





Imagem Por Ressonância Magnética Nuclear: Aplicações em Amostras de Carne

Janaina Helena Fontana¹ Rubens Bernardes Filho²

1. Introdução à Ressonância Magnética Nuclear

A Ressonância Magnética Nuclear (RMN) é um método na qual ocorre absorção de radiação eletromagnética por um núcleo atômico, colocado em um campo magnético (PANEPUCCI e TANNÚS, 2000). A técnica de RMN é útil para obter informações sobre a estrutura molecular em questão, através da determinação precisa dos valores de radiofrequência que foram emitidos pelo núcleo e o intervalo de tempo com que a amostra volta ao estado inicial (GIL e GERALDES, 1987).

É possível obter-se imagens através da técnica de Tomografia por Ressonância Magnética Nuclear (TRMN), ou Imagem por Ressonância Magnética Nuclear (IRMN). Com esta técnica é possível mapear detalhadamente diferentes componentes de uma amostra a partir do sinal de um núcleo. Esta é uma metodologia não invasiva mostra a distribuição do átomo selecionado (HAGE e IWASAKI, 2009).

1.1. Espectro Eletromagnético

A espectroscopia é uma metodologia que baseia-se em transmisão, absorção ou reflexão de energia radiante incidente em uma amostra para descobrir dados sobre esta. Como por exemplo, a análise de estrutura química de compostos inorgânicos ou grupos funcionais em uma substância orgânica. Ao excitar-se uma amostra com uma radiação eletromagnética, esta pode emitir ou absorver a radiação em um determinado comprimento de onda o que permite uma observação de seu comportamento. A base da espectroscopia é a natureza ondulatória das radiações eletromagnéticas, cuja variável é a frequência.

A espectroscopia de RMN ocorre devido à interação da matéria com o campo magnético aplicado, segundo a frequência de Bohr expressa na equação 1:

$$E$$
 h.v (1)

Na qual temos: a constante de Planck (h = $6,63.10^{34}$ Js), a frequência da radiação (v) e a diferença de energia entre os estados fundamental e excitado (ΔE) do núcleo. Temos ainda que, o produto hv corresponde a um quantum de energia. Como a diferença de energia entre esses dois estados é muito pequena, o valor da frequência a radiação ficará na região das radiofrequências (10^{6} a 10^{10} Hz), como mostrado em destaque na Figura 1.





1.2. Momento Angular de Spin

Todos os núcleos atômicos possuem carga. Esta carga gira em torno de um eixo devido ao momento angular. Esta grandeza pode ser expressa por um número quântico: o número de spin (I). Entretanto, o número de spin não pode assumir qualquer valor, por isso diz-se que o momento angular é quantizado, ou seja, assume valores não contínuos de energia.

O valor do spin (I) está relacionado com o número de massa atômica (A) e o número de prótons (Z). Se A e Z são pares, o valor de I será zero. Nesta situação, os núcleos não apresentam propriedades magnéticas e, portanto, não é possível a obtenção de sinal de RMN.

¹Química, Graduanda UFSCar, Embrapa Instrumentação Agropecuária, C.P. 741, CEP 13560-970, São Carlos, SP, jhfontan@yahoo.com ²Física, Dr., Embrapa Instrumentação Agropecuária, C.P. 741, CEP 13560-970, São Carlos, SP, rubens@cnpdia.embrapa.br



Como exemplo, temos: ${}^{12}_{6}C$, ${}^{16}_{8}O e {}^{34}_{16}S$ entre outros. Para valores de Z ímpares e A pares, ter-se-á um valor inteiro para I, como exemplo temos: ${}^{14}_{-7}N$ (I=1) e ${}^{2}_{-1}H(I=1)$. Enquanto que para valores de A ímpares, tem-se I um número semi-inteiro. Estes são os núcleos utilizados em RMN e temos os seguintes exemplos mostrados na Tabela 1.

 Tabela 1. Exemplo de átomos com valores de l meiointeiro.

