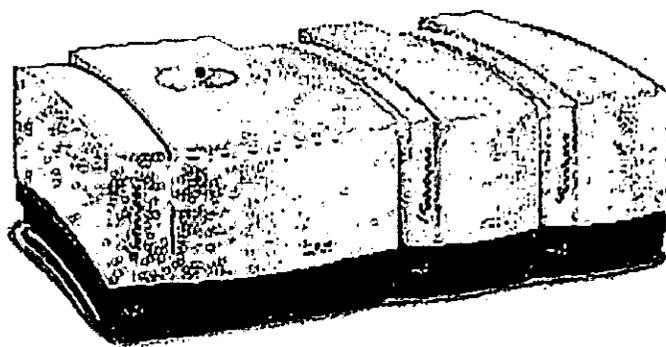


F13-23



# Análise de Sementes de Amendoim por meio da Técnica RMN

Tese de Licenciatura



**Departamento de Física  
Faculdade de Ciências  
Universidade Eduardo Mondlane**

Lucílio dos Santos Matias

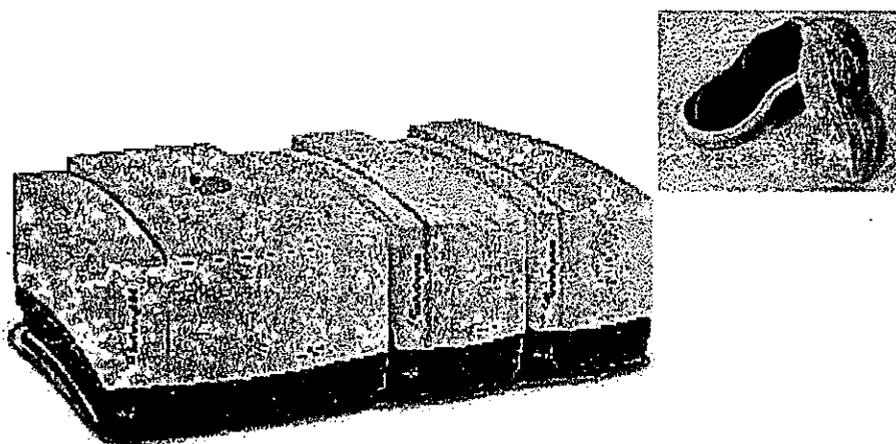


# **Análise de Sementes de Amendoim por meio da Técnica RMN**

---

**Tese de Licenciatura**

---



**Departamento de Física  
Faculdade de Ciências  
Universidade Eduardo Mondlane**

---

**Nametil**

**Lucillo dos Santos Matias**



**Análise de Sementes de Amendoim  
por meio da Técnica RMN**

Tese de Licenciatura



Departamento de Física  
Faculdade de Ciências  
Universidade Eduardo Mondlane

Laboratório de Tecnologia Alimentar - LTA  
Supervisor: Alexandre Maria Maphossa, Ph.D.  
(e-mail: [maphossa@zebra.uem.mz](mailto:maphossa@zebra.uem.mz) )

Autor: Lucílio dos Santos Matias.  
(e-mail: [lutchzzz@yahoo.com.br](mailto:lutchzzz@yahoo.com.br) )

Maputo, Agosto de 2004



Aos meus pais, Inocêncio Matias & Anastácia dos Santos Alberto;  
aos meus irmãos: Eusébio Maria, Egídio, Inês, Justino César, Genício, Florbela, Sérgio,  
Altino, Mimi e João; aos meus sobrinhos e a avô Immaculada.

Sinto tanto orgulho de ter surgido ao mundo como parte deste grupo.

'Discovery in the grand manner is for young people...and hence for me a thing of the past'.

'Généralement les découvertes sont pour des enfants...et donc pour moi, une chose du passé'.

'Muitas vezes, as crianças é que fazem descobertas...e portanto, para mim, um acontecimento do passado'.

A. Einstein.

## Agradecimentos

Sou muito grato a muitas individualidades pela ajuda que me concederam na preparação e realização deste trabalho. A lista é muito longa para reconhecer a todos elas de forma individual, contudo a sua influência é bem notória em todo este projecto, por isso sou muito agradecido pela sua participação neste sentido.

Quanto ao meu supervisor, digo: notei nele qualidades tão apreciáveis e tão raras, que até ousou propô-las de exemplo à posteridade dos supervisores.

Sou devedor do Instituto Nacional de Investigação Agronómica (INIA), pelas viagens de campo que me proporcionou, bem como pelas amostras a mim fornecidas, para não fazer menção ao acompanhamento que me tem feito.

Dá-me um prazer muito especial agradecer a meu irmão Egídio; financiou todas as etapas deste trabalho, para além de ser um irmão que qualquer um gostaria de ter.

De modo nenhum, esqueceria de fazer menção à minha Irmã Inês; a melhor irmã do mundo. Ela sabe muito bem o quanto já fez por mim.

A irmã Dece (S.V.P) que providenciou para mim um quarto no convento de Chókwè, o que me permitiu fazer a correcção deste trabalho em perfeita reclusão.

Devo também ao DQ, aos docentes do DF, meus colegas, o CTA desta universidade, pela ajuda e apoio dado a mim, aqui devo mencionar de forma especial o Sr. E. Panguene.

Por fim e não finalmente, gostaria de agradecer a todos que me deram sugestões e propostas, mesmo aquelas que eu não segui.

A todos eles "*MERCI BEAUCOUP*"<sup>1</sup>

---

<sup>1</sup> francês muito obrigado

Declaratio sob honoris verba\*

Dou fé que este trabalho é original do autor, sob orientação de A. M. Maphossa, Ph.D.

Maputo, aos    dias do mês de Agosto de 2004

O autor

LUCILIO DOS SANTOS MATIAS

*Lucílio dos Santos Matias*

---

\* latim Declaração sob palavra de honra

## Resumo

Este trabalho enquadra-se num projecto (Projecto RMN) em curso no Departamento de Física, financiado pelo fundo de investigação da UEM; destina-se fundamentalmente à selecção não destrutiva de sementes oleaginosas por meio da técnica RMN. Dum lado temos a RMN (segundo muitos, a melhor de todas as técnicas espectroscópicas), do outro temos o amendoim (uma semente oleaginosa) e no meio termo está a qualidade. Este trinómio<sup>2</sup> pode pesar favoravelmente à balança económica do nosso País, dado que Moçambique é dependente de agricultura. A Ressonância Magnética Nuclear tem sido usada recentemente na análise da distribuição de oleossomas em sementes (Carlton et al, 1996).

Os agrónomos e outros especialistas do amendoim, conhecem muito bem do que ele é capaz, bem como das inúmeras aplicações que ele pode fornecer. Ressonância magnética nuclear é o estudo das propriedades magnéticas do núcleo (Shaw, 1984). Assim, neste trabalho a RMN será usada na análise do amendoim, e sobretudo do óleo de que ele está impregnado. O nuclídeo que nos interessa investigar no LTA, de momento, é o protão hidrogenóide  $^1\text{H}$ , por este ser o maior constituinte do óleo e, o mais estudado na RMN.

O amendoim que se pretende investigar é da variedade Nametil (fornecido pelo INIA ) cujo óleo foi extraído no Departamento de Química.

Com base nos objectivos preconizados no protocolo de TL, foi realizado o trabalho prático seguindo o esquema geral da figura 1.

---

<sup>2</sup> RMN, amendoim e qualidade

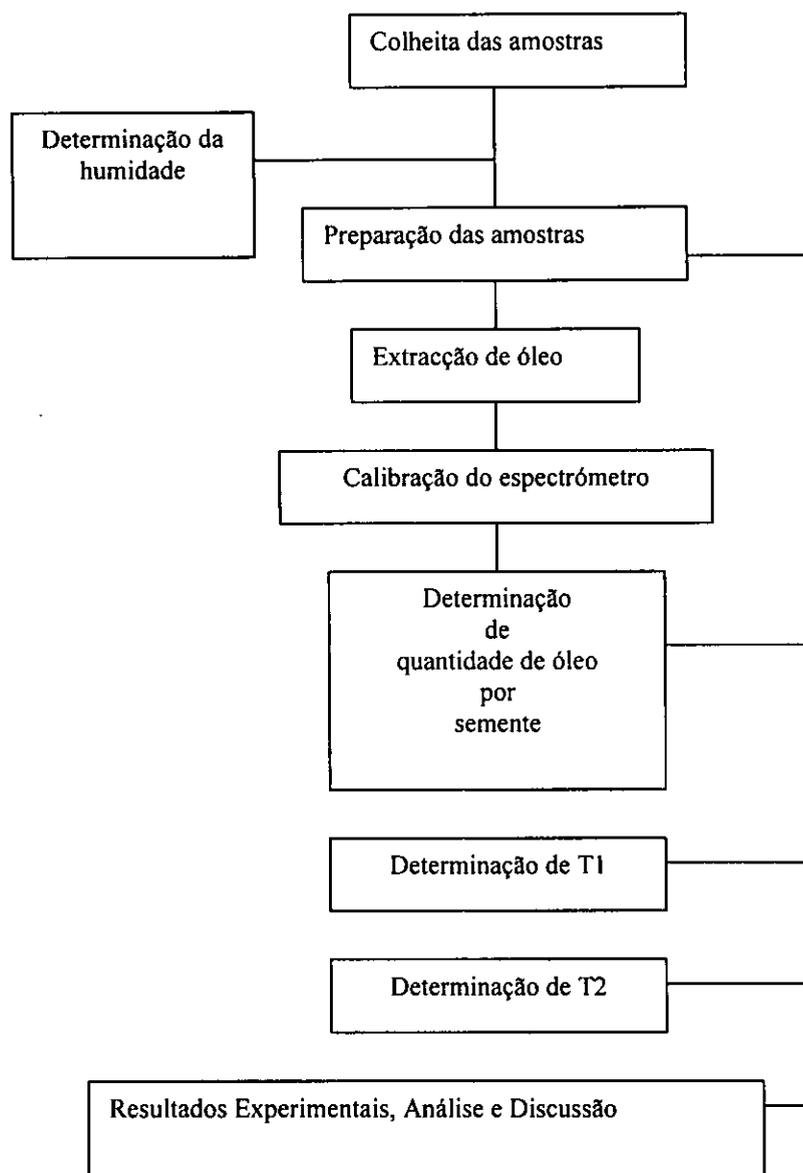


Figura 1. Esquema Geral do Trabalho

**Abreviaturas e Acrónimos**

ATX	Designação da nova versão das fontes de computador
CTA	Corpo Técnico Administrativo
CW	Continuous Wave
DF	Departamento de Física
DQ	Departamento de Química
EEC	European Economic Community
EP	Éter de Petróleo
FID	Free Induction Decay
HCM	Hospital Central de Maputo
HTTP	HyperTextTransportProtocol
INIA	Instituto Nacional de Investigação Agronómica
LTA	Laboratório de Tecnologia Alimentar
MRI	Magnetic Resonance Imaging
PC	Personal Computer
PGU	Pulsed Gradient Unit
pH	potência de Hidrogénio
Ph.D.	Philosophiae Doctor (Latim)
PSV	Peso das Sementes da Vagem
PVCS	Peso da Vagem Contendo Sementes
RF	RadioFrequência
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
S:N	Signal-to-Noise ratio
TL	Trabalho de Licenciatura
UPS	Uninterruptible Power System
URL	Uniform Resource Locator
WWW	World Wide Web

**Símbolos usados**

$B_0$	Campo magnético estático
$B_1$	Campo magnético oscilante
$E$	Energia
$\Delta E$	Diferença de energia entre dois níveis
$\gamma$	Razão giromagnética
$h$	Constante de Planck
$I$	Spin
$\mu$	Momento magnético (do núcleo)
$\mu_z$	Componente de $\mu$ ao longo da direcção do campo estático
$m$	Número quântico magnético
$M_0$	Magnetização macroscópica da amostra em equilíbrio termodinâmico
$M_x'$	Componente da magnetização transversal na direcção $x'$
$M_y'$	Componente da magnetização transversal na direcção $y'$
$M_z$	Magnetização longitudinal na direcção $z$ (direcção do campo estático)
$N$	Número total de núcleos na amostra
$\nu$	Frequência
$\nu_L$	Frequência de Larmor
$\nu_1$	Frequência do gerador de R.F
$P$	Momento angular do núcleo
$P_z$	Componente de $P$ na direcção $z$
$\tau$	Intervalo de tempo entre dois impulsos
$T_1$	Tempo de relaxação spin-rede ou longitudinal
$T_2$	Tempo de relaxação spin-spin ou transversal
$T_2^*$	Tempo de relaxação transversal observado experimentalmente
$\Theta$	Ângulo de pulso

## Sumário

Dedicatória.....	ii
Epígrafe.....	iii
Agradecimentos.....	iv
Declaração sob palavra de honra.....	v
Resumo.....	vi
Abreviaturas e acrónimos.....	viii
Símbolos usados.....	ix

### Capítulos

1. Introdução.....	1
2. Motivação do tema.....	3
* Objectivos (gerais e específicos).....	4
3. Amendoim ( <i>Arachis hypogaea L.</i> ).....	5
3.1 Distribuição.....	5
3.2 Origem.....	5
3.3 Modo de Reprodução.....	6
3.3.1 Frutificação.....	6
3.3.2 Colheita.....	7
3.4 Importância económica e uso do amendoim.....	7
3.5 Aflatoxina no Amendoim.....	8
3.5.1 Processo de Contaminação.....	10
3.5.2 Práticas de prevenção.....	11
4. ABC da RMN.....	12
4.1 Momento Angular e Momento Magnético Nuclear.....	12
4.2 Núcleo de Hidrogénio dentro de um campo magnético estático.....	13
4.3 Frequência de Larmor.....	14
4.4 Energia do núcleo dentro do campo magnético.....	15
4.5 Magnetização Macroscópica.....	16
4.6 RF e Condição da Ressonância.....	17
4.7 Princípios básicos de medição em RMN.....	18
4.8 Método RMN de onda pulsada.....	19
4.9 Relaxação.....	20
4.9.1 Relaxação T1.....	21
4.9.2 Relaxação T2.....	22
4.10 Acumulação Espectral.....	22

5. Parte Experimental.....	23
5.1 Instrumentação.....	23
5.2 Estudos Preliminares.....	25
5.3 Determinação do conteúdo de Óleo usando a aplicação <i>Seoi_a_v</i> .....	26
5.3.1 Extração de óleo.....	28
5.3.2 Medição da densidade do óleo por um densímetro.....	29
5.3.3 Medição do índice de refração pelo refractómetro de Abbe.....	30
5.3.4 Calibração da aplicação ' <i>Seoi_a_v</i> '.....	31
5.4 Métodos usados.....	33
5.4.1 Determinação da quantidade de óleo por semente.....	33
5.4.2 Medição de T1.....	33
5.4.3 Medição de T2.....	33
6. Resultados Experimentais, Análise e Discussão.....	34
6.1 Características Físicas.....	34
6.2 Variação da humidade das sementes sob influência de uma fonte térmica... ..	36
6.3 Conteúdo de óleo das sementes.....	39
6.3.1 Curva <i>Seoi</i> .....	41
6.3.2 Teste <i>seoi</i> para a casca de amendoim.....	42
6.3.3 Relação da quantidade de óleo e massa da semente.....	42
6.3.4 Influência da posição do tubo contentor da amostra.....	43
Variação do sinal RMN em relação ao tempo.....	44
6.4 Relaxação.....	45
6.4.1 Tempos de relaxação do óleo que serviu para a calibração.....	46
6.4.2 Relaxação T1.....	47
6.4.3 Relaxação T2.....	48
6.5 RMN como Caixa Negra.....	49
6.6 Confirmação do carácter não destrutivo da RMN.....	50
6.7 Fonte de Erros.....	50
7. Conclusões e Recomendações.....	52
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	55
A) LIVROS.....	55
B) INTERNET.....	57

## ANEXOS

## 1. Introdução

---

Ressonância Magnética Nuclear (RMN), é o estudo das propriedades magnéticas do núcleo. A sua história foi-nos contada sobretudo nas últimas décadas do século passado, e sobre a sua génese existem diferentes pontos de partida.

O tempo que vai desde 1895-1905 ficou conhecido como a década da revolução da Física. Em contrapartida, foi durante este período que a Física teve uma crise jamais conhecida. Este acontecimento fez com que muitos cientistas tivessem uma outra cosmovisão.

