Rabi, utilizou de radiação eletromagnética de frequência constante para realizar uma varredura do campo magnético homogêneo, nessa análise o feixe de moléculas ficou inalterado, exceto para um estreito alcance de valores. Nesses resultados que sofreram alteração o feixe divergia e não produzia o reenfoque sobre o detector. Assim, havia sido descoberta a Ressonância Magnética Nuclear (SANCHEZ-FERRANDO,2006).

**Figura 7:** Foto de Isidor Isaac Rabi



Fonte: [https://pt.wikipedia.org/wiki/Isidor\\_Isaac\\_Rabi](https://pt.wikipedia.org/wiki/Isidor_Isaac_Rabi)

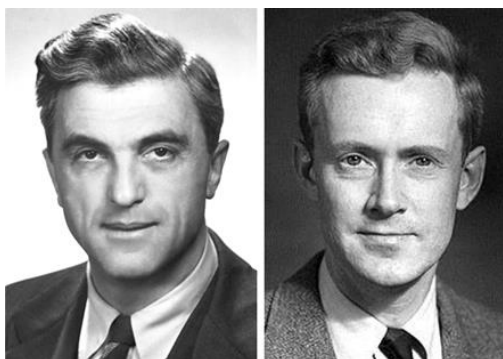
Em 1945 os físicos Purcell, Torrey e Pound, em conjunto, foram os primeiros a detectar a Ressonância Magnética Nuclear em matéria condensada. Esse experimento consistiu em bloquear parafina sólida em uma cavidade ressonante de rádio frequência, por meio de um circuito apropriado que se encontravam dentro de um eletroímã de campo magnético variável. O sinal do aparelho de ressonância se

equilibrou com o sinal da fonte de radiofrequência, sendo possível observar uma pequena absorção por ressonância para um valor de campo equivalente a 7100 Gauss (BLOCH, 1946; PURCELL, 1946).

Ainda no ano de 1945, Felix Bloch (Figura 8), conseguiu detectar sinais de RMN de próton utilizando um equipamento diferente do utilizado por Purcell. No lugar de um único circuito de radiofrequência, Bloch utilizou duas bobinas em posições ortogonais, uma para excitação e outra para detecção. Essas bobinas também se encontravam expostas a um campo magnético variável e perpendicular a ambas. O cientista pretendia detectar sobre a segunda bobina a força eletromotriz induzida pela presença da magnetização nuclear provocada pela primeira bobina que produziu a absorção. Por esse motivo o experimento foi denominado inicialmente como indução nuclear (BLOCH, 1946; PURCELL, 1946).

Em 1946, Purcell e Bloch receberam em conjunto o prêmio Nobel de física pelas técnicas utilizadas nos avanços relacionados à melhoria das técnicas de Ressonância Magnética Nuclear.

**Figura 8:** Foto de Edward Purcell e Felix Bloch



Fonte:[http://osfundamentosdafisica.blogspot.com/2012/05/especial-de-sabado\\_12.html](http://osfundamentosdafisica.blogspot.com/2012/05/especial-de-sabado_12.html)

O período de 1945-1955 foi caracterizado pelas constantes descobertas no campo da RMN, depois dos experimentos de Purcell e Bloch, vários pesquisadores dedicaram a medir os momentos magnéticos de todos os isótopos ainda não estudados, com o intuito de buscar relações entre a magnitude medida e suas estruturas nucleares. Havia uma hipótese que todos os compostos tinham o mesmo sinal que foi desmistificada posteriormente. Sendo assim, ficou comprovado que os sinais mudam de espécie química para espécie química.

