



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
UNIVERSIDADE REGIONAL DE BLUMENAU
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



ESTUDOS DE FLUORESCÊNCIA DE CORANTES
SOLVATOCRÔMICOS

Viviane Cavalli

Orientador: Dr. Valdir Soldi

Co-Orientador: Dr. Clodoaldo Machado

Dissertação de Mestrado

Blumenau - SC & Florianópolis - SC
Junho, 2000

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
UNIVERSIDADE REGIONAL DE BLUMENAU
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**ESTUDOS DE FLUORESCÊNCIA DE CORANTES
SOLVATOCRÔMICOS**

Viviane Cavalli

**Dissertação submetida à Universidade
Federal de Santa Catarina como parte
dos requisitos para a obtenção do
grau de Mestre em Química.**

**Blumenau - SC & Florianópolis - SC
Junho, 2000**

Estudos de Fluorescência de Corantes Solvatocrômicos

Viviane Cavalli

Esta dissertação foi julgada e aprovada em sua forma final pelo orientador e membros da banca examinadora.

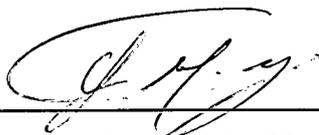


Professor Dr. Valdir Soldi
Coordenador (UFSC – QMC)

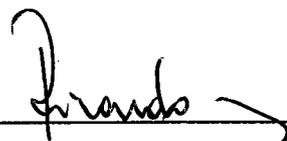
Banca Examinadora:



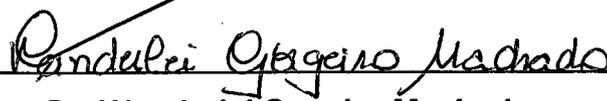
Professor Dr. Valdir Soldi
Orientador (UFSC – QMC)



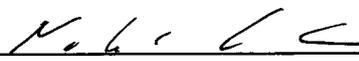
Professor Dr. Clodoaldo Machado
Co-Orientador (FURB – QMC)



Professor Dr. Ricardo José Nunes
UFSC – QMC



Dr. Wanderlei Gageiro Machado
UFPR – QMC



Professor Dr. Nito Ângelo Debacher
UFSC – QMC

Aos

Meus Pais

ALCIONE e MARIA CLARA

Agradecimentos

- Ao Professor Valdir Soldi pela orientação, incentivo, amizade e dedicação sempre presente durante todo o desenvolvimento deste trabalho.

- Ao Professor Clodoaldo Machado pela orientação, amizade, incentivo e contribuição de seus conhecimentos necessários à realização deste trabalho.

- Ao Professor Marcelo H. Gehlen pelas análises realizadas na USP do tempo de vida de fluorescência.

- Aos Professores e demais funcionários dos Departamentos de Química da UFSC e FURB que colaboraram para a realização deste trabalho.

- Aos colegas do Laboratório de Polímeros da UFSC pelo apoio e suporte técnico necessários ao desenvolvimento deste trabalho.

- À Capes, Funcitec, UFSC e FURB pelo apoio financeiro.

- Às amigas Marly e Jerusa pelo companheirismo, amizade e incentivo, principalmente no período de estágio em Florianópolis.

- À minha família, por ter-me incentivado e apoiado na busca de meus ideais, ajudando a vencer todas as dificuldades que a vida apresenta a todo instante.

Índice Geral

Índice de Figuras	viii
Índice de Tabelas	x
Resumo	xi
Abstract	xii
1. Introdução	1
1.1. Fotoluminescência	1
1.2. Fluorescência e fosforescência.....	2
1.3. Parâmetros quantitativos dos espectros de fluorescência	5
1.3.1. Comprimento de onda de emissão.....	5
1.3.2. Rendimento quântico	5
1.3.3. Tempo de vida de fluorescência	6
1.4. Variáveis que afetam a fluorescência.....	7
1.4.1. Efeito da temperatura.....	7
1.4.2. Efeito do oxigênio dissolvido	8
1.4.3. Efeito do pH	8
1.4.4. Efeitos do solvente nos espectros de emissão de fluorescência	9
1.5. Solvatocromismo.....	10
1.6. Halocromismo	15
1.7. Compostos solvatofluorescentes	16
2. Objetivos	20
3. Parte Experimental	22
3.1. Estudos solvatocrômicos.....	22
3.1.1. Materiais e métodos utilizados	22
3.1.2. Medidas de absorção eletrônica (UV/Visível).....	22

3.1.3. Medidas de fluorescência e rendimento quântico de fluorescência	23
3.2. Estudos halocrômicos	24
3.2.1. Materiais e métodos utilizados	24
3.2.2. Espectros de fluorescência	25
4. Resultados e Discussão	26
4.1. Efeitos do solvente	28
4.2. Efeitos salinos	44
5. Conclusões	56
6. Referências Bibliográficas	58
7. Anexos – Produção Acadêmica 1998-2000	64
7.1. Cursos realizados	64
7.2. Participação em eventos	65
7.3. Trabalhos apresentados em congressos e seminários	65

Índice de Figuras

Figura 1. Estrutura da rodamina 6G.	1
Figura 2. Diagrama de Jablonski.....	3
Figura 3. Estruturas da rodamina B e da fluoresceína.	3
Figura 4. Estruturas do antraceno e perileno.	4
Figura 5. Diferenças entre fluoróforos e não fluoróforos.	5
Figura 6. Formas de ressonância da anilina e do íon anilíneo.	8
Figura 7. Estrutura da merocianina de Brooker.....	11
Figura 8. Estrutura da merocianina 540 (MC – 540).	13
Figura 9. Estrutura do corante de Reichardt.....	13
Figura 10. Coloração das soluções do corante E _T (30) em solventes de diferentes polaridades.....	14
Figura 11. Exemplos de corantes solvatofluorescentes.	17
Figura 12. Estrutura de um derivado da merocianina de Brooker.	18
Figura 13. Estrutura das diferentes classes de compostos solvatocrômicos.....	21
Figura 14. Comprimentos de onda máximos de emissão ($\lambda_{\text{máx.}}^f$) para o composto 4 em etanol/água, i-propanol e dimetilformamida.....	24
Figura 15. Variações na energia de transição em função dos valores normalizados da escala de polaridade E _T (30) para (a) corante 1 e (b) corante 2	30
Figura 16. Variações na energia de transição em função dos valores normalizados da escala de polaridade E _T (30) para (a) corante 3 e (b) corante 4	33
Figura 17. Variações na energia de transição em função dos valores normalizados da escala de polaridade E _T (30) para o corante 5	35
Figura 18. Variações na energia de transição em função dos valores normalizados da escala de polaridade E _T (30) para (a) corante 6 e (b) corante 7	36
Figura 19. Variações na energia de transição em função da acidez dos solventes para: (a) corante 2 ; (b) corante 4 e (c) corante 5	38

- Figura 20.** Variações na energia de transição em função da basicidade dos solventes para: (a) corante 2; (b) corante 4 e (c) corante 5.40
- Figura 21.** Variações na energia de transição em função da polarizabilidade dos solventes para: (a) corante 2; (b) corante 4 e (c) corante 5.41
- Figura 22.** Tempo de vida de fluorescência do corante 5 em metanol.44
- Figura 23.** Variações na energia de emissão de fluorescência (ΔE) do corante 5 em vários solventes, em função das concentrações de KI.....46
- Figura 24.** Variações na energia de emissão de fluorescência (ΔE) do corante 5 em vários solventes em função das concentrações de NaI.48
- Figura 25.** Variações na energia de emissão de fluorescência (ΔE) do corante 5 em vários solventes em função das concentrações de NaClO₄.49
- Figura 26.** Variações na energia de emissão de fluorescência (ΔE) do corante 5 em vários solventes, em função das concentrações de LiClO₄.51
- Figura 27.** Diferenças na energia de fluorescência (ΔE) da banda solvatocrômica do composto 5 em (a) acetonitrila e (b) dimetilformamida como função da concentração dos sais.....53
- Figura 28.** Diferenças na energia de fluorescência (ΔE) da banda solvatocrômica do composto 5 em: (a) etanol; (b) i-propanol; (c) acetonitrila e (d) dimetilformamida, como função da concentração de NaClO₄ e NaI.54

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Comprimentos de onda máximos de absorção ($\lambda^a_{\text{máx}}$) e fluorescência ($\lambda^f_{\text{máx}}$) dos corantes solvatocrômicos 1 e 2 em diversos solventes.	29
Tabela 2 - Comprimentos de onda máximos de absorção ($\lambda^a_{\text{máx}}$) e fluorescência ($\lambda^f_{\text{máx}}$) dos corantes solvatocrômicos 3 e 4 em diversos solventes.	31
Tabela 3 - Comprimentos de onda máximos de absorção ($\lambda^a_{\text{máx}}$) e fluorescência ($\lambda^f_{\text{máx}}$) dos corantes solvatocrômicos 5 , 6 e 7 em diversos solventes.	34
Tabela 4 - Parâmetros específicos dos solventes.	37
Tabela 5 - Rendimentos quânticos de fluorescência (ϕF) dos corantes 1-3 a 25°C.	42
Tabela 6 - Rendimentos quânticos de fluorescência (ϕF) dos corantes 4-7 a 25°C.	43
Tabela 7 - Comprimentos de onda máximos de fluorescência do corante 5 em diferentes concentrações de KI.	45
Tabela 8 - Comprimentos de onda máximos de fluorescência do corante 5 em diferentes concentrações de NaI.	47
Tabela 9 - Comprimentos de onda máximos de fluorescência do corante 5 em diferentes concentrações de NaClO ₄	49
Tabela 10 - Comprimentos de onda máximos de fluorescência do corante 5 em diferentes concentrações de LiClO ₄	50

Resumo

As propriedades espectroscópicas dos corantes solvatocrômicos têm sido estudados extensivamente nos últimos anos, devido às suas inúmeras aplicações no estudo da polaridade do meio. Entretanto, estes estudos baseiam-se quase que exclusivamente na técnica de absorção eletrônica (UV/Vis), sendo que os trabalhos com a técnica de fluorescência são ainda pouco comuns na literatura.

Neste trabalho, o comportamento solvatofluorescente e halofluorescente de diversas famílias de corantes é analisado através da técnica de emissão de fluorescência. Os compostos selecionados apresentam estruturas cujo comportamento solvatocrômico e halocrômico (UV/Vis) já foram apresentados e discutidos na literatura. Os corantes foram selecionados de forma a permitir uma correlação dos dados espectroscópicos de emissão com as características estruturais destes compostos. Para os estudos da influência do solvente sobre os espectros de emissão dos compostos solvatocrômicos, foram empregados solventes polares próticos e apróticos e para os estudos de halocromismo foram utilizados sais inorgânicos.

Todos os corantes apresentaram fluorescência, entretanto apenas as estruturas **2**, **4** e **5** foram solvatofluorescentes. Para os corantes **4** e **5**, as mudanças espectrais correlacionam-se com o parâmetro de polaridade $E_T(30)$. Os baixos rendimentos quânticos registrados com todos os corantes foram confirmados pelo tempo de vida do composto **5** em solução metanólica, que foi da ordem de 230 picossegundos. Os espectros de emissão de fluorescência do corante **5** também foram registrados para soluções com concentrações crescentes de eletrólitos. Foram observados deslocamentos hipsocrômicos com o aumento da concentração dos sais. Os resultados obtidos podem ser compreendidos em termos das possíveis interações que podem ocorrer entre o corante, às frações positivas e negativas do eletrólito e o solvente.

Os resultados demonstram que os corantes solvatocrômicos podem não somente serem utilizados como sondas solvatofluorescentes, mas também para detectar através da técnica de fluorescência alterações em soluções pela adição de sais no meio (halofluorescência).

Abstract

The spectroscopic properties of solvatochromic dyes have been extensively studied in the last years, mainly due to the application of these compounds in polarity studies. These studies have been performed almost exclusively on electronic absorption technique (UV/Vis) and only a few works involving the fluorescence technique are found in the literature.

In this work, the solvatofluorescent and halofluorescent behaviour of different solvatochromic dyes are analysed by fluorescence. The solvatochromism and halochromism (UV/Vis) of the selected compounds have been extensively discussed in the literature. The dyes were selected in order to correlate the spectroscopic emission data with the structure of the compounds. Polar protic and aprotic solvents were employed in the investigation of the solvent influence on the emission wavelength of the solvatochromic dyes, and inorganic salts were used for the halochromic studies.

All dyes exhibited fluorescence, however, only the compounds **2**, **4** and **5** showed solvatofluorescence. The spectral changes observed for dyes **4** and **5** showed a linear correlation with the polarity parameter $E_T(30)$. The low quantum yield for all dyes was confirmed by lifetime (230 ps) of the compound **5** in methanolic solution. The fluorescence emission spectra of the dye **5** was also registered in solutions with increasing concentrations of electrolytes. In all studied systems, hipsochromic shifts of the solvatochromic band were observed with the salt concentration increasing. The results were interpreted in terms of the interactions occurring in the ternary system: dye, salt and solvent.

This work shows that solvatochromic dyes can be used as solvatofluorescent probes, to detect polarity medium changes caused by salts via fluorescence technique.

1. Introdução

1.1. Fotoluminescência

A interação da luz com a matéria é um fenômeno natural muito importante, responsável pela origem e evolução da vida. Em uma reação fotoquímica, uma determinada substância, ao absorver um fóton, atinge um estado eletronicamente excitado e, através de uma reação química, forma-se um produto no estado eletrônico fundamental.¹ A luz emitida pelo decaimento para o estado eletrônico fundamental pode ser proveniente de uma transição entre estados eletrônicos excitados de mesma multiplicidade (singlete/singlete, triplete/triplete), processo chamado *fluorescência*; quando os estados eletrônicos são de multiplicidades diferentes, tem-se a *fosforescência*.² Estudos envolvendo a técnica de *fluorescência* têm crescido imensamente nos últimos anos.² De acordo com a literatura, a quantificação de moléculas fluorescentes em termos de rendimento quântico e tempo de vida teve início em 1976,² onde mais tarde Richard A. Keller detectou a rodamina 6G, um dos primeiros compostos a ser intensamente estudado.³

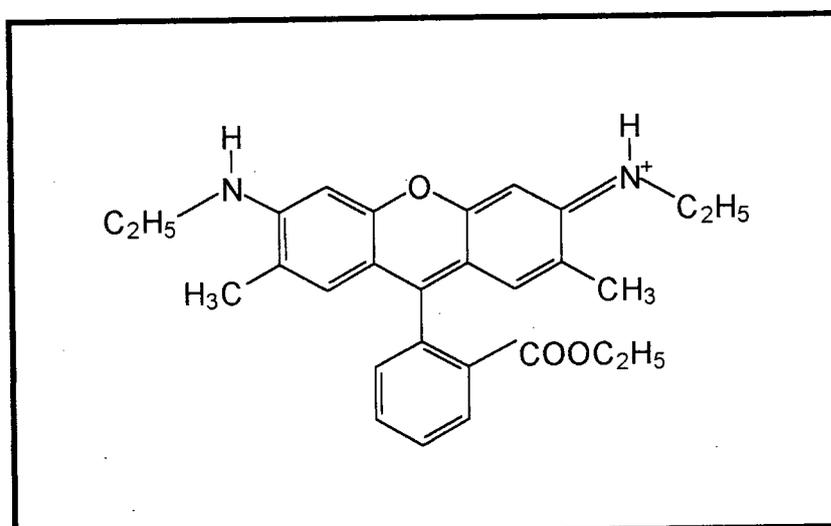


Figura 1. Estrutura da rodamina 6G.

A técnica da fluorescência tem sido muito utilizada nas áreas da química, bioquímica e medicina, trazendo numerosas contribuições em análise de proteínas, membranas, ácidos nucleicos e complexos macromoleculares. Sua extensa aplicação deve-se em grande parte a fatores como sensibilidade e a escala de tempo favorável em que o fenômeno da fluorescência ocorre, que é da ordem de 10^{-8} segundos. Durante este período de tempo, várias transições eletrônicas podem ocorrer, alterando as características espectrais do composto fluorescente.²

Durante o processo de absorção de radiação eletromagnética ultravioleta ou visível, as moléculas são elevadas a um estado eletronicamente excitado. Muitas moléculas dissipam este excesso de energia na forma de calor pela colisão com outras moléculas. Outras emitem parte deste excesso de energia como luz em um comprimento de onda diferente daquele correspondente à radiação absorvida. O processo de emissão de luz é definido como fotoluminescência.

Basicamente, podemos considerar a *fotoluminescência* como sendo o processo de perda do estado excitado que ocorre depois da excitação pelos fótons.⁴ A *fotoluminescência* divide-se essencialmente em dois tipos: *fluorescência* e *fosforescência*.

1.2. Fluorescência e Fosforescência

A Figura 2 apresenta o diagrama dos níveis de energia para uma típica molécula *fotoluminescente*, sugerido por Jablonski.²

O processo de *fluorescência* inicia-se pela excitação eletrônica de uma molécula no seu estado fundamental pela absorção de radiação eletromagnética. Este processo é regido por sua estrutura e pelas propriedades físico-químicas do seu ambiente. Neste caso, o caminho de volta ao estado fundamental envolve a emissão de radiação do estado singlete S_1 sendo o grupo molecular emissor de radiação chamado por *fluoróforo*.⁴ O tempo que a molécula se mantém no estado excitado é tipicamente de 10^{-8} s.

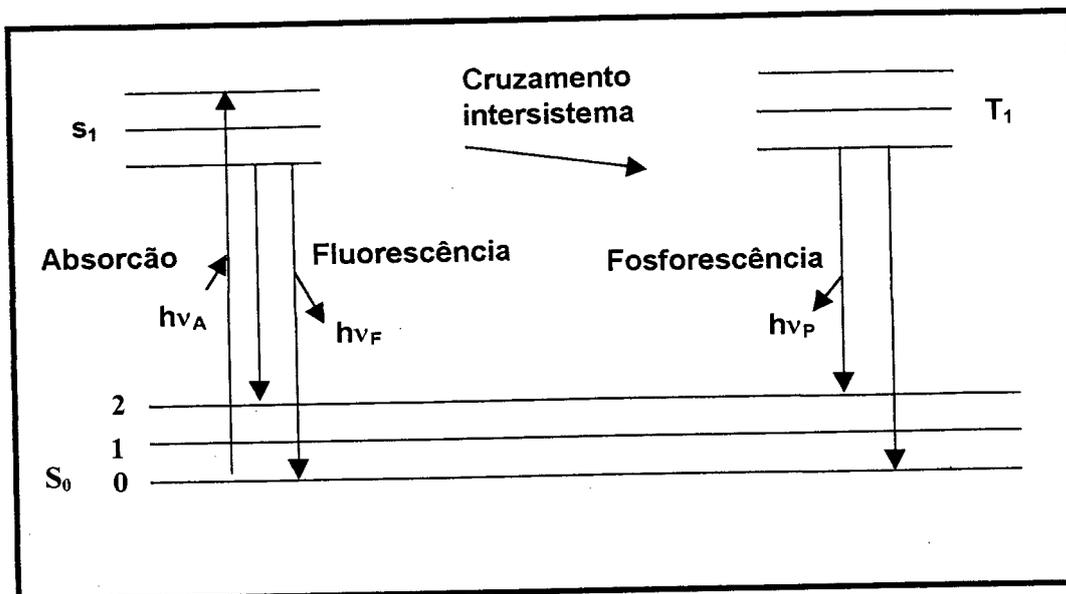


Figura 2. Diagrama de Jablonski.

Substâncias que demonstram significativa fluorescência geralmente possuem elétrons desemparelhados presentes nas duplas conjugadas. São exemplo a rodamina B e a fluoresceína (Figura 3).

A fosforescência envolve estados eletrônicos de multiplicidades diferentes, havendo uma transição proibida pela regra de conservação de spin onde ocorre um cruzamento intersistema da ordem de microsegundos a segundos.⁴

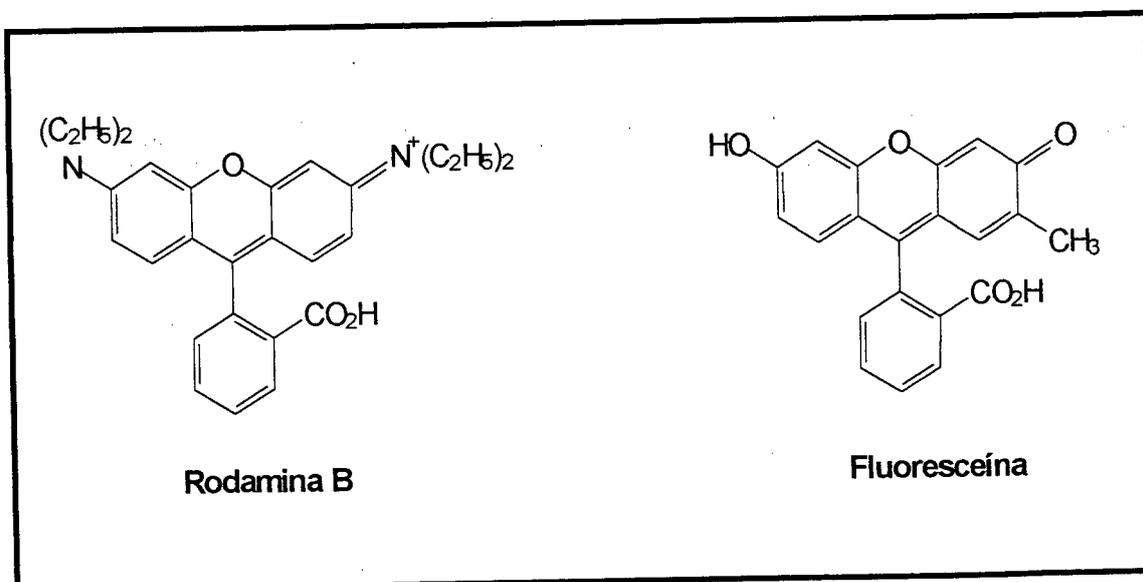


Figura 3. Estruturas da rodamina B e da fluoresceína.