Muitas experiências foram repetidas e modificadas com vista a provar a sua veracidade e muitas outras experiências sucederam. O campo da Física estava de novo aberto.

Muitos estudiosos da espectroscopia no ramo da RMN apontam para a sua génese as experiências de Stern & Gerlach (1920), Rabi e outras. Contudo, cada dia somos surpreendidos ainda com outros acontecimentos que teriam condicionado a sua descoberta.

Na verdade foi Bloch, da universidade da Standford quem 'inventou a espectroscopia RMN' (Millar et al, 1996), em 1946, 'técnica também descoberta de forma independente por Purcel' (Millar et al, 1996) da universidade de Havard, no mesmo ano. Assim os dois são tidos pelos praticantes desta arte espectroscópica como os maiores '*profetas*' da '*doutrina*' RMN.

O primeiro espectrómetro comercial apareceu em 1953 (Morris, 1986), que viria a ser espectacularmente melhorado em 1970 com a introdução de técnicas de impulsos RF combinadas a técnicas de análise matemática baseadas em transformações de Fourier monitoradas por computador (Gil, Gerald, 1987). Desde então a espectroscopia RMN teve um desenvolvimento considerável, tornando-se uma ferramenta indispensável para químicos, bioquímicos, físicos e mais recentemente para pesquisadores na área médica

(Friebolin, 1996). A posição de destaque que a RMN ocupa actualmente, é claramente justificada pelos sucessivos prémios Nóbél recebidos ultimamente por parte de investigadores desta técnica. “Paul C. Luterbur e Peter Mansfield partilharam o prémio Nóbél de 6 de Outubro de 2003 pela sua descoberta em obtenção de imagens por meio da Ressonância Magnética Nuclear (MRI)” [17]. Este é apenas um exemplo.

Pelas suas inúmeras vantagens e sobretudo por permitir análises *‘in vivo’*, a RMN tornou-se (talvez), na mais importante entre todos os métodos espectroscópicos. A RMN desenvolveu-se tanto, que só por si é tida como uma disciplina científica independente.

Actualmente esta técnica está espalhada em quase todos os continentes do mundo, e o maior mistério que ela tem é que, apesar de ser tão nobre, o seu princípio de funcionamento é bastante simples, o que faz com que seja manuseada até por não peritos. Os seus utentes aumentam dia após dia, trabalhando arduamente com o “objectivo de estender o seu alcance” (Jeffrey, Alan, 1996). Nos últimos anos, a RMN tornou-se uma condição *‘sine qua non’* para o sucesso de muitas análises, sobretudo na medicina.

Ora, sempre que nos comprometemos a entender esta técnica, temos que ter a consciência de que os detalhes da história da RMN foram escritos somente durante a última metade do século passado e que muitas das descobertas se realizaram nestes nossos dias. Isto significa que a história da RMN ainda não está completa e continuará a evoluir. Muitas vezes notamos que cada vez que tentamos aprofundar ou refinar as nossas técnicas, aprendemos algo de novo, e temos que rever as nossas teorias para tomar nota dessas novas descobertas. É este processo de refinamento e revisão que alarga as fronteiras da RMN.

## 2. Motivação do Tema

---

Segundo dados do INIA, em Moçambique ainda não foram realizados estudos referentes a selecção não destrutiva de sementes usando métodos modernos como a Ressonância Magnética Nuclear. Alguns métodos primitivos usados na era colonial foram totalmente abandonados dedicando-se esta apenas a produção de sementes oleaginosas com fim de exportação, sem contudo privilegiar as variedades de maior conteúdo de óleo.

Sementes oleaginosas e seus derivados são a segunda mais valiosa comodidade no comércio mundial e são produzidas um pouco por toda a parte do mundo (G. Röbblen et al, 1989). Óleos e gorduras representam um dos mais importantes recursos de energia renovável a nível mundial (Seidl & Nascimento, 1990). Moçambique é um país dependente da agricultura e o aumento da produção e qualidade do amendoim para fins de extracção de óleo pode favorecer a economia do país, por outro lado, a “técnica de RMN é um método de Física Nuclear não destrutivo, muito usado na introspectiva e permite determinar concentrações de núcleos de hidrogénio com elevada precisão” (Machiana, Matlombe, 1997).

Actualmente, inúmeras publicações e simpósios mostram e demonstram claramente que os espectrómetros RMN de baixa resolução são uma excelente técnica de informação para aqueles que pretendem fazer uso desta “charmosa” ferramenta analítica. (Cf. Minispec applications [...] industry, 2000). Desde 1984 a determinação do teor de óleo em sementes oleaginosas pela técnica RMN obteve o status de um método oficial para a Comunidade Económica Europeia (EEC regulation 3519/84).

**\* Objectivos (gerais e específicos)**

- a) Caracterização física das sementes
- b) Análise da humidade das sementes
- c) Determinação do teor de óleo por cada semente de amendoim
- d) Análise dos tempos de relaxação das sementes intactas
- e) Relação entre a) e c).

### 3. Amendoim (*Arachis hypogaea* L.)

---

Quase todos os idiomas reservaram pelo menos um vocábulo para designar esta semente oleaginosa. Os ingleses se referem ao amendoim por **groundnut**, os franceses por **arachide**, em espanhol diz-se **cacahuete**, mas o seu nome científico é **Arachis Hypogaea** L.

#### 3.1 Distribuição

---

O amendoim é um dos mais espalhados e mais importante legume a nível mundial (Norden et al, 1982). Cultivado nos 6 continentes em mais de 18 milhões de hectares nas áreas tropicais e subtropicais. O amendoim foi identificado como uma das espécies leguminosas com grande potencial tanto para alimentação como para fins industriais nas zonas tropicais de África, especialmente para planícies e savanas semi-áridas (Milner, 1973). Como semente oleaginosa compete com o gergelim, girassol, e a soja, não obstante, cada semente com diferentes adaptações ecológicas.

#### 3.2 Origem

---

O amendoim é uma planta originária da América do sul, na região compreendida entre as latitudes 10<sup>o</sup> e 30<sup>o</sup> sul, com provável centro de origem na região de Gran Chaco [1]\*. A difusão do amendoim iniciou com os indígenas, para a América Latina, América Central e México. Durante a expansão colonial, os exploradores portugueses na América Latina introduziram o amendoim na Europa, Ásia, costa africana e as ilhas do pacífico. Mais tarde o amendoim foi introduzido nos EUA a partir de África, ilhas Caraíbas e Espanha.

O género *Arachis* faz parte da família Leguminosae, sub-família Papilionaceae, tribo Aeschynomeneae, sub-tribo Stylosanthinae (Smart and Stalker, 1982). Agentes capazes de movimento físico arrastando terra e vagens são os principais meios da distribuição

---

\* Todas as citações em números são da Internet

efectiva do amendoim em largas áreas. Esta afirmação é suportada com base na taxa de distribuição do amendoim, a qual se encontra muito relacionada com as bacias hidrográficas tanto novas como antigas.

### 3.3 Modo de Reprodução

#### 3.3.1 Frutificação

A frutificação inicia-se logo após a fecundação da flor, formando-se uma estrutura alongada, denominada esporão, ginóforo, que cresce em direcção ao solo, onde penetra. É na extremidade deste esporão onde estão localizados os tecidos que darão origem a formação da vagem contendo as sementes [1]. Altas temperaturas e baixos níveis de humidade relativa, reduzem a floração, enquanto que temperaturas entre 22<sup>o</sup> a 33<sup>o</sup>C e uma humidade do solo de 40% são valores ideais. Maior intensidade de sol é necessária para óptimo desenvolvimento das flores (G. Röbblen et al, 1989). A figura 2 mostra uma planta de amendoim desenvolvida e seus principais constituintes.

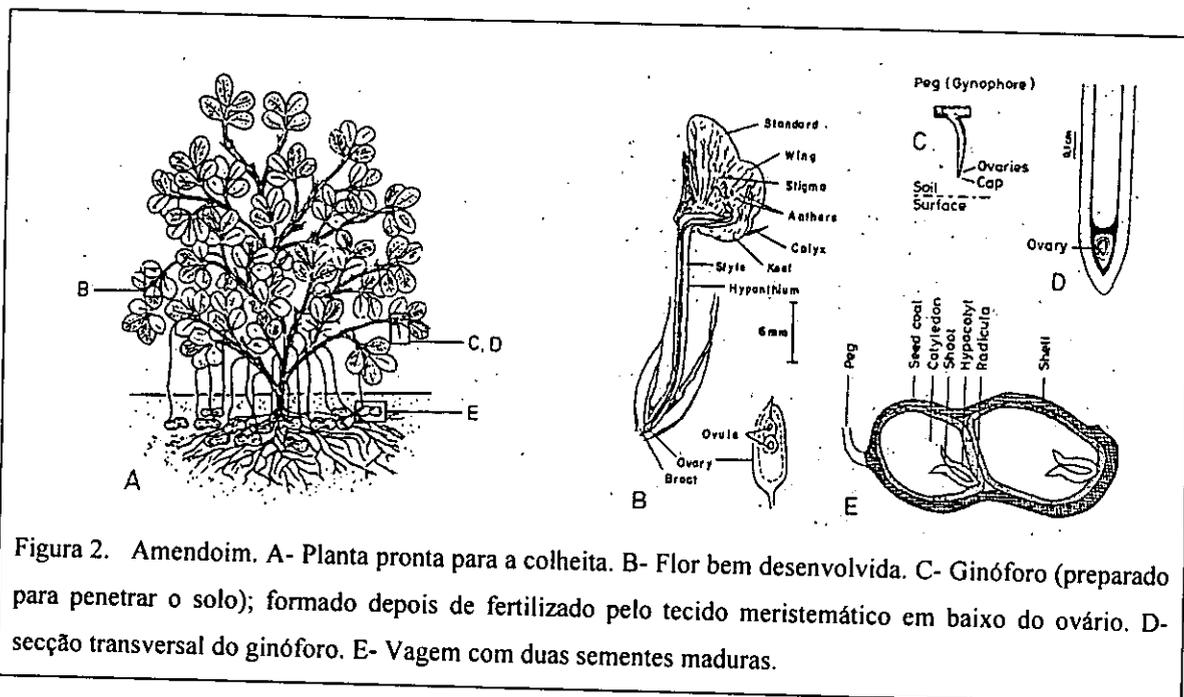


Figura 2. Amendoim. A- Planta pronta para a colheita. B- Flor bem desenvolvida. C- Ginóforo (preparado para penetrar o solo); formado depois de fertilizado pelo tecido meristemático em baixo do ovário. D- secção transversal do ginóforo. E- Vagem com duas sementes maduras.

### 3.3.2 Colheita

A colheita inicia-se com a determinação do ponto de colheita, que pode ser feita com base na cor interna da casca,... todavia, “um olho treinado é um dos meios mais seguros para estimar o grau de maturidade” (Gregory et al. 1973). A colheita no tempo adequado resulta em maior peso, melhor secagem, maior teor de óleo e melhor qualidade. Da mesma forma que a antecipação da colheita diminui a produtividade e a qualidade do amendoim. O atraso também provoca perda de vagens, germinação das sementes no interior dos frutos, facilita o ataque de pragas e aumenta os problemas com a aflatoxina [1].

### 3.4 Importância Económica e Uso do Amendoim

---

Segundo Baptista (1934) as formas de aproveitamento de amendoim são inúmeras. Devido ao seu valor nutritivo avaliado em 24-35% em proteínas, 38-52% de óleo e 4-8% de açúcares, o amendoim é intensamente produzido em Moçambique (Thuzine et al, 2003). Contendo carboidratos, sais minerais e vitaminas, constitui-se num alimento altamente energético [585 calorias/100g/sementes] [1]. Com o seu sabor agradável, o amendoim é um produto destinado também ao consumo “in natura” como aperitivos salgados, torrados e preparado de diversas formas na indústria de doces, como grãos inteiros com diversas coberturas ou grãos moídos ou ainda substituindo a castanha de caju em cobertura de sorvetes [1], além de, através dele, se confeccionar um saboroso molho em diversas partes de Moçambique (Cf. Thuzine et al, 2003).

Sem dúvida o principal uso do amendoim é a extracção de óleo, o que o torna um produto agrícola de alta importância comercial. Nampula é o maior produtor de amendoim em Moçambique. O amendoim assume uma importância especial em função de estar entre as culturas de ciclo curto.

Todas as partes da planta do amendoim podem ser aproveitadas. As cascas podem ser usadas como ração para gado, queimadas como combustível e muitos outros usos. As sementes podem ser directamente usadas para consumo como alimento ou esmagadas

com o fim de produzir óleo e refeições altamente nutritivas. O amendoim pode ser processado por métodos domésticos ou por tecnologias avançadas. Usado directamente como alimento, o amendoim é a maior safra de subsistência (Hammons and Caldwell, 1974). O óleo de amendoim pode ser usado para cozinha, iluminação, combustível, e como constituinte de géneros alimentícios. Os alimentos feitos na base de amendoim são uma excelente fonte de proteínas para balançar dietas ricas em cereais e alimentos com muito amido, e para suplementar proteínas provenientes do consumo de carne. Os diversos usos do amendoim tornam-no numa cultura de bom rendimento para mercados locais bem como para o comércio internacional. Pode ser vendido com casca ou sem casca. Os principais importadores são a Western Union, Canadá, Japão, Hong kong, Singapura, Malásia, Venezuela e Argélia.

### 3.5 Aflatoxina no Amendoim

---

A aflatoxina é uma substância tóxica ao homem e animais, encontrada em grãos de amendoim com teor de humidade variando entre 9 e 35%, que favorece o crescimento do fungo *Aspergillus Flavus* sobre as sementes, responsável pela síntese dessa substância. A aflatoxina é considerada substância cancerígena e tem provocado intoxicações que levam à morte de animais alimentados com torta de amendoim contaminado. Também pode provocar intoxicações no homem quando consumido na forma de grãos torrados, ou de doces. É importante observar que no processo de extração de óleo, a contaminação pela aflatoxina é eliminada deste produto [1].

Os elevados teores de aflatoxina que podem estar presentes no amendoim cru ou em seus farelos, representam uma ameaça séria para a saúde, tanto de pessoas como de animais. No Hospital Central de Maputo (HCM), existem casos de pacientes que padecem de câncer de fígado como resultado da ingestão de aflatoxina.

A contaminação do amendoim, em Moçambique é motivada pelas tradicionais práticas de colheita; a secagem e o armazenamento, aumentando deste modo a probabilidade do

desenvolvimento fúngico e de produção de aflatoxina. “Além disso, na safra das águas o amendoim é, muitas vezes, colhido sob condições climáticas adversas” [7].

O “efeito que a ingestão da aflatoxina pode causar depende da quantidade e da frequência com que ela é ingerida, podendo ser agudo ou subagudo. O efeito agudo é de manifestação e percepção rápidas, podendo até levar a pessoa à morte, uma vez que muitas vezes ela pode provocar alterações severas. O efeito agudo resulta da ingestão de doses elevadas. O efeito subagudo é resultado da ingestão de quantidades não elevadas, contudo, provoca distúrbios e alterações nos órgãos do homem e dos animais, especialmente no fígado. O efeito agudo tanto como o subagudo dependem da espécie do animal, da idade, do estado nutricional, bem como do sexo. Sabe-se também, que ela pode provocar cirrose, necrose do fígado, proliferação dos canais biliares, síndrome de Reye (encefalopatia com degeneração gordurosa do cérebro), hemorragias nos rins e lesões sérias na pele, pelo contacto directo. Além disso os produtos do seu metabolismo, no organismo, interferem com o sistema imunológico da pessoa ou do animal. Isto faz com que a resistência às doenças em geral, diminua” [7], neste ponto, a aflatoxina assemelha-se ao SIDA.

Além dos problemas citados, já está comprovada a sua relação com a incidência da hepatite-B e do ‘Kwashiorkor’[7].

Há, também, o risco do desenvolvimento de câncer primário do fígado. Infelizmente em Moçambique muita gente é vítima desta doença, todavia, sem saber as suas causas.

O consumo de rações contendo farelo ou qualquer outro alimento contaminado com aflatoxina por animais, para além de causar a morte, pode diminuir o seu desempenho, desenvolvimento e produção.