Ι	
1/2	¹ H ¹³ C ¹⁵ N ¹⁹ F ³¹ P
3/2	¹¹ B ²³ Na ³⁵ Cl
5/2	¹⁷ O ²⁷ Al

Além do momento angular, a sua energia também está quantizada, ou seja, apenas determinados níveis energéticos são possíveis. Na ausência do campo magnético, os estados de spin, o fundamental e o excitado, não se distinguem em energia, são chamados assim de degenerados. Na presença de um campo magnético, os estados possuem energias diferentes, sendo uns mais estáveis que outros, como mostrado na Figura 2. O estado de menor energia possui a orientação preferida, enquanto que o estado de maior energia possui orientação oposta ao campo aplicado. Isso ocorre devido à interação do campo magnético e o momento magnético associado ao spin.



Fig. 2. Diagrama de energia.

O valor da diferença entre esses níveis de energia pode ser encontrado a partir da seguinte equação:

$$E = \frac{h}{2} B_0 \tag{2}$$

Sendo que, B_o é o valor do campo magnético aplicado e γ é a razão giromagnética (ou magnetogírica), alguns valores estão expressos na Tabela 2. γ é uma constante de proporcionalidade fundamental de cada núcleo, entre o momento magnético nuclear (μ) e o número de spin (I) descrita pela equação 3:

$$\frac{2}{hI}$$
 (3)

Tabela 2. Valores para a razão magnetogírica.

Núcleo	Spin	Υ(MHz/T)
¹ H	1/2	42.58
³¹ P	1/2	17.25
²³ Na	3/2	11.27
¹⁴ N	1	3.08
¹³ C	1/2	10.71
¹⁹ F	1/2	40.08

O número de possibilidades de estados não degenerados num campo magnético é dado pela seguinte equação: 2I + 1. Como por exemplo, para I = 1/2 é possível ocupar duas orientações e para I = 3/2 é possível obter quatro orientações, como mostrado na Figura 3.



Fig. 3. Diagrama de energia.

1.3. Equação fundamental da RMN

Os níveis de energia, acima descritos, são funções da magnitude do momento magnético nuclear (μ) e da força do campo externo aplicado (B_o). Sabendo-se também que o quantum de energia é hv, descrito na equação 1, podemos deduzir, a partir das seguintes equações 1 e 2, temos:

h.
$$\frac{\text{h }B}{2}$$
 (4)

$$\frac{B}{2}$$
 (5)

A equação 5 é a Equação Fundamental da Ressonância Magnética Nuclear, que correlaciona a radiofrequência aplicada (v), necessária para as transições entre os estados de energia, com a intensidade do campo magnético aplicado (B_0).

1.4. Alinhamento com o campo magnético

Os momentos magnéticos nucleares possuem uma orientação aleatória, como mostrado na Figura 4a. Estes são como pequeníssimos vetores que apontam em distintas direções, cancelando-se de forma que nenhum momento magnético resultante é produzido. Quando expostos a um campo externo B_0 , os spins se alinham na mesma direção do campo magnético, sendo no mesmo sentindo do campo ou em sentindo oposto ao campo magnético aplicado. No estado de menor energia, que é no sentido do campo magnético aplicado, ocorre um alinhamento maior de spins do que no estado de maior energia, de sentido contrário ao campo aplicado, como mostrado na Figura 4b. Este excesso de população gera uma magnetização resultante Mo, paralela ao cámpo magnético aplicado, isto é, na mesma direção e sentindo de Bo, que é referido como eixo z ou eixo longitudinal, como visto na Figura 4c. Entretanto, esse alinhamento não ocorre ao longo do eixo z, pois a resultante Mo gira em torno deste num movimento conhecido como movimento de precessão (Fig. 4d).

O movimento de M_o em torno de B_o possui uma velocidade angular de precessão, descrita pela equação 6:

Onde: $B_o \notin o$ campo aplicado, $\gamma \notin a$ razão giromagnética e $\omega_o \notin a$ frequência de Larmor. E o valor da frequência de Larmor depende somente da intensidade do campo B_0 aplicado, ou seja, quanto maior o campo magnético maior será a frequência de precessão.