Outros exemplos de moléculas de compostos fluorescentes são o antraceno e o perileno, responsáveis pelo azul fluorescente freqüentemente observado na gasolina (Figura 4).²

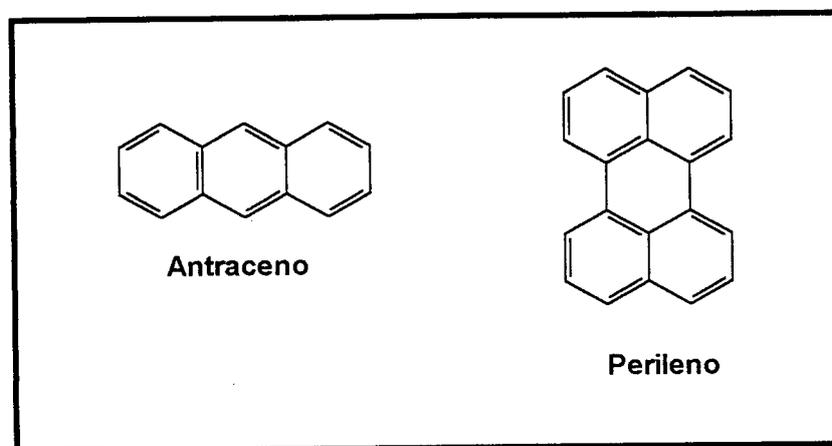


Figura 4. Estruturas do antraceno e perileno.

Os estudos envolvendo compostos fluorescentes demonstraram que os requisitos para um composto orgânico exibir fluorescência baseiam-se em um grande coeficiente de extinção molar e facilidade de transferência eletrônica intramolecular no tempo de absorção e fotoabsorção.⁵ Assim, embora a fenolftaleína ou a piridina não sejam fluorescentes, a fluoresceína, em cuja estrutura é adicionado um átomo de oxigênio formando uma ponte entre dois anéis benzênicos, e a quinolina, na qual é adicionado um anel benzeno (Figura 5), apresentam fluorescência.

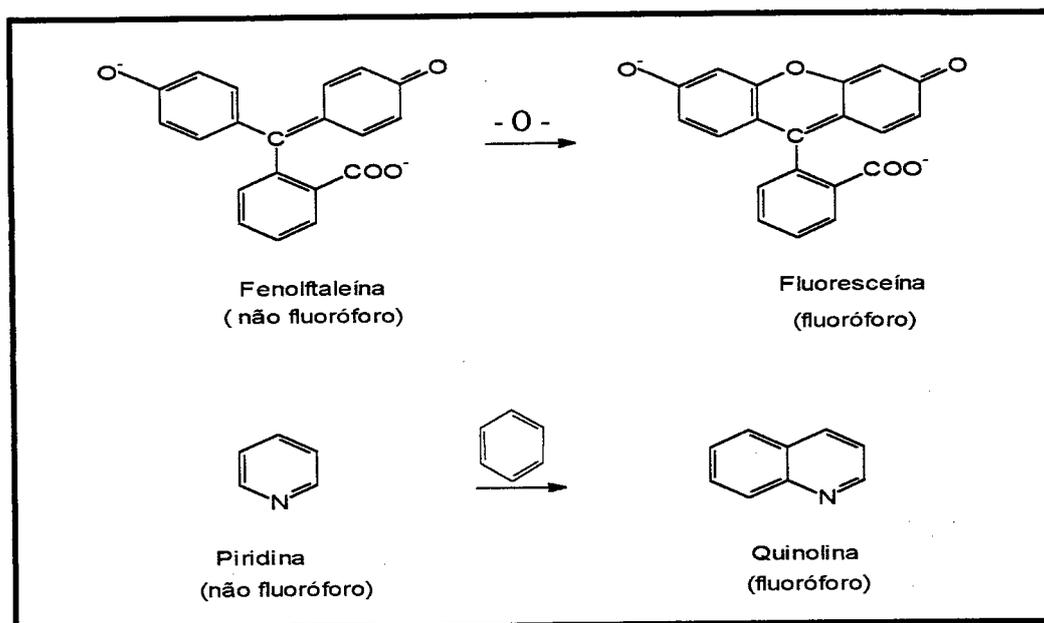


Figura 5. Diferenças entre fluoróforos e não fluoróforos.

1.3. Parâmetros quantitativos dos espectros de fluorescência

1.3.1. Comprimento de onda de emissão

Um espectro de emissão é um gráfico da intensidade de fluorescência versus o comprimento de onda de emissão em nanômetros ($1 \text{ nm} = 10^{-7} \text{ cm}$) ou número de ondas (em cm^{-1}). O comprimento de onda máximo de emissão de uma banda corresponde ao comprimento de onda de emissão para o qual a intensidade de fluorescência é máxima.⁵

1.3.2. Rendimento quântico

O rendimento quântico (ϕ_f) ou eficiência quântica para a fluorescência, é a relação entre o número de moléculas que sofrem fluorescência e o número total de moléculas excitadas.⁶ É também definido pela razão de fótons emitidos para fótons absorvidos. Para uma espécie altamente fluorescente, como a

fluoresceína, a eficiência quântica aproxima-se da unidade em certas circunstâncias. As espécies que não exibem fluorescência em escala apreciável possuem eficiência quântica aproximadamente nula. A fluorescência é mais comum para espécies nas quais o estado excitado mais baixo é do tipo π , π^* do que para espécies com estado excitado mais baixo do tipo n , π^* , isto é, as transições $\pi^* \rightarrow \pi$ apresentam maior eficiência quântica.

Existem várias técnicas para se medir o rendimento quântico relativo de fluorescência. De acordo com Guilbault e Bridges, o rendimento quântico pode ser obtido pela equação 1^{8,9}

$$\phi_f = \phi_{f, \text{ref.}} \left[\frac{A_{\text{ref.}}}{A} \right] \left[\frac{\eta D}{\eta D_{\text{ref.}}} \right] \left[\frac{a}{a_{\text{ref.}}} \right] \quad (1)$$

onde " $\phi_{f, \text{ref.}}$ " é o rendimento quântico de fluorescência do composto de referência, "A" é a absorvância da amostra, " ηD " o índice de refração do solvente e "a" a área do pico de fluorescência. Esta expressão é válida somente assumindo que as relações absorvância/concentração e a área do pico de fluorescência/concentração são lineares.

Podem ser citados como exemplos de compostos que exibem rendimentos quânticos significativos o naftaleno ($\phi_f = 0,29$), o pireno ($\phi_f = 0,30$), o antraceno ($\phi_f = 0,46$), o tetraceno ($\phi_f = 0,60$), entre outros.^{4,5}

1.3.3. Tempo de vida de fluorescência

A medida do tempo de vida (τ) é um parâmetro importante na espectroscopia de fluorescência. Estes dados podem revelar detalhes a respeito das interações entre o fluoróforo e o solvente. O tempo de vida de fluorescência é uma medida difícil porque seus valores são tipicamente próximos a 10 ns, mas pode fornecer informações qualitativas e quantitativas de muitos processos fotoquímicos, as quais não podem ser obtidas pela análise do espectro de fluorescência estacionária.² Grande parte destas informações é obtida através da análise das curvas de decaimento de fluorescência do sistema estudado, que

podem fornecer informações importantes sobre a interação do fluoróforo com a sua vizinhança, como por exemplo: revelar a frequência de colisões efetivas entre o fluoróforo e o agente supressor, a velocidade de transferência de energia e a velocidade das reações em estado excitado.^{10,11}

Várias técnicas experimentais têm sido sugeridas para o monitoramento do tempo de vida de fluorescência. Contudo, a técnica mais utilizada atualmente é a de contagem de fótons (TCF). O princípio desta técnica baseia-se no conceito de que a distribuição de probabilidade de emissão de um fóton, após o evento de excitação de uma amostra fluorescente, é proporcional à distribuição de intensidade de fluorescência no tempo para os fótons emitidos como resultado da excitação da amostra. Através da contagem sucessiva de fótons correlacionados no tempo, pode-se construir um histograma que representa esta probabilidade de distribuição. Desta forma, cada contagem individual de fóton detectado deve estar vinculado a, no máximo, um pulso de excitação, sendo o histograma resultante da acumulação de um grande número de pulsos de excitação da amostra. A medida dos tempos de vida é realizada excitando-se a amostra com breves pulsos de luz e o decaimento da intensidade de fluorescência é adquirido com o acúmulo do número de contagens.^{10,11}

Algumas substâncias que exibem tempo de vida considerável podem ser citadas como referência, tais como 9-ciano-antraceno ($\tau = 11,8$ ns) e bissulfato de quinina ($\tau = 18,9$ ns), entre outras.²

1.4. Variáveis que afetam a fluorescência

Vários fatores determinam a intensidade e a posição do comprimento de onda de emissão de fluorescência em estruturas químicas.⁶ Estes fatores incluem a influência da temperatura, do oxigênio dissolvido e do pH. Estes efeitos serão discutidos brevemente a seguir.

1.4.1. Efeito da temperatura

A eficiência quântica da maioria das espécies fluorescentes diminui com a elevação da temperatura. Uma maior frequência das colisões favorece à

desativação por conversão externa. Um aumento da temperatura na solução mudará ligeiramente o comprimento de onda de emissão de fluorescência, então é preferível medir a intensidade de fluorescência em baixas temperaturas.⁶

1.4.2. Efeito do oxigênio dissolvido

A presença de oxigênio pode reduzir a emissão de uma solução fluorescente. Às vezes há uma oxidação fotoquimicamente induzida da espécie fluorescente. Porém, é comum a supressão da fluorescência ser causada pelo paramagnetismo do oxigênio diatômico, que favorece o cruzamento de sistemas e a conversão da molécula excitada ao estado tripleto.⁶

1.4.3. Efeito do pH

A fluorescência de compostos aromáticos apresentando nos anéis substituintes de caráter ácido ou básico é usualmente dependente do pH.⁶ Os dados da anilina mostrados na Figura 6 ilustram este efeito. As mudanças nos comprimentos de onda de emissão destes compostos aparecem das diferentes espécies ressonantes que estão associadas com as formas ácidas ou básicas das moléculas. A anilina possui várias formas de ressonância, enquanto o íon anilínio possui uma única forma.

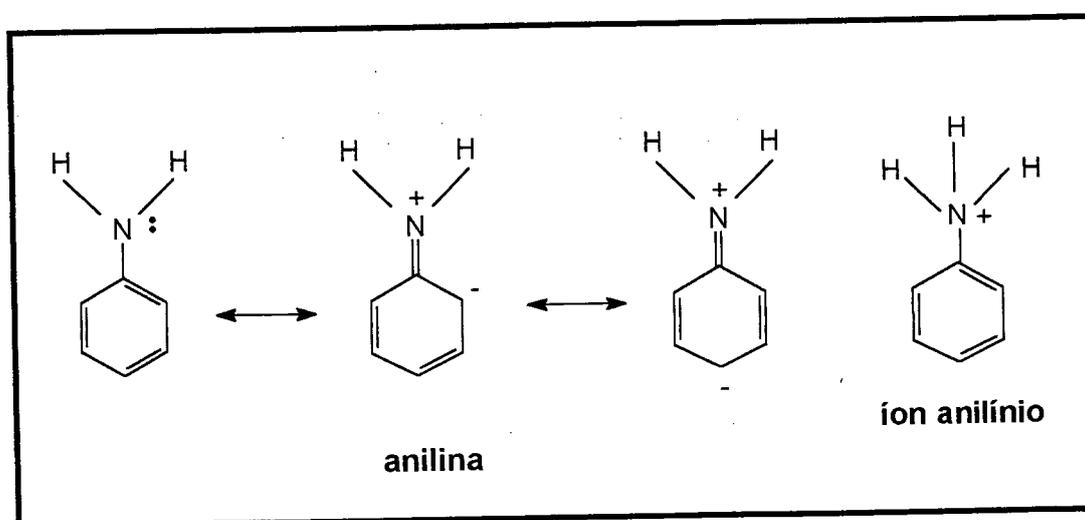


Figura 6. Formas de ressonância da anilina e do íon anilínio.

A fluorescência de certos compostos como função do pH tem sido utilizada para a detecção do ponto final de titulações ácido/base.⁶ Por exemplo, a fluorescência da forma fenólica do ácido 1-naftol-4-sulfônico ocorre na região ultravioleta. No entanto, o composto é convertido no íon fenolato por adição de uma base e o comprimento de onda de emissão muda para a região visível do espectro. Isto é interessante, pois esta mudança ocorre com o aumento do pH, sendo a constante de dissociação do ácido para as moléculas no estado excitado diferente das espécies no estado fundamental. Fica evidente portanto que os procedimentos analíticos baseados na fluorescência requerem freqüentemente controle do pH.

1.4.4. Efeitos do solvente nos espectros de emissão de fluorescência

Os solventes geralmente afetam grandemente as características das substâncias fluorescentes. Como aspectos da interação entre as moléculas do soluto e do solvente, há uma transferência intermolecular do elétron no fluoróforo devido à polaridade do solvente, ação eletrostática entre momentos de dipolo, dispersões, ligações de hidrogênio, etc.⁵ Uma diminuição na viscosidade do solvente aumenta a probabilidade da conversão externa, com a conseqüente diminuição da eficiência quântica.

Um grande número de equações têm sido propostas para descrever os efeitos das propriedades físicas do solvente sobre os espectros de emissão de fluoróforos.² Estas expressões são geralmente complexas, e a origem dos efeitos do solvente é freqüentemente desconhecida. A expressão mais usada foi apresentada por Lippert² e considera o solvente como um contínuo no qual o fluoróforo está contido. Evidentemente, esta simples suposição limita a aplicabilidade da equação, desde que interações específicas do solvente com o fluoróforo não são consideradas. Interações específicas envolvendo fluoróforos e as moléculas circundantes podem ter efeito substancial sobre o espectro de emissão. As interações do solvente com as moléculas do fluoróforo afetam a energia entre o estado fundamental e excitado. Em primeira aproximação, esta

diferença de energia (em cm^{-1}) é uma propriedade do índice de refração (n) e constante dielétrica (ϵ) do solvente, e é descrita pela equação de Lippert.

$$\bar{\nu}_a - \bar{\nu}_f \cong \frac{2}{hc} \left[\frac{\epsilon - 1}{2\epsilon + 1} - \frac{n^2 - 1}{2n^2 + 1} \right] \frac{(\mu^* - \mu^2)}{a^3} + \text{constante} \quad (2)$$

onde h é a constante de Planck, c é a velocidade da luz no vácuo, μ é o momento de dipolo e a é o raio da cavidade no qual o fluoróforo permanece. Os números de onda em cm^{-1} , de absorção e emissão, são, respectivamente, ν_a e ν_f .

A fluorescência de um composto diminui com a presença de solventes contendo átomos pesados em suas estruturas.

┌ O fenômeno correspondente à emissão (que é acompanhada pela técnica de fluorescência) é a absorção de energia, quantificada pela técnica de espectroscopia de absorção eletrônica (UV/Vis). Na técnica de absorção eletrônica, os efeitos do solvente têm sido extensivamente estudados.¹²

No caso dos compostos denominados de solvatocrômicos, esta influência do solvente é bastante pronunciada, principalmente sobre o comprimento de onda máximo de absorção.¹² Por outro lado, estudos de fluorescência envolvendo compostos altamente sensíveis ao solvente são pouco comuns na literatura.

1.5. Solvatocromismo

Compostos que apresentam grande sensibilidade aos espectros de absorção eletrônica (UV/Vis) com a mudança na polaridade do solvente exibem *solvatocromismo*, sendo denominados *corantes solvatocrômicos*. Estes corantes exibem um *solvatocromismo negativo* quando da *mudança hipsocrômica* da banda de absorção eletrônica com o aumento da polaridade do solvente, ou um *solvatocromismo positivo* quando da *mudança batocrômica*, também com o aumento da polaridade. O *solvatocromismo reverso* pode ocorrer quando da mudança do solvatocromismo positivo para o negativo, ou vice-versa, com o aumento da polaridade do meio.

As interações intermoleculares do soluto com o solvente que ocorrem em solução são resultado da estrutura química e das propriedades físicas do cromóforo e do solvente.

O efeito do solvente sobre o espectro de absorção eletrônica é primariamente dependente do tipo do cromóforo e da natureza da transição. As transições eletrônicas de maior interesse nos estudos solvatocrômicos são as $\pi \rightarrow \pi^*$, $n \rightarrow \pi^*$ e as absorções devido à transferência de carga.¹² Nestes compostos, a transição eletrônica está associada à uma transferência de carga intramolecular entre o grupo doador e o grupo receptor, produzindo um estado excitado com um momento de dipolo consideravelmente diferente daquele do estado fundamental.

Uma série de estudos com relação ao efeito dos solventes em compostos solvatocrômicos estão presentes na literatura.¹² Estes compostos envolvem diferentes classes de corantes, que possuem como característica estrutural um grupo doador de elétrons (**D**) unido a um grupo receptor (**A**) por meio de um sistema conjugado (**R**). A estrutura eletrônica destes compostos pode ser descrita em termos das duas estruturas extremas de ressonância:



Em particular, quando o grupo doador do corante contém um átomo de oxigênio e o grupo receptor contém um átomo de nitrogênio, tem-se a classe denominada “merocianina”. Esta classe de corantes foi estudada pela primeira vez em 1951 por Brooker et al.¹³ A Figura 7 apresenta a estrutura da merocianina de Brooker.

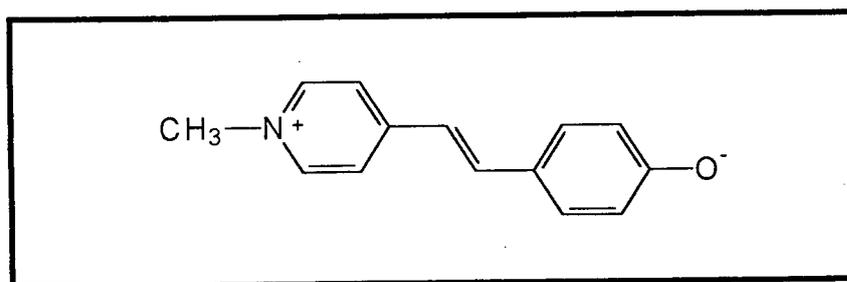


Figura 7. Estrutura da merocianina de Brooker.

Brooker, em 1951, sugeriu que as mudanças espectrais de um soluto causadas pela mudança do solvente poderiam ser utilizadas como indicadores para a caracterização do meio.¹³ Kosower, em 1958, foi o primeiro a realmente estabelecer uma escala a partir da influência do solvente nas propriedades espectroscópicas de um composto.¹⁴⁻¹⁶ A partir dos máximos de absorção da banda de transferência de carga para o iodeto de 1-etil-4-metoxycarbonilpiridínio em diferentes solventes, a escala de polaridade Z foi montada, por meio da equação (3):

$$Z / (\text{kcal} \cdot \text{mol}^{-1}) = 28590 / \lambda_{\text{máx}} (\text{nm}) \quad (3)$$

O parâmetro de polaridade Z é assim definido em termos da energia de transição molar: $E_T = h \cdot c \cdot \nu \cdot N_A$, onde h é a constante de Planck, c a velocidade da luz no vácuo, ν o número de onda do fóton que produz a excitação eletrônica e N_A o número de Avogadro. Valores de Z foram estabelecidos para 86 solventes puros e inúmeras misturas binárias de solventes. Estes valores têm sido empregados para correlacionar a polaridade do meio com outros processos de absorção dependentes do solvente.¹⁴⁻¹⁸

Desde a clássica pesquisa divulgada por Brooker,¹³ um grande número de artigos envolvendo o solvatocromismo de merocianinas têm sido divulgados.¹⁹⁻²¹ Esta classe de corantes possui aplicações em diversas áreas.²² Devido à carga assimétrica e à hiperpolarizabilidade molecular destes compostos, eles encontram aplicações, por exemplo, em instrumentos de cristais líquidos. Outras merocianinas têm sido relatadas como compostos fotoeletroquímicos e fotossensibilizadores. Sieber *et.al*, por exemplo, relataram a aplicação da *merocianina 540* em fototerapia aplicada a leucemia.²²

Outros estudos foram direcionados para a aplicação das merocianinas como filmes delgados ou mono-camadas sobre substratos de vidro para conversão de energia solar.²²

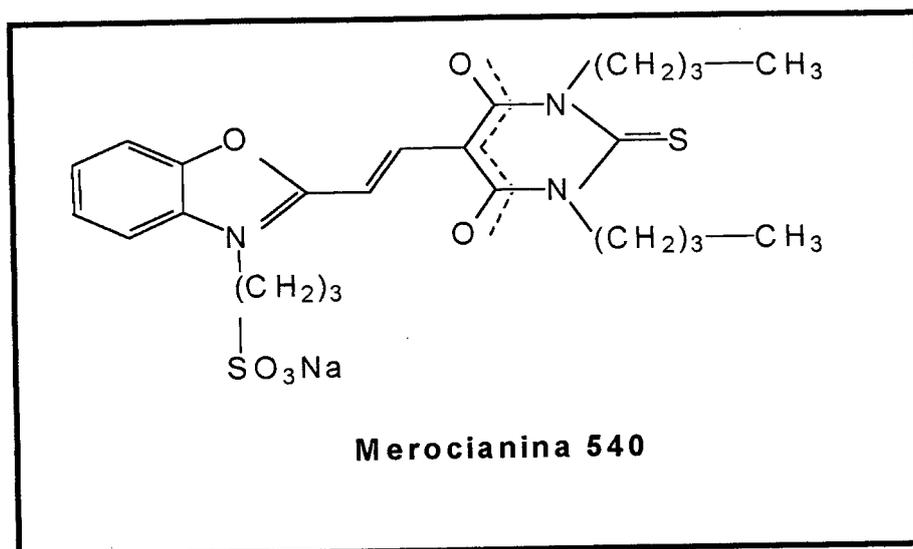


Figura 8. Estrutura da merocianina 540 (MC – 540).