### 3.5.1 Processo de Contaminação

---

Logo após a colheita, o amendoim contém certa humidade que pode ir de 40% em diante. Durante a secagem, ele começa a perder a sua humidade numa taxa que depende do clima e da maneira de como a planta for posicionada no chão. No monitoramento da secagem, se a humidade estiver acima de 22% a actividade metabólica da vagem oferece resistência à penetração do fungo. Com o amendoim em casca e abaixo de 11% não há humidade suficiente para que os fungos cresçam. O intervalo crítico é o que vai de 22-11% de humidade, que pode originar a contaminação do amendoim, caso haja demora da secagem nesta fase.

Uma medida preventiva pode ser tomada; abaixo de 22% de humidade deve-se proceder secagem rápida, monitorada por estufa, caso as condições climáticas não o permitam, até reduzir a humidade para 11%. Para evitar o desenvolvimento do *Aspergillus flavus* (originante da aflatoxina), o amendoim deve ser despencado e ensacado. A RMN pode ser aplicada no controlo da contaminação por afltoxina através do controlo da humidade mediante o uso da aplicação 'moso\_a\_v', disponível no minispec.

O embandeiramento do amendoim aumenta a taxa de secagem do amendoim, havendo muito menos riscos de contaminação. Muitos agricultores colocam o amendoim na posição deitada, facto que retarda a secagem, favorecendo a contaminação.

Boa parte dos vendedores de amendoim, depois de ser batido, ensacam o amendoim ainda com humidade (14-18%), o que é extremamente perigoso, pois, dentro do saco o amendoim demora bastante a sua secagem, e o calor gerado pela própria actividade do grão associado ao ambiente húmido da sacaria, favorecem a contaminação em altas proporções.

Em Moçambique há falta de educação cívica e informação aos agricultores acerca de como proceder com o amendoim, na colheita e na época pós-colheita. É preciso uma

mudança de atitude por parte dos agentes envolvidos no processo. A seguir são apresentadas algumas regras de prevenção muito divulgadas nos média.

### **3.5.2 Práticas de Prevenção**

---

#### **Antes da colheita**

1. Fazer rotação da cultura
2. Desenhar um programa eficaz para o controle das doenças e pragas
3. Evitar danificar as vagens

#### **Época de colheita e pós-colheita**

1. Colher no ponto máximo de maturação
2. Colocar as plantas invertidas para secar adequadamente na leira e colher apenas quando o amendoim estiver seco com, o máximo de 10% de humidade e nunca ensacar caso a humidade esteja acima deste valor.
3. Não deixar o amendoim pernoitar no campo
4. Secar o amendoim embandeirado
5. Bater e ensacar somente quando o produto estiver seco

#### **Durante o transporte**

1. Proteger a carga contra chuva ou temperaturas altas

#### **Durante o armazenamento**

1. Armazenar o amendoim sempre em casca, descascando-o somente na altura do consumo.
2. Fazer pré-limpeza, com vista a eliminar terra impregnada nas vagens e outras impurezas que possam vir do campo.
3. Manter o armazém sempre limpo e seco
4. Não fazer pilhas muito grandes, para facilitar as operações e inspecções
5. Garantir renovação de ar dentro do armazém
6. Monitorar a humidade relativa do ar
7. Fazer controlo de insectos e roedores, fumigando sempre que necessário
8. Manter o amendoim afastado do contacto directo com as paredes e o chão.

## 4. ABC de Ressonância Magnética Nuclear

---

### 4.1 Momento Angular e Momento Magnético Nuclear

---

Muitos núcleos possuem um momento angular intrínseco  $P$  [6]. De acordo com a interpretação clássica, assumindo que os núcleos sejam esféricos, 'gravitam' em torno do seu próprio eixo (Emsley et al, 1966). Por outro lado, considerações da mecânica quântica mostram que, como outras grandezas atômicas, o momento angular é quantizado.

$$P = \sqrt{I(I+1)} \frac{h}{2\pi} \quad (1)$$

Nesta fórmula,  $h$  é a constante de Planck ( $=6.6256 \cdot 10^{-34} \text{J.s}$ ) (Friebolin, 1998) e  $I$  é o "número quântico do momento angular" (Gil, Gerald, 1987), também conhecido por número quântico de spin, e frequentes vezes apenas designado por **spin nuclear**. O spin nuclear pode ter os valores  $I = 0, \frac{1}{2}, 1, \frac{3}{2}, 2, \dots$  até 6. Nenhum dos valores  $I$  ou  $P$  podem ser previstos pela teoria (Friebolin, 1998).

O momento angular  $P$  está associado ao momento magnético  $\mu$ , sendo ambas grandezas vectoriais e proporcionais entre si (Wilhemus, 1969).

$$\mu = \gamma P \quad (2)$$

O factor de proporcionalidade  $\gamma$  é constante para cada nuclídeo (i.e. cada isótopo de cada elemento), e mede essencialmente a magnitude do campo magnético.  $\gamma$  é designado razão giromagnética ou razão magnetogírica, às vezes. A sensibilidade de detecção de um nuclídeo submetido a análise RMN, depende de  $\gamma$ ; nuclídeos com  $\gamma$  maior são considerados sensíveis (i.e. fácil de observar), enquanto aqueles que tem  $\gamma$  relativamente menor são insensíveis.

Combinando as equações (1) e (2); para o momento magnético  $\mu$ , obtemos:

$$\mu = \gamma \sqrt{I(I+1)} \frac{h}{2\pi} \quad (3)$$

Os núcleos com spin  $I=0$ , não possuem momento magnético, assim, não podem ser analisados pela técnica RMN.

Da química básica sabe-se que “em 1784, Lavoisier mostrou que todos os compostos provenientes do reino animal e vegetal contêm pelo menos carbono, e hidrogénio ...” (Sardella & Mateus, 1982) na sua constituição, o que originou a classificação de substâncias, em orgânicas e inorgânicas. Após várias teorias, com as experiências de F. Wöhler (1828) e Kolbe (1845), conduziram os químicos ao conceito de química do carbono (também designada por química orgânica). O óleo de amendoim faz parte deste vastíssimo conjunto de compostos orgânicos. Um facto de extrema importância é que o isótopo de carbono  $^{12}\text{C}$  pertence a classe dos núclídeos com  $I=0$  (i.e. não é activo para a RMN), enquanto que o hidrogénio é activo ( $I=1/2 \neq 0$ ). Aqui, convém destacar que o isótopo de carbono  $^{13}\text{C}$  é detectável pela RMN ( $I=1/2$ ), contudo, representa uma pequeníssima fracção de carbono.

#### 4.2 Núcleo de Hidrogénio dentro de um campo magnético estático

##### Quantização Direccional

Se um núcleo (dipolo magnético) com momento angular  $P$  e momento magnético  $\mu$  se encontra dentro de um campo magnético externo  $B_0$ , o momento angular toma uma orientação tal que a sua componente  $P_z$  ao longo da direcção do campo, é um inteiro ou semi-inteiro múltiplo de  $\hbar$ .

$$P_z = m \frac{h}{2\pi} \quad (4)$$

Nesta fórmula  $m$  é o número quântico direccional (também conhecido por número quântico magnético), e pode tomar os valores  $m = I, I-1, \dots, -I$ , donde se deduz facilmente que existem  $(2I+1)$  diferentes valores de  $m$ , e consequentemente igual número de possíveis orientações do momento angular e do momento magnético dentro do campo magnético. Este comportamento dos núcleos dentro de um campo magnético é designado por quantização direccional (*directional quantization*). Uma vez que para o próton temos  $I = 1/2$ , isto resulta em dois valores de  $m$  ( $+1/2$  e  $-1/2$ ).

A partir das equações (2) e (4), obtemos as componentes do momento magnético ao longo da direcção  $z$  do campo magnético.

$$\mu_z = m\gamma \frac{h}{2\pi} \quad (5)$$

### 4.3 Frequência de Larmor

---

De acordo com a representação clássica, os dipolos nucleares precessam em torno do eixo  $z$ ; que é a direcção do campo magnético externo.

A frequência de Larmor<sup>3</sup>  $\nu_L$  ou frequência de precessão é a taxa de precessão dos momentos magnéticos nucleares (spins) e é proporcional ao campo magnético  $B_0$  [26] como mostra a equação de Larmor:

$$\nu_L = \frac{\gamma}{2\pi} B_0 \quad (6)$$

---

<sup>3</sup> Larmor, Sir Joseph (1857-1942) físico Britânico

#### 4.4 Energia do núcleo dentro de um campo magnético

Segundo Krane (1996) a energia de um dipolo magnético dentro de um campo magnético  $B_0$  é dada por:

$$E = -\mu_z B_0 \quad (7)$$

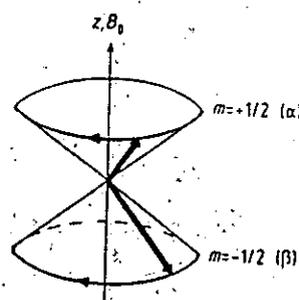


Figura 3. Precessão de dipolos nucleares com spin  $I = 1/2$

Portanto, para um núcleo com  $(2I+1)$  orientações possíveis, existem igualmente  $(2I+1)$  estados energéticos designados por *níveis energéticos de Zeeman*. Partindo da equação (5), temos:

$$E = -m\gamma \frac{\hbar}{2\pi} B_0 \quad (8)$$

Para o próton ( $I = 1/2$ ), existem dois valores de energia (dentro do campo magnético) correspondentes a dois valores de  $m$ ;  $+1/2$  e  $-1/2$  (Figura 3). Quando  $m = +1/2$ ,  $\mu_z$  é paralelo a direção do campo; que é a orientação energeticamente preferida, enquanto que, para  $m = -1/2$ ,  $\mu_z$  é antiparalelo. Em termos de mecânica quântica o estado  $m = +1/2$  é descrito pela função spin  $\alpha$ , enquanto que o estado  $m = -1/2$  é descrito pela função spin  $\beta$  (Figura 4).

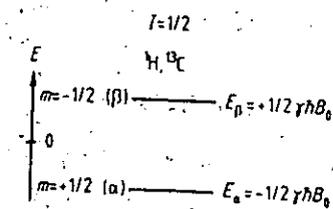


Figura 4. esquema de níveis energéticos para um núcleo com  $I=1/2$ .

A diferença de energia entre esses níveis energéticos é dada por:

$$\Delta E = E_{\beta} - E_{\alpha} = \gamma \frac{h}{2\pi} B_0 \quad (9)$$

#### 4.5 Magnetização Macroscópica

De acordo com a imagem clássica, um núcleo com  $I=1/2$  precessa em torno do eixo  $z$  na superfície de um cone duplo como mostra a figura 5. Adicionando as  $z$  componentes de todos os momentos magnéticos nucleares contidos no amendoim, obtém-se a magnetização macroscópica  $M_0$  ao longo da direção do campo externo, dado que  $N_{\alpha}$  é ligeiramente maior que  $N_{\beta}$ . É o vector  $M_0$  que vai desempenhar um papel fundamental na descrição de todos os tipos de experiência com onda pulsada. (Friebolin, 1998).

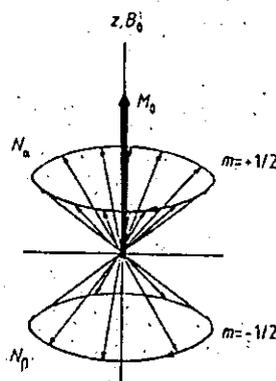


Figura 5. Distribuição dos dipolos nucleares (numero total  $N = N_{\alpha} + N_{\beta}$ ) precessando em volta do cone duplo. Se  $N_{\alpha} > N_{\beta}$  existe uma magnetização macroscópica resultante  $M_0$ .

#### 4.6 RF e Condição de Ressonância

---

Na técnica RMN a semente a ser testada é colocada dentro de um campo magnético constante. Uma antena (usualmente um indutor em forma de bobina contendo a semente no seu interior) é usada para irradiar a semente com ondas de rádio. As transições entre os diferentes níveis de energia são induzidas irradiando o núcleo com um campo oscilante  $B_1$  de uma dada energia quantizada, isto é, com uma frequência apropriada  $\nu_1$  localizada na região das RF [21]. Esta condição faz com que a componente magnética da radiação interaja com os dipolos nucleares presentes no óleo de amendoim. "A taxa de perda de energia do emissor de radiofrequências é usada para medir a quantidade de núcleos de hidrogênio [19] e consequentemente a quantidade de óleo presente na semente de amendoim.

As transições dos prótons entre dois níveis energéticos dentro do óleo no amendoim (figura 6) podem ocorrer somente se a frequência  $\nu_1$  for escolhida de tal modo que satisfaça a condição:

$$h\nu_1 = \Delta E \quad (10)$$

As transições do nível mais baixo para o superior correspondem a absorção de energia, e aquelas em sentido reverso correspondem a emissão de energia. Ambas transições são possíveis e equiprováveis (Friebolin, 1998).

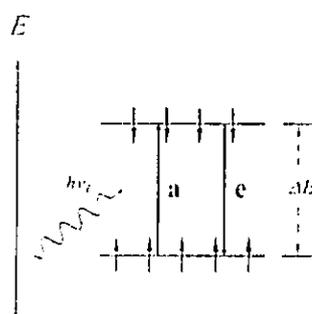


Figura 6. Esquema de níveis energéticos para um sistema com spin  $I = 1/2$ . Irradiação com frequência  $\nu_1$  tal que  $h\nu_1 = \Delta E$  induz absorção (a).

Conjugando as equações (9) e (10) obtemos a condição de ressonância.

$$\nu_L = \nu_1 = \frac{\gamma}{2\pi} B_0 \quad (11)$$

O termo “*ressonância*” está relacionado à interpretação clássica do fenómeno, uma vez que as transições ocorrem somente quando a frequência da radiação electromagnética  $\nu_1$  for igual a frequência de Larmor  $\nu_L$ .

#### 4.7 Princípios básicos de medição em RMN

As transições RMN numa semente em análise, produzindo um sinal na antena receptora do espectrómetro, ocorrem quando a condição de ressonância (Eq.11) é satisfeita. A forma mais simples e mais rápida de chegar a esta condição e registrar o espectro, é o “*varrimento*” do campo ou “*varrimento*” de frequência. Estes dois algoritmos fazem parte do método de onda contínua (*CW method*). O espectrómetro usado neste trabalho opera com base no método de onda pulsada. Desta feita, descreveremos apenas o método RMN de onda pulsada.

#### 4.8 Método RMN de onda pulsada

No método de onda pulsada todos os núcleos de hidrogénio contidos na semente de amendoim são excitados simultaneamente por um impulso RF. No minispec temos uma “pequena estação de radiodifusão”, que opera numa determinada frequência  $\nu_1$ . Quando a estação emite num tempo curto  $t_p$ , obtém-se um impulso que não excita somente a frequência  $\nu_1$ , mas sim uma banda de frequências simétricas em relação a frequência central  $\nu_1$ . Somente a parte de banda de frequências é efectiva para excitar transições.

A escolha da frequência  $\nu_1$  é determinada por  $B_0$  e o nuclídeo a ser observado (neste caso, o protão  $^1\text{H}$ ).

No método de onda pulsada todos os núcleos de hidrogénio contidos na semente de amendoim são excitados simultaneamente por um impulso RF. “O uso de um impulso adequado é o passo mais importante deste método” (S. Brann et al, 1998). A duração do impulso é da ordem dos  $\mu\text{s}$  (Figura 7). O ângulo de desvio do vector  $\mathbf{M}_0$  devido a aplicação do impulso chama-se **ângulo de impulso** e é dado por  $\theta = \gamma B_1 t_p$ . A maior parte das técnicas de impulso usa os impulsos de  $90^\circ$  e de  $180^\circ$  [20, 25].

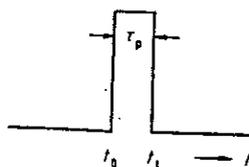


Figura 7. Representação esquemática de um impulso. O gerador de impulso RF com frequência  $\nu_1$  é accionado num tempo  $t_0$  e desligado num tempo  $t_1$ .

#### 4.9 Relaxação

Após a aplicação do impulso, o vector magnetização  $M_0$  é desviado da sua posição de equilíbrio por um ângulo  $\theta$ .  $M_0$  do mesmo modo que cada spin, precessa em torno do eixo  $z$  com frequência de Larmor  $\nu_L$ ; a sua posição num instante arbitrário é descrita pelo sistema estacionário de coordenadas através de três componentes  $M_x$ ,  $M_y$  e  $M_z$ , que variam com o tempo (Figura 8).