Fig. 4: a)- Momentos magnéticos nucleares em orientações aleatórias. b)- Alinhamentos dos spins com o campo magnético. c)- Magnetização resultante Mo. d)-Movimento de precessão.

1.5. Excitando o sistema

Para se obter um sinal de ressonância é necessário que o sistema, inicialmente em equilíbrio, apenas na presença do campo B_o , seja perturbado com um sinal eletromagnético com a introdução de um campo magnético B_1 , com direção perpendicular à B_o (Fig. 5), durante um intervalo de tempo.



Fig. 5. Aplicação do pulso de radiofrequência.

Após a aplicação do pulso de radiofrequência, a magnetização formará um ângulo com a direção de B_0 . Esse ângulo depende da intensidade de B_0 , de B_1 e do tempo de duração do pulso.

É usual chamar pulsos de $\pi/2 e \pi$, que correspondem respectivamente a uma rotação de 90° e 180° na magnetização resultante, M_o. Esses são os ângulos de excitação mais utilizados em RMN.

No caso de pulso de 90°, a magnetização é transferida para o eixo perpendicular ao eixo longitudinal. Este eixo é chamado de eixo transversal, formando uma magnetização transversal, M_{xy} (Fig. 6). Para o pulso de 180°, a magnetização inverte-se para a direção do eixo z (Fig. 6), originando a magnetização longitudinal, M_z .



Fig. 6. O vetor resultante da aplicação do pulso de 90° do pulso de 180°.

Após o término do pulso de radiofrequência a magnetização retorna ao estado inicial reestabelecendo o equilíbrio. Este processo é denominado relaxação. Esse retorno faz com a amplitude do sinal por ela induzido decaia exponencialmente à zero. Este decaimento é chamado de FID (sigla derivada do inglês: "free induction decay"), que em português significa decaimento de indução livre, ilustrado na Figura 7.



Fig. 7. Decaimento de indução livre, o FID.

1.6. Processo de Relaxação

Para manter o sistema em equilíbrio, os núcleos que foram excitados retornam ao menor nível num processo chamado de relaxação, e durante este processo o sinal de RMN é gerado.

Existem dois mecanismos distintos de relaxação: relaxação transversal e relaxação longitudinal. Esta relaxação é descrita pela evolução temporal de M₂ e é caracterizada pela constante de tempo T₁. Este processo está ilustrado na Figura 8. Corresponde a uma relaxação de índole energética, ou seja, é um processo entálpico em que ocorre troca de energia com o sistema. Essa transferência de energia acontece do sistema de spins que está no estado de maior energia (no estado excitado) para as moléculas do meio mais próximas que vibram nas frequências apropriadas. Anteriormente o meio era referido como rede, por isso esta relaxação também pode ser chamada de relaxação spin-rede.

O valor de T₁ depende da vizinhança do núcleo estudado. Por exemplo, para o núcleo 'H da água, que é uma molécula pequena, o tempo de relaxação é mais longo que 'H dos lipídeos que são moléculas maiores. Desta forma, o valor de T₁ para a gordura é em torno de 100ms, enquanto que o T₁ para a água pura fica em torno de 3s.

A relaxação transversal descreve o decaimento exponencial das componentes transversais $M_x \in M_y$, caracterizada pela constante de tempo T_2 . Este processo, ao contrário da relaxação longitudinal, é um processo espontâneo, isto é, um processo entrópico que não envolve transferência de energia.



Fig. 8. Relaxação Longitudinal

Do ponto de vista dos tempos de relaxação, temse a condição $T_2 \le T_1$. Isto acontece porque para recuperar a magnetização longitudinal é necessário antes de tudo destruir a magnetização transversal.

Após a aplicação do pulso de radiofrequência, a magnetização resultante precessa em fase, resultando em um valor elevado de M_{xy}. Esta coerência de fase será perdida, uma vez que cada núcleo tem seu próprio momento magnético e interagem com os núcleos vizinhos. Esta interação causa a perda de coerência dos spins nucleares e recebe o nome de relaxação spin-spin. Este fenômeno está ilustrado na Figura 9.