A RMN se tornou uma importante ferramenta analítica. Os melhoramentos dos instrumentos em relação ao princípio do estudo permitiram a observação de diferentes deslocamentos químicos de prótons em compostos orgânicos, sendo que o primeiro analisado foi o etanol. O procedimento para observação de linhas de RMN naqueles tempos consistia em variar a frequência através da condição de ressonância, recorrendo a sinais de flexão em um osciloscópio, sendo possível registrá-las. Este método foi denominado Onda Contínua (CW), utilizado por muitos anos, pois permitiu a observação sequencial de cada uma das muitas linhas de absorção, de vários complexos. No entanto, requeriam uma varredura muito lenta, para permitir o registro sem distorção das bandas. E assim, foi exigida uma melhora significativa nos instrumentos, já que cada registro só requer dez minutos. (DONOSO, 2013).

Até meados dos anos 50, toda a Teoria do RMN havia sido desenvolvida por físicos que foram perdendo interesse por um fenômeno já tão bem conhecido. Desse modo, o interesse pelo RMN foi dos físicos para os químicos, graças às suas numerosas aplicações.

Em 1948 surgiu uma nova empresa, a Varian Association do Estado da Califórnia, com ela foram surgindo novas aplicações para o espectrômetro de RMN, principalmente na química orgânica. Houve uma grande surpresa pelo rápido desenvolvimento do equipamento de RMN, uma vez que o infravermelho descoberto em 1900 demorou aproximadamente meio século para a confecção de um aparelho (SANCHEZ-FERRANDO, 2006).

Os primeiros aparelhos de RMN, foram ajustados em 40MHz para próton e eram considerados aparelhos muito primitivos. Para registrar o espectro protônico entre 0 e 10 ppm, necessitava-se de um intervalo de tempo compreendido entre 5 e 10 minutos. O processo de ajuste da homogeneidade do campo era crítico, pois era preciso calibrá-lo de acordo com a amostra analisada. Dessa maneira, a análise no RMN era uma tarefa longa e delicada em que apenas alguns bons especialistas conseguiam realizar. (DONOSO, 2013).



Os químicos orgânicos a partir da utilização do equipamento comprovaram que a técnica era ideal para elucidação e determinação estrutural de moléculas com massa molecular moderada. Portanto, vários compostos apresentaram espectros com novos sinais, ampliando a utilidade dos mesmos (DONOSO, 2013)

Em 1958 apareceu o clássico artigo de Shoolery e Rogers sobre o estudo de esteroides por RMN, em que se concluiu que deslocamentos químicos dos grupos metilas eram de grande valor.

Concomitantemente, Martin Karplus, demonstrou que as constantes de acoplamentos vicinais a três grupos podiam correlacionar com os ângulos de tensão, e isso deu origem a numerosos estudos conformacionais.

No início dos anos 60 apareceram no mercado, instrumentos comerciais com imã permanente de 60 MHz para próton, sendo esses muito mais estáveis e com melhor resolução que os primeiros aparatos comerciais. Dessa maneira, os espectros eram muito mais reprodutíveis (DONOSO, 2013)

Anos mais tarde, os imãs supercondutores refrigerados por hélio líquido fizeram surgir um campo magnético muito mais estável. Com isso, surgiram os primeiros espectros de prótons com frequência de 220 MHz e em 1967 ocorreu o primeiro estudo detalhado de proteínas pela técnica de RMN.

No final da década de 60 ocorreu uma grande revolução na metodologia instrumental do RMN, com avanços ligados às pesquisas realizadas por Weston A. Anderson e Richard R. Ernst que eram pouco conhecidos na época. O novo método se baseia em pulsos e transformadas de Fourier, sendo utilizados por todos os equipamentos modernos de RMN. A grande vantagem dessa nova técnica, é que foi permitido excitar simultaneamente todos os prótons da amostra, independentemente do seu deslocamento químico. Dessa forma, não foi mais necessário efetuar uma varredura de frequência (SANCHEZ-FERRANDO,2006).