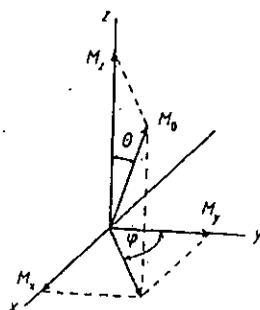


Figura 8.

Vector magnetização macroscópica  $M_0$ , depois de ser desviado da sua orientação de equilíbrio num ângulo  $\theta$  pela aplicação do impulso, agora precessa com a frequência de Larmor  $\nu_L$ .

O vector de magnetização macroscópica  $M_0$ , após ter sido desviado da sua posição de equilíbrio num ângulo  $\theta$  devido a aplicação do impulso, precessa com a frequência de Larmor  $\nu_L$  [24]. Depois desse processo, o "ensemble" de spins regressa ao seu estado de equilíbrio por relaxação, com  $M_z$  crescendo para o seu valor original  $M_0$ , enquanto  $M_x$  e  $M_y$  se aproximam de zero. Esse processo é acompanhado pela indução de um sinal eléctrico pelo vector  $M_0$  que é detectado numa bobina posicionada no plano  $x'y'$  (Gil, Geraldes, 1987). Este sinal detectado no receptor (bobina) assemelha-se a uma colecção de ondas que decaem de forma exponencial e é designado por *decaimento livre da indução (FID)*<sup>4</sup> [16, 26]. O complexo movimento do vector magnetização durante a aplicação do impulso bem como o subsequente processo de relaxação é analisado matematicamente pelas equações de Bloch. [13]. Segundo Bloch a relaxação é um

<sup>4</sup> Free induction decay

processo de 1ª ordem e pode ser descrito por dois tempos de relaxação característicos T1 e T2.

Análises sem ambiguidade levaram a um conjunto de equações que descrevem a variação em relação ao tempo de  $M_x$ ,  $M_y$  e  $M_z$ . Em vez do referencial laboratorial  $(x, y, z)$ , usando o referencial  $x', y', z'$  que roda a uma frequência de Larmor, as equações tornam-se mais simples; uma vez que não incluem a precessão em torno do eixo  $z$ . Depois da aplicação do impulso ( $B_1 = 0$ ) pode-se representar as equações de Bloch referentes a relaxação num referencial rotacional (Friebolin, 1998). As equações a seguir são um caso particular das equações de Bloch, para sistemas líquidos (Cf. Morris, 19986).

$$\frac{dM_z}{dt} = -\frac{M_z - M_0}{T1}$$

$$\frac{dM_{x'}}{dt} = -\frac{M_{x'}}{T2}$$

$$\frac{dM_{y'}}{dt} = -\frac{M_{y'}}{T2}$$

T1 é o tempo de relaxação spin-rede ou tempo de relaxação longitudinal, enquanto T2 é tempo de relaxação spin-spin ou tempo de relaxação transversal. Os valores recíprocos dos tempos de relaxação  $(T1)^{-1}$  e  $(T2)^{-1}$  correspondem a *taxa de rapidez* dos dois processos respectivamente [15].

#### 4.9.1 Relaxação T1

O retorno dos núcleos excitados a partir do nível de energia mais elevada para o estado fundamental é associado com perda de energia para os núcleos vizinhos. Macroscopicamente a relaxação T1 é caracterizada pelo retorno longitudinal da magnetização para o seu estado de equilíbrio térmico na direcção do campo magnético externo  $\mathbf{B}_0^*$ . A taxa de retorno é um processo exponencial [14].

\* Todas as grandezas em bold representam vectores

#### 4.9.2 Relaxação T2

A relaxação spin-spin descreve a interação entre núcleos vizinhos precessando com frequências idênticas mas diferindo em estados quânticos magnéticos [13]. Macroscopicamente isto resulta em perda da magnetização transversal [15]. T2 dá informação da mobilidade das moléculas [8] contidas na amostra a ser analisada.

#### 4.10 Acumulação Espectral

---

O valor das mudanças de energia envolvido na espectroscopia RMN é pequeno [2]. Isto significa que a sensibilidade é uma limitação principal [5]. Uma maneira de aumentar a sensibilidade é gravar muitos sinais RMN e depois adicioná-los. Nesta acumulação o ruído electrónico que é aleatório cancela-se enquanto que a contribuição do sinal RMN é positiva [23]. De acordo com Friebolin (1998), a razão sinal-ruído  $S:N$  aumenta em proporção com a raiz quadrada do número de scans  $NS$ :

$$S:N \propto \sqrt{NS}$$

## 5. Parte Experimental

---

Nesta parte do trabalho apresentam-se os métodos e procedimentos seguidos no trabalho de campo. O amendoim a ser analisado foi semeado na última semana de Dezembro em Marracuene, colhido na segunda quinzena de Abril e submetido à secagem ao sol durante uma semana sendo finalmente ensacado. Todas análises foram efectuadas no LTA do Departamento de Física por meio de um espectrómetro de Ressonância Magnética Nuclear de baixa resolução da série mq da 5ª geração, produzido pela firma Bruker.

### 5.1 Instrumentação

---



#### 5.1.1 Material Necessário\*

- Um espectrómetro de Ressonância Magnética Nuclear
- Um painel de controlo (PC)
- Pinças
- Sementes de amendoim (variedade Nametil)
- Tubos de ensaio

#### 5.1.2 Acerca do Espectrómetro usado neste Trabalho

##### i. Hardware

O minispec ND 1770 possui uma sonda (*probe head*) de módulo do tipo H10 – 50AD, destinada a medir concentrações de núcleos de hidrogénio. A aparelhagem usada é a que comumente se usa em radiodifusão, uma vez que o minispec funciona na região das ondas de rádio (algumas dezenas de MHz). O minispec consiste de duas componentes principais:

1. O “electronic control unit”, que controla a aquisição de dados;
2. O “magnet unit” com um orifício para introdução de amostras.

\* O PC corre o software para o Windows (painel de controlo).

---

\* Para não sobrecarregar o texto, o material necessário de outras experiências está em anexo

O *magnet unit*, o *electronic control unit* e um painel de controlo perfazem a instrumentação básica para análises em Ressonância Magnética Nuclear [10]. O seu setup está representado na figura abaixo.

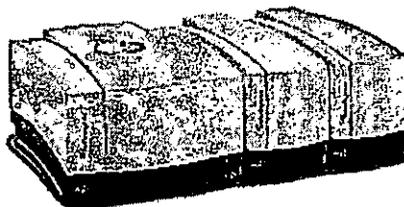


Figura 9. Espectrómetro RMN [ND1770] de baixa resolução (the minispec), [LTA]. Unidade magnética com orifício para introdução de amostras à esquerda, no meio: gradient unit, e a direita: unidade electrónica [3].

### Cuidados

A firma Bruker operacionalizou o minispec para uma tensão de 230V e uma potência máxima de 400W (Krygsman & Guthausen, 1999). Para evitar instabilidade do instrumento bem como flutuação de corrente, no LTA, ao minispec está adicionado um UPS com potência máxima de 1200W.

O PC usa uma fonte de alimentação do tipo ATX, por isso, no fim do trabalho, para além de desligar por meio do software ou pelo interruptor frontal da caixa, deve-se “desligar completamente todo o equipamento da rede de energia, i.e. tirar todas as fichas das tomadas do UPS” [22]. O minispec deve ser usado em áreas protegidas da radiação solar directa, fontes térmicas e cabos de tensão.

### ii. Software

O Software do minispec para o Windows é um Software de análise de Ressonância Magnética Nuclear para controle de aquisição de dados e processamento dos instrumentos da “bruker the minispec”. Ele corre num PC standard com o Windows<sup>TM</sup>9x/NT e permite o controle em cheio de todas as aplicações bem como todos

os parâmetros do espectrómetro tais como *o número de Scans, Recycle Delay, Ganho, Dummy Shots, Mag Cycle Steps, Detection Mode, Analog Bandwidth e Digital Bandwidth*.

### Conceito de aplicação

Uma aplicação do minispec (minispec application) designa um método de medição do minispec com sequência de impulsos bem definida. Existem muitas sequências de impulso, contudo, "a sequência de impulso spin-eco é provavelmente a mais usada de todas" (Shaw, 1984). Algumas aplicações do minispec usam o sinal FID como método de medição. Pode-se criar uma nova aplicação ou modificar as aplicações standard da Bruker para fins específicos, através da programação em **ExpSpel** que é uma macrolinguagem de programação [11, 12]. Existem aplicações internacionalmente reconhecidas que já mostraram resultados satisfatórios. Com base nos parâmetros que se pretende analisar pode-se escolher uma delas. O minispec possui 48 aplicações, e dentre elas, três foram suficientes para as análises de que se havia proposto; trata-se das aplicações *seoi\_av*, *t1\_ir\_mb* e *t2\_cp\_mb*, 'as vezes sendo mencionadas ao longo do texto apenas por *seoi*, T1 e T2 respectivamente.

A estrutura e barra de ferramentas (Tool bars) do Software do minispec estão desenhados de acordo com o modelo de vários softwares para o Windows, entretanto possui comandos novos. Os comandos mais importantes para o controlo das medições são: *run*, *stop*, *continue*, *calibrate*, *aquisition parameter table* e *daily check*.

### 5.2 Estudos Preliminares

---

O apparatus da RMN é bastante complexo. Na tentativa de estender o seu alcance, procura-se alguns dados de fácil observação (peso da semente, forma, cor e assim por diante), que estejam relacionados com o sinal RMN exibido.

## **Caracterização física das sementes**

### **Técnicas laboratoriais**

Para avaliação do conteúdo de óleo e determinação dos tempos de relaxação das sementes intactas, analisou-se sementes bem maduras e não danificadas.

### **Check-up Visual**

As sementes foram, numa primeira fase examinadas visualmente, considerando os danos externos (físicos e biológicos), presença de substâncias estranhas, maturidade, desgaste por insectos, resistência da casca, cor da casca e da própria semente. Para a extracção do óleo como para análises RMN neste trabalho, seleccionou-se sementes que apresentavam melhor aspecto físico tendo em conta a contrabalança dos factores supracitados.

### **Peso médio**

O peso médio de cada semente usando uma balança digital (Figura 9) com precisão de 0.001 foi de 0,3177g.

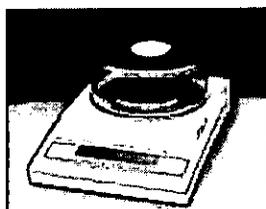


Figura 9. Balança digital Sartorius LC 621P [4] (LTA).

### **Número de sementes e cor**

As vagens possuem uma média de 2 sementes cada, aparecendo de quando em vez vagens com uma única semente. As sementes têm uma cor mistura de castanho-rosa.

As sementes de amendoim não precisam de nenhum tratamento especial, podendo ser analisadas directamente mediante sua inserção no orifício do magnet unit. Todas instruções técnicas estão contidas no CD do minispec.

### 5.3 Determinação do Conteúdo de Óleo usando a Aplicação Seoi\_a\_v

---

A aplicação Seoi\_a\_v (resultado em [gr]) usa a sequência de impulso spin-eco para medir o conteúdo de óleo de cada semente sem ter que a destruir. Esta aplicação funciona como um polícia que detecta, quantifica e regista a quantidade de óleo por cada semente baseando-se nas características do óleo que serviu para a calibração, por isso exige-se que o óleo usado para a calibração seja tanto quanto possível tão próximo das características do óleo impregnado na semente. Dado que a aplicação seoi não tinha sido calibrada para o óleo de amendoim Nametil, o primeiro passo foi a extracção de óleo de amendoim pelo método de Soxhlet com o fim de calibrar o espectrómetro.

### 5.3.1 Extração de óleo

O óleo que serviu para a calibração foi extraído no laboratório de análise instrumental do DQ, tendo-se seguido o esquema a seguir.

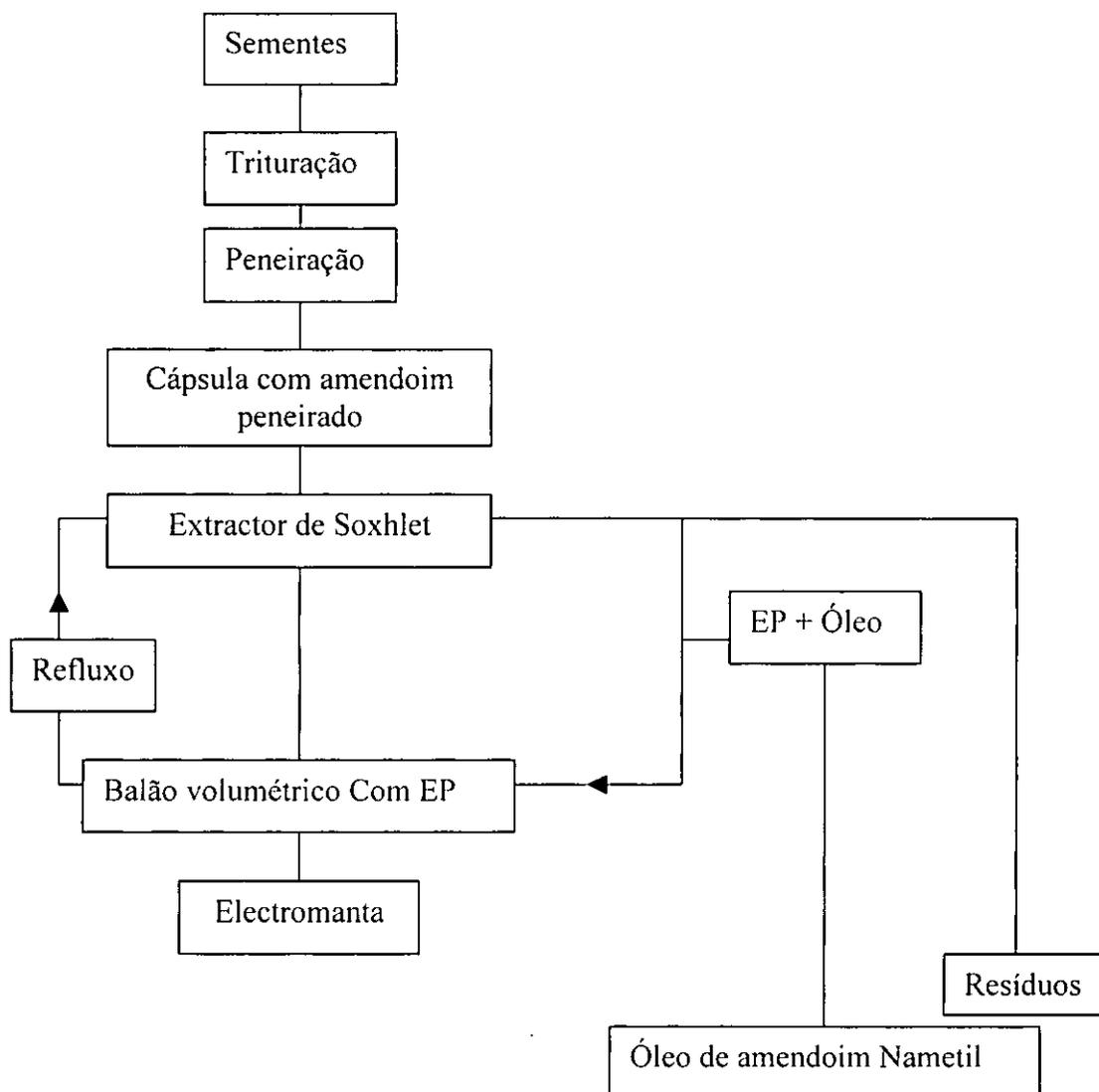


Figura 11. Esquema básico para extração de óleo pelo método de Soxhlet

Depois de ter as sementes de amendoim preparadas, o primeiro passo na extração de óleo pelo método de Soxhlet consiste em triturar o amendoim, até reduzi-lo em partículas finas. Deve-se moer a semente com vista a obter partículas muito finas. “No que concerne a extração de óleo, o método do solvente é o mais usado e reconhecido” (Cumbane, 1995). A figura 12 é um aparelho constituído por um balão, um adaptador de extração e um refrigerante de refluxo. O aparelho é geralmente usado para extração exaustiva de óleo

por meio de um solvente (no caso deste trabalho, o éter de petróleo). “O processo consiste em fazer refluxo quente até descoloração do material em extracção contido no interior de um cartucho<sup>5</sup>” (Mohamade, 2002). Dez rodagens foram suficientes para a remoção do conteúdo de óleo presente no amendoim. Cada rodagem durou uma média de 10 minutos.