Fig. 9. Relaxação Transversal

Na prática o sinal de RMN decai mais rapidamente devido a não homogeneidade do campo B_o nos vários pontos da amostra. Considerando-se as inomogeneidades do campo, a constante de tempo de decaimento do FID será denominada T₂, sendo que T₂ < T₂ (Fig. 10).



Fig. 10. Efeito da inomogeneidade do campo magnético.

2. Imagem por Ressonância Magnética Nuclear

A Imagem por Ressonância Magnética Nuclear (IRMN) é um método não invasivo que apresenta grande potencial para diagnosticar, com informações anatômicas acuradas com bom contraste e em qualquer plano (HAGE e IWASAKI, 2009). A formação das imagens envolve o mapeamento da região em estudo através da aplicação de sequências de pulsos bem específicas.

A geração de imagens possui várias etapas e possibilidades. O método mais aplicado é baseado na colocação de um campo magnético adicional na intenção de codificar informações de fase dos spins. Essa metodologia pode ser compreendida através do conceito de gradientes de campo magnético (PANEPUCCI e TANNÚS, 2000).

O núcleo mais utilizado para a formação de

imagens é o núcleo do ¹H. O ¹H é o núcleo mais simples, composto por um único próton. Grande parte do sinal é devido à água. A única exceção é o sinal oriundo da gordura, na qual os prótons da gordura são os responsáveis por grande parte do sinal.

2.1. Gradientes de Campo Magnético

O gradiente de campo magnético pode ser definido como a variação de intensidade ao longo de uma direção espacial. Para se obter uma imagem por RMN é necessário que o material que será analisado seja exposto a um campo magnético não uniforme.Para este fim são usadas bobinas de gradiente para gerar um campo que possua intensidade diferente em cada ponto da amostra. Então temos que, na presença do gradiente de campo magnético ter-se-á uma distribuição de frequências de precessão.

Este fenômeno pode ser exemplificado com uma experiência de RM que consiste em uma amostra formada por três tubos com quantidades diferentes de água (Ω 1, Ω 2, Ω 3) e consequentemente de prótons. Esses tubos foram posicionados ao longo do eixo x, sob a ação do gradiente de campo Gx, cuja intensidade varia linearmente na direção x. Esta etapa está ilustrada na Figura 11.



Fig. 11: Amostra de três tubos de água com quantidades diferentes de prótons, posicionados ao longo do eixo x.

Cada tubo produzirá um sinal de *fid* que serão posteriormente somados gerando um *fid* resultante (Fig. 12).



Fig. 12. a)- *fid* individual do tubo 1; b)- *fid* individual do tubo 2; c)- *fid* individual do tubo 3; d)- *fid* composto.

O fid resultante é analisado após a transformada de Fourier. O resultado é um espectro capaz de revelar não apenas as posições de cada tubo, mas também a quantidade de prótons de cada um (Fig. 13). Portanto, o espectro é uma representação unidimensional da distribuição espacial da densidade de prótons existente na amostra.





2.2. Mecanismos de Contrastes

As imagens por RMN correspondem às medidas dos sinais de ressonância magnética para diferentes porções da amostra. Esse valor, geralmente não é relevante, pois o que importa é a capacidade de detectar as mudanças no sinal entre duas regiões distintas.

Ó contraste das imagens de IRMN é normalmente obtido utilizando características dos tempos de relaxação e recebem a denominação de ponderadas em T_1 , T_2 ou densidade de prótons.

Para imagens que são ponderadas em T₁ o contraste aparecerá diferente em relação a imagens ponderadas em T₂. As imagens carregam a ponderação baseada em dois parâmetros: o TR (tempo de repetição) e TE (tempo de echo).

O tempo de repetição é o tempo decorrido entre a aplicação de pulsos de radiofrequência, Figura 14a. Enquanto que o tempo de echo é o tempo decorrido entre a aplicação do pulso e a percepção do sinal, Figura 14b.