A descoberta permitiu melhorar a magnitude da relação sinal-ruído na casa de duas a três vezes, ampliando as aplicações do RMN, através da transformada de Fourier que é uma operação matemática realizada digitalmente por um computador. Com isso, proporcionou um espectro com o mesmo formato e com a mesma

informação que se obtinha com onda contínua, no entanto o tempo gasto é bem menor. Sendo assim, durante os 10 minutos necessários para o registro de um único espectro de onda contínua, o método de pulsos pode somar um total de 600 espectros.

Além de ser mais rápido, o sistema de pulsos e transformadas de Fourier apresenta um sinal muito mais intenso do que o espectro convencional para uma amostra de mesma concentração (SANCHEZ-FERRANDO,2006).

Até essa revolução, descoberta por Ernst e Anderson, as aplicações práticas do RMN se limitavam a poucos isótopos de abundância natural elevada e de spin 1/2, principalmente o  $^1\text{H}$ ,  $^{19}\text{F}$ ,  $^{31}\text{P}$ ,  $^{195}\text{Pt}$ . Todavia, núcleos importantes e também abundantes como o  $^{12}\text{C}$  e o  $^{16}\text{O}$ , com spin 0 eram eliminados das análises. O novo método de pulsos e transformada de Fourier possibilitou a descoberta de centenas de núcleos com baixa abundância natural, onde se deve mencionar o  $^{13}\text{C}$  com 1,1% de abundância,  $^{15}\text{N}$  com 0,37% de abundância e o  $^2\text{H}$  (deutério) com 0,015% de abundância. Além disso, permitiu análises de amostras de 1 mg ou menos que apresentavam excelentes espectros. Por fim, na década de 70, os primeiros espectrômetros comerciais com a nova técnica foram comercializados pela empresa alemã Bruker (SANCHEZ-FERRANDO, 2006).

A segunda revolução metodológica do equipamento foi o surgimento do RMN bidimensional que foi formulado por J. Jeener. No entanto, Stern e sua equipe foram responsáveis pelas alterações práticas do RMN bidimensional. Desde então, o conceito se estendeu a 3 e 4 dimensões.

As melhoras nos equipamentos que ocorreram a partir do ano de 1975 iniciaram a prática generalizada do RMN bidimensional. Juntamente com o desenvolvimento da informática que permitiu a introdução de computadores de grande capacidade e velocidade facilitou o controle das variáveis instrumentais por parte dos usuários e também agilizou as análises (SANCHEZ-FERRANDO, 2006).

Em 1991 Richard R. Ernst ganhou o Prêmio Nobel de Química ao contribuir na fundamentação de propriedades para o que hoje se denomina de imagens de ressonância magnética (BRUICE, 2006).

A evolução da eletrônica aplicada permitiu organizar espectrômetros de multinuclear, sendo que esses permitem excitar vários isótopos simultaneamente. Hoje, têm-se rotineiros métodos de detecção inversa e seleção de coerências por meio de gradientes pulsantes de campo magnético, o que facilitou o desenho e a realização de todo tipo de experimento estrutural e dinâmico que podem ser realizados em uma ou em várias dimensões facilitando assim a elucidação de qualquer molécula bioquímica, inorgânica ou orgânica.

A RMN vem apresentando aplicações cada vez mais abrangentes nas biociências e nas ciências materiais, a exemplo da geologia em que se usa sondas de RMN em poços de petróleo, da indústria alimentícia em que o RMN de prótons é utilizado para se medir o conteúdo de água dos alimentos, e de seu importante uso na agricultura utilizado como técnica não invasiva para determinar o conteúdo de sementes e plântulas.

## **4.2. Aplicações**

Em tese de doutorado apresentada por ZUCCHI (1997), observou-se que a RMN tem oferecido inúmeras possibilidades de pesquisa nas áreas de Biologia e Medicina. Aplicando a Espectroscopia in vivo do  $^{31}\text{P}$  no estudo da fisiologia de músculos esqueléticos, quantificando as concentrações dos diferentes metabólitos fosforados que participam do metabolismo energético dos músculos, bem como suas alterações em função de contrações musculares, com isso foi estudado as alterações metabólicas dos compostos fosforados presentes em músculos esqueléticos, bem como o pH intracelular, de ratos e camundongos em função de estímulos elétricos e exercício físico intenso.