Figura. 12. Extracção de óleo pelo método de Soxhlet  
(Departamento de Química)

### 5.3.2 Medição da densidade do óleo por um densímetro

Depois da extracção de óleo tinha que se saber o valor da sua densidade que seria associado ao resultado *seoi* com vista a estimar a quantidade de sementes necessárias para produzir um litro de óleo. Para medir a densidade de óleo usou-se um densímetro.

#### Procedimentos:

- i. Tirou-se o peso do densímetro sem óleo (*mdv*).
- ii. Introduziu-se o óleo de amendoim no densímetro, usando um conta-gotas até atingir o menisco, o qual corresponde a *5ml*.
- iii. Registou-se o peso do densímetro com óleo (*mdn*).

<sup>5</sup> cápsula

Dada a massa do óleo ( $m_N = mdn - mdv$ ) e o volume do densímetro ( $V_d$ ), pode-se calcular a densidade do óleo de amendoim ( $\rho_N$ ).

$$\rho = \frac{m_N}{V_d}$$

$mdv$  - massa do densímetro vazio

$mdn$  - massa do densímetro com óleo

$mo$  - massa de óleo

Dados

massa de óleo

$$mdv = 10,443g$$

$$mo = mdn - mdv$$

$$mdn = 14,960g$$

$$mo = 4,517g$$

$$\rho_N = \frac{mo}{V} = \frac{4,517g}{5cm^3} = 0,9034 g/cm^3 \Leftrightarrow 903,4 kg/m^3$$

### 5.3.3 Medição do índice de refração pelo refractómetro de Abbe

O refractómetro de Abbe (figura 13) permite determinar experimentalmente o índice de refração do óleo pelo método de ângulo limite. O óleo de amendoim varia por causa da diferente saturação de ácidos gordos. A medida da composição de ácidos gordos pode ser obtida medindo o índice de refração do óleo, o qual varia com o nível de insaturação.



Figura 13. Refractómetro de Abbe

O refractómetro de Abbe tem muitas semelhanças com um microscópio vulgar desde a sua morfologia até aos princípios de funcionamento bem como o modo de inserção da amostra a ser analisada. Uma gota é suficiente para se fazer a medição. Para resolver (separar) a gota deve-se usar um conta-gotas. Depois da calibração pode-se fazer a leitura

do valor do índice de refração correspondente ao óleo de amendoim via ocular. O índice de refração obtido foi de  $n_a = 1,481$ . Este valor está de acordo com os valores standard de índice de refração para o amendoim em geral. O óleo de amendoim (Nametil) obtido apresenta um gradiente de saturação desde a parte inferior até a parte superior, por isso o índice de refração obtido pode ser considerado como uma média.

### 5.3.4 Calibração da aplicação 'Seoi\_a\_v'

---

Depois da extracção do óleo já se podia calibrar o espectrómetro.

**CALIBRAÇÃO:** A aplicação Seoi usa um método de referência para determinar o conteúdo de óleo presente em cada semente a partir de um sinal RMN. O processo de ajuste desse método com dados específicos dos parâmetros a serem analisados chama-se calibração. Para determinar o conteúdo de óleo de cada semente deve-se calibrar o espectrómetro com óleo de amendoim previamente extraído. A aplicação detecta o sinal RMN da semente em análise convertendo depois a amplitude deste sinal em quantidade de óleo correspondente. Depois da calibração pode-se prosseguir com a determinação da quantidade de óleo por semente.

#### Processo de Calibração

1. Preparou-se três tubos de ensaio previamente secos à estufa sob uma temperatura de  $100^{\circ}\text{C}$  após terem sido lavados com sabão líquido e passados com água destilada.
2. Registou-se o peso de cada tubo de ensaio-TEi.
3. Por meio de uma pipeta de pasteur introduziu-se 0,158g de óleo no TE1, 0,354g no TE2 e 0,517g no TE3. Estas quantidades de óleo iriam produzir 3 pontos cujo fitting linear produz a curva de calibração.
4. Activou-se a aplicação *seoi\_a\_v* (disponível no minispec) e procedeu-se a respectiva cópia com vista a não danificar a original.
5. Com o comando CALIBRATE, procedeu-se a calibração da aplicação seguindo as instruções contidas no CD do minispec.

6. Realizou-se medições-teste com cada uma das 3 amostras com vista a otimizar os parâmetros da "Acquisition Parameter Table" (no menu Parameter). Ajustou-se o receiver gain para 60 dB; que era o que produzia o melhor sinal de todos os ganhos testados.
7. Depois do passo 6, a aplicação Seoi\_a\_v já estava pronta para ser usada com sucesso. Os dados da curva de calibração estão nos anexos. Assim, o espectrómetro usando a aplicação seoi iria registrar somente a quantidade de óleo presente em cada semente de amendoim ou qualquer outra amostra colocada na sonda do espectrómetro, baseando-se nas características do óleo que serviu para a calibração.
8. Depois de calibrada fez-se o teste da calibração, comparando o resultado da massa de óleo registada pela balança digital e o valor da massa exibido pelo espectrómetro.

## 5.4 Métodos Usados

---

### 5.4.1 Determinação da Quantidade de Óleo por semente.

Para determinação da quantidade de óleo por semente usou-se a sequência de impulso de spin-eco (aplicação *seoi*) com separação de 3,5 ms entre os impulsos de  $90^{\circ}$  e  $180^{\circ}$ .

### 5.4.2 Medição de T1

Na medição do tempo de relaxação longitudinal usou-se a sequência de impulso de inversão e recuperação (IR) ( $180^{\circ}x'-\tau-90^{\circ}x'$ ). A aplicação para determinação de T1 designou-se por *t1\_ir\_mb\_oilnametil*. A primeira separação entre os impulsos de  $180^{\circ}$  e  $90^{\circ}$  foi ajustada para 5 ms, o *Delay Sampling Window* foi de 0,05 ms e o *Factor for Duration's Expansion* de 1,3. 20 pontos foram suficientes para o *fitting* da curva de T1.

### 5.4.3 Medição de T2

Na medição do tempo de relaxação spin-spin usou-se a sequência de impulso de Carrll-Purcell-Meiboom-Giil (CPMG)  $90^{\circ}x'-\tau-(180^{\circ}y'-\tau-180^{\circ}y')n$  cuja aplicação se designou por *t2\_cp\_mb\_nametil*. A separação entre o impulso de  $90^{\circ}$  e  $180^{\circ}$  ajustou-se para  $\tau = 1ms$  com vista a segurar que o sinal RMN fosse somente de óleo. Para o *fitting* da curva de T2 foram registados 200 pontos.

Em todos os métodos acima descritos mediu-se sementes intactas, usando um espectrómetro da série mq da firma Bruker (the minispec) com a temperatura do *magnet unit* estabilizada a  $40^{\circ}C$ . As sementes de amendoim não precisam de nenhum tratamento especial, podendo ser analisadas directamente mediante sua inserção na sonda do minispec. Todas instruções técnicas estão contidas no CD do minispec.

## 6. Resultados Experimentais, Análise e Discussão

---

Em todas as partes deste trabalho onde se aplica indiscriminadamente o termo semente ou amendoim, refere-se só e somente a variedade de amendoim Nametil.

### 6.1 Características Físicas

---

#### Dados estatísticos

Num universo de 100 vagens o seu comprimento varia de 10.65 a 26.95mm e a largura varia de 9 a 13,1mm. Estas medições foram levadas a cabo usando um paquímetro com precisão de 0,05. O peso das vagens contendo sementes (PVCS) varia de 0,136 a 0,975g, enquanto que o peso das sementes da vagem (PSV) vai de 0,085 a 0,719g. Verificou-se que existe uma correlação de 0.987 entre o PVCS e o PSV. O valor da correlação revela que pode-se fazer selecção de sementes de amendoim baseando-se apenas no valor de PVCS. Isto pode resultar numa vantagem para casos em que se pretende avaliar a qualidade das sementes de amendoim sem que seja necessário descascá-las. Por exemplo, para fins de exportação aconselha-se o transporte de amendoim com casca quer para protegê-lo da radiação solar como da água de chuvas. De forma sumária pode-se inferir que o amendoim conserva melhor as suas qualidades quando dentro de casca. No gráfico correlação seoi vs. massa da semente vê-se que existe uma relação linear entre o PSV (consequentemente o PVCS) e o conteúdo de óleo por semente.

A seguir mostra-se o diagrama de frequências referente as 100 vagens acima mencionadas.

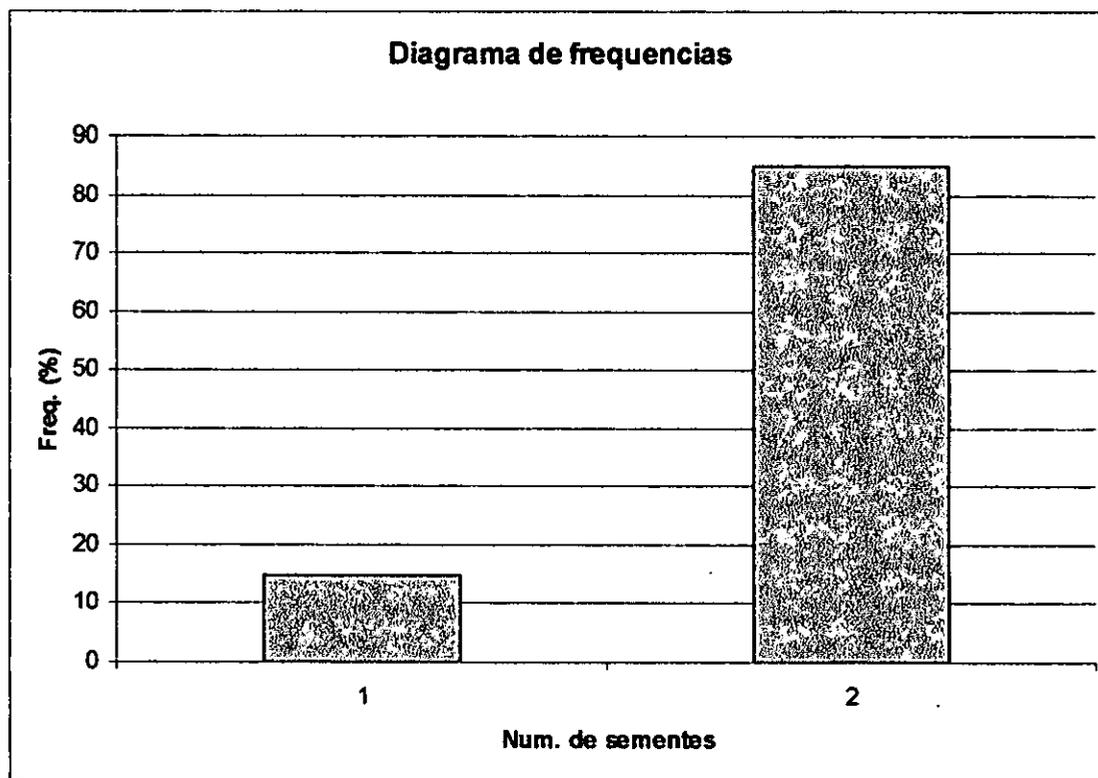


Figura 14. Diagrama de frequências

Na figura 14 vê-se que das 100 vagens, 85% corresponde às que possuem duas sementes e apenas 15% são as que contêm uma única semente. Assim, na variedade Nametil as vagens com duas sementes são as que têm maior ocorrência, seguidas das vagens com uma semente. Das vagens analisadas nenhuma delas apresentou 3 sementes ou mais (o que acontece com outras variedades), desta feita pode-se concluir que na variedade Nametil não ocorre nenhuma vagem com 3 sementes ou mais. Tratando-se de dados que dependem apenas da nossa observação, caso haja na variedade Nametil uma vagem com mais de duas sementes pode-se considerar como um caso raro.

### Qualidade

Nem sempre as maiores vagens são sinónimo de sementes maiores. Por exemplo, a vagem n77 apresentou o maior volume de vagem entre as 100 vagens medidas; não

obstante, as suas sementes (2 sementes) eram finas e rugosas, com apenas 0,523g de peso PSV.

Um PVCS acima de 0,700g combinado com um PSV maior que 0,500g é um bom sinal, enquanto que um PVCS menor que 0,600g e um PSV abaixo de 0,400g não revela boas qualidades tanto para sementeira, alimentação, como para fins de extracção de óleo.

### 6.2 Variação da Humidade das Sementes sob Influência de uma fonte térmica.

Nos dias 4 – 8 de Maio de 2004 submeteu-se 16 sementes à banho solar no terraço do DF. Tomou-se a variação do peso da semente como parâmetro indicador da humidade. Registou-se o peso de cada semente diariamente após 4 horas de exposição ao sol através de uma balança digital. A figura 15 ilustra sementes contidas em beakers sub radiação solar.

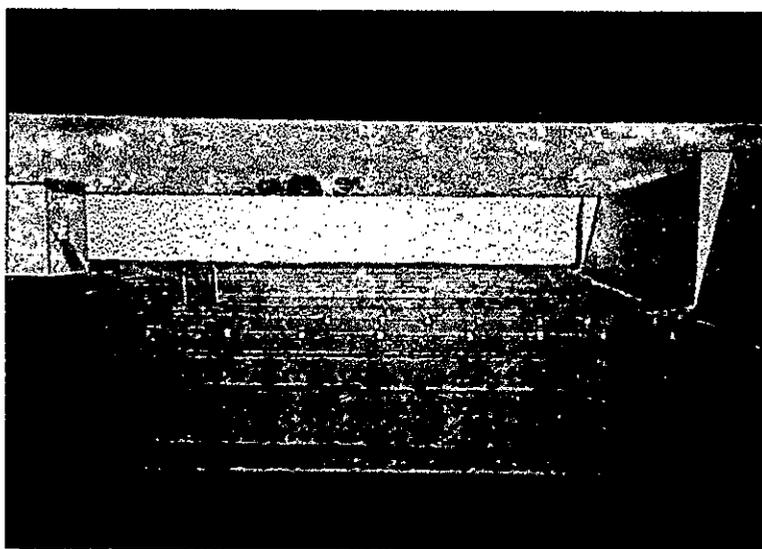


Figura 15. Banho solar de 16 sementes (terraço do DF)

Com vista a evitar variação de humidade fora do tempo de teste, guardou-se as sementes dentro de um excicador. Com base nos resultados diários tomou-se os dados da amostra AN15 e construiu-se a curva da figura 16.

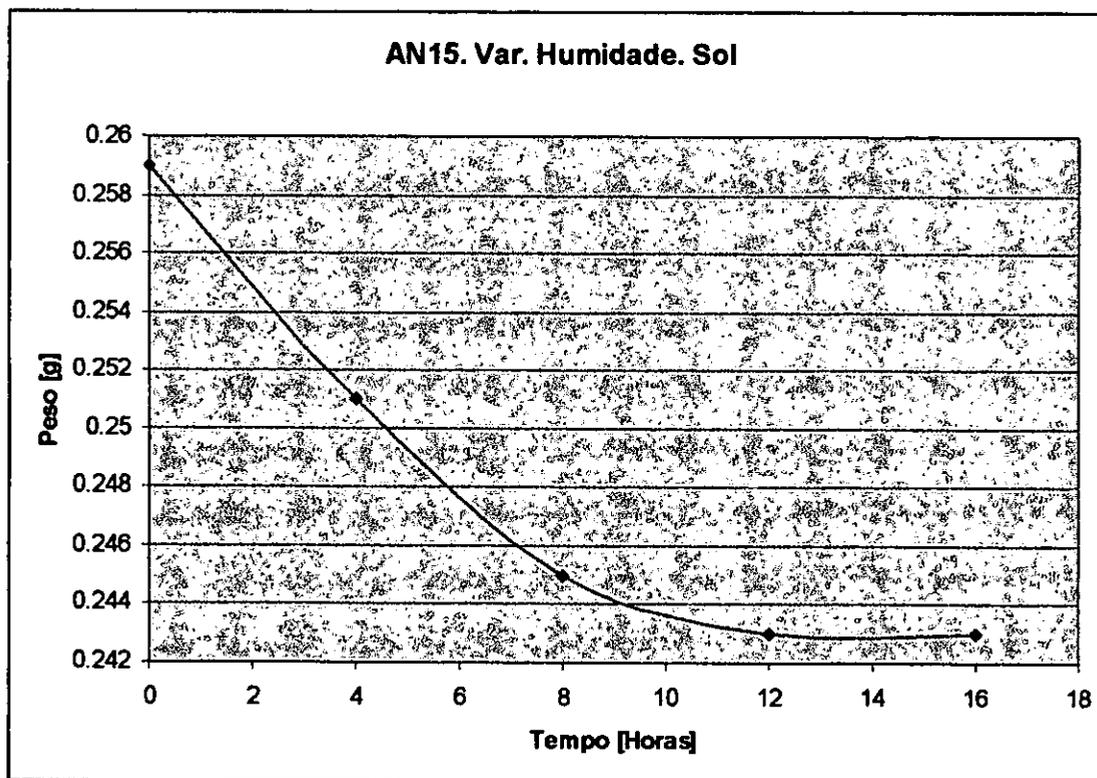


Figura 16. Curva de perda de humidade da semente AN15.