Um composto da classe das merocianinas que merece destaque é o corante de Reichardt (Figura 9), por também apresentar grande sensibilidade a mudanças no meio. Em razão do grande deslocamento da banda de absorção deste corante, Dimroth e Reichardt construíram a escala de polaridade $E_T(30)$ baseada no máximo de absorção da banda $\pi \rightarrow \pi^*$ para o composto **1**.²³ O composto **1**, um corante betaínico, denominado betaína-30, apresenta uma absorção $\pi \rightarrow \pi^*$ com caráter de transferência de carga, bastante sensível a mudanças no solvente, absorvendo em um $\lambda_{\text{máx.}}^a = 628 \text{ nm}$ em acetonitrila e em $\lambda_{\text{máx.}}^a = 456 \text{ nm}$ quando em água.

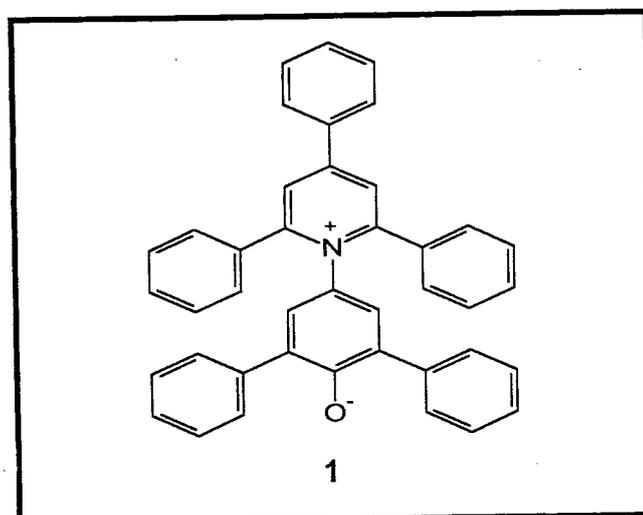


Figura 9. Estrutura da betaína-30, ou corante de Reichardt.

A Figura 10 representa a coloração das soluções deste composto em diferentes solventes.

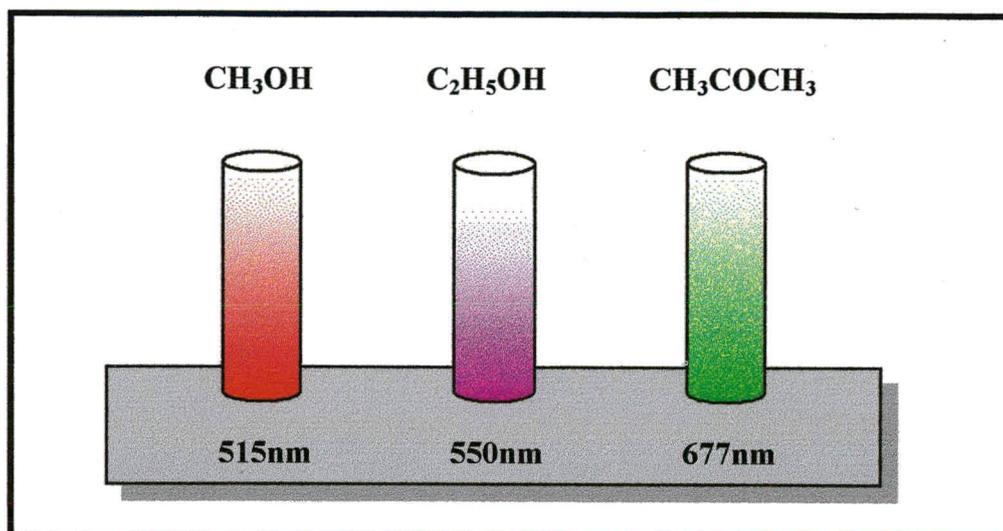


Figura 10. Coloração das soluções da betaína-30 em solventes de diferentes polaridades.

Os comprimentos de onda máximo da banda solvatocrômica ($\lambda_{\text{máx}}$) são mostrados abaixo de cada tubo. Os valores das energias de transição para este composto, $E_{\text{T}}(30)$, fornecem uma excelente caracterização para a polaridade do solvente. Quanto maior o valor de $E_{\text{T}}(30)$, maior a polaridade da solução. Para evitar problemas com unidades e facilitar a comparação relativa da polaridade dos solventes, foi criada a escala E_{T}^{N} , cujos valores variam de 0,000 para o solvente de menor polaridade (tetrametilsilano) a 1,000 para o solvente mais polar (água).²⁴

Desde que foram propostas as escalas Z e $E_{\text{T}}(30)$, mais de 30 escalas diferentes de polaridade baseadas em mudanças espectrais foram apresentadas. Entretanto, somente oito delas têm sido extensivamente aplicadas na análise dos efeitos do solvente.^{21,25-27}

Todas as escalas descritas até agora utilizam um único parâmetro para descrever a polaridade. Ao aplicar estes parâmetros, é assumido que as interações soluto/solvente para o substrato são as mesmas do soluto de referência (composto utilizado na construção da escala de polaridade). Equações multiparamétricas têm sido sugeridas. Estas equações combinam parâmetros

empíricos simples na forma de uma relação linear de energia livre, onde cada parâmetro quantifica uma certa propriedade do solvente.^{25,28-30} A mais importante e elaborada equação foi proposta por Kamlet e Taft.²⁸ A equação que leva seus nomes combina três propriedades do solvente, independentes entre si, na seguinte forma:

$$XYZ = (XYZ)_0 + s (\pi^* + d\delta) + a\alpha + b\beta \quad (4)$$

onde a propriedade **XYZ** pode representar a constante de velocidade ou de equilíbrio, ou um valor espectroscópico; $(XYZ)_0$ é o valor desta propriedade no solvente de referência; π^* mede a dipolaridade/polarizabilidade do meio; α é uma medida do poder doador de próton (acidez) e β do poder receptor de próton (basicidade) do solvente. A equação de Kamlet e Taft tem sido utilizada com sucesso na análise de numerosas velocidades de reação, posições de equilíbrio, dados espectroscópicos e vários outros processos dependentes do solvente.²⁸⁻³⁴

Nos últimos anos, os compostos solvatocrômicos têm sido preferencialmente utilizados na determinação de parâmetros empíricos para a polaridade do solvente, devido à simplicidade das medidas espectroscópicas de UV/Vis.

1.6. Halocromismo

Quando os espectros de absorção eletrônica dos corantes solvatocrômicos são sensíveis a presença de sais no meio, o fenômeno é denominado halocromismo.¹² Este fenômeno ocorre devido às possíveis interações específicas e não específicas dos íons do eletrólito com os grupos doadores e receptores de elétrons do corante. Dependendo das interações entre o cátion e o ânion do sal adicionado na mistura solvente/corante, poderão ocorrer dois tipos de halocromismo: catiônico ou aniônico.³⁵ Estudos realizados com o corante **5** demonstraram que este composto exibiu um halocromismo catiônico, ou seja, o nível de halocromismo é governado pelo cátion.³⁵

O *halocromismo positivo* ocorre com o aumento da concentração do sal no meio, deslocando assim a banda do corante batocromicamente, e o *halocromismo negativo* ocorre se o deslocamento for hipsocrômico.³⁶

Como a adição de um eletrólito para uma solução modifica a sua habilidade de solvatação, todos os compostos solvatocrômicos devem, a princípio, exibir também halocromismo. Para as merocianinas, classe dos compostos em que se incluem a maioria dos corantes solvatocrômicos, o surgimento do halocromismo pode ser justificado pelas possíveis interações específicas e não específicas dos íons com o oxigênio doador de elétrons e o nitrogênio receptor do corante.³⁶ A posição da banda de transferência de carga nestes compostos depende da energia de ionização da parte doadora de elétrons e da afinidade eletrônica da porção receptora, propriedades que são modificadas pela adição do sal ao meio, alterando conseqüentemente a energia para a transição eletrônica.³⁶

Rezende e colaboradores estudaram o halocromismo dos piridíniofenolatos e os resultados foram justificados considerando a competição entre o solvente e o corante (na sua metade fenólica) pela interação com o cátion após o sal ser adicionado a uma solução do corante.³⁷ A competição depende da interação das três espécies: solvente/sal/corante e três situações foram apresentadas:

(i) interação forte do solvente com o grupo fenolato, tornando o cátion adicionado incapaz de deslocar as moléculas do solvente da camada de solvatação do grupo fenolato, embora interaja com as moléculas do solvente que circundam o corante. Esta situação é observada para solventes polares próticos, como a água ou etanol, e o halocromismo ocorre com pouca intensidade.

(ii) interação forte do solvente com o cátion: neste caso, o corante interage fracamente com o cátion, pois o solvente, como o dimetilsulfóxido (DMSO), é um bom doador de elétrons e solvata muito bem cátions.

(iii) interações fracas do solvente com o grupo fenolato e do solvente com o cátion: neste caso, ocorrem fortes interações específicas do cátion com o grupo fenolato, e registra-se um alto nível de halocromismo.

1.7. Compostos solvatofluorescentes

Como pode ser observado, as características estruturais necessárias para um composto exibir solvatocromismo são semelhantes às aquelas presentes nos

fluoróforos e portanto não é surpresa que os compostos solvatocrômicos possam apresentar também fluorescência. No caso em que o espectro de fluorescência de uma dada substância sofre uma forte influência do solvente, este é denominado de *composto solvatofluorescente*.³⁶ A Figura 11 apresenta exemplos de *compostos solvatofluorescentes*.

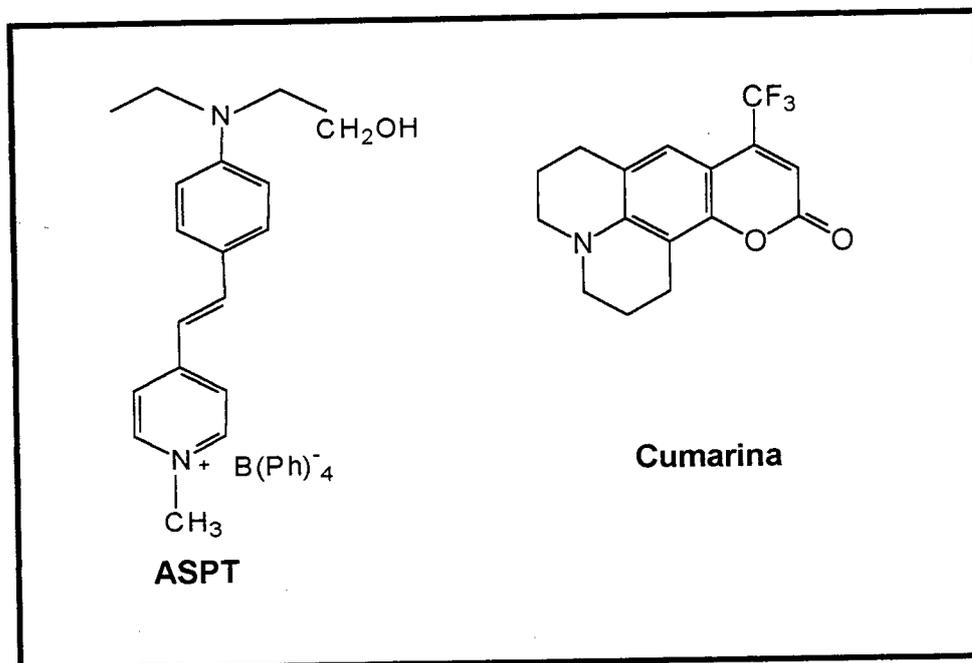


Figura 11. Exemplos de compostos solvatofluorescentes.

O espectro de fluorescência do corante ASPT depende fortemente da polaridade do meio.³⁸ Este composto foi excitado na região azul-esverdeada do espectro (458 nm) e a emissão teve o comprimento de onda sensível ao solvente na região vermelha do espectro (560 - 620 nm). Este corante apresenta duas formas de ressonância, sendo uma predominante no estado eletrônico fundamental e a outra forma no estado excitado, exibindo grande sensibilidade a polaridade do solvente nos espectros de fluorescência, ($\lambda_{\text{máx}}^f = 559$ nm em benzeno e 619 nm em DMSO). Observou-se que o corante exibe solvatocromismo negativo e solvatofluorescência positiva. Para o cálculo do rendimento quântico de fluorescência deste composto utilizou-se a rodamina 6G ($\phi_f = 0,95$) como fluoróforo padrão de referência. Os resultados apresentaram baixos rendimentos quânticos, menores que 0,10. Já para o tempo de vida de

fluorescência, foi observado uma grande variação nos valores obtidos no estado excitado (30 – 400 picos segundos) em diferentes solventes.³⁸

Apesar das inúmeras aplicações na área de diagnósticos biomédicos, existem poucos corantes solvatofluorescentes. Por ser sensível ao solvente, o ASPT tem um grande potencial para ser utilizado como uma *sonda solvatofluorescente*.³⁸

Outro exemplo de composto solvatocrômico onde a técnica de emissão de fluorescência foi utilizada em paralelo com a de absorção eletrônica (UV/vis) é apresentado na Figura 12.³⁹

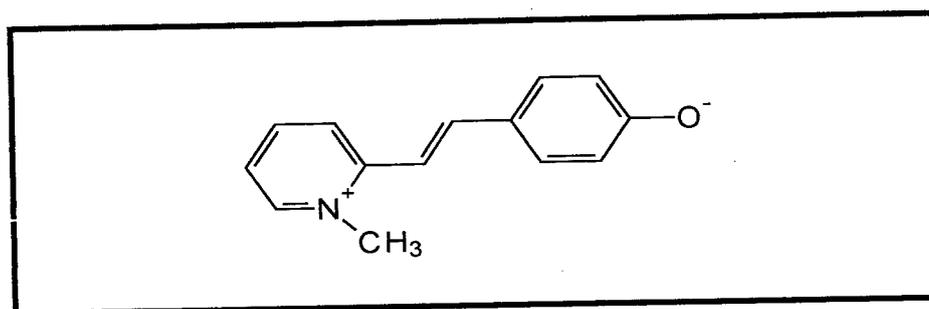


Figura 12. Estrutura de um derivado da merocianina de Brooker.

O comprimento de onda máximo de absorção e emissão de fluorescência foi medido em dez solventes polares para este corante, mostrando uma grande sensibilidade ao tipo de solvente utilizado. Em água apresentou um comprimento de onda máximo de absorção de 426 nm, porém em acetonitrila e clorofórmio mudou para 526 nm e 552 nm, respectivamente. O coeficiente de absorvidade molar (ϵ) também mostrou-se sensível ao solvente utilizado, $\epsilon_{\text{máx}} = 27 \times 10^3 \text{ dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ em água e $76,4 \times 10^3 \text{ dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ em clorofórmio.³⁹ O comprimento de onda máximo de emissão de fluorescência foi medido para este mesmo corante, apresentando $\lambda_{\text{máx}}^f = 515 \text{ nm}$ em água e 560 nm e 577 nm em acetonitrila e clorofórmio, respectivamente. Foi observado um gradual aumento no comprimento de onda máximo de absorção e fluorescência com a diminuição da polaridade do solvente da água para o clorofórmio. As mudanças mais intensas foram encontradas nos solventes próticos na ordem da água para acetonitrila.³⁹

Outro exemplo de composto solvatofluorescente é proporcionado pelo pireno, o qual possui várias propriedades fotofísicas permitindo seu uso como uma efetiva sonda, no estudo de agregados micelares.⁴⁰ Este composto é um dos poucos hidrocarbonetos aromáticos o qual demonstra significativa vibração de bandas em seu espectro de fluorescência, devido a sua forte dependência do solvente. Em solventes polares, há fortes perturbações na intensidade de sua banda, mostrando-se mais dependente em relação ao momento de dipolo do solvente do que sua constante dielétrica, devido a algum mecanismo de interação específico soluto-solvente dipolo-dipolo. O pireno apresentou um tempo de vida de 450 ns e um rendimento quântico (ϕ_f) de 0,60 em ciclohexano.⁴⁰ Também sua forte dependência pelo solvente pode ser empregada como sonda fluorescente nos estudos de bioagregados. O pireno é uma sonda extremamente hidrofóbica sendo sua solubilidade em água muito baixa. Na presença de micelas e outros sistemas macromoleculares, o pireno é preferencialmente solubilizado nas regiões hidrofóbicas interiores destes agregados. Sua aplicação como uma sonda fluorescente também estende-se aos estudos de sistemas de membranas.⁴⁰

Outros exemplos de compostos solvatofluorescentes são aqueles pertencentes a classe dos *fluoroinóforos*,⁴¹ na qual o grupo cumarina, um fluoróforo, é utilizado como uma sonda fluorescente na detecção e monitoramento de níveis de potássio (K^+), o maior constituinte catiônico das células vivas, existindo numa concentração intracelular de aproximadamente 150 mmol dm^{-3} enquanto os níveis extracelulares são tipicamente em torno de 4 mmol dm^{-3} .

Das várias técnicas analíticas disponíveis para determinação de potássio em meio aquoso, grande maioria resulta na destruição das células, ou não é realmente adequada para tal monitoramento. Portanto, esta sonda, apresentando uma grande deslocamento hipsocrômico em seu espectro, permite estudar o efeito das drogas no organismo, por exemplo, hipertensão sobre o equilíbrio iônico.⁴¹

2. Objetivos

Apesar dos estudos envolvendo corantes solvatocrômicos serem bastante comuns na literatura, estes baseiam-se exclusivamente na técnica de absorção eletrônica (UV/Vis), sendo que os trabalhos com a técnica de fluorescência são ainda pouco comuns. Neste trabalho, pretende-se investigar a fluorescência de diversos corantes solvatocrômicos, tendo como principais objetivos:

- estudar a *fluorescência* de corantes solvatocrômicos representantes de diversas famílias de compostos, correlacionando os resultados com as características estruturais dos mesmos ;
- correlacionar as energias de transferência de carga calculadas a partir dos máximos de emissão com algumas propriedades dos solventes, como por exemplo: polaridade da escala normalizada (E_T^N), basicidade (β), acidez (α) e dipolaridade/polarizabilidade do meio (π^*) ;
- determinar o rendimento quântico de fluorescência relativo (ϕ_f) e o tempo de vida de fluorescência destes corantes;
- estudar o comportamento de fluorescência dos corantes solvatocrômicos na presença de sais e correlacionar os resultados com aqueles de absorção eletrônica (UV/Vis). As estruturas dos corantes objetos de estudo estão mostradas na Figura 13.