De acordo com trabalhos realizados por FILHO (2006), a RMN aliada à cromatografia gasosa é capaz de fornecer informações sobre a estrutura química das substâncias. Nesse, foram analisadas amostras de tecidos em cadáveres para se verificar a presença de entorpecentes em que as mortes ocorreram de forma súbita, verificando-se assim a presença de alguns componentes químicos específicos de determinadas substâncias não-legais, à exemplo do 1,1-dicloro-1-fluoretano que foi inalado por uma das vítimas.

A tese de doutorado apresentada por ALBUQUERQUE (2007), faz uso da RMN para análise de diferentes amostras de própolis de diferentes regiões do país, ressaltando que os própolis são diferenciados em treze grupos baseados em características físico-químicas destes compostos, objetivando realizar uma investigação fitoquímica através de métodos como o RMN de  $^{13}\text{C}$ , identificando estruturas importantes para produção de própolis solúveis em água e testes biológicos.

O artigo produzido na Universidade Estadual de Ponta Grossa (VOIGT, 2009) foi relacionado à síntese de combustível de transesterificação etanoica ácida utilizando óleo de fritura como matéria-prima. Assim, a RMN permitiu que as avaliações dos ácidos graxos do biocombustível fossem determinadas em diversos tempos de reação, peso molecular médio dos ésteres etílicos, índices de iodo, saponificação e rendimento da reação.

Em trabalho realizado por ALVES (2010), foi utilizado um estudo quantitativo por espectroscopia de RMN de  $^1\text{H}$  em amostras biológicas e um estudo de RMN de  $^{29}\text{Si}$  e  $^{95}\text{Mo}$  para caracterização de materiais e compostos organometálicos. Verificou-se que o núcleo de silício em derivados  $(\text{EtO})_3\text{Si}(\text{CH}_2)_3\text{X}$  é sensível à alteração do substituinte X nos sistemas estudados. Os espectros de  $^{95}\text{Mo}$  dos derivados de fórmula geral  $[\text{Mo}(\text{CO})_2(\text{C}_3\text{H}_5)(\text{Br})\text{LL}]$  (L=ligantess com átomos doadores de azoto), apresentam diferentes sinais de ressonância entre -600 e -800 ppm que correspondem aos vários isômeros (exo/equatorial, exo/axial, endo/equatorial) habitualmente detectados nos respectivos espectros RMN de  $^1\text{H}$ .

Considerações feitas por ZANDONAI (2014) tratavam da modificação do perfil de sítios ácidos de catalisadores, através do processo de troca iônica com amônio. No trabalho foi avaliado zeólita ZSM-5 através da técnica de dessorção à temperatura programada de amônia. Nesse trabalho o hidrocraqueamento foi realizado em um reator contínuo de leito fixo com o objetivo de produzir hidrocarbonetos na faixa dos combustíveis. Para a caracterização do catalisador foram realizadas análises de difração de raios-X (DRX) e RMN de  $^{29}\text{Si}$ . Os produtos foram analisados via cromatografia a gás com detectores de condutividade térmica e espectro de massa. Os produtos mostraram que a troca iônica promoveu um aumento na acidez do catalisador, o que levou a uma melhora na atividade e modificação da seletividade.

De acordo com GAMA, (2014) outras técnicas sem ser espectroscopia de massa e infravermelho eram consideradas inviáveis para análise de drogas, pois tinham um alto custo ou baixa sensibilidade. No entanto, nesse trabalho foi utilizado a RMN sem solvente deuterado para diluição de amostras de cocaína.