De acordo com a figura 16 nas primeiras 8 horas o processo de perda de humidade é quase linear, verificando-se um declive da curva entre a hora 8 e a hora 12, a partir da hora 16 em diante a curva tende a ser paralela em relação ao eixo do tempo; sinal de que quase toda a água contida na semente já evaporou, é este o ponto mais adequado para extracção de óleo, pois, há certeza de que o líquido que ficou na semente é somente óleo. A escala referente ao peso não inicia no zero devido ao passo entre os valores de peso registados.

Ora, a não constância da radiação do sol e o efeito das sombras do edificio sobre as sementes, fez com que se procurasse uma fonte térmica constante (estufa), estudando o processo de perda de humidade seguindo o mesmo algoritmo e depois proceder uma comparação judiciosa dos resultados.

No dia 7 de Maio de 2004 das 13:05 às 15:00h monitorou-se a perda de humidade de 12 sementes através de uma estufa operacionalizada para uma temperatura de 70°C.

Registrou-se a variação do peso de cada semente de 30 em 30 minutos. O tipo de estufa usado está visualizado na figura 17.



Figura 17. Estufa (DQ)

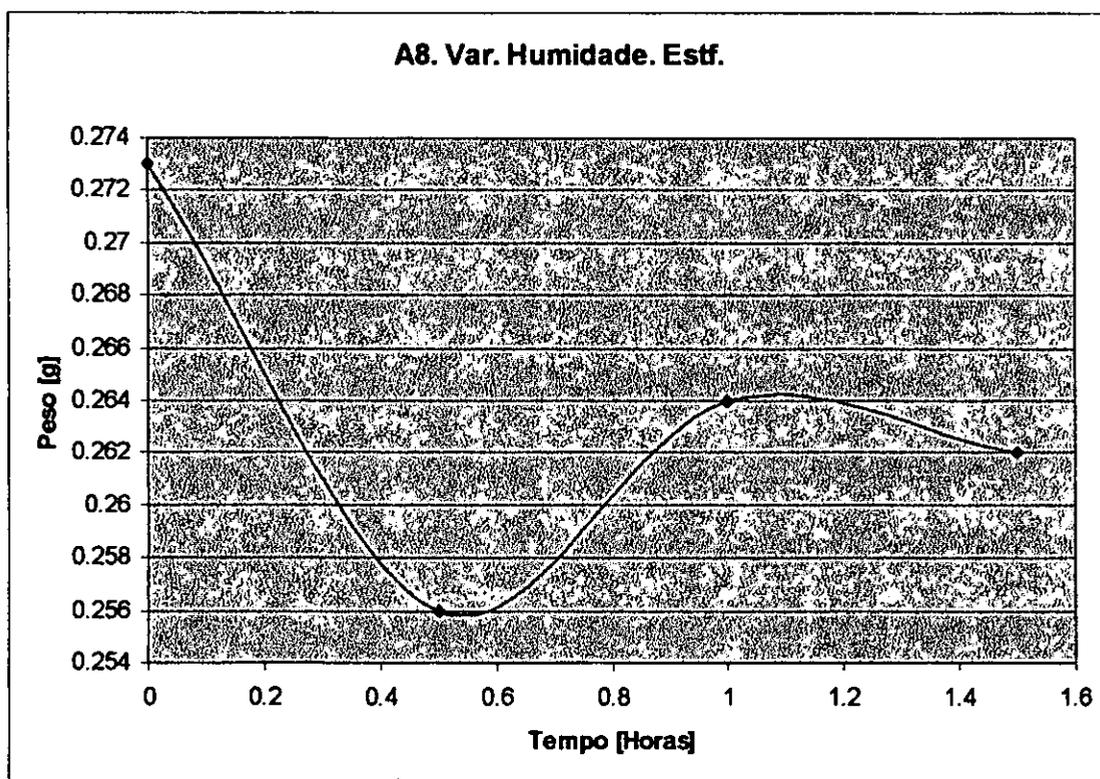


Figura 18. Variação de humidade monitorada por estufa

Nos primeiros 30 minutos a perda de água tem um comportamento quase linear, no segundo quarto de hora ocorre um fenómeno pouco estranho. Tenta-se explicar isto como

tendo sido ocorrido devido a constantes aberturas da estufa bem como a pequenas dimensões da mesma.

A curva de perda de humidade sob influência do sol e a curva de perda de humidade monitorada por estufa sugerem que o aquecimento ao sol e o aquecimento à estufa, são processos diferentes

### 6.3 Conteúdo de Óleo das Sementes

---

Das 50 sementes analisadas a semente AN 17 é a de maior massa (0,444 g) e registou o maior conteúdo de óleo (0,206 g) enquanto que a semente AN48 tem o menor conteúdo de óleo, contudo, não é a semente de menor peso, a semente AN25 é que é a de menor peso (Tab. 1). A média da quantidade de óleo por semente calculada com base na Tab. 1 foi de 0,14104g. Associando este valor ao peso médio de cada semente (0,3177g) calculou-se a percentagem de conteúdo de óleo por semente usando a relação  $(Po/Ps) * 100\%$  onde  $Po$  é o peso de óleo contido na semente e  $Ps$  é o peso de toda a semente, usando esta fórmula, a percentagem de óleo das sementes da variedade Nametil é de 44,4 %. Isto quer dizer que 44,4 % do peso de uma semente corresponde ao óleo nele impregnado. Associando a média da quantidade de óleo por semente e o valor da densidade, determinou-se que para-se ter um litro de óleo de amendoim Nametil são necessárias 6406 sementes, o que corresponde aproximadamente a 2kg de sementes.

TABELA 1

Resultados seoi. Os parâmetros referentes a designação representam a ordem aleatória de uma semente, peso[g] é o peso de toda a semente em gramas e seoi [g] é o valor do conteúdo de óleo da semente exibido pela aplicação seoi\_a\_v.

Desig.	Peso [g]	Seoi [g]	Desig.	Peso [g]	Seoi [g]
AN1	0.307	0.139	AN26	0.291	0.121
AN2	0.327	0.149	AN27	0.325	0.152
AN3	0.324	0.135	AN28	0.283	0.12
AN4	0.353	0.151	AN29	0.327	0.153
AN5	0.336	0.14	AN30	0.313	0.134
AN6	0.383	0.165	AN31	0.353	0.14
AN7	0.398	0.166	AN32	0.275	0.126
AN8	0.379	0.164	AN33	0.302	0.141
AN9	0.271	0.12	AN34	0.287	0.123
AN10	0.392	0.173	AN35	0.287	0.132
AN11	0.364	0.165	AN36	0.341	0.164
AN12	0.303	0.142	AN37	0.296	0.132
AN13	0.31	0.135	AN38	0.318	0.143
AN14	0.321	0.147	AN39	0.279	0.133
AN15	0.349	0.142	AN40	0.285	0.131
AN16	0.292	0.128	AN41	0.303	0.139
AN17	0.444	0.206	AN42	0.279	0.12
AN18	0.334	0.144	AN43	0.352	0.152
AN19	0.293	0.134	AN44	0.37	0.164
AN20	0.306	0.143	AN45	0.294	0.131
AN21	0.336	0.145	AN46	0.297	0.133
AN22	0.328	0.139	AN47	0.273	0.121
AN23	0.322	0.153	AN48	0.272	0.111
AN24	0.292	0.133	AN49	0.275	0.13
AN25	0.26	0.113	AN50	0.284	0.135

A aplicação seoi permite fazer escolha do melhor método de extracção de óleo, bastando para tal comparar a quantidade de óleo detectada pela aplicação seoi e a quantidade de óleo produzida por cada método de extracção.

No que concerne a selecção não destrutiva de sementes, já se viu que com esta técnica pode-se determinar a quantidade de óleo por semente sem que esta seja destruída, isto pode contribuir para a preservação genética de uma espécie, quando se pretende por exemplo fazer sementeira de sementes com uma certa quantidade de óleo.

### 6.3.1 Curva Seoi

A curva da figura a seguir mostra como varia a fracção de óleo em função do número de sementes NS.

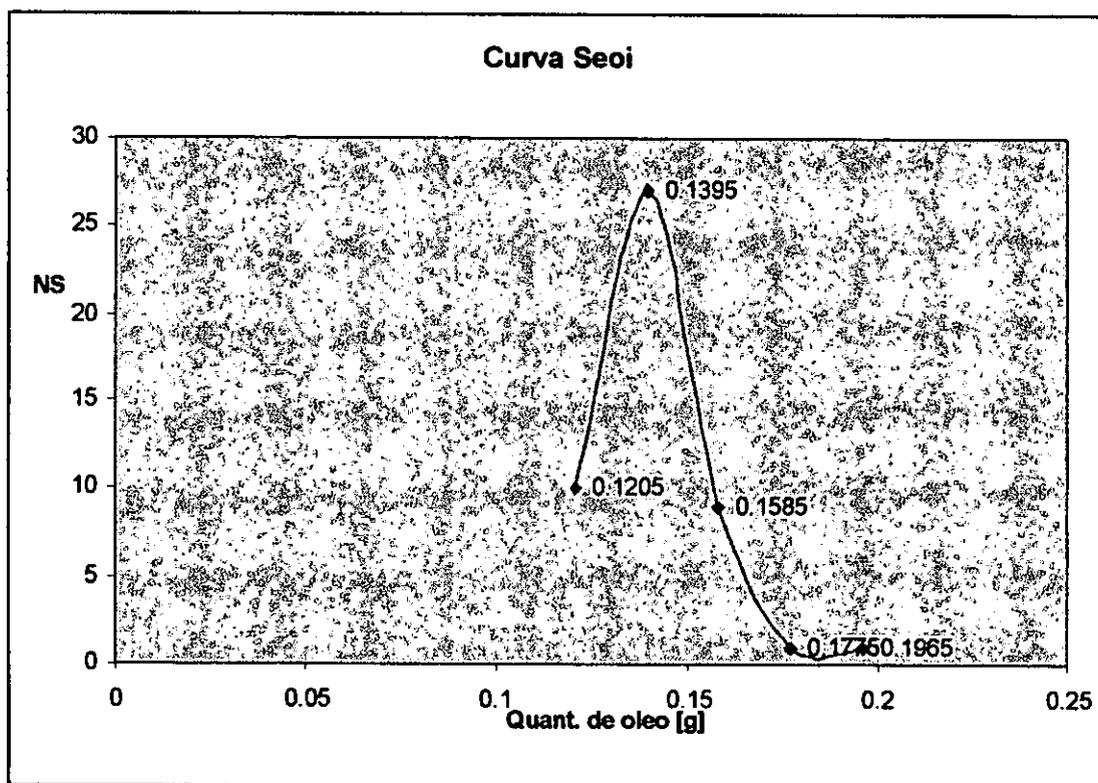


Figura 19. Curva seoi

Com base na figura 19 a maior parte de sementes possui uma quantidade de óleo de 0,1395g. A partir do gráfico vê-se que as sementes com maior quantidade de óleo correspondem a uma pequena quantidade de sementes (menos de 5 sementes). O segundo maior número é o das sementes com menor conteúdo de óleo (0,1205g).

### 6.3.2 Teste seoi para a casca de amendoim

Analisou-se a quantidade de óleo contida em 10 vagens e obteve-se o valor de 1,916g, retirando as vagens, analisou-se somente as sementes e obteve-se o valor de conteúdo de óleo correspondente a 1,855g. A diferença entre os dois valores é de 0,061g. Se considerarmos  $0,061 \approx 0$ , pode-se concluir que as cascas de amendoim não possuem óleo.

Seja A o valor do resultado seoi de amendoim com casca e M o resultado seoi do mesmo amendoim sem cascas, o autor sugere que a condição  $\frac{M}{A} > 0,95$  seja indicadora de maturidade e boa secagem.

### 6.3.3 Relação da quantidade de óleo & massa da semente

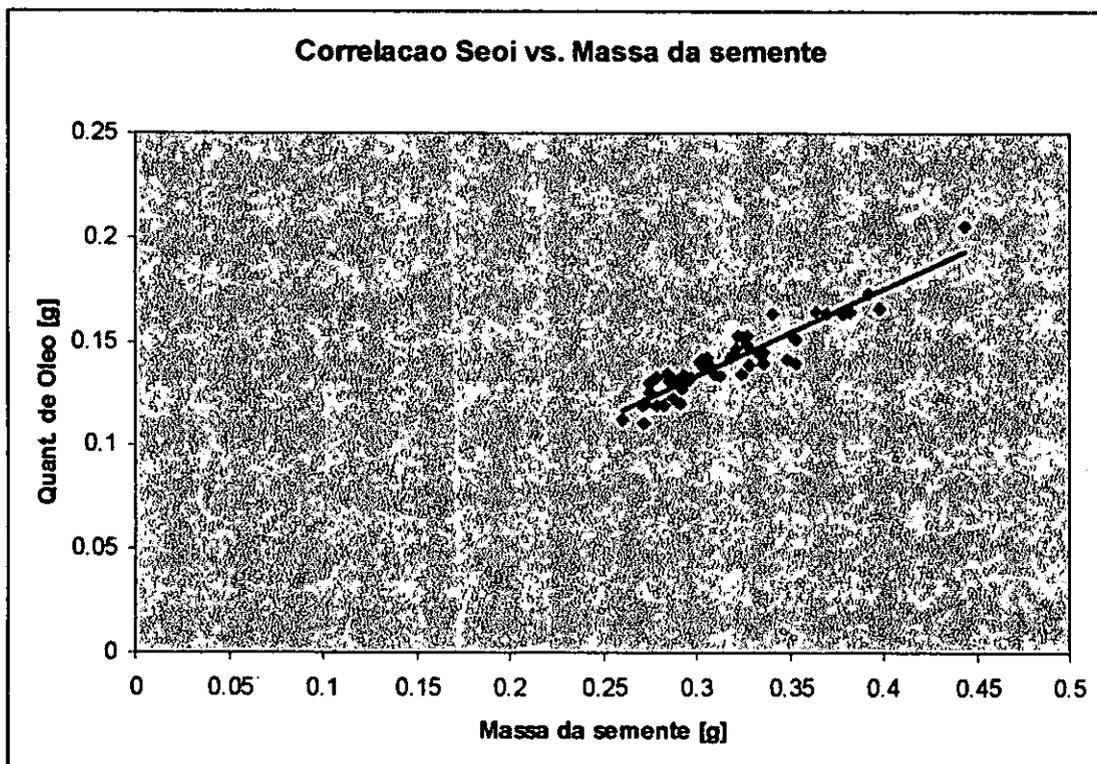


Figura 20. Correlação entre a quantidade de óleo determinada pela aplicação seoi e a massa da semente.

Com base nos resultados da tabela seoi construiu-se o gráfico da figura 20. A proximidade dos pontos e a persistência em formarem uma recta justificam o valor da constante de correlação tão próxima de 1 ( $b = 0,926187$ ). Este gráfico é muito útil para

os casos em que se pretende fazer uma análise sumária da relação entre a quantidade de óleo por semente e o seu respectivo peso sem ter que analisar a tabela seoi. Uma eventual dispersão dos pontos e não coerência em formarem uma recta seria indicio de não haver uma relação directa entre os parâmetros supracitados.

#### 6.3.4 Influência da Posição do Tubo contentor da Amostra

Com vista a garantir a constância do campo magnético uma das limitações da RMN é de analisar amostras de pequeno volume, pois, o campo magnético é constante numa pequeníssima região do magnete. Na maioria das vezes, o acerto desta posição é difícil, por isso fez-se um teste *seoi\_a\_v* variando a posição do tubo contentor da amostra (semente) em relação a sua posição mais baixa em passos de 5mm no sentido de identificar em que posição a semente está na região do campo magnético mais forte e constante.