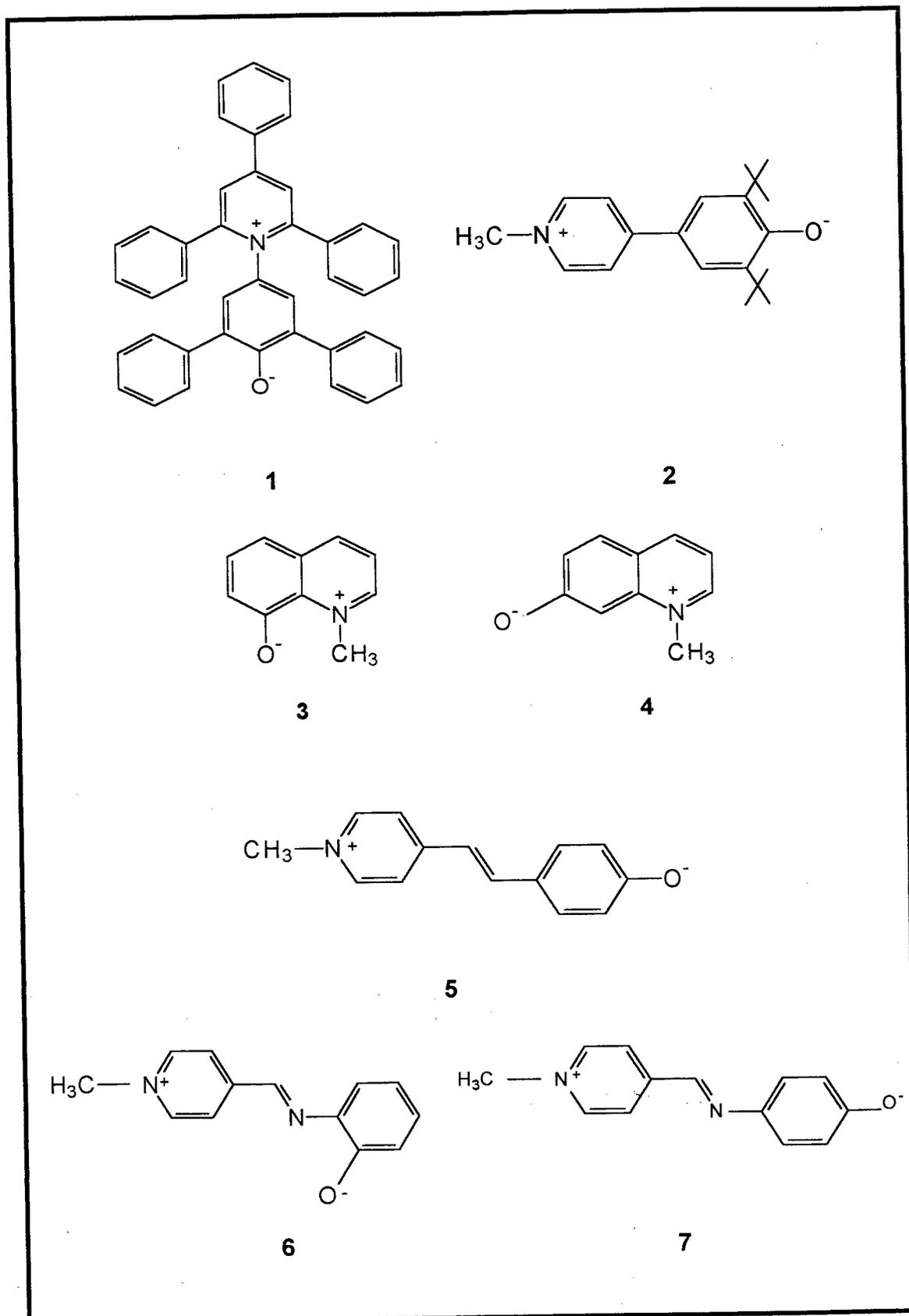


Figura 13. Estruturas das diferentes classes de compostos solvatocrômicos empregados no presente trabalho.

3. Parte Experimental

3.1. Estudos solvatocrômicos

3.1.1. Materiais e métodos utilizados

Neste trabalho, os compostos **1** e **5** foram adquiridos comercialmente da Aldrich. O composto **2** foi doado pelo professor Thiébault.⁴² Os compostos **3**, **4**, **6** e **7** já haviam sido sintetizados e caracterizados em trabalhos anteriores.^{43,44}

Os solventes utilizados foram: N,N-dimetilformamida (DMF), *i*-propanol (Grupo Química), dimetilsulfóxido (DMSO), etilenoglicol (Vetec), acetonitrila (Aldrich), metanol, etanol, *n*-propanol, *n*-butanol, (Merck).

As soluções dos corantes nos diversos solventes foram preparadas a partir de uma solução estoque em etanol ($[\text{corante}] \cong 5 \times 10^{-3} \text{ mol.dm}^{-3}$).

Para as medidas de fluorescência dos corantes **1**, **2**, **4**, **5** e **7**, 10 μL desta solução foram diluídos em 3 mL do solvente sob investigação, resultando em uma concentração final de $1,7 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$. Já para os corantes **3** e **6**, partiu-se de uma solução estoque de $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol.dm}^{-3}$ e a diluição resultou numa concentração final de $1,7 \times 10^{-4} \text{ mol.dm}^{-3}$.

Todos os corantes solvatocrômicos selecionados para os estudos de fluorescência apresentam em sua estrutura um grupo fenólico, e são, portanto, facilmente protonáveis pela presença de traços de ácido no meio. Para garantir a completa desprotonação destes compostos, as medidas foram realizadas na presença de gotas de hidróxido de sódio $0,1 \text{ mol.dm}^{-3}$.

3.1.2. Medidas de absorção eletrônica (UV/Visível)

Para a confirmação da pureza dos corantes **1-7**, foram realizadas medidas espectrais de absorção eletrônica (UV/Vis) com posterior confirmação em referências bibliográficas.⁴⁵

Através da medida do máximo de absorção da banda solvatocrômica em cada solvente, foram calculadas as respectivas absortividades molares, $\epsilon^{\text{A máx}}$ ($\text{cm}^{-1} \cdot \text{M}^{-1}$).

Para confirmar o grau de pureza dos solventes, utilizou-se o corante **1**, através da medida do máximo de absorção da banda solvatocrômica e posterior comparação com os valores da escala $E_T(30)$ de polaridade.¹²

Já para o cálculo das energias de transferência de carga para cada solvente, utilizou-se o máximo de absorção da banda de maior comprimento de onda que aparece na região visível do espectro (banda solvatocrômica ou halocrômica), segundo a equação **5**.

$$E_T \text{ (kcal .mol}^{-1}\text{)} = 28590 / \lambda_{\text{máx}} \quad (5)$$

Estas medidas foram feitas em um espectrofotômetro HP 8452 A, com temperatura controlada de $25,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$.

3.1.3. Medidas de fluorescência e rendimento quântico de fluorescência

As medidas espectrais de fluorescência foram realizadas em um espectrofluorímetro HITACHI, modelo F-4500, com cubeta de quartzo de 1cm, com temperatura controlada de $25,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$. Para determinar o comprimento de onda de excitação foram realizados diversos testes com alguns corantes.

O valor de 485 nm foi considerado o ideal para leitura devido à utilização da rodamina B como fluoróforo padrão, tendo o comprimento de onda de excitação também em 485 nm.⁴⁶ Além disto, não houve variação no comprimento de onda de fluorescência quando outros comprimentos de onda de excitação foram utilizados.

Na Figura **14** são mostrados os espectros de emissão do corante **4** em *n,n*-dimetilformamida, *i*-propanol e etanol/água (80:20). Os deslocamentos foram determinados considerando-se os picos máximos de emissão.

O rendimento quântico de fluorescência foi determinado para os corantes **1-7** em todos os solventes utilizados. Foi utilizada a rodamina B em etanol ($\phi_f = 0,70$) como padrão referência para o cálculo de todos os corantes, conforme equação **1**. As energias de transferência de carga foram calculadas a partir dos máximos de emissão de fluorescência utilizando-se a equação **5**.

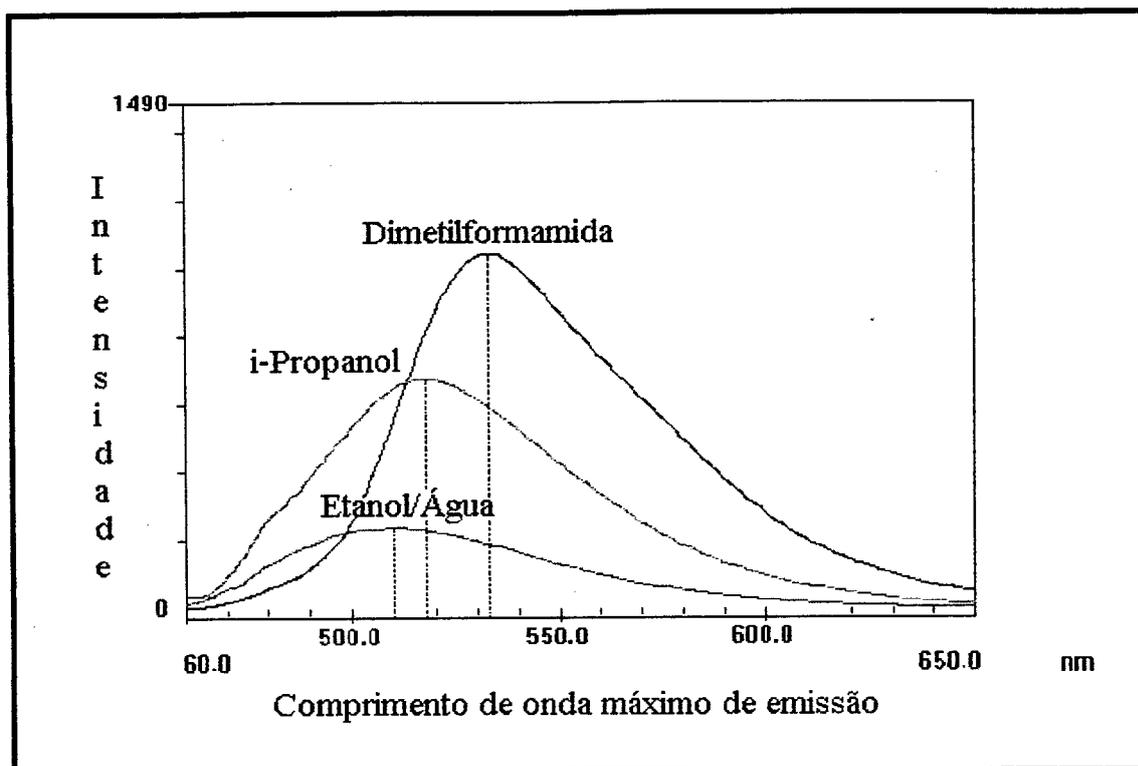


Figura 14. Comprimentos de onda máximos de emissão ($\lambda_{\text{máx.}}^f$) para o composto **4** em etanol/água ($\lambda_{\text{máx.}}^f = 510$ nm), *i*-propanol ($\lambda_{\text{máx.}}^f = 518$ nm) e *n,n*-dimetilformamida ($\lambda_{\text{máx.}}^f = 532$ nm).

3.2. Estudos halocrômicos

3.2.1. Materiais e métodos utilizados

Nestes estudos empregaram-se os seguintes sais inorgânicos: iodeto de sódio (Reagen), iodeto de potássio (Nuclear), perclorato de sódio (Nuclear) e perclorato de lítio (Aldrich), todos de pureza analítica. Os sais utilizados foram secos sob vácuo por 1 hora a 100°C antes da sua utilização. Foram empregados quatro solventes diferentes: etanol, *i*-propanol, acetonitrila e *n,n*-dimetilformamida.

Para os estudos de halocromismo foi preparada inicialmente uma solução do corante no solvente a ser estudado. Esta solução foi dividida em dois volumes, e para uma delas adicionou-se o sal. A seguir realizou-se as diluições utilizando-se estas duas soluções a fim de obter as concentrações de sal desejadas, mantendo a concentração do corante inalterada.

3.2.2. Espectros de fluorescência

Os espectros de emissão de fluorescência das soluções salinas foram efetuados a 25°C para diferentes concentrações de eletrólitos. A partir dos valores de $\lambda_{\text{máx.}}^f$ calcularam-se as energias de transição (E_T) na presença do sal. Subtraindo-se destes valores a energia de transição obtida na ausência de sal, calculou-se a variação de energia (ΔE) causada pela adição do eletrólito, através da equação 6.

$$\Delta E = E_T (\text{presença do sal}) - E_T (\text{ausência do sal}) \quad (6)$$

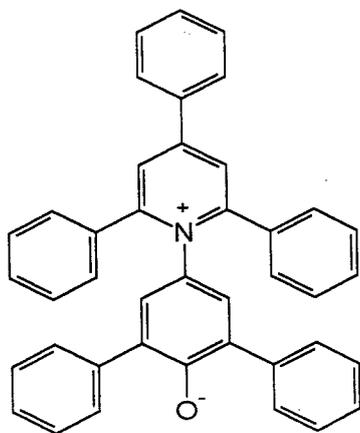
A variação de energia (ΔE) é comumente denominada de grau ou nível de halocromismo.

4. Resultados e Discussão

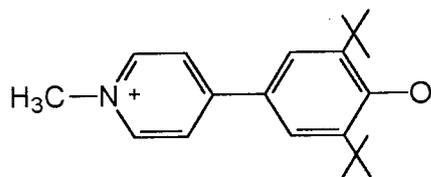
Para os estudos de *fluorescência* foram selecionados corantes derivados da betaína-30 e da merocianina de Brooker, pois os espectros de absorção eletrônica destes compostos são extremamente sensíveis a mudanças na polaridade do solvente.⁴⁵

As características estruturais dos compostos solvatocrômicos são semelhantes àsquelas presentes nos fluoróforos. Um composto fluorescente deve apresentar um grande número de duplas conjugadas em sua estrutura, conter grupos funcionais aromáticos com transições $\pi \rightarrow \pi^*$, e se possuir ressonância de estruturas com duplas conjugadas, ter um substituinte que facilmente varie a densidade eletrônica numa estrutura ressonante.⁰⁶ Estes requisitos estão presentes nas estruturas solvatocrômicas propostas na Figura 13 e, portanto, estes corantes deveriam em princípio também apresentar fluorescência.

O composto 1 foi selecionado para os estudos de fluorescência uma vez que o solvatocromismo deste tem sido extensivamente discutido, além do fato da escala de polaridade $E_T(30)$, a mais utilizada na atualidade, ser derivada deste corante.³⁶ O composto 2 é um derivado da merocianina de Brooker e possui em sua estrutura dois substituintes *t*-butila, o que facilita a solubilidade deste em solventes apolares. Este corante apresenta múltiplas bandas (UV/Vis) em solventes de baixa polaridade, fenômeno este que tem sido discutido na literatura.⁴⁷



1

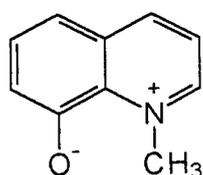
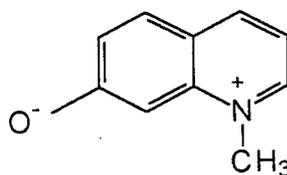


2

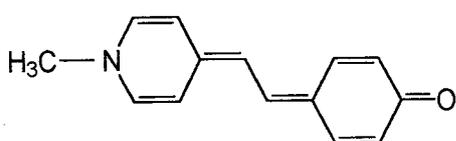
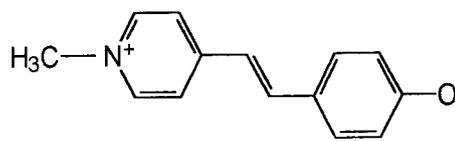
Os compostos **1** e **2** assemelham-se pela presença do grupo doador fenolato ligado diretamente ao grupo receptor piridínio, sem a presença da ponte conjugada, e os espectros de fluorescência destes corantes poderão ser discutidos à luz destas características estruturais.

Os compostos **3** e **4** são derivados da quinolina e diferenciam-se apenas na posição do grupo doador de elétrons. O corante **3**, cujo comportamento solvatocrômico foi primeiramente descrito por Ueda e Schelly,⁴⁸ tem sido muito utilizado para a medida de polaridade de soluções de surfactantes, ou em ambientes onde o corante **1** não pode ser utilizado devido principalmente ao tamanho de sua estrutura.⁴⁹

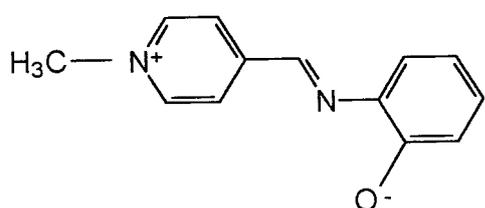
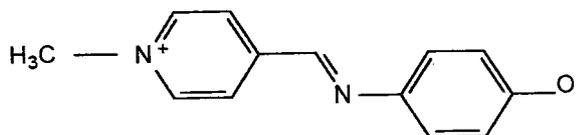
No composto **4** o oxigênio está na posição sete, e, portanto, estes dois compostos foram selecionados para os estudos de fluorescência a fim de permitir uma análise do efeito de substituição no anel, que altera conseqüentemente a conjugação entre o oxigênio doador de elétrons e o nitrogênio receptor.

**3****4**

O composto **5**, denominado merocianina de Brooker, possui o grupo doador de elétrons ligado ao grupo receptor por meio de uma ponte conjugada HC=CH. Este corante é apresentado a seguir nas duas formas extremas de ressonância, a estrutura quinoidal apolar, predominante em solventes de baixa polaridade, e a forma dipolar (zwitteriônica), predominante em solventes mais polares.

**(a) Forma quinoidal****(b) Forma zwitteriônica**

Já nos compostos **6** e **7**, que possuem uma ligação imínica, a ponte conjugada que une o anel piridínio ao fenolato é mudada de HC=CH para N=CH.

**6****7**

Os compostos **6** e **7** também diferenciam-se quanto à localização do grupo fenolato. Assim, os compostos **5**, **6** e **7** foram selecionados para os estudos de fluorescência a fim de correlacionar os resultados obtidos com estas diferenças estruturais.

4.1. Efeitos do Solvente

Nos estudos do efeito do solvente sobre os espectros de absorção eletrônica (UV/Vis) e fluorescência, utilizaram-se diversos álcoois e solventes polares apróticos, devido à baixa solubilidade de alguns corantes nos solventes apolares.

A Tabela 1 apresenta os máximos dos comprimentos de onda de absorção e fluorescência dos compostos solvatocrômicos **1** e **2**, cujas estruturas possuem os grupos doador e receptor de elétrons ligados diretamente.

Tabela 1- Comprimentos de onda máximos de absorção ($\lambda^a_{\text{máx}}$) e fluorescência ($\lambda^f_{\text{máx}}$) dos corantes solvatocrômicos **1** e **2** em diversos solventes.

Solvente	Corante 1		Corante 2	
	$\lambda^a_{\text{máx}}$ (nm)	$\lambda^f_{\text{máx}}$ (nm)	$\lambda^a_{\text{máx}}$ (nm)	$\lambda^f_{\text{máx}}$ (nm)
Água	456	576	448	579
Etilenoglicol	508	564	476	562
Metanol	516	560	480	538
Etanol/Água (80:20)	534	563	488	564
Etanol	548	562	502	527
<i>n</i> -Propanol	564	563	506	537
<i>n</i> -Butanol	572	563	506	538
<i>i</i> -Propanol	590	564	504	544
Acetonitrila	628	564	504	529
DMSO	630	565	504	536
DMF	662	564	508	539

Os comprimentos de onda máximo de absorção eletrônica ($\lambda^a_{\text{máx}}$ UV/Vis) variaram significativamente para os corantes **1** e **2**. Para o corante **1**, houve um deslocamento hipsocrômico apreciável quando se mudou o solvente polar aprótico (*n,n*-dimetilformamida $\lambda^a_{\text{máx.}}$ = 662 nm) para um solvente polar prótico (etanol $\lambda^a_{\text{máx.}}$ = 548 nm). Assim como para o corante **1**, os comprimentos de onda do corante **2** diminuíram com o aumento da polaridade do solvente, ou seja, ambos apresentaram solvatocromismo negativo.

Com relação aos espectros de emissão, ambos os compostos apresentaram fluorescência. Para o composto **1**, a polaridade do meio não deslocou de maneira significativa a banda de fluorescência (acetonitrila $\lambda^f_{\text{máx.}}$ = 564 nm e em etanol $\lambda^f_{\text{máx.}}$ = 562 nm), registrando-se um efeito um pouco maior no caso da água ($\lambda^f_{\text{máx.}}$ = 576 nm). Já para o composto **2**, os valores registrados da banda de emissão apresentaram variações acentuadas, com valores extremos de 527 nm (etanol) e 579 nm (água). Entretanto não se observou qualquer tendência nos valores obtidos. Este comportamento pode ser melhor visualizado na Figura **15**, que apresenta uma comparação das energias de transferência de carga calculadas a partir dos máximos de absorção e emissão para os compostos **1** e **2**.

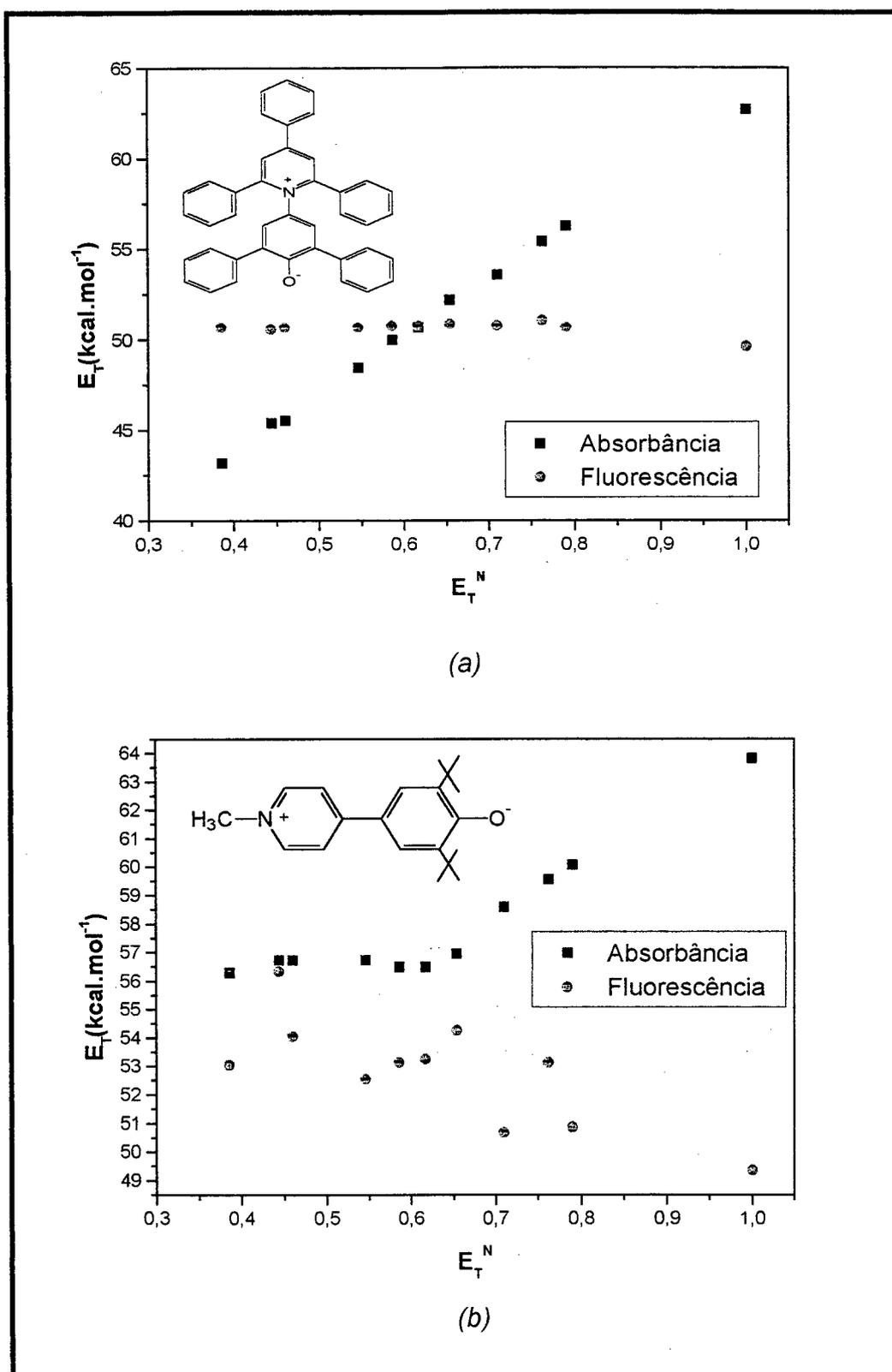


Figura 15. Variações na energia de transição em função dos valores normalizados da escala de polaridade $E_T(30)$ para (a) corante 1 e (b) corante 2.