Manipulando-se esses dois parâmetros é possível determinar as características físicas do tecido, resultandonos diferentes contrastes das imagens.





2.1. Imagens ponderadas na densidade de prótons

As imagens que são ponderadas em densidade de prótons apresentarão maior brilho quanto maior for a quantidade de prótons na área analisada. Para estas imagens é necessário minimizar os efeitos de T_1 e T_2 . Assim, a sequência de pulsos deve conter um TR suficientemente longo, para que a magnetização tenha voltado ao equilíbrio, e com isso retirando a influência de

 $T_{\rm 1}$ na imagem. Para retirar a influência de $T_{\rm 2}$ é necessário que a sequência contenha um TE curto. Isso faz com que não ocorra a relaxação spin-spin.

As imagens ponderadas em T_1 ou em T_2 proporcionam um contraste mais acentuado que imagens ponderadas em densidade de prótons. Isso ocorre porque muitas áreas possuem a mesma densidade de prótons, porém valores distintos para tempos de relaxação.

2.2. Imagens ponderadas em T1

Para que ocorra uma imagem ponderada em T1, o TR deve ser curto o que gerará o contraste. Isso ocorre porque amostras cujos T1 são longos possuem uma recuperação da magnetização demorada, ao contrário que tecidos com T1 curtos, a magnetização retornará rapidamente ao equilíbrio. Estes por fim, aparecerão mais claros que áreas com T1 longo.

Resumidamente a imagem terá áreas claras quando a região tiver um sinal hiperintenso e áreas mais escuras para região com sinais mais fracos. Nestas áreas o núcleo não tem tempo suficiente para retornar ao equilíbrio, saturando o sinal. Assim, quanto menor o valor de T_1 , mais intenso será o sinal, e consequentemente mais clara será a região.

Além disso, é necessário que TE também seja curto para retirar a influência de T2.

O contraste nas imagens ponderadas em $T_{\rm 1}$ depende de quão eficiente será a distribuição de energia para o meio, para isto é necessário analisar o movimento molecular.

Por exemplo, a água, por ser uma molécula pequena, possui uma elevada frequência de movimento molecular. Isto faz com que o movimento das moléculas seja superior a frequência de ressonância, resultando numa transferência de energia pouco eficiente para o meio e consequentemente em um T_1 longo. Enquanto que a gordura é uma molécula grande e seus prótons possuem movimento mais lento, assim sua frequência de movimento molecular está próxima à de ressonância resultando em um T1 curto, pois a transferência de energia é mais eficiente.

2.3. Imagens ponderadas em T2

As imagens ponderadas em T2 possuem a dependência do contraste baseada em TE. O TR deve ser longo para minimizar a influência de relaxações spin-rede assim como de densidade de prótons.

Para tais imagens é necessário ter um TE longo. E assim como imagens ponderadas em T₁, as áreas com sinais intensos serão mais claras, pois os núcleos não perdem coerência de fase tão rapidamente.

Resumindo, pode-se ter o seguinte esquema apresentado na Tabela 3 para a obtenção de diferentes contrastes na imagem:

Tabela 3. Esquema para obtenção de contraste em imagens.

Imagem Ponderada em	Tempo de Repetição	Tempo de Echo
T ₁	Curto	Curto
T ₂	Longo	Longo
Densidade de prótons	Longo*	Curto

*O valor é considerado longo em relação ao valor de TR para obtenção de T $_1$.

3. Sequência de pulso de Echo de Spin

A sequência de pulso de spin-echo é a mais utilizada para obtenção de imagens. Esta sequência consiste na aplicação de dois pulsos, um de 90° e outro de 180°, como ilustrado na Figura 15.

Com a aplicação do pulso de 90° na magnetização, inicialmente em equilíbrio (Fig. 16 A), esta rotaciona para o eixo y (Fig. 16 B). Como a magnetização total é a composição de magnetizações individuais, logo após uma pequena fração de tempo, ocorre perda de coerência de fase, que ocorre porque uns vetores de magnetização possuem diferentes velocidades de precessão (Fig. 16 C e D). Após um tempo da aplicação do pulso de 90°, é então aplicado um pulso de 180°, cuja intenção é girar todos os vetores de magnetização em torno do eixo y, (Fig. 16 E). Posteriormente, os vetores tendem a se alinhar, fazendo com que seja detectado um sinal (Fig. 16 F e G). E esta refocalização dos vetores que é conhecido como Echo de spin, ou spin-echo.