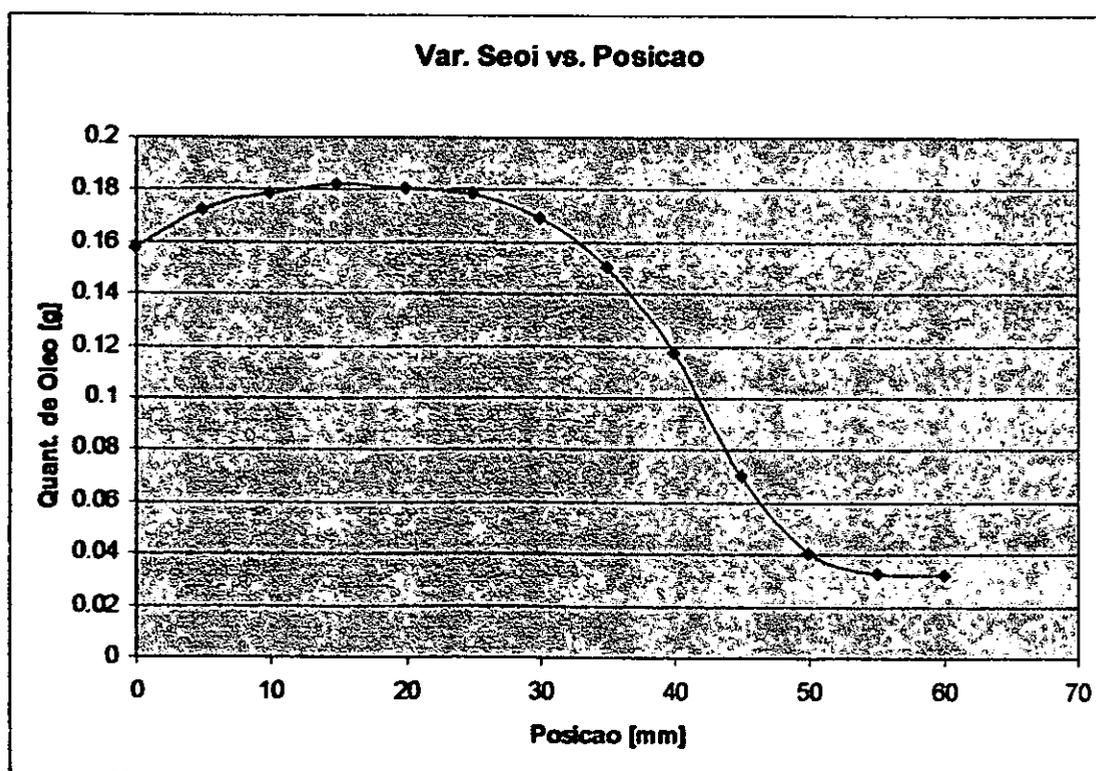


Figura 21. Dependência do sinal RMN em relação a posição.

Com base na figura 21 esta posição resulta em maior sinal pois, quanto maior for  $\vec{B}_0$  maior será a sensibilidade de detecção. O valor dessa posição "fértil" registado durante as medições foi de 15mm. Isto quer dizer que o melhor sinal regista-se 15mm acima da posição mais baixa do tubo contentor da amostra.

### 6.3.5 Variação do Sinal RMN vs. Tempo de permanência da Semente no Espectrómetro

Devido a questões técnicas, durante as análises, algumas amostras (sementes) demoram mais tempo umas em relação a outras dentro do magnet unit, que opera a uma temperatura estável de 40°C e a amostra no seu interior vai aquecendo até atingir esta temperatura. Com vista a obter resultados reprodutíveis recomenda-se que as medições sejam executadas dentro de um intervalo de tempo muito curto, contudo é difícil satisfazer esta exigência. Na tentativa de avaliar a flutuação do sinal RMN vs. o tempo de permanência da amostra dentro do magnet unit, fez-se um teste da dependência do sinal RMN vs. tempo. Tomou-se como protótipo a aplicação seoi\_a\_v. A figura 22 mostra os resultados dessa análise.

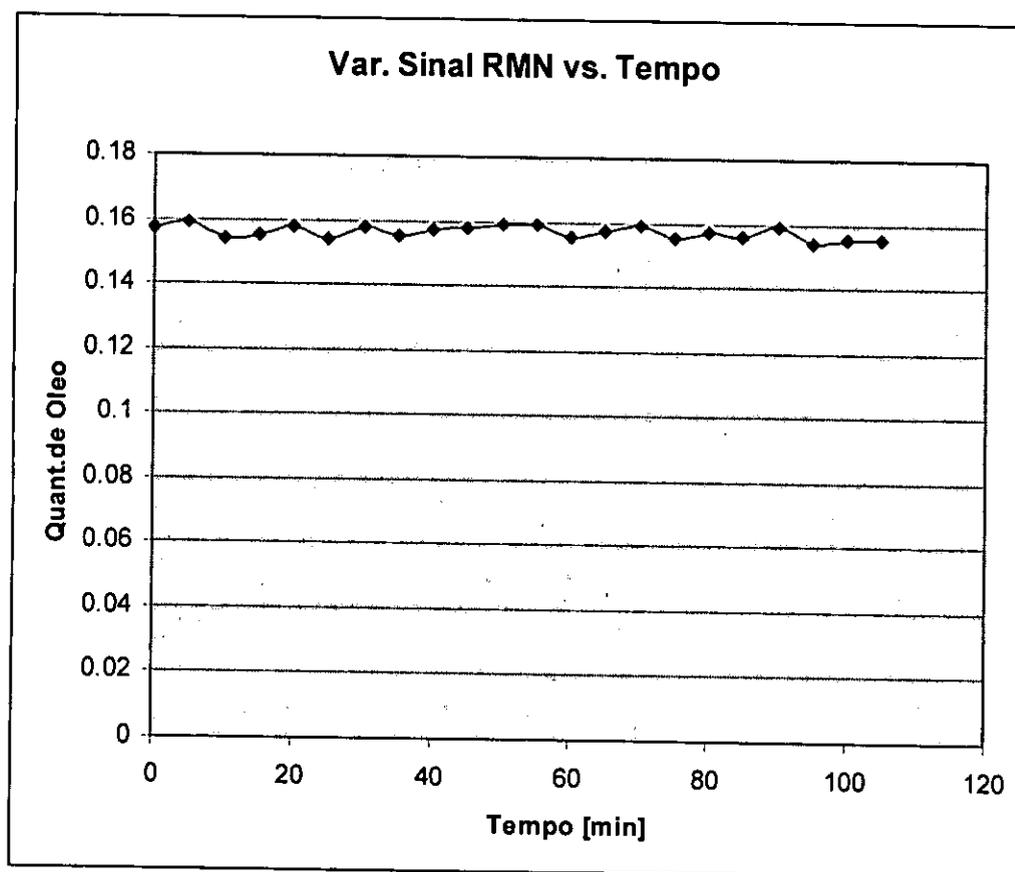


Figura 22. Flutuação dos resultados seoi medidos em intervalos de tempo de 5 em 5 minutos.

Com base na figura 22 pode-se notar que depois de aproximadamente 2 horas de tempo voltou-se a observar valores registados nos primeiros minutos do teste. Com base nesta análise pode-se concluir que uma semente de amendoim em análise pode permanecer 2 horas de tempo sem variar significativamente o seu resultado seoi.

#### 6.4 Relaxação

Depois da determinação do teor de óleo pela aplicação seoi, para se confirmar que de facto estava-se a medir óleo, tinha de se fazer comparação entre os valores dos tempos de relaxação do óleo extraído das sementes com o óleo presente nas próprias sementes, por isso procedeu-se a determinação dos tempos de relaxação T1 e T2 para o óleo extraído e para as próprias sementes, tendo-se usado a sequência de Inversão e Recuperação para determinação de T1 e a sequência de Carll-Purcell-Meiboom-Giil para determinação de

T2. Escolheu-se estas sequências devido a sua maior precisão em relação a outras sequências conhecidas [18].

#### 6.4.1 Tempos de Relaxação do óleo que serviu para a calibração

T1(1) varia de 47 - 60 ms, T1(2) varia de 160 - 300 ms, T2(1) varia de 35 - 44 ms e T2(2) vai de 80 - 130 ms. Estes resultados mostram grande semelhança quando comparados aos valores das análises feitas em sementes intactas, TAB. 3 e TAB. 4. Isto nos induz a inferir que é a mesma substância que está em análise: o óleo de amendoim.

TABELA 2

Tempos de Relaxação do óleo que serviu para a calibração

Relaxação	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
T1(1) [ms]	60	47	47
T1(2) [ms]	300	160	180
T2(1) [ms]	40	44	35
T2(2) [ms]	80	130	106

## 6.4.2 Relaxação T1 (t1\_ir\_mb) (sementes intactas)

TABELA 3

Resultados da aplicação t1\_ir\_mb referentes ao tempo de relaxação longitudinal T1. Os parâmetros referentes a Designação representam a ordem de cada semente. Cada semente de amendoim revela a existência de duas componentes de T1; T1 curto designado por T1(1) e T1 longo representado por T1(2). T1(1) varia de 18-60 ms e T1(2) varia de 126-270 ms.

Desig.	T1(1)	T1(2)	Desig.	T1(1)	T1(2)
AN1	60	224	AN25	18	131
AN2	30	130	AN26	27	130
AN3	34	140	AN27	33	160
AN4	31	150	AN28	43	210
AN5	53	220	AN29	42	170
AN6	38	160	AN30	57	270
AN7	41	150	AN31	50	210
AN8	36	180	AN32	34	190
AN9	55	240	AN33	28	150
AN10	44	190	AN34	41	160
AN11	42	200	AN35	50	250
AN12	25	140	AN36	40	140
AN13	41	200	AN37	53	240
AN14	46	200	AN38	34	160
AN15	34	170	AN39	50	220
AN16	55	270	AN40	40	160
AN17	42	160	AN41	37	180
AN18	52	220	AN42	45	180
AN19	41	170	AN43	40	160
AN20	36	170	AN44	50	170
AN21	25	170	AN45	27	160
AN22	27	126	AN46	31	150
AN23	40	180	AN47	32	140
AN24	43	160	AN48	44	190

## 6.4.3 Relaxação T2 (t2\_cp\_mb) (sementes intactas)

TABELA 4

Resultados da aplicação t2\_cp\_mb referentes ao tempo de relaxação transversal T2 através das suas componentes T2(1) e T2(2). À semelhança de T1, o tempo de relaxação transversal T2, possui também duas componentes; trata-se de T2(1)[componente curta] e T2(2)[componente longa]. T2(1) varia de 6-50ms e T2(2) varia de 63-100ms.

Desig.	T2(1)	T2(2)	Desig.	T2(1)	T2(2)
AN1	40	80	AN26	40	90
AN2	17	76	AN27	13	71
AN3	30	70	AN28	14	68
AN4	30	81	AN29	17	72
AN5	30	80	AN30	44	100
AN6	22	77	AN31	40	90
AN7	15	73	AN32	20	71
AN8	21	78	AN33	17	75
AN9	20	67	AN34	40	80
AN10	40	80	AN35	10	69
AN11	32	85	AN36	28	82
AN12	6	66	AN37	17	70
AN13	30	80	AN38	40	100
AN14	22	76	AN39	22	74
AN15	22	74	AN40	40	80
AN16	40	80	AN41	22	73
AN17	20	83	AN42	40	80
AN18	23	75	AN43	40	90
AN19	40	70	AN44	22	75
AN20	40	80	AN45	40	80
AN21	40	90	AN46	40	80
AN22	11	71	AN47	42	90
AN23	40	90	AN48	13	63
AN24	40	70	AN49	50	100
AN25	10	63	AN50	15	68

À semelhança de T1, o tempo de relaxação transversal T2, possui também duas componentes; trata-se de  $T2(1)$ [componente curta] e  $T2(2)$ [componente longa].  $T2(1)$  varia de 6-50ms e  $T2(2)$  varia de 63-100ms.

### 6.5 RMN como Caixa Negra

Depois de analisadas, duas sementes de amendoim caíram no mesmo tubo de ensaio, dificultando assim a sua identificação dado que através de inspecção visual eram quase iguais (indistinguíveis). Tinha de se separar a todo custo e identificar correctamente cada semente com vista a prosseguir determinadas medições inerentes a cada semente. Trata-se das amostras AN23 e AN29. Antes da sua mistura accidental, haviam sido feitas mesmas medições para cada amostra. Partindo da análise 'seoi\_a\_v', ambas tinham a mesma quantidade de óleo (0,153g), o que constituiu um impasse. O peso de cada semente registado pela balança analítica era bastante aproximado um do outro. Não havia segurança de fazer separação das sementes sem ambiguidade, tinha que haver um parâmetro de diferença bem visível.

Finalmente apareceu a solução. O tempo de relaxação T2 marcou a diferença, através de comparação das coordenadas ANi[T2(1), T2(2)]. A sintaxe dessa representação é a seguinte: Ordem da semente [T2 curto, T2 longo]. Assim ANi = ordem da semente, T2(1) = T2 curto e T2(2) = T2 longo. Antes da mistura, no banco de dados pode-se ler o seguinte; AN23[40, 90] e AN29[17, 72]. Fez-se então o teste de T2, e obteve-se para uma amostra aleatória A; A[18, 71] e a outra B com B[40, 91]. Concluiu-se que havia fortes indícios de a amostra A ser AN29 e B ser AN23. Devido ao bom limite de confiança que a RMN oferece, tomou-se os resultados do teste por fidedignos, devolvendo-se logo as sementes cada uma para o seu tubo de ensaio. Nesta ordem de ideias, os parâmetros de amendoim fornecidos pelo minispec, nomeadamente [seoi, T2(1), T2(2)] constituem uma dada coordenada da semente; nestes moldes, o conjunto desses parâmetros permite a localização da semente. Deste modo, a "ressonância Magnética Nuclear funciona como uma caixa negra" (Friebolin, 1998).

## 6.6 Confirmação do carácter não destrutivo da RMN

---

No dia 1 de Junho de 2004 foram semeadas sementes irradiadas por RF sob um campo  $B_0$  e sementes não irradiadas (com  $B_0=0$ ) ao mesmo tempo com o fim de avaliar o carácter não destrutivo da técnica RMN. Todas as sementes germinaram no mesmo dia, na mesma hora e no mesmo minuto, em nada tendo transgredido o período normal de emergência que é de 5-8 dias [1]. Isto prova claramente que a técnica RMN pode ser administrada em organismos vivos (Boeker, Grondelle, 1999), por isso não repugna em nada por fazer parte dos métodos empregues no estudo de preservação do inventário ambiental.

## 6.7 Fonte de Erros

---

O protocolo experimental para análise quantitativa pelo minispec, comporta muitas etapas. O erro final resulta da acumulação dos erros de cada etapa, certas etapas do protocolo com fontes de erros mais influentes que outras. Uma divisão pode ser feita entre os erros atribuíveis ao minispec e o seu sistema de tratamento de dados por um lado, e por outro, os erros devido à manipulação das amostras.

Geralmente, os erros de manipulação das amostras são mais influentes que os erros devidos ao minispec, e portanto tomam conta da maior parte do erro final. Os erros de manipulação são numerosos, como por exemplo o erro ao tocar as amostras com mãos húmidas, o erro no momento de introdução da amostra no minispec,...

Os erros devidos ao minispec são igualmente numerosos como por exemplo a variação das condições na fonte, a instabilidade da temperatura,... . Por razões estatísticas, toda medição da intensidade dum sinal RMN está afectada de um erro intrínseco mínimo.

Todas estas fontes de erro, à excepção do erro intrínseco mínimo, podem ser reduzidos mediante aplicação das instruções que aparecem no *troubleshoot problems* (no CD do minispec).

**Erro Ambiental**

Deve-se considerar que medições realizadas em dias diferentes podem ter resultados diferentes (se considerarmos a mesma amostra) ou seja, pode não haver reprodutividade dos resultados, daí que a mudança diária do microambiente do LTA, pode influenciar os resultados. Como proposta para a diminuição deste tipo de erro temos o ar condicionado que simula sempre, quase as mesmas condições para o ambiente laboratorial. Tomando a temperatura como o parâmetro mais influente, o LTA opera a 19<sup>o</sup>C.

**Erro de Contacto**

Deve-se evitar tocar as sementes com as mãos para evitar a alteração de humidade a nível de cada semente. Para diminuir este erro, a manipulação das amostras deve ser feita por meio de pinças.