Com isso, foi diminuído os custos das análises. Os sinais espectrais obtidos permitiram a caracterização da cocaína e de seus adulterantes como cafeína, lidocaína e fenacetina. O novo método denominado de No-D NMR se mostrou adequado para a quantificação de cocaína.

Em observações feitas por GIRARDELLO (2014), a técnica de RMN foi utilizada para caracterizar amostras de turfa, sendo uma decomposta e uma fibrosa, após essa caracterização foram utilizadas as amostras em ensaios de absorção para avaliação do potencial das turfas na remoção de pireno em meio aquoso. Foi observado que as amostras são bastante parecidas entre si e ambas foram eficientes na absorção de pireno, sendo que o segundo tipo se mostrou mais eficiente do que o primeiro.

Ao analisar o artigo de LOPES (2015), percebe-se que este apresenta uma grande valia no estudo de aplicações de ressonância magnética nuclear no estudo da: medicina, indústria petroquímica (produção de etanol) e aplicações farmacêuticas. No decorrer do trabalho foram observadas que várias alterações no perfil metabólico de pacientes como: diminuição nos níveis de glicose, lactato e aminoácidos de cadeia ramificada; aumento nas concentrações de corpos cetônicos, carnitinas e *p*-cresol. E quando observado o perfil lipoproteico destes houve diminuição nos níveis de Lipoproteína de Densidade Muito Baixa (VLDL), Lipoproteína de Baixa Densidade (LDL) e lipídios insaturados; aumento nos níveis de Lipoproteína de Alta Densidade (HDL) e fosfatidilcolina. Finalmente, observou-se diminuição na proporção de ácidos graxos insaturados, com consequentemente aumento na proporção de ácidos graxos saturados. Demonstrando assim, a relevância da utilização da RMN para a análise de diferentes grupos funcionais, que possibilitavam a explicação de resultados obtidos na pesquisa.

Os estudos realizados por FERREIRA (2015) utilizam RMN para a caracterização do fármaco Lamivudina (um antirretroviral, utilizado como parte do arsenal de diversos medicamentos no tratamento de AIDS, seu mecanismo consiste na ini-

bição de ácidos nucleicos, no tratamento de adultos e crianças) em suas diferentes formas com auxílio de cálculos computacionais como ferramentas confirmatórias.

Em trabalho apresentado por DE FREITAS (2015), observou-se a obtenção de carboidrazonatioamida ( $C_{16}H_{16}O_3N_5S_1$ ) por duas metodologias distintas. Foram obtidos três compostos inéditos e estes caracterizados por RMN de  $^1H$  e  $^{13}C$ , foram planejadas duas rotas sintéticas em que o composto de partida foi a carbodiidrazida.

Em dissertação apresentada por TEIXEIRA (2017), avaliou-se a estabilidade química de compostos orgânicos de telúrio hipervalentes sintéticos através da técnica de RMN de telúrio 125. Notou-se que o composto foi estável apenas em DMSO- $d_6$  nas temperaturas de 25 e 37 °C e o mesmo sinal não foi observado em soluções aquosa e tamponada. Os resultados apontaram que atividades biológicas a para organocalcogênios di-halogenados devem passar por uma nova investigação em função da possibilidade de formação de uma nova espécie de telúrio.

Em estudo realizado por SANTANA (2017), foi avaliado o perfil químico e quantificação de carboidratos de glicose, frutose e sacarose em sucos de uvas integrais e néctar, por meio de RMN de  $^1H$ , utilizando para quantificação os métodos de referências externa e eletrônica. Resultados satisfatórios foram obtidos nos dois métodos que, em experimento único, quantificaram os três carboidratos além de permitir o conhecimento do nível de maturação da fruta e o teor de etanol presente nos sucos. Observou-se valores elevados de frutose no suco de uva integral. Isto pode levar a danos na saúde. Também foi observado um teor de sacarose superior aos limites estabelecidos na grande maioria dos sucos analisados e tal não-conformidade foi indetectável por métodos usados de forma oficial.