Enquanto para o composto **1** a banda de fluorescência não foi influenciada pelo solvente, a Figura **15 (b)** demonstra não haver qualquer relação entre os deslocamentos dos espectros de fluorescência e a polaridade do solvente empregado para o composto **2**. Conforme já havia sido discutido, os espectros de UV/Vis do corante **2** caracterizaram-se pela multiplicidade de bandas solvatocrômicas.⁴⁷ Este mesmo fenômeno foi observado nos espectros de emissão, principalmente nos solventes polares apróticos. A multiplicidade das bandas dificulta a correta localização do comprimento de onda máximo e este efeito pode justificar a disparidade dos resultados obtidos.

A Tabela **2** apresenta os comprimentos de onda máximos de absorção e fluorescência dos compostos solvatocrômicos **3** e **4**.

Tabela 2 - Comprimentos de onda máximos de absorção ($\lambda^a_{\text{máx}}$) e fluorescência ($\lambda^f_{\text{máx}}$) dos corantes solvatocrômicos **3** e **4** em diversos solventes.

Solvente	Corante 3		Corante 4	
	$\lambda^a_{\text{máx}}$ (nm)	$\lambda^f_{\text{máx}}$ (nm)	$\lambda^a_{\text{máx}}$ (nm)	$\lambda^f_{\text{máx}}$ (nm)
Água	444	576	406	503
Etilenoglicol	464	563	420	513
Metanol	472	560	424	515
Etanol/Água (80:20)	472	563	422	510
Etanol	484	564	430	516
<i>n</i> -Propanol	486	563	434	517
<i>n</i> -Butanol	488	562	436	516
<i>i</i> -Propanol	492	563	438	518
Acetonitrila	536	565	446	531
DMSO	538	564	458	532
DMF	546	562	460	532

Estes corantes, derivados da quinolina, cujos comprimentos de onda máximos de absorção sofrem deslocamentos hipsocrômicos com o aumento da polaridade do solvente, também apresentaram fluorescência.

Os comprimentos de onda máximos de emissão registrados para o corante **3** não foram sensíveis ao tipo de solvente utilizado, exceto no caso anômalo da água. Entretanto, para o composto **4**, nota-se que há um deslocamento hipsocrômico quando ocorre a mudança de solventes polares

apróticos para solventes próticos. Este efeito pode ser melhor visualizado na Figura 16, onde há uma comparação das energias de transferência de carga calculadas a partir dos máximos de absorção e emissão para os compostos 3 e 4.

As correlações dos dados de absorbância e fluorescência com a polaridade do meio (E_T^N) se assemelham para os corantes 3 e 4. Ainda assim, para o corante 4, observa-se uma dependência praticamente linear entre os dados de fluorescência e a polaridade do solvente (coeficiente de correlação $r = 0,927$). Estruturalmente, os compostos 3 e 4 diferem quanto a conjugação, uma vez que ambos são totalmente coplanares. No caso do composto 4, a ressonância entre o oxigênio e o nitrogênio é completa, ou seja, pode ocorrer a neutralização completa das cargas, gerando-se assim uma estrutura quinoidal. Para o composto 3, apesar da coplanaridade da estrutura, não é possível esta anulação das cargas pelo efeito de ressonância. Portanto, no caso do composto 4, a transição eletrônica do estado fundamental ao excitado, gera uma estrutura bastante estável, sem cargas residuais. O tempo que a molécula permanece no estado excitado pode então ser maior, fornecendo tempo suficiente para o solvente rearranjar em torno da molécula antes dela retornar ao seu estado fundamental.

Assim, para os compostos 1 - 3, não foram observados efeitos apreciáveis do solvente sobre os espectros de emissão, uma vez que a volta do estado excitado ao fundamental foi mais rápida que o tempo necessário para o solvente se rearranjar de acordo com a nova distribuição eletrônica do corante. Já para o composto 4, onde o rearranjo do soluto pode ocorrer, a influência do solvente sobre os espectros de emissão do corante foi maior.⁵⁰

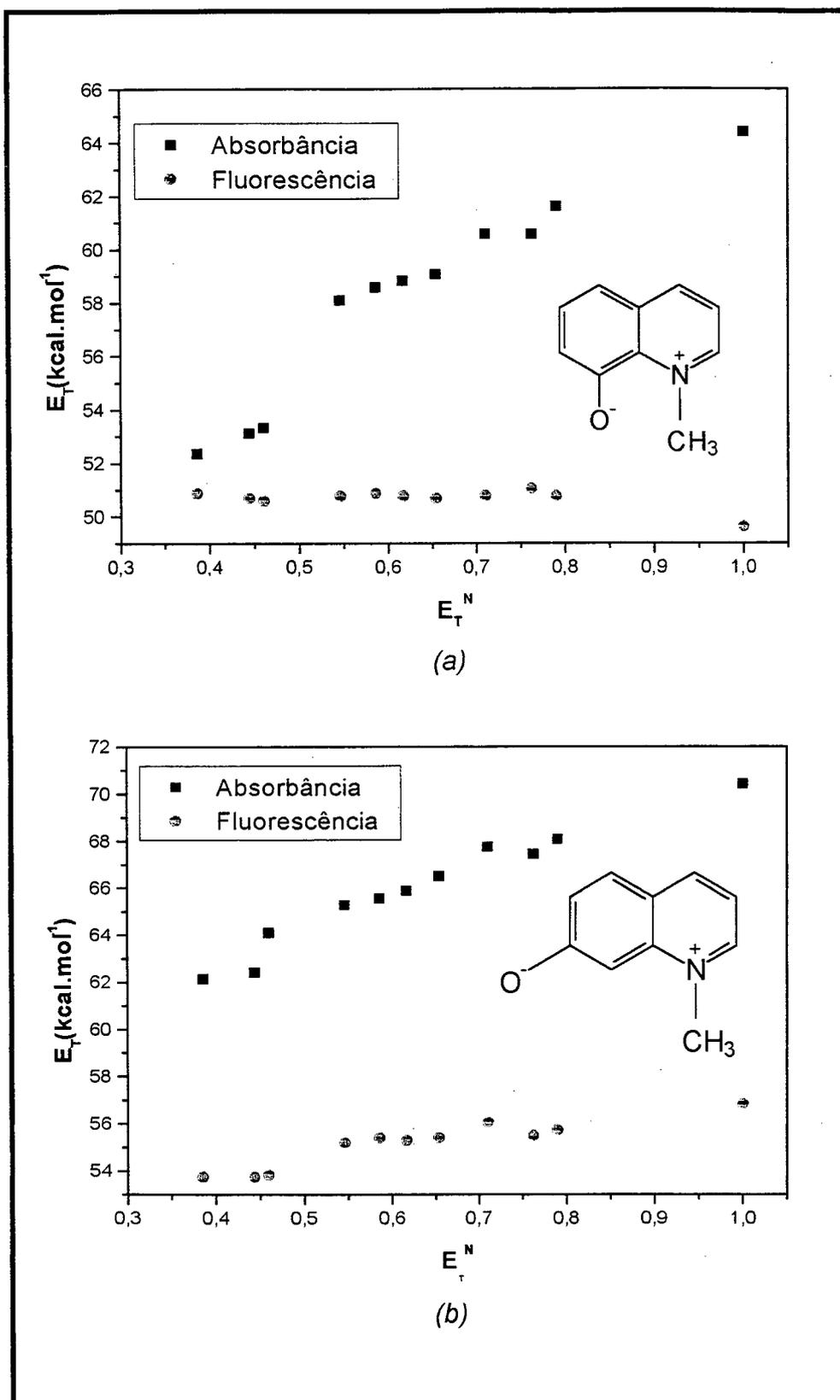


Figura 16. Variações na energia de transição em função dos valores normalizados da escala de polaridade $E_T(30)$ para (a) corante 3 e (b) corante 4.

A Tabela 3 apresenta os comprimentos de onda máximos de absorção e fluorescência dos compostos solvatocrômicos **5**, **6** e **7**. Todos os três corantes apresentaram fluorescência.

Tabela 3 - Comprimentos de onda máximos de absorção ($\lambda^a_{\text{máx}}$) e fluorescência ($\lambda^f_{\text{máx}}$) dos corantes solvatocrômicos **5**, **6** e **7** em diversos solventes.

Solvente	Corante 5		Corante 6		Corante 7	
	$\lambda^a_{\text{máx}}$ (nm)	$\lambda^f_{\text{máx}}$ (nm)	$\lambda^a_{\text{máx}}$ (nm)	$\lambda^f_{\text{máx}}$ (nm)	$\lambda^a_{\text{máx}}$ (nm)	$\lambda^f_{\text{máx}}$ (nm)
Água	444	573	486	575	476	577
Etilenoglicol	476	581	514	563	500	563
Metanol	486	577	526	561	514	560
Etanol/Água (80:20)	494	578	538	562	520	565
Etanol	514	580	550	560	546	563
<i>n</i> -Propanol	524	586	578	560	548	563
<i>n</i> -Butanol	528	588	560	560	570	564
<i>i</i> -Propanol	546	595	582	560	590	562
Acetonitrila	570	616	610	559	612	564
DMSO	574	620	608	558	620	564
DMF	584	622	624	562	626	563

A análise dos resultados da Tabela 3 demonstra que o comportamento solvatocrômico é semelhante para as merocianinas **5**, **6** e **7** nos espectros de absorção eletrônica, ou seja, há um deslocamento hipsocrômico com o aumento da polaridade do solvente. Este comportamento semelhante deve-se à não alteração dos grupos doadores e receptores de elétrons nos três compostos.

Com relação à fluorescência, o composto **5** mostrou uma variação significativa nos comprimentos de onda máximos, sendo entre todos os compostos estudados o que apresentou maior dependência do solvente. Observou-se em solventes próticos (como metanol e água) uma banda larga com um deslocamento hipsocrômico apreciável (metanol $\lambda^f_{\text{máx}} = 577$ nm e água $\lambda^f_{\text{máx}} = 573$ nm) em relação aos solventes polares apróticos (acetonitrila $\lambda^f_{\text{máx}} = 616$ nm e DMF $\lambda^f_{\text{máx}} = 622$ nm). As estruturas moleculares dos corantes **5**, **6** e **7** possui grupos doadores e receptores de elétrons nas suas extremidades,

possibilitando duas formas extremas de ressonância: benzenóide (zwitteriônica) e a forma quinoidal. Estas estruturas são obtidas pela transferência de carga intramolecular.

A Figura 17 apresenta uma comparação das energias das transições (ou bandas) de transferência de carga calculadas a partir dos máximos de absorção e emissão para o composto 5. A mesma correlação é demonstrada na Figura 18 para os corantes 6 e 7.

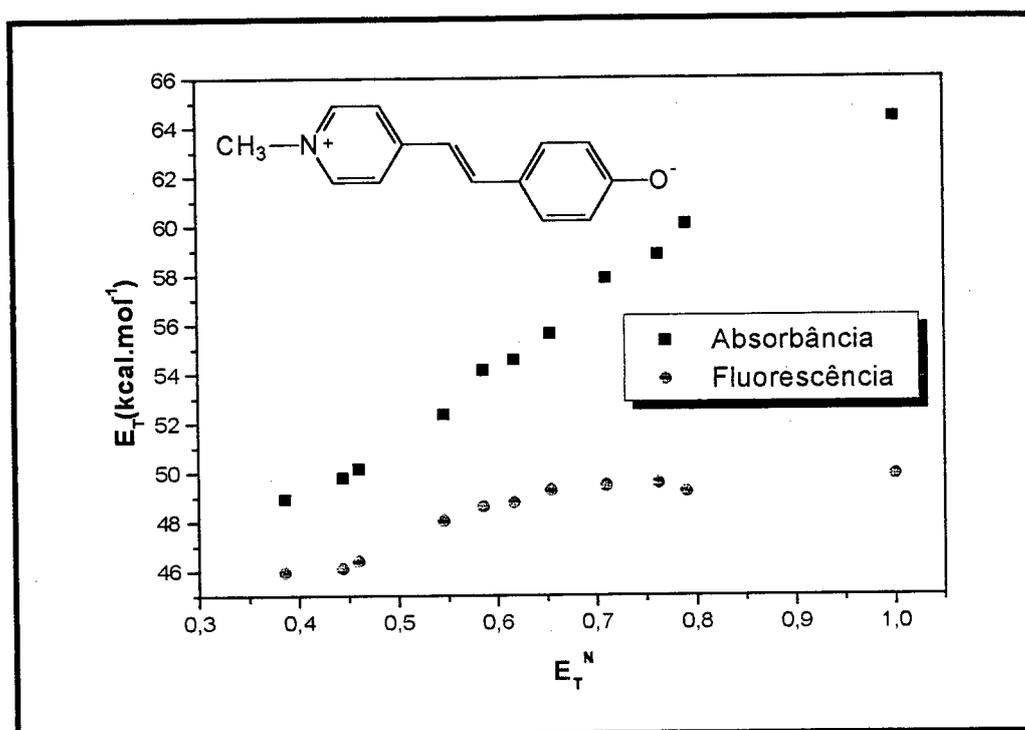


Figura 17. Variações na energia de transição em função dos valores normalizados da escala de polaridade $E_T(30)$ para o corante 5.

Os compostos 6 e 7 apresentaram comprimentos de onda máximos de emissão semelhantes, porém não se mostraram sensíveis ao tipo de solvente utilizado. Estruturalmente, os compostos 5, 6, e 7 permitem a coplanaridade entre o grupo doador piridínico de elétrons e o receptor fenolato. Além disto, nos três casos pode ocorrer conjugação completa entre estes grupos. Portanto, segundo a justificativa apresentada anteriormente para o comportamento do corante 4, os espectros de emissão dos compostos 5, 6, e 7 também deveriam sofrer forte influência do solvente, fato este somente observado para o corante 5.

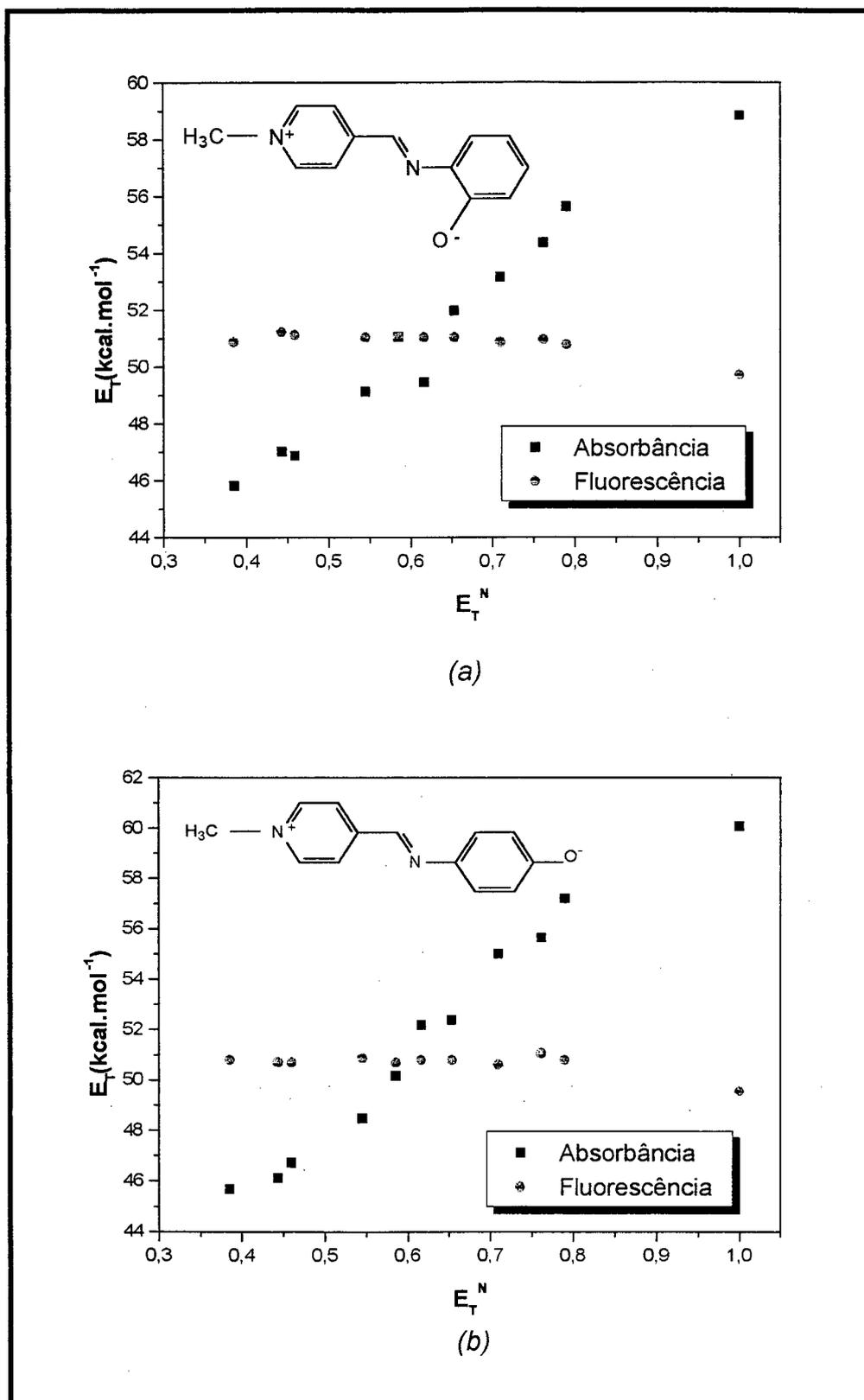


Figura 18. Variações na energia de transição em função dos valores normalizados da escala de polaridade $E_T(30)$ para (a) corante 6 e (b) corante 7.

A justificativa para as merocianinas **6** e **7** não serem sensíveis ao solvente nos espectros de fluorescência deve estar relacionado com a ponte conjugada imínica que une o grupo piridínico ao fenolato. Trabalhos anteriores envolvendo cálculos semi-empíricos demonstraram que a ligação imínica pode comportar uma grande carga negativa devido a presença do nitrogênio, bastante eletronegativo.⁵¹ Assim, a distribuição eletrônica nos estados fundamental e excitado dos compostos **6** e **7** difere-se daquelas do composto **5**. A redução do momento de dipolo das merocianinas imínicas devido à presença do nitrogênio pode justificar o efeito reduzido do solvente registrado.

A análise da influência do solvente sobre a posição da banda de fluorescência dos compostos **1** - **7** realizada até o momento baseou-se na correlação das energias de transição (calculadas a partir dos $\lambda_{\text{máx}}^f$) com o parâmetro de polaridade E_T^N . Para os corantes **2**, **4** e **5**, que detectaram uma maior influência do meio, pode-se também tentar correlacionar as variações espectrais com outras propriedades empíricas do solvente. Exemplos destas propriedades foram apresentadas na equação de Kamlet e Taft (equação **4**),³² onde α , β e π correspondem a características específicas do solvente.

A Tabela **4** apresenta os valores destas propriedades para os solventes empregados neste trabalho.

Tabela 4 - Parâmetros específicos dos solventes.

Solvente	α^a	β^b	π^c
Água	1,17	0,18	1,09
Etilenoglicol	0,90	0,52	0,92
Metanol	0,93	0,62	0,60
Etanol/Água(80:20)	-	-	-
Etanol	0,83	0,77	0,54
<i>n</i> -Propanol	0,78	-	0,52
<i>n</i> -Butanol	0,79	0,88	0,47
<i>i</i> -Propanol	0,76	0,95	0,48
Acetonitrila	0,19	0,31	0,75
DMSO	0,00	0,76	1,00
DMF	0,00	0,69	0,88

^{a, b, c} Dados da referência 27.