Uma ideia do erro cometido nessas análises é dada pela análise feita ao tubo de ensaio TE3 cujo óleo contido no seu interior registou 0,517g através da balança digital. O valor obtido por meio do espectrómetro (aplicação *seoi*) foi de 0,515g, portanto, coincidência em duas casas decimais.

## 7. Conclusões e Recomendações

---

### 7.1 Conclusões

---

- Uma análise judiciosa dos resultados mostra que os objectivos propostos foram alcançados. Algumas análises não tinham sido previstas, surgiram ao longo do trabalho apenas como curiosidade e constam nos resultados.
- A fracção de óleo por semente, da variedade analisada neste trabalho (44,4%), está no *ranging* dos padrões internacionalmente conhecidos.
- A determinação da quantidade de óleo de cada semente pode servir para propagar as sementes de boa qualidade.
- Os resultados referentes a correlação quantidade de óleo vs. peso da semente mostram que existe um limite de confiança aceitável ao se fazer selecção de sementes com o fim de extracção de óleo baseando-se apenas no peso das sementes.
- A posição do tubo contendor da amostra em relação a sonda do minispec tem grande influência no sinal RMN exibido.
- Para a curva de variação do sinal RMN vs. tempo não se nota uma alteração considerável. Pode ser que haja mutações a nível microscópico, contudo, não se fizeram manifestar significativamente durante o tempo de análise.
- Os tempos de relaxação do óleo extraído e os tempos de relaxação das sementes intactas revelam certa semelhança, sinal indiscutível de que a substância em causa nas sementes em análise é o próprio óleo.

## 7.2 Recomendações

---

Dá-se luz verde ao INIA, de que pode continuar a produzir a variedade Nametil, dado que, analisada; apresentou os padrões internacionalmente requeridos, quer seja para fins de extracção de óleo quer para o seu consumo como alimento.

Sugere-se que a análise de sementes de amendoim por meio da técnica RMN tenha continuidade no DF, pesquisando outras variedades como as de BEBIANO BRANCO, BEBIANO ENCARNADO, ICGM-285, JL-24, CG-7, RMP-12, NATAL COMUM e MAMANE.

Usando a RMN pode-se procurar a dependência da fracção de óleo nas sementes com o tipo de terreno e assim identificar as zonas "preferidas" por cada variedade.

Sugere-se a montagem de pequenas indústrias de processamento de amendoim no país com vista a produção de óleo, facto que pode impulsionar a produção de amendoim e conseqüente redução de preço do óleo alimentar.

Nos próximos trabalhos relacionados com este tema, sugere-se que seja aprofundado o estudo da relação entre T1 e a estrutura química das moléculas do óleo de amendoim. Este estudo poderá ser levado a cabo em cooperação com o DQ, o qual possui um espectrómetro RMN de alta resolução, empregue na elucidação da estrutura química de compostos.

Ainda em cooperação com o DQ pode-se procurar a possível relação entre o pH de uma solução e seus respectivos tempos de relaxação T1 e T2.

Uma investigação em RMN envolve muitas áreas, por isso, recomenda-se o melhoramento e alargamento da cooperação entre o DF e outras instituições.

**Recomendações técnicas**

Para garantir uma continuidade e eficácia deste tipo de trabalhos, seria aconselhável e adequado se o DF adquirisse o seguinte equipamento:

- PGU (acessório do minispec em falta)
- Estufa
- Extractor de Soxhlet
- Balança digital acoplável ao minispec
- Barcode Scanner

---

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

---

**A) LIVROS**

1. AMARAL, Wanda do (compil.). Guia para apresentação de teses, dissertações, trabalhos de graduação. 2. ed. Maputo: Livraria Universitária, 1999. 83p.
2. BAPTISTA, Pedro Luíz. Elementos para o estudo dos amendoins de Moçambique: Possibilidades de melhorar a cotação dos amendoins utilizados para a extracção do óleo. Porto: Sociedade Papelaria, 1934.
3. BOEKER, Egbert, GRONDELLE, Rienk van. Environmental Physics. 2.ed. New York: Wiley, 1999.
4. BRUKER RELAXATION TIME MANUAL. 1999. 57p.
5. CARLTON, K. J., HALSE, M. R., MAPHOSSA, A. M., MALLETT, MJD. NMR stray-field analysis of oil drops size distribution in peanut cotyledons. Dezembro. 1996. Eur Biopsy J (2001) 29: 574-578.
6. CUMBANE, Arnaldo Amenosse. Estudo dos Óleos Essenciais de Origem Vegetal: Óleo Essencial de *E. Camaldulensis*. 1995. 45p. Trabalho de graduação, Licenciatura. UEM, 1995.
7. DCM. Trouble\_shootig\_guide.doc. Date: 25.1.00. Revision 1.1. (No CD do Minispec)
8. FRIEBOLIN, Horst. Basic One- and Two-Dimensional NMR spectroscopy. 3.ed. New York: Wiley, 1996.
9. GIL, Victor M.S., GERALDES, Carlos F.G.C. . Ressonância Magnética Nuclear: Fundamentos, métodos e aplicações. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1987. 1012p.
10. EMSLEY, J. W., FEENEY, SUTCLIFFE, L. H. Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. Oxford. Vol. 1. 1996. 386p.
11. JEFFREY C. Hoch, ALAN S. Stern. NMR Data Processing. New York: Wiley-liss, 1996. 196p.
12. HAMMONS, R.O, CALDWELL, B. E. Groundnuts (*Arachis hypogaea* L.). 1974.
13. KRANE, Kenneth S. Modern Physics. 2.ed. New York: Wiley, 1996. 581p.

14. KRYGSMAN, Peter, GUTHAUSEN, Andreas. mq Series User's Manual. Bruker Canada, Bruker Analytik GmbH. Version 2.0. November 1999. 44p.
15. LUCIANO, Higino. Determinação da curva de calibração do espectrômetro de RMN para o óleo das sementes de madura. 2003. 43p. Trabalho de graduação, Licenciatura. UEM, 2003.
16. MACHIANA, E. Chemo, MATLOMBE, S. Benjamim. Montagem de um sistema básico para detecção de um sinal de Ressonância Magnética Nuclear. 1997. 48p. Trabalho de graduação, Licenciatura. UEM, 1997.
17. MILLAR, David et al. Dictionary of Scientists. Cambridge: Cambridge University Press, 1996. 387p.
18. MILNER, M. Nutritional Improvement of Food Legumes by Breeding. New York: Protein advisory Group of the United Nations System, United Nations. 1973.
19. MINISPEC APPLICATION POOL VERSION 5.0. (No CD do Minispec)
20. MINISPEC APPLICATIONS IN THE POLYMER INDUSTRY. (No CD do Minispec)
21. MOHAMADE, Saïde Ussene Saïde. Separação do Ácido Anacárdico. 2002. 39p. Trabalho de graduação, Licenciatura. UEM, 2002.
22. MORRIS, Peter G. Nuclear Magnetic Imaging in Medicine and Biology. London: Oxford University Press, 1986. 365p.
23. NORDEN, SMITH, O. D., GORBET, D.W. Breeding of the cultivated peanut. New York: McGraw-Hill publishing company. 1982.
24. RÖBBELEN, Gerhard, DOWNEY, R. Keith, ASHRI, Amram. Oil crops of the world. New York: McGraw-Hill publishing company, 1989. 553p.
25. BRANN, S, KALINOWSKI, and H. -O. BERGER, S. 150 and More Basic NMR Experiments: A practical Course. 2.ed. New York: Wiley-VCH, 1998. 596p.
26. SARDELLA, Antônio, MATEUS, Edegar. Química; Programa completo: 2º grau, vestibular. 2.ed. São Paulo: Ática, 1982. 454p.
27. SEIDL, Peter Rudolf, NASCIMENTO, Raimundo Santos do. Analysis of Tropical Oilseeds by Carbon-13 NMR, 1990. Spectros. Int. J. 8, 183-190. p. 183-189.

28. SILBERSTREIFEN, Am. Mq Series mq Gradient Unit User's guide. Bruker Analytik GmbH. Version 1.0. January 2000. 15p.
29. SMART, M. L, STALKER, H.T. Specification and Cytogenetics in Arachis. New York: McGraw-Hill publishing company. 1982.
30. TODT, Harald. mq Series Application's Manual. Bruker Analytik GmbH. Version 1.2. January 2000. 17p.
31. THUZINE, Alexandre et al. Biologia da sexta classe. 2. ed. 2003. 77p.
32. WILHEMUS, Hendrikus de Jeu. A Nuclear Resonance Study of Acetone in various Solvents. Uitgeverij Waltman – Delft. 1969. 76p.

#### B) INTERNET

1. AGROBYTE. Origem do amendoim. Disponível em rede. URL: <http://www.agrobyte.com.br>. Acesso em 12 de Abril de 2004.
2. BRUST, Greg. Nuclear Magnetic Resonance: *Chemical Shifts*, 2003 (.../search%3Dradio-frequency%2Bespectroscopy%26h1%3Dpt%263/28/03)
3. BRUKER. Bruker the minispec. Disponível em rede. URL: [http://images.google.com.br/images?q=bruker\\*minispec&hl=ptBR&lr=&ie=UTF-8&start=0&sa=N](http://images.google.com.br/images?q=bruker*minispec&hl=ptBR&lr=&ie=UTF-8&start=0&sa=N). Acesso em 9 de Julho de 2004.
4. SARTORIUS. Sartorius Balance. Disponível em rede. URL: <http://www.laboandco.com/gamsartorius.htm>. Acesso em 9 de Julho de 2004.
5. NUCLEAR MAGNETIC RESONANCE SPECTROSCOPY: Instrumentation. Disponível em rede. URL: <http://www.shu.ac.uk/schools/sci/chem/tutorials/molspec/nmr3.htm>. Acesso em 16 de Agosto de 2001.
6. MORRISSEY, David. Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy: Introduction\*Basics\*Shielding and spin coupling\*Fourier transform COSY and NOESY\*Structure assignment. Disponível em rede. URL: <http://www.bch.bris.ac.uk/staff/pfdg/teaching/nmr.htm>. Acesso em 16 Agosto de 2001.

7. FONSECA, Homero. Micotoxinas. Disponível em rede. URL:  
<http://www.micotoxinas.com.br>. Acesso em 9 de Abril de 2004.
8. WIKIPEDIA. Nuclear Magnetic Resonance. Disponível em rede. URL:  
<http://www.nmr.org/nmr/t2relax.html>. Acesso em 11 de Abril de 2004.
9. BRUKER. MOBILE Universal Surface Explorer (mouse). Disponível em rede. URL: <http://www.bruker.ca/products/minispec/mouse.html>. Acesso em 15 de Julho de 2004.
10. BRUKER. The minispec. Disponível em rede. URL:  
<http://www.bruker.de/wwwesr/minispec/mq-series/>. Acesso em 17 de Julho de 2004.
11. BRUKER. The minispec. Disponível em rede. URL:  
<http://www.bruker.de/wwwesr/minispec/nms100.html>. Acesso em 17 de Julho de 2004.
12. BRUKER. The minispec. Disponível em rede. URL:  
<http://www.bruker.ca/products/minispec/>. Acesso em 17 de Julho de 2004.
13. SHEFFIELD HALLAM UNIVERSITY. Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy: Theoretical principles. Disponível em rede. URL:  
<http://www.shu.ac.uk/schools/sci/chem/tutorials/molspec/nmr1.html>. Acesso em 17 de Julho de 2004.
14. BALLINGER, Ray. T1 Relaxation. Disponível em rede. URL:  
<http://www.mritutor.org/mritutor/relax.html>. Acesso em 17 de Julho de 2004.
15. BALLINGER, Ray. T2 Relaxation. Disponível em rede. URL:  
<http://www.mritutor.org/mritutor/t2relax.html>. Acesso em 17 de Julho de 2004.
16. CALDARELLI, Stefano. NMR Spectroscopy Applied to Heterogeneous Catalysis. Disponível em rede. URL:  
<http://www.deq.ufscar.br/~catalyse/rmn.html>. Acesso em 20 de Julho de 2004.
17. NOBEL PRIZES OF 2003. NMR Nobel Prize. Disponível em rede. URL:  
<http://www.stocolm.swe/nobelprize/sci/nmr3.htm>. Acesso em 15 de Agosto de 2004.
18. BALLINGER, Ray. T1 Relaxation. Disponível em rede. URL:  
<http://www.mritutor.org/mritutor/invers.html>. Acesso em 15 de Agosto de 2004.

19. BALLINGER, Ray. Radiofrequency. Disponível em rede. URL:  
<http://www.mritutor.org/mritutor/rf.html>. Acesso em 15 de Agosto de 2004.
20. BALLINGER, Ray. Spin-echo Sequence. Disponível em rede. URL:  
<http://www.mritutor.org/mritutor/mrs1.html>. Acesso em 15 de Agosto de 2004.
21. BALLINGER, Ray. Resonance and RF. Disponível em rede. URL:  
<http://www.mritutor.org/mritutor/resonrf.html>. Acesso em 15 de Agosto de 2004.
22. BALLINGER, Ray. Electronics and Data Processing. Disponível em rede. URL:  
<http://www.mritutor.org/mritutor/electron.html>. Acesso em 15 de Agosto de 2004.
23. BALLINGER, Ray. SNR. Disponível em rede. URL:  
<http://www.mritutor.org/mritutor/snr.html>. Acesso em 15 de Agosto de 2004.
24. BALLINGER, Ray. Relaxation Effects. Disponível em rede. URL:  
<http://www.mritutor.org/mritutor/relaxef.html>. Acesso em 15 de Agosto de 2004.
25. BALLINGER, Ray. Spin-echo Sequence. Disponível em rede. URL:  
<http://www.mritutor.org/mritutor/spinecho.html>. Acesso em 15 de Agosto de 2004.
26. BALLINGER, Ray. Glossary. Disponível em rede. URL:  
<http://www.mritutor.org/mritutor/glossary.html>. Acesso em 15 de Agosto de 2004.
27. AIDS. Images. Disponível em rede. URL:  
<http://www.pnud.org.ma/images/aids.gif>. Acesso em 16 de Agosto de 2004.*(na capa do trabalho)*
28. Groundnut. Images. Disponível em rede. URL:  
[images.google.com.br/imgres?imgres=cccmke.edu.hk/~kei-kph/classification/dicotyledon.htm](http://images.google.com.br/imgres?imgres=cccmke.edu.hk/~kei-kph/classification/dicotyledon.htm). Acesso em 16 de Agosto de 2004.*(na capa do trabalho)*

Anexos

## Material Necessário

### Trituração do amendoim

- Almofariz
- Pilão
- Peneira

### Monitoração de humidade

- Estufa
- Excicador
- Erlenmeyer
- Cílica-gel
- Termómetro
- Balança digital

### Extracção de óleo

- Manta de aquecimento (electrónica)
- Balão de destilação
- Extactor de Soxhlet
- Condensador (refrigerante)
- Filtro
- Suporte Universal-NOZ
- Beaker (copo de precipitação)

### Medição da densidade

- Densímetro
- Conta-gotas (classe A)
- Balança digital

**Medição do índice de Refracção**

- Refractrómetro de Abbe
- Conta-gotas (classe A)

**Calibração**

- Bureta de 100ml de volume
- Pipeta de 10ml de volume
- Copo de Beaker de 450ml de volume
- Balão volumétrico de 100ml
- Proveta graduada de 200ml
- Erlenmeyer de 250ml
- Esguicho de água destilada

TABELA 5

**Dados da Curva de Calibração**

Slope : 5,317775  
Intercept : -0,114816  
Correlation: 0,999678  
Std Deviat : 0,017135  
Start SW : 6,961  
Stop SW : 7,061 ms

## TABELA 6

-----  
**Parâmetros para o fitting da curva de T1**  
-----

First Duration : 5ms

Last Duration : 1000s

Data Points : 20

Dur. Factor : 1,303

Total Analysis : 2,42 min

Del. Sam. Win.: 0,050 ms

Sam. Window : 0, 020 ms

Expon. Order : 2

Modifications : 0

Data Storing : 0  
-----

## TABELA 8

-----  
**Parâmetros para o Fitting da curva T2**  
-----

Pulse Separ. : 1,000 ms

Data Points : 200

Dumy Echoes: 0

Expon. Order : 2

Modifications : 0

Storing Data : 0  
-----

ALL INSTRUMENT CHECKS: OK

### Tubo contendor da amostra