Enfim, como observado durante os estudos citados em que a técnica de RMN foi utilizada é possível observar que esta metodologia é capaz de auxiliar em várias áreas do desenvolvimento humano, dentre elas podemos citar, a medicina, a indústria farmacêutica, a indústria química, a indústria petroquímica, a indústria de produção, microbiologia, entre outras citadas, demonstrando assim que esta técnica se apresenta como fundamental auxiliador em pesquisas que busquem análises, caracterizações e melhoramentos de tecnologias.

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho apresentou uma breve revisão bibliográfica sobre a técnica de RMN, buscando aprimorar os conhecimentos a respeito desta metodologia, sendo que esta possui relevância histórica em aprimoramento do desenvolvimento humano.

Dessa maneira, buscaram-se pesquisar dados históricos, estudos teóricos do mecanismo, métodos utilizados em pesquisas e aplicações destas no cotidiano de laboratórios.

Através do estudo realizado, nos foi mostrado que a RMN com sua caracterização de moléculas, possui uma variedade de benefícios para as pesquisas, dentre as quais podemos citar: a sua introdução em áreas ambientais buscando auxiliar na retirada de compostos tóxicos do meio ambiente a exemplo do pireno, na identificação de compostos químicos importantes em trabalhos relacionados à grande área da química, auxílio ligado à química forense onde faz a identificação de compostos tóxicos após o óbito de indivíduos buscando solucionar alguns enigmas ligados ao óbito e ainda em pesquisas relacionadas ao tratamento de doenças como a diabetes.

A RMN é atualmente, uma técnica que apresenta um bom custo-benefício, sendo importante em laboratórios de síntese orgânica ou de química de produtos naturais e em indústrias farmacêuticas de ponta. Quando se trata da quantidade mínima de pesquisas para caracterização de moléculas, este equipamento é essencial. Podemos observar a grande capacidade da RMN em agir de forma quantitativa. Em destaque, temos seu poder de auxílio em pesquisas relevantes.

Outro fator que chama a atenção sobre o estudo realizado é a diversidade de aplicações na indústria petroquímica, trazendo diversos benefícios como: pesquisas relacionadas a síntese de combustível de transesterificação etanoica ácida utilizando óleo de fritura como matéria-prima, possibilitando a avaliação dos ácidos graxos do biocombustível em diferentes tempos de reação, peso molecular médio dos ésteres etílicos, índices de iodo, saponificação e rendimento da reação.

Enfim, podemos observar que este trabalho de conclusão de curso permitiu uma melhor compreensão da RMN, através da observação de suas características, benefícios e aplicações.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, I. L. **Estudo dos constituintes químicos de duas amostras de própolis: Alto Santo-Ceará e Passa Quatro-Minas Gerais**. 2007. Tese de Doutorado . Universidade Federal do Ceará . 2007.

ALVES, J. M. A. M. **Aplicação de técnicas de RMN em solução ao estudo de sistemas químicos e biológicos**. 2010. Tese de Doutorado . Universidade de Lisboa - 2010

ALVES, M. B. M.; ARRUDA, S. M. **Como fazer referências: bibliográficas, eletrônicas e demais formas de documentos**. 2007. Disponível em: <<http://www.bu.ufsc.br/home982.html>>. Acesso em: 14 abr. 2017.

**Apostila de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$** . Universidade Federal de Pelotas. Instituto de Química e Geociências. 2011.

BLOCH, F. **Nuclear Induction**. *Physical Review*, 70:460-474, 1946.

BOTTOMLEY, P.A. **NMR imaging techniques and applications: A review**. *Review of Scientific Instruments*, New York, v. 53, n. 9, p. 1319- 1337, 1982.

BRUCE, P. Y. **Química Orgânica**. 4ª edição. Rio de Janeiro: Pearson Prentice Hall, 2006. Volume 1.