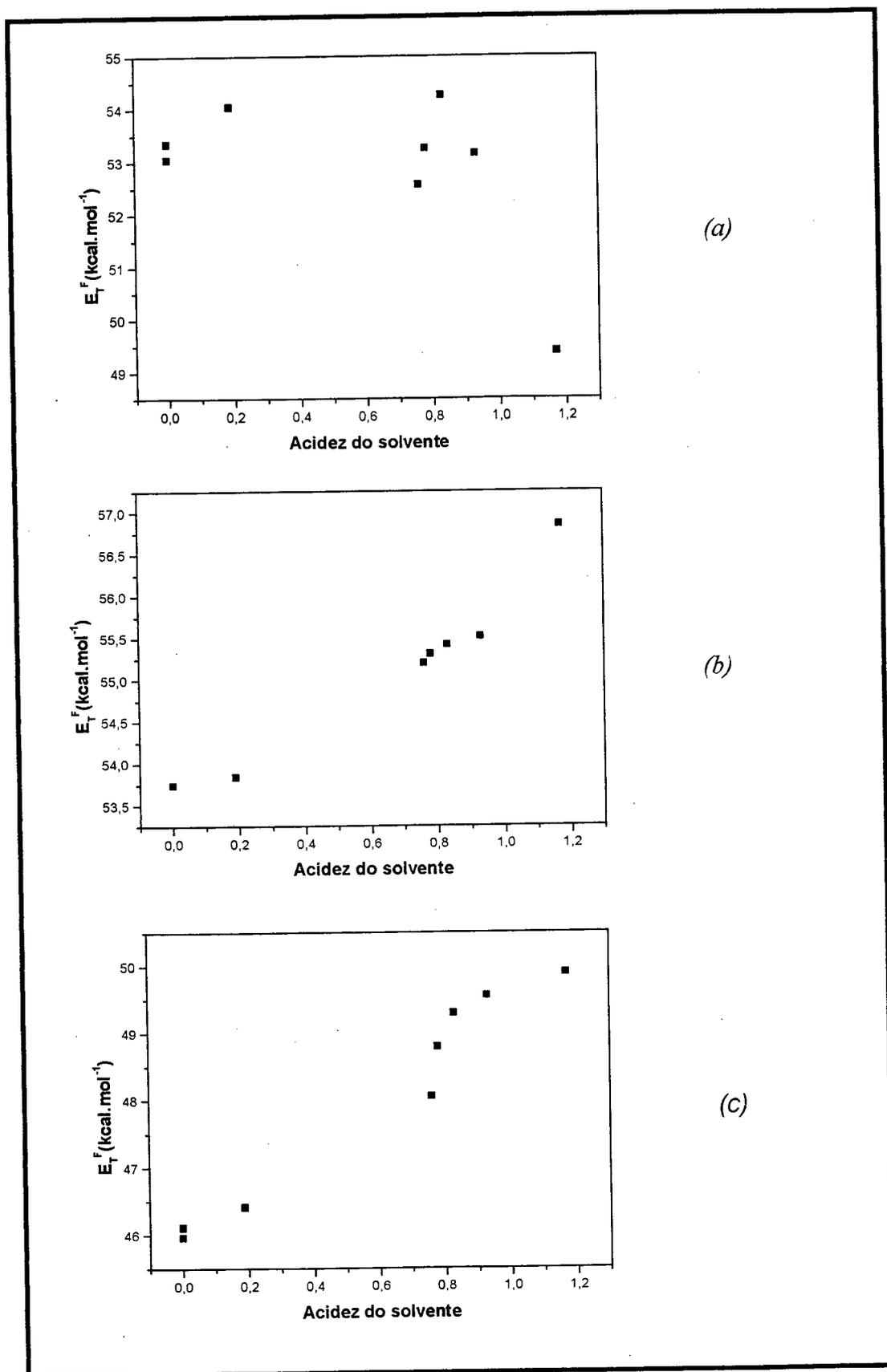


Figura 19. Variações na energia de transição em função da acidez dos solventes para: (a) corante 2; (b) corante 4 e (c) corante 5.

Na Figura 19, os dados de fluorescência (E_T^F) para os corantes solvatocrômicos estão relacionados com os respectivos poder doador de próton do solvente, ou acidez α segundo Kamlet e Taft.³²

Uma análise superficial dos dados presentes na Figura 19 revela não haver boas correlações dos dados de fluorescência com a acidez do meio. Entretanto, enquanto para o corante 2 nenhuma tendência é observada, para os corantes 4 e 5, as energias de transição aumentam com o aumento da acidez do solvente. Todos os corantes apresentam o fenóxido como grupo elétron-doador e, portanto, é esperado que ocorram ligações de hidrogênio entre este grupo e os solventes hidroxilados. Quanto maior a acidez do solvente, mais ocorrerão estas ligações, e maior será conseqüentemente a energia necessária para ocorrer a transição eletrônica no corante solvatocrômico. Se apenas os solventes próticos forem considerados, observa-se uma ótima correlação entre o parâmetro de acidez α e as energias de transição determinadas para o corante 4, onde $r = 0,996$.

As Figuras 20 e 21 correlacionam os dados de fluorescência com a basicidade (β) e polarizabilidade (π) dos solventes empregados, respectivamente.

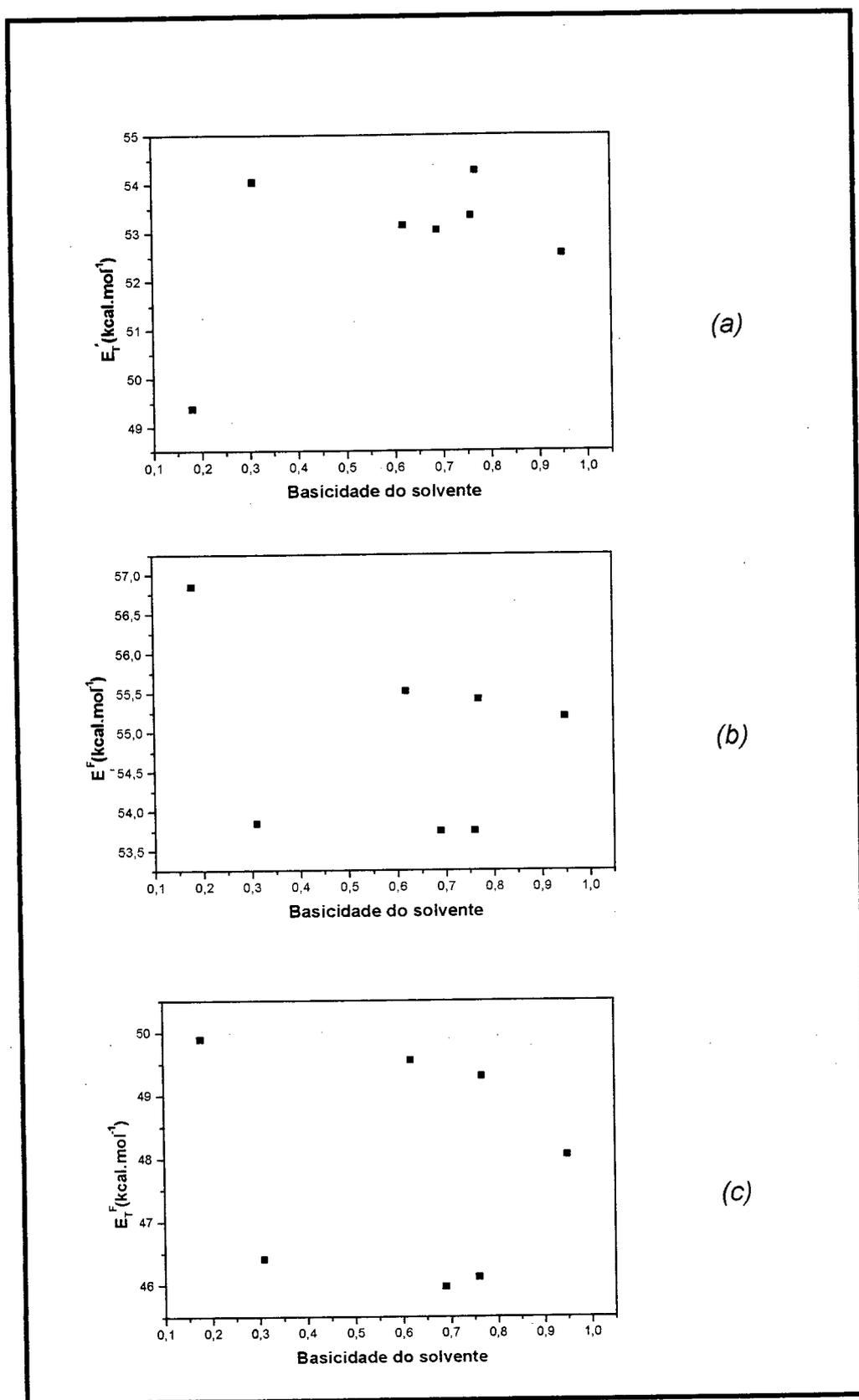


Figura 20. Variações na energia de transição em função da basicidade dos solventes para: (a) corante 2; (b) corante 4 e (c) corante 5.

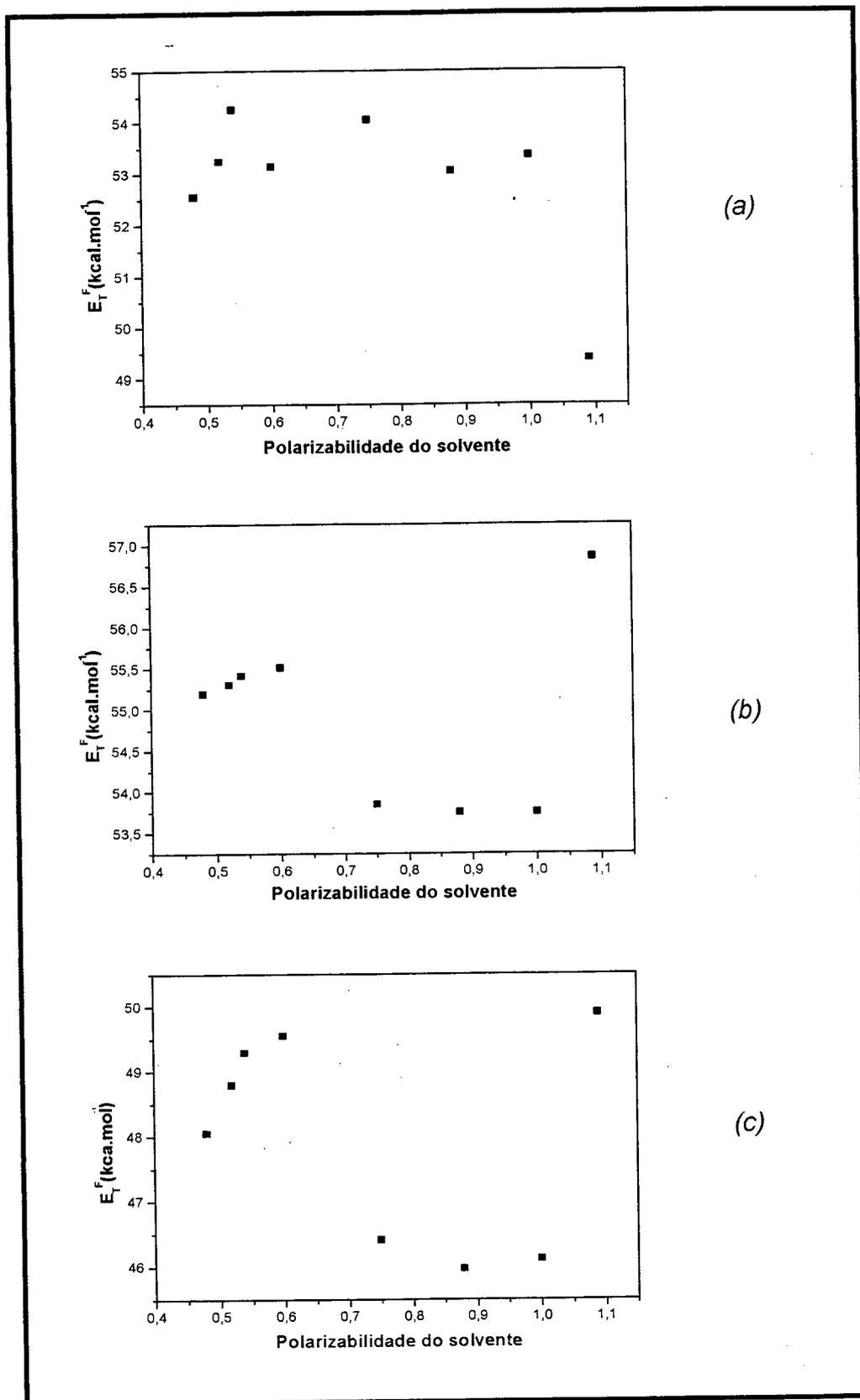


Figura 21. Variações na energia de transição em função da polarizabilidade dos solventes para: (a) corante 2; (b) corante 4 e (c) corante 5.

A Figura 20 demonstra não haver qualquer relação entre os dados de fluorescência registrados para os corantes solvatofluorescentes e a basicidade do meio. Já a Figura 21 segue uma certa tendência para os corantes 4 e 5. Novamente, nenhuma correlação aparente é detectada para o composto 2.

Para o composto 4 (Figura 21 b) e composto 5 (Figura 21 c), há uma separação entre os solventes polares próticos e os solventes polares apróticos. No caso dos solventes polares próticos (água e álcoois), o aumento da polarizabilidade causou um aumento nas energias de transição. Uma ótima correlação ($r = 0,99$) é registrada para o composto 4 quando a polarizabilidade é correlacionada com a energia de transição de fluorescência. Por outro lado, este parâmetro parece não ter influência tão significativa quando solventes polares apróticos são empregados.

Além dos máximos de emissão, o rendimento quântico também pode ser calculado a partir dos espectros dos corantes 1 - 7 nos diversos solventes. As Tabelas 5 e 6 apresentam os valores de rendimentos quânticos de fluorescência (ϕ_F) obtidos com os corantes 1 - 7 em diferentes solventes.

Tabela 5 - Rendimentos quânticos de fluorescência (ϕ_F) dos corantes 1-3 a 25°C.

Solvente	Corante 1	Corante 2	Corante 3
	ϕ_F	ϕ_F	ϕ_F
Água	0,00056	0,00022	0,00053
Etilenoglicol	0,00152	0,00049	0,00135
Metanol	0,00089	0,00064	0,00299
Etanol/Água (80:20)	0,00023	0,00197	0,00112
Etanol	0,00025	0,00063	0,00104
<i>n</i> -Propanol	0,00073	0,00056	0,00114
<i>n</i> -Butanol	0,00049	0,00070	0,00140
<i>i</i> -Propanol	0,00059	0,00038	0,00115
Acetonitrila	0,00018	0,00038	0,00047
DMSO	0,00047	0,00077	0,00163
DMF	0,00051	0,00050	0,00182

Tabela 6 - Rendimentos quânticos de fluorescência (ϕ_F) dos corantes **4–7** a 25°C.

Solvente	Corante 4	Corante 5	Corante 6	Corante 7
	ϕ_F	ϕ_F	ϕ_F	ϕ_F
Água	0,00046	0,00672	0,00138	0,00091
Etilenoglicol	0,00014	0,03383	0,00523	0,00106
Metanol	0,00024	0,00984	0,00179	0,00259
Etanol/Água (80:20)	0,00030	0,01658	0,00278	0,00089
Etanol	0,00053	0,01373	0,00361	0,00218
<i>n</i> -Propanol	0,00078	0,01692	0,00253	0,00054
<i>n</i> -Butanol	0,00078	0,01979	0,00359	0,00040
<i>i</i> -Propanol	0,00110	0,00517	0,00493	0,00027
Acetonitrila	0,00055	0,00009	0,01456	0,00036
DMSO	0,00170	0,00029	0,01058	0,00032
DMF	0,00050	0,00010	0,00929	0,00110

Como pode ser visto, os valores de rendimento quântico para todos os corantes investigados foi baixo ($< 10\%$). Estes resultados predizem que as moléculas no estado excitado decaem rapidamente através de processos não radioativos.

Para uma melhor compreensão dos processos de decaimento radioativo e não radioativo, foi determinado o tempo de vida de fluorescência do corante **5** em metanol, já que este composto apresentou-se mais sensível ao solvente pela técnica de fluorescência. O tempo de vida de fluorescência foi medido pela técnica de correlação temporal de fótons utilizando-se um espectrofotômetro CD-900 da Edinburgh. O registro do decaimento foi obtido por excitação com lâmpada de hidrogênio operando a 40 KHz de frequência e detecção por uma fotomultiplicadora Hamamatsu R928. O incremento de tempo utilizado na aquisição foi de 50 ps por canal. O tempo de vida foi obtido por análise do decaimento com resposta instrumental obtida por espalhamento do pulso. A Figura **22** apresenta o tempo de vida de fluorescência (τ) do corante **5** em metanol.

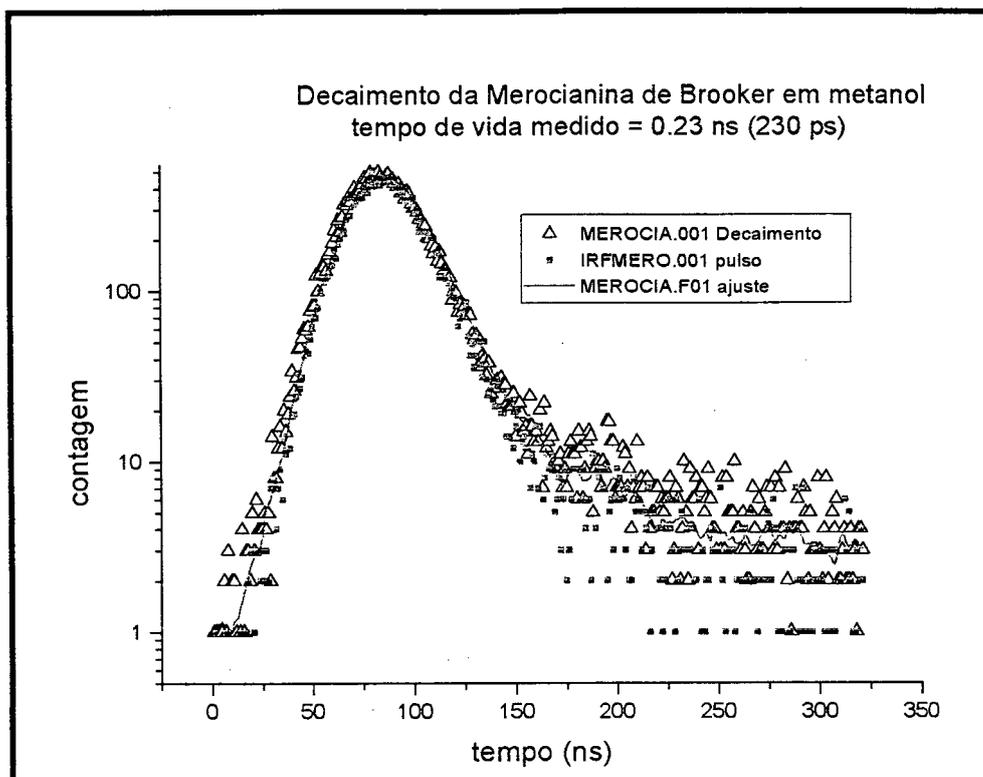


Figura 22. Tempo de vida de fluorescência do corante **5** em metanol.

Como esperado, o tempo de vida medido do corante **5** em metanol foi muito baixo, 0,23 ns, ou seja, 230 picos segundos, quase no limite de detecção do aparelho que é em torno de 300 ps. Este valor, quando comparado com outros tempos de vida de moléculas altamente fluorescentes,¹ como por exemplo o 9-ciano-antraceno ($\tau = 11,8$ ns); bissulfato de quinina ($\tau = 18,9$ ns), é considerado baixo. Já para o corante ASPT (Figura 10) também foram observados valores baixos para o tempo de vida, porém ele apresentou uma grande variação nos valores obtidos em diferentes solventes (etanol, $\tau = 0,12$ ns; acetonitrila, $\tau = 0,028$ ns; clorofórmio, $\tau = 0,37$ ns).

4.2. Efeitos Salinos

Os estudos de fluorescência envolvendo os compostos solvatocrômicos revelaram que o composto **5** apresentou a maior sensibilidade nos espectros de emissão com a alteração do solvente. Por esta razão, este corante foi selecionado

para os estudos de concentrações crescentes de diferentes eletrólitos com diferentes solventes.

O halocromismo (UV/Vis) no corante **5** é determinado principalmente pela presença do grupo fenolato em sua estrutura, sendo a interação do cátion do eletrólito com este grupo quem determina um maior ou menor nível de halocromismo em solução.³⁵ Nos estudos realizados com o composto **5**, os índices de halocromismo serão sempre analisados em termos das possíveis interações que podem ocorrer neste sistema ternário composto pelo sal, corante solvente.

A Tabela 7 apresenta os comprimentos de onda máximos de emissão de fluorescência do corante **5** em função da concentração crescente de iodeto de potássio em etanol, acetonitrila e DMF. Nestes três solventes, e segundo a terminologia empregada nos estudos de UV/Vis pode-se dizer que o corante **5** exibiu um halocromismo negativo, ou seja, a banda solvatocrômica sofreu mudanças hipsocrômicas pela adição de KI.