Fig. 15. Sequência de pulso Spin-Echo



Fig. 16. Sequência da magnetização após um pulso de Spin-Echo.

Com isso temos que a IRMN é uma técnica que nos mostra imagens com alto contraste para verificar pormenorizadamente o interior de amostras. E sua particularidade em representar não apenas a densidade eletrônica dos átomos, mas também propiciando informações sobre a estrutura da área analisada juntamente com processos químicos e dinâmicos que torna a IRMN uma técnica muito útil para estado de materiais que possuam grande quantidade de água ou óleo.

4. Aplicação de TRMN para obtenção de imagens de carne.

Com a técnica de TRMN foi possível obter imagens de amostras de corte do *longissimus dorsi* nas quais contrastou-se a gordura da carne, com a finalidade de quantificar o marmoreio. Na Tabela 4 apresentam-se imagens feitas na qual o número da amostra corresponde ao animal abatido. Nestas imagens é possível verificar os diferentes graus de gordura entremeada.

As imagens de TRMN foram obtidas em um tomógrafo da Varian, modelo Inova de 2 Tesla e 85 MHz para H¹, do laboratório de ressonância magnética nuclear da Embrapa Instrumentação Agropecuária.

O melhor contraste entre a carne e a gordura foi obtido com a técnica de "inversão recuperação de spin", onde o tempo de repetição utilizado foi de 4 a 6s e tempo de echo de spin de 13 a 15ms.

As análises realizadas com esta metodologia estão ajudando na formação de um banco de dados que

relacionará as características do gado ao marmoreio obtido, que deverá servir como norteador de manejo que auxiliem na produção e classificação de carne marmorizada.

Tabela 4. Imagens do longissimus dorsi obtidas atravésda técnica TRMN.



146

149



Referências

GIL, V. M. S.; GERALDES, C. F. G. C. **Ressonância Magnética Nuclear:** fundamentos, métodos e aplicações. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1987. 1012 p.

HAGE, M. C. F. N. S.; IWASAKI, M. Imagem por ressonância magnética: princípios básicos. **Ciência Rura**l, Santa Maria, v. 39, n. 4, jul. 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid = S0103-84782009005000041&script = sci_arttext >. Acesso em: 03 jul. 2009. DOI: 10.1590/S0103-84782009005000041.

MARTINS, M. J. **Desenvolvimento de um tomógrafo de RM:** integração e otimização. 1995. 78 f. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo, São Carlos.

PANEPUCCI, H.; TANNÚS, A. Magnetic Resonance Imaging. In: COLNAGO, L. A.; CRUVINEL, P. E. **Advances in Agricultural Tomography**. São Carlos: Embrapa Agricultural Instrumentation, 2000. p. 57-76.

Literatura consultada

AZEVÊDO, E. R. Efeitos do movimento em imagens por RMN e Implementação das Técnicas "Gradient Moment Nulling" e pré-saturação espacial para redução de artefatos realcionados ao movimento. 1998. 109 f. Tese (Mestrado) - Universidade de São Paulo, São Carlos. HOLDE, K. E. V.; JOHNSON, W. C.; SHING HO, P. **Principles** of **Physical Biochemistry**. New Jersey: Prentice Hall, 1998. p. 484-526.

Comunicado Técnico, 103

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na: Embrapa Instrumentação Agropecuária Rua XV de Novembro, 1542 - Caixa Postal 741 CEP 13560-970 - São Carlos-SP Fone: 16 2107 2800 - Fax: 16 2107 2902 e-mail: sac@cnpdia.embrapa.br http://www.cnpdia.embrapa.br 1a. edição

1a. impressão 2009: tiragem 300