CLARK, C.J.; Hockings, PD, Joyce, DC, Mazucco, R.A. **Application of magnetic resonance imaging to pre- and post-harvest studies of fruits and vegetables**. *Postharvest Biology and Technology*, Amsterdam, n. 11, p. 1-21, 1997.

DE FREITAS, F. C.; et al. **Síntese da Fenil Carboidrazonatioamida Derivada da Vanilina Via Diferentes Rotas Sintéticas**. 2015.

DONOSO, J.P. A. **Datas e personagens na História da Espectroscopia**. 2013. Apresentação de palestra em slides . Universidade de São Paulo - Instituto de Física de São Carlos - IFSC . 2013.

FILHO, V. S. A. **Aplicação da espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) à toxicologia forense**. 2006. Tese de Doutorado . Universidade Federal de Pernambuco . 2006.



GAMA, L. A. **Uso de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) para análise de cocaína e seus adulterantes**. 2014. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal do Espírito Santo . 2014.

GIL, F.G.C.; et al. **Ressonância magnética nuclear. Fundamentos, métodos e aplicações**. Lisboa. Fundação Calouste Gulbenkian, 1987.

GIRARDELLO, F. **Utilização de um adsorvente natural para remoção de pireno em meio aquoso**. 2014. Tese de Doutorado . Universidade de Caxias do Sul . 2014.

GORTER, C.J. **Negative results of an attempt to direct nuclear magnetic spins**. *Physica*, 3:995-998, 1936.

FERREIRA, V. S. **Estudo da estrutura cristalina do fármaco lamivudina e seus derivados através de RMN no estado sólido e cálculos teóricos**. 2014. Tese - Universidade Federal de Goiás . 2014.

LOPES, T. I. B. et al. **Aplicações de ressonância magnética nuclear no estudo: da cirurgia bariátrica, da produção de etanol e da distribuição regional de triacilglicérides**. 2015. Tese de Doutorado . Universidade Estadual de Campinas . 2015.

NASCIMENTO, E. S. P. **Análise metabolômica via RMN: amostras de urina e látex**. 2011. 152f. Tese (Doutorado) . Universidade Federal de São Carlos - 2011.

PAVIA, Donald L. et al. **Introdução à espectroscopia**. Cengage Learning, 2010.

PURCELL, E. M.; BLOEMBERGEN, N.; POUND, R.V. **Resonance Absorption by Nuclear Magnetic Moments in a Single Crystal of CaF<sub>2</sub>**. *Physical Review*, 70:988-988, 1946.

SÁNCHEZ-FERRANDO, F. **Breve resumen histórico de la resonancia magnética nuclear**. Internet (consultado em 10 outubro de 2012), 2006.

SANTANA, M. J. **O uso da ressonância magnética nuclear na análise do perfil químico de sucos de uva do tipo integral e néctar**. 2017. 150 f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal de Goiás - 2017.

TEIXEIRA, M. L. **Investigação da estabilidade química de compostos orgânicos hipervalentes de telúrio em meio orgânico-aquoso empregando ressonância magnética nuclear (RMN) de  $^{125}\text{Te}$** . 2017. 107 f. Dissertação - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química - 2017.

VOIGT, C.L. **Síntese e caracterização espectroscópica de biocombustível de óleo de fritura**. 2009. Dissertação . Universidade Estadual de Ponta Grossa . 2009.

ZANDONAI, C. H.; YASSUE-CORDEIRO, P. H.; FERNANDES-MACHADO, N. R. C. **Alteração do Perfil de Acidez da Zeólita ZSM-5 Através de Troca Iônica com Amônio e Aplicação no Hidrocraqueamento de Óleo de Soja Bruto**. X Encontro Brasileiro Sobre Adsorção, 2014.

ZUCCHI, M.R. **Implementação da técnica de espectroscopia in vivo por RMN e sua aplicação na fisiologia do exercício**. 1997. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo . 1997.