Os resultados obtidos podem ser melhor visualizados na Figura 23 e são apresentados em termos da variação na energia de emissão de fluorescência (ΔE) do corante **5** que é calculada a partir das energias de transição registradas na presença e ausência do eletrólito. Esta variação de energia (ΔE), também denominada como nível de halocromismo, é analisada em função das concentrações do sal.

Tabela 7 - Comprimentos de onda máximos de fluorescência do corante **5** em diferentes concentrações de KI.

[KI] (mol.dm ⁻³)	$\lambda_{\text{máx.}}^f$ (nm)		
	Etanol	Acetonitrila	DMF
0,000	580	616	622
0,005	580	599	621
0,010	579	597	619
0,020	579	595	616
0,030	578	594	614
0,040	577	593	611
0,050	577	591	609

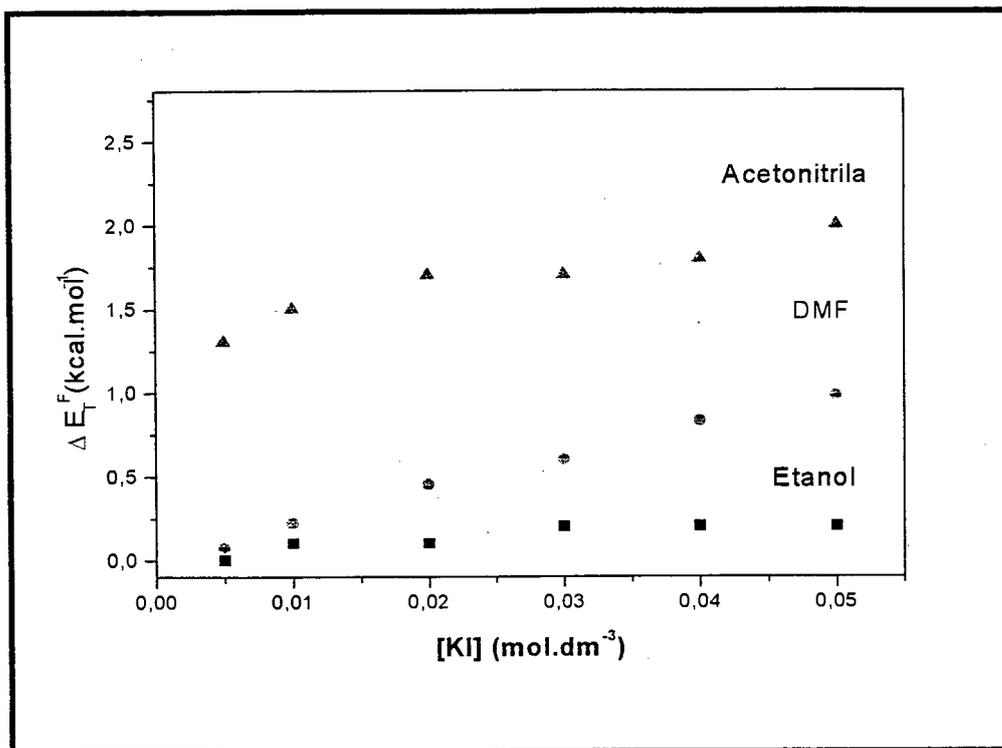


Figura 23. Variações na energia de emissão de fluorescência (ΔE) do corante **5** em vários solventes em função das concentrações de KI.

Para o corante **5**, que possui como grupo doador o fenolato, é o poder receptor do solvente quem determina o nível de halocromismo induzido pelo sal. A adição de diferentes concentrações de iodeto de potássio para soluções do corante **5** causa um maior halocromismo quando o solvente acetonitrila é empregado. A sensibilidade deste corante para o cátion potássio aumenta na seguinte ordem:

Acetonitrila > DMF > Etanol

Esta sensibilidade é uma medida da associação corante/cátion que ocorre em solução, sendo influenciada de duas maneiras pelo solvente. Primeiramente, as interações corante/solvente, tendem a reduzir as interações do corante com o cátion. Em segundo lugar, solventes com tendência a doar pares de elétrons tendem a solvatar o cátion adicionado, diminuindo assim a associação corante/cátion. Portanto, quanto mais fortes forem as interações solvente/corante

e solvente/cátion, menor será o nível de halocromismo induzido pelo sal. A acetonitrila e o DMF são solventes polares apróticos e desta forma interagem fracamente com o corante. Entretanto, o DMF é um solvente caracterizado pelo seu alto poder solvatante para cátions, o que impede o íon potássio de interagir com o corante, reduzindo assim o efeito halocrômico observado neste soluto quando comparado com a acetonitrila. Já o etanol é um solvente polar prótico e através de ligações de hidrogênio interage fortemente com o corante. Este fato, somado ao razoável poder de solvatação dos álcoois para cátions, justifica a dificuldade para ocorrer a interação do corante **5** com o cátion potássio e o conseqüente reduzido nível do halocromismo.

Além do KI, outros sais foram empregados nos estudos halocrômicos, a fim de investigar a influência dos diferentes eletrólitos sobre o comportamento de emissão do corante **5**. A Tabela 8 apresenta os comprimentos de onda máximos de emissão de fluorescência em função da concentração do iodeto de sódio empregado para diferentes solventes.

Tabela 8 - Comprimentos de onda máximos de fluorescência do corante **5** em diferentes concentrações de NaI.

[NaI] (mol.dm ⁻³)	$\lambda_{\text{máx.}}^f$ (nm)			
	Etanol	<i>i</i> -Propanol	Acetonitrila	<i>n,n</i> -DMF
0,000	580	595	616	622
0,0025	580	589	596	618
0,005	580	588	595	615
0,010	579	586	595	613
0,020	579	584	594	612
0,030	579	582	594	610
0,040	578	581	593	606
0,050	578	580	592	604

A Figura 24 apresenta a variação na energia de emissão de fluorescência (ΔE) do corante **5** na presença de concentrações crescentes de iodeto de sódio para os quatro solventes estudados. Novamente observa-se um halocromismo negativo.

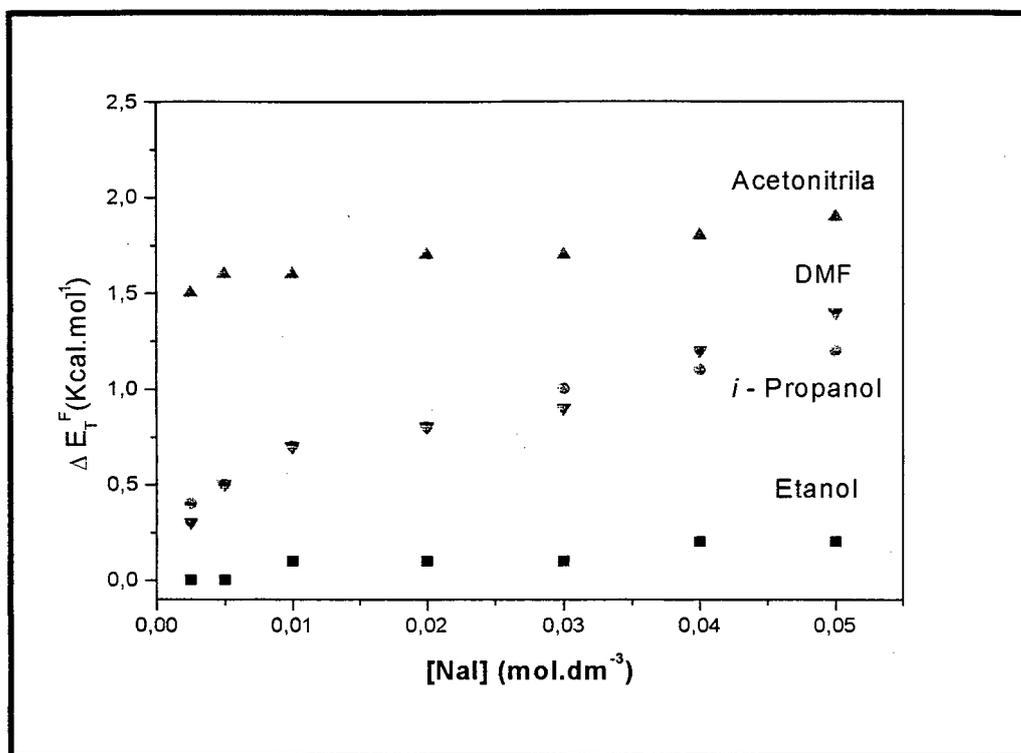


Figura 24. Variações na energia de emissão de fluorescência (ΔE) do corante **5** em vários solventes em função das concentrações de NaI.

Os resultados obtidos ratificam as justificativas apresentadas anteriormente para o halocromismo induzido pelo KI. Assim, quando os efeitos registrados nos dois álcoois primários são comparados, observou-se um maior halocromismo na soluções de NaI em *i*-propanol. Isto porque as interações *i*-propanol/corante e *i*-propanol/ Na^+ , apesar de também ocorrerem ligações por hidrogênio, são mais fracas que as interações etanol/corante e etanol/ Na^+ .

Os comprimentos de onda máximos de emissão de fluorescência do corante **5** em função da concentração de perclorato de sódio em diferentes solventes são apresentados na Tabela 9.

Tabela 9 - Comprimentos de onda máximos de fluorescência do corante **5** em diferentes concentrações de NaClO₄.

[NaClO ₄] (mol.dm ⁻³)	$\lambda_{\text{máx.}}^f$ (nm)			
	Etanol	<i>i</i> -Propanol	Acetonitrila	DMF
0,000	580	595	616	622
0,0025	580	590	596	609
0,005	580	589	592	604
0,010	579	587	592	602
0,020	579	584	592	601
0,030	577	582	591	600
0,040	577	581	590	597
0,050	576	581	590	597

A Figura **25** apresenta a variação na energia de emissão de fluorescência (ΔE) do corante **5** para os vários solventes na presença de concentrações crescentes de NaClO₄.

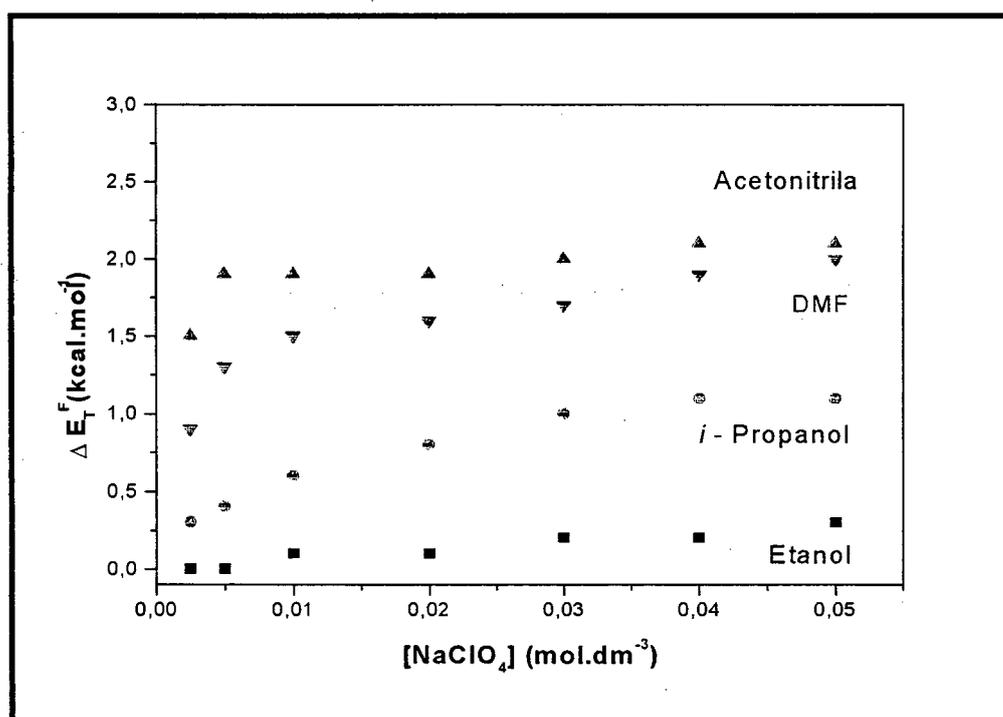


Figura **25**. Variações na energia de emissão de fluorescência (ΔE) do corante **5** em vários solventes em função das concentrações de NaClO₄.

A comparação das Figuras 24 e 25 revela um comportamento semelhante para o corante 5 em soluções contendo NaI e NaClO₄. A única diferença refere-se ao efeito halocrômico mais diferenciado entre as soluções de NaClO₄ em DMF e *i*-Propanol, enquanto com NaI o comportamento nestes dois solventes era muito semelhante. Como o cátion é o mesmo nos dois casos, a maior distinção entre os comportamentos registrados com as soluções do NaClO₄ deve estar associada à maior constante de dissociação deste sal quando comparado ao NaI, sendo portanto maiores as concentrações de íons livres em solução.

A Tabela 10 apresenta os comprimentos de onda máximos de emissão de fluorescência em função da concentração de LiClO₄ empregado para diferentes solventes.

Tabela 10 - Comprimentos de onda máximos de fluorescência do corante 5 em diferentes concentrações de LiClO₄.

[LiClO ₄] (mol.dm ⁻³)	$\lambda_{\text{máx.}}^f$ (nm)			
	Etanol	<i>i</i> -Propanol	Acetonitrila	DMF
0,0000	580	595	616	622
0,0025	580	587	595	611
0,005	579	586	591	609
0,010	579	583	589	606
0,020	579	580	583	604
0,030	578	580	580	599
0,040	578	579	575	599
0,050	578	577	567	599

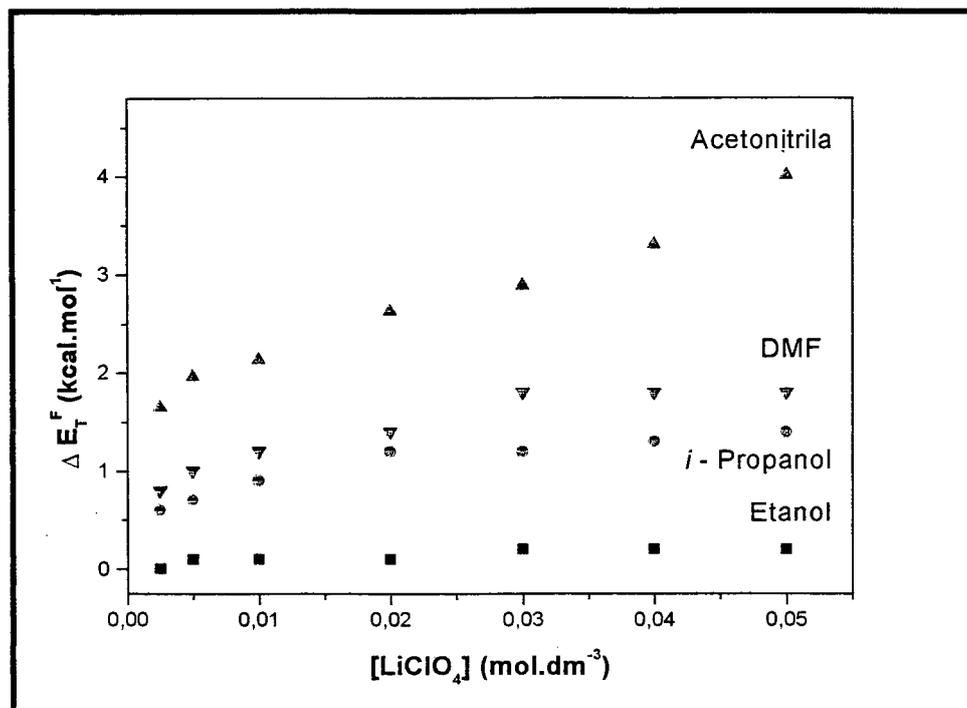


Figura 26. Variações na energia de emissão de fluorescência (ΔE) do corante **5** em vários solventes, em função das concentrações de LiClO_4 .

A Figura **26** confirma para o halocromismo induzido pelas soluções de LiClO_4 as tendências observadas e discutidas até aqui.

Uma vez que vários sais foram empregados na avaliação do halocromismo nos espectros de fluorescência do corante **5**, pode-se também analisar o efeito destes sais em um mesmo gráfico. Fixando-se o solvente e o corante, as variações nos espectros de emissão induzidos por diferentes sais podem ser correlacionadas com as características do eletrólito.

A Figura **27** (a) e (b) apresentam as variações na energia de emissão de fluorescência (ΔE) do corante **5** em acetonitrila e DMF como função da concentração de KI , NaI , NaClO_4 e LiClO_4 .

Em ambos os solventes observou-se um maior nível de halocromismo nas soluções dos percloratos. Conforme já mencionado, os percloratos possuem maior constante de dissociação que os respectivos iodetos, e assim a maior concentração de íons livres em solução no caso do LiClO_4 e NaClO_4 resulta em um maior halocromismo.

Em acetonitrila, o efeito induzido pelo NaI e KI foi praticamente o mesmo, enquanto que em DMF houve uma pequena diferença, com as maiores variações espectrais sendo registradas para soluções de iodeto de sódio. No caso dos percloratos a observação foi justamente a inversa, ou seja, em acetonitrila o NaClO_4 e LiClO_4 induziram halocromismos distintos, enquanto que em DMF as soluções destes dois sais causaram praticamente as mesmas alterações nos λ_{max}^f .

Comparando-se o comportamento dos sais em que o ânion é o mesmo (NaI/KI e $\text{NaClO}_4/\text{LiClO}_4$) conclui-se pela análise da Figura 27 que não se pode correlacionar o nível de halocromismo (ΔE) com a carga efetiva do cátion, como tem sido efetuado com frequência nos estudos de halocromismo com a técnica de UV/Vis. Nos estudos de halocromismo induzidos por iodetos ou percloratos de metais alcalinos e alcalinos terrosos em um mesmo solvente, obteve-se uma ótima correlação entre as variações espectrais (UV/Vis) e a carga efetiva do cátion.⁵¹ Entretanto, este não parece ser o caso para os respectivos estudos de fluorescência aqui apresentados.

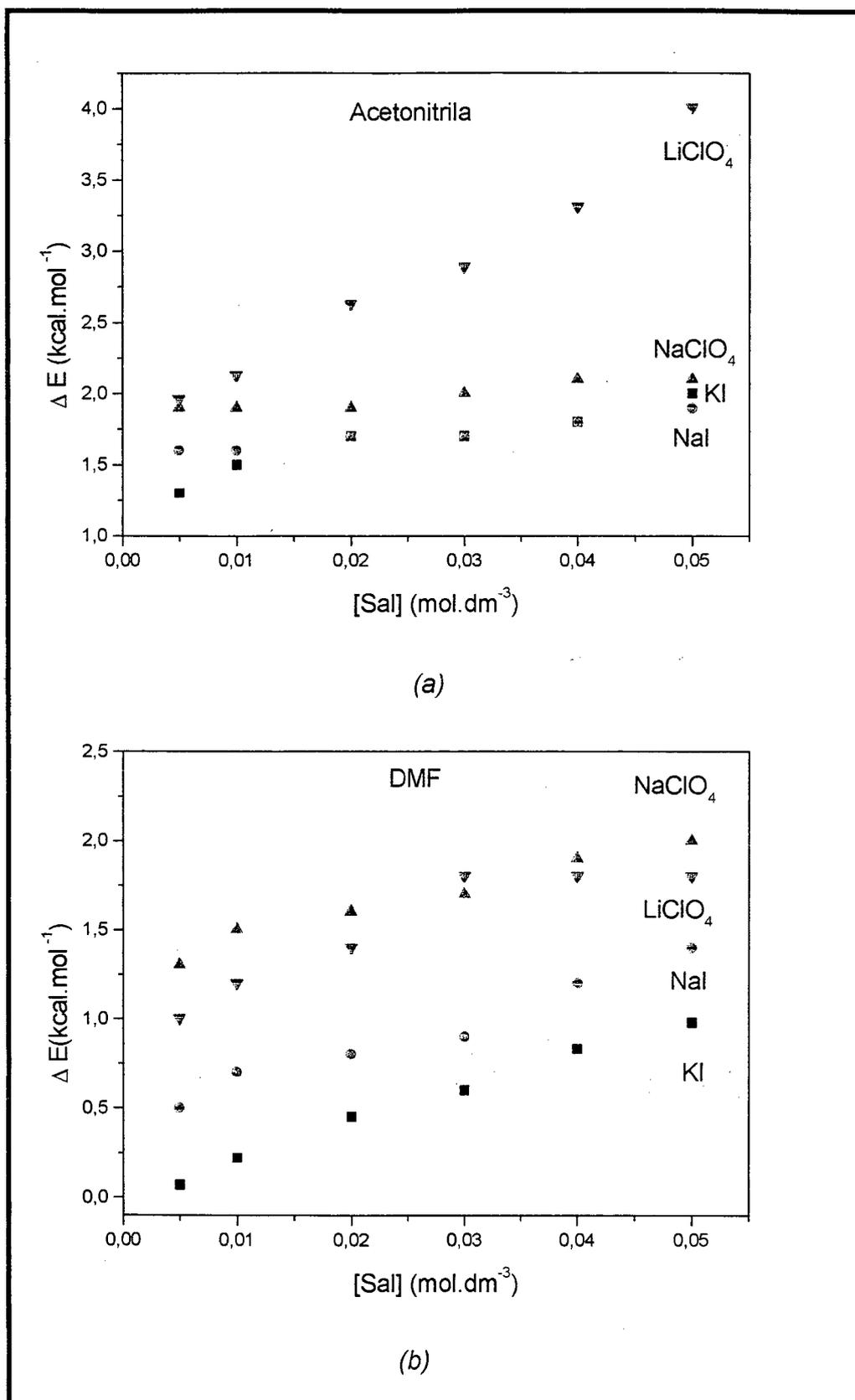


Figura 27. Diferenças nas energias de fluorescência (ΔE) da banda solvatocrômica do composto **5** em (a) acetonitrila e (b) DMF como função da concentração dos sais.

Quanto ao efeito do ânion sobre os espectros de UV/Vis dos corantes solvatocrômicos que possuem como grupo doador o fenolato e receptor o piridínio, este tem sido considerado desprezível e justificado em termos da difícil interação entre o ânion do eletrólito e o grupo piridínio do corante.³⁷

Nos estudos de fluorescência, o efeito do ânion pode ser analisado comparando-se as soluções de NaI e NaClO₄ em um mesmo solvente. A Figura 28 apresenta estas comparações nos quatro solventes estudados.

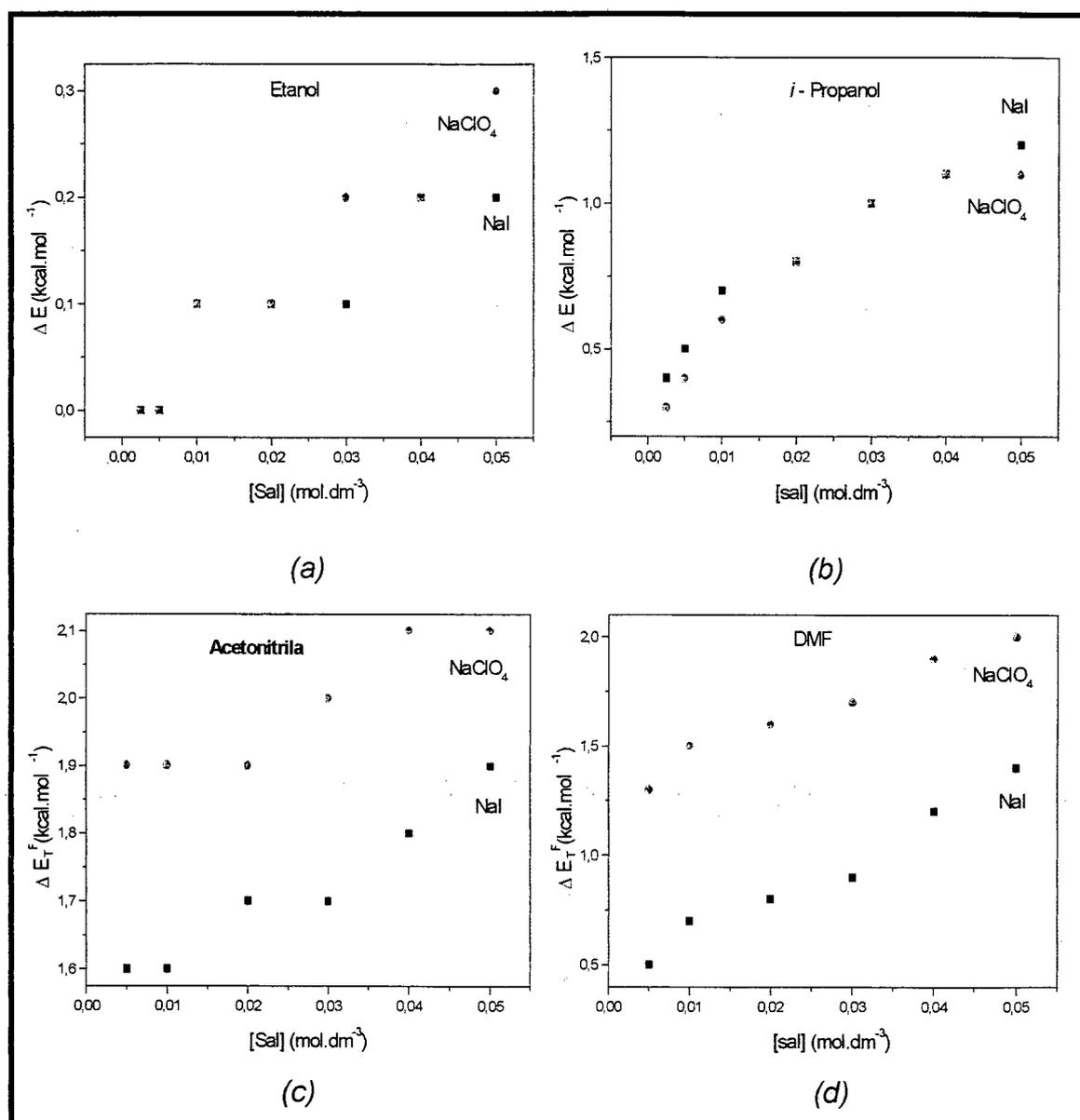


Figura 28. Diferenças nas energias de fluorescência (ΔE) da banda solvatocrômica do composto **5** em: (a) etanol; (b) *i*-Propanol; (c) acetonitrila e (d) DMF como função da concentração de NaClO₄ e NaI.

Na Figura 28 observa-se que o espectro de emissão não é dependente da natureza do ânion para os sais em etanol e *i*-propanol. Já para acetonitrila e DMF é o ânion ClO_4^- que determina um maior grau de halocromismo para o composto 5.

Novamente, também não há relação entre o nível de halocromismo e a carga do ânion, uma vez que o ânion iodeto (I^-) possui maior carga efetiva que o respectivo perclorato (ClO_4^-).

A interpretação dos resultados de halocromismo (halofluorescência) deve levar ainda em consideração a questão da associação do cátion com o ânion. Se o ânion for perclorato, a interação é pequena e a concentração de íons livres é alta. Se o ânion for iodeto, a associação ganha importância e é responsável pelos efeitos observados.

A técnica de fluorescência revelou-se de grande importância para o estudo de efeitos salinos. Enquanto a técnica de UV/Vis não registrou o efeito de associação dos eletrólitos empregados, a fluorescência apresentou maior sensibilidade, registrando por meio do nível de halocromismo as diferentes concentrações de íons livres em solução.

5. Conclusões

Este trabalho investigou uma série de compostos solvatocrômicos com relação aos seus comportamentos de fluorescência. A influência de solventes de diferentes polaridades e de soluções salinas sobre os espectros de emissão foi registrada e analisada em função dos respectivos comportamentos de absorção eletrônica já descritos na literatura.

Como todos os corantes estudados apresentaram fluorescência, pode-se concluir que as características estruturais que fazem com que um composto apresente solvatocromismo, ou seja, a presença de grupos doadores e receptores de elétrons unidos por um sistema conjugado de elétrons, faz com que estes também emitam na região visível do espectro eletromagnético. Entretanto, apenas algumas estruturas demonstraram sensibilidade a mudanças na polaridade do meio. A solvatofluorescência, já descrita na literatura para alguns compostos como o pireno, foi detectada para os corantes **4** e **5** (no caso do composto **2** as variações espectrais podem estar resultando da multiplicidade de bandas), que possuem como característica a coplanaridade entre os grupos doadores e receptores de elétrons associada à possibilidade de conjugação completa entre os átomos doadores e receptores de elétrons. A merocianina de Brooker, corante **5**, foi o composto que se mostrou mais sensível às mudanças no solvente, com comprimento de onda variando de 573 nm (água) para 622 nm (acetonitrila). Esta grande variação indica o possível uso deste composto como sonda solvatofluorescente.

Os rendimentos quânticos foram muito baixos para todos os corantes estudados, indicando o rápido decaimento do estado excitado ao fundamental. O experimento em que foi medido o tempo de vida comprovou esta observação.

As variações nos espectros de emissão registradas em diferentes solventes para os corantes **4** e **5** correlacionam-se razoavelmente bem com o parâmetro de polaridade $E_T(30)$, bem como com a acidez (α) e polarizabilidade (π) do meio.

Já os estudos halocrômicos empregando-se a técnica de fluorescência seguiram algumas das tendências observadas nos estudos de UV/Vis. Deslocamentos hipsocrômicos com o aumento da concentração de sal foram

obtidos com todos os eletrólitos empregados. Em todos os casos, observa-se também um comportamento de saturação para concentrações elevadas de sal. Este comportamento de saturação indica que a partir de uma determinada concentração, novas adições de sal não são mais detectadas pelo corante, uma vez que seu microambiente já está saturado de eletrólito.

Comparando-se os níveis de halocromismo induzidos por um mesmo sal em diferentes solventes, conclui-se que as diferenças obtidas podem ser interpretadas em termos das forças relativas da interação do solvente com o corante e com as frações do eletrólito. Quanto mais acentuadas forem estas interações, menores serão os deslocamentos da banda de emissão. Já nas análises do efeito do cátion e do ânion, feitas separadamente, não obteve-se correlações com as cargas efetivas destes, como havia sido o caso nos estudos de UV/Vis. Os percloratos de lítio ou sódio induziram um maior grau de halocromismo que os iodetos de sódio ou potássio. Entretanto, comparando-se sais com o mesmo cátion (análise do efeito do ânion) ou com o mesmo ânion (análise do efeito do cátion), não se encontram relações entre as variações espectrais e a carga efetiva destas espécies.

Pode-se concluir finalmente que os resultados apresentados neste trabalho indicam para a possibilidade de utilização dos compostos solvatocrômicos como sondas fluorescentes na detecção de mudanças na polaridade do meio.

6. Referências Bibliográficas

1. BALZANI, V.; SCANDOLA, F. Chemistry and Light. Part 1: Photochemistry, a New Dimension of Chemistry. *Química Nova*, **1996**, 19 (05), 542.
2. LAKOWICZ, J. R. ; Principles of Fluorescence Spectroscopy, A Division of Plenum Publishing Corporation, 1^a ed., Plenum Press, New York, 1983.
3. HIRSCHFELD, T.; Optical microscopic observation of single small molecules , *Appl. Opt.* **1976**, 15, 2965 - 2966.
4. DOVICH, N.J.; MARTIN, J.C.; JETT, J.H.; TRKULA, M.; KELLER, R.A.; Lazer-induced fluorescence of flowing samples as na approach to single-molecule detection in liquids, *Anal. Chem.* **1984**, 56, 348 - 354.
5. CHRISTIAN, J.; O'REILLY, J.; Instrumental Analysis. 2^a ed., Van Nostrand Reinhold, New York, 1970.
6. ADACHI, K.; ICHINOSE, N. SCHNEPEL, F.M.; SCHWEDT, G.; Fluorometric Analysis in Biomedical Chemistry. A Wiley- Interscience: J. Wiley. New York, 1991.
7. SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J. Principles of Instrumental Analysis, 5^a ed., Saunders College Publishing, Philadelphia, 1998.
8. GUILBAULT, G.G. ; Practical Fluorescence: Theory, Methods and Techniques. Marcel Deckker, New York, 1973.
9. BRIDGES, J.W. ; Standards in Fluorescence Spectrometry: J.N MILLER, Chapman and Hall, New York, 1981.
10. O'CONNOR, D. V.; PHILIPS, D.; Time Correlated Single Photon Counting. Academic Press, New York, 1984.

11. GEHLEN, M. H. Cinética de Supressão de Fluorescência em Sistemas Micelares, na Presença de Migração de Sonda. São Carlos, 1993. **Tese de Doutorado** – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo.
12. REICHARDT, C. ; Solvents and Solvents Effects in Organic Chemistry. 2nd ed. VCH Publishers, Weinheim, 1988.
13. BROOKER, L.G.S.; KEYES, G.H.; HESELTINE, D.W. ; Color and constitution 11. anhydronium bases of para-hydroxystyryl dyes as solvent polarity indicators, *J. Am. Chem. Soc.* **1951**, 73, 5350 - 5356.
14. KOSOWER, E.M.; The effect of solvent on spectra 1. A new empirical measure of solvent polarity – z- values, *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, 80, 3253 - 3260.
15. KOSOWER, E.M.; The effect of solvent on spectra 2. Correlation of spectral absorption data with z-values, *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, 80, 3261 - 3267.
16. KOSOWER, E.M.; The effect of solvent on spectra 3. The use of z-values in connection with kinetic data, *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, 80, 3267 - 3270.
17. KOSOWER, E.M.; ITO, M.; HUANG, P-K.; Eletronic absorption spectra of iodo and bromomethanes, *Trans. Faraday Soc.* **1961**, 57, 1662.
18. KOSOWER, E.M.; Solvent sensitivity of charge-transfer band of tropylium iodide, *J. Org. Chem.*; **1964**, 29, 956.
19. CATALAN, J.; MENA, E.; MEUTERMANS, W.; ELGUERO, J.; Solvatochromism of a typical merocyanine - stilbazolium betaine and its 2,6 – di – tert - butyl derivative, *J. Phys. Chem.* **1992**, 96, 3615 - 3621.

20. BOLDUC, F.; GRUDA, I.; Spectral properties and basicity of stilbazolium betaines containing bulky substituents on the quinoid ring, *J. Org. Chem.* **1984**, 49 (18), 3300 - 3305.
21. BUNCEL, E. ; RAJAGOPAL, S. ; Solvatochromism and solvent polarity scales, *Acc. Chem. Res.* **1990**, 23, (7), 226 - 231.
22. HALIM, S. T. A. ; AWAD, M. K. ; Effect of protonation on the molecular structure and reactivity of a typical merocyanine dye: experimental and theoretical investigation. *J. Phys. Chem.*; **1993**, 97, 3160 - 3165.
23. DIMROTH, K.; REICHARDT, C.; SIEPMANN, T.; BOHLMANN, F. ; Uber pyridinium-n-phenol-betaine und ihre verwendung zur charakterisierung der polaritat von losungsmitteln, *Liebigs Ann. Chem.*; **1963**, 661, 1.
24. REICHARDT, C.; HARBUSCHGORN, E.; Pyridinium n-phenoxide betaines and their application for the characterization of solvent polarities. 10. extension, correction, and new definition of the et solvent polarity scale by application of a lipophilic penta-tert-butyl-substituted pyridinium n-phenoxide betaine dye. *Liebigs Ann. Chem.* **1983**, 721 - 743.
25. PYTELA, O. ; Empirical approach to description of solvent effect on processes in solutions – a review. *Collect Czech. Chem. Commun.* **1988**, 53, 1333 - 1423.
26. BENTLEY, T. W.; LLEWELLYN, G. ; *Prog. Phys. Org. Chem.* **1990**, 17, 121 -158.
27. FAWCETT, W. R.; Acidity and basicity scales for polar-solvents, *J. Phys. Chem.* **1993**, 97, 9540 - 9546.

28. KAMLET, M. J.; ABBOUD, J-L. M.; TAFT, R.W.; Solvatochromic comparison method 1. Beta-scale of solvent hydrogen-bond acceptor (HBA) basicities, *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, 98, 377 - 383.
29. KAMLET, M. J.; ABBOUD, J-L. M.; TAFT, R.W.; Solvatochromic comparison method 2. Alpha-scale of solvent hydrogen-bond donor (HBD) acidities, *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, 98, 2886 - 2894.
30. KAMLET, M. J.; ABBOUD, J-L.M.; TAFT, R. W. ; Solvatochromic comparison method 6. Pi-star scale of solvent polarities. *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, 99, 6027 - 6038.
31. KAMLET, M. J.; ABBOUD, J-L. M.; TAFT, R. W. ; Regarding a generalized scale of solvent polarities. *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, 99, 8325 - 8327.
32. KAMLET, J. M. ; ABBOUD, J-L. M.; ABRAHAM, M.H.; TAFT, R.W.; Linear solvation energy relationships. 23. A comprehensive collection of the solvatochromic parameters, pi-star, alpha and beta, and some methods for simplifying the generalized solvatochromic equation. *J. Org. Chem.* **1983**, 48, 2877 - 2887.
33. TAFT, R. W. ; ABBOUD, J.-L.M.; KAMLET, M. J. ; ABRAHAM, M.H.; Linear solvation energy relations. *J. Solut. Chem.* **1985**, 14, 153 - 186.
34. FONG, C. W. ; KAMLET, M. J. ; TAFT, R. W. ; Linear solvation energy relationships 24. Solvent effects on the transition-state of the addition-reaction of the para-aminobenzenethiyl free-radical to styrene. *J. Org. Chem.* **1983**, 48, 832 - 835.
35. MACHADO, C. ; REZENDE, M. C. ; SCREMIN, M. ; ZANOTTO, S. P. ; Cationic and anionic halochromism. *J. Phys. Org. Chem.*; **1993**, 6, 637 - 641.

36. REICHARDT, C.; Solvatochromic dyes as solvent polarity indicators. *Chem. Rev.* **1994**, 2319 - 2358.
37. GAGEIRO, V. ; AILLON, M. ; REZENDE, M. C. ; Interpretation of the halochromism of pyridinio phenoxide dyes. *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* **1992**, 88, 201 - 204.
38. PRASAD, P. N. ; BRIGHT, F. V. ; Characterization of a new solvent-sensitive two-photon-induced fluorescent (aminostyryl) pyridinium salt dye. *J. Phys. Chem.*; **1996**, 100, 4521 - 4525.
39. HALIM, S. T.; Solvatochromism of a typical merocyanine dye, *J. Chem. Soc. Faraday Trans.*; **1993**, 89 (1), 55 - 57.
40. THOMAS, J. K. ; KALYANASUNDARAM, K. ; Environmental effects on vibronic band intensities in pyrene monomer fluorescence and their application in studies of Micellar systems. *J. Am. Chem. Soc.*; **1977**, 99, 2039 - 2044.
41. SAMMES, P. G. ; GOSPER, J. J. ; GOOLAMALI, Z. ; CROSSLEY, R. ; Synthesis and spectral properties of new fluorescent probes for potassium. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, **1994**, 513 - 520.
42. COMBELLAS, C.; SUBA, C.; THIÉBAULT, A.; Synthesis of (pyridinio-phenoxide) zwitterions, *Tetrahedron Lett.* , **1992**, 33, 5741 - 5744.
43. MACHADO, C. Estudos Físico-Químicos do Solvatocromismo e Halocromismo. Florianópolis, 1996. **Tese de Doutorado** – Departamento de Química, UFSC.
44. CUNHA, A. Q. Estudo Comparativo do Solvatocromismo e Halocromismo Apresentado por Merocianinas Imínicas. Blumenau, 1998. **Monografia** - Departamento de Química, FURB.

45. MACHADO, C.; SILVA, L.; REZENDE, M. C.; On the solvatochromic reversal of merocyanine dyes 1. The UV-vis spectroscopic behavior of vinylogous gamma-pyridones. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*; **1995**, 483 - 488.
46. CROSBY, G. A.; DEMAS, J. N.; Measurement of photoluminescence quantum yields-review. *J. Phys. Chem.*; **1971**, 75 (8), 991 - 1024.
47. SUPPAN, P.; GHONEIM, N. ; Solvatochromism. 1^a Ed. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, 1997.
48. UEDA, M.; SCHELLY, Z. A.; Reverse micelles of aerosol-ot in benzene. 4. Investigation of the micropolarity using 1-methyl-8-oxyquinolinium betaine as a probe. *Langmuir*, **1989**, 5, 1005 - 1009.
49. ZACHARIASSE, K. A.; PHUC, N. V.; KOZANKIEWICZ, B.; Investigation of micelles, microemulsions, and phospholipidbilayers with the pyridinium n-phenolbetaine E_T(30), a polarity probe for aqueous interfaces. *J. Phys. Chem.* **1981**, 85, 2676 - 2683.
50. DAHNE, S.; NOLTE, K-D. Electronic Polarizability of polymethines. *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* **1972**, 1056.
51. MACHADO, C.; NASCIMENTO, M. G.; REZENDE, M. C.; Solvatochromic and halo-chromic behavior of some 4-[(n-methylpyridiniumyl, methylidineamino] phenolate dyes. *J. Chem. Soc. Perkin Trans 2*, **1994**, 2539 - 2544.

7. Anexos – Produção Acadêmica 1998-2000

7.1. Cursos Realizados

1998

- IV SEMANA DA QUÍMICA – O PROFISSIONAL DA QUÍMICA, com o tema: “Atribuições e Mercado de Trabalho” , realizada na Universidade Regional de Blumenau, no período de 05 a 07 de maio.
- DO ATHLETES REQUIRE EXTRA VITAMINS AND MINERALS e THE SIGNIFICANCE OF DIETARY FIBRE FOR HUMAN HEALTH, ministrados pelo Prof. WIM VAN DOKKUM (TNO – Nutrition and Food Research Institute - Holanda), realizados na Universidade Regional de Blumenau, no dia 24 de novembro.
- FREE RADICALS AND ANTIOXYDANTS e THE ART OF LECTURING: HOW TO BECOME A SCIENTIFIC ENTERTAINER, ministrados pelo Prof. WIM VAN DOKKUM (TNO – Nutrition and Food Research Institute Holanda), realizados na Universidade Regional de Blumenau, no dia 25 de novembro.

1999

- PRINCÍPIOS BÁSICOS DE FILTRAÇÃO E SUAS APLICAÇÕES e PURIFICAÇÃO DE ÁGUA PARA LABORATÓRIO. Realizado no auditório da UFSC – Florianópolis – SC no dia 15 de julho.

7.2. Participação em Eventos

1998

- VI ENCONTRO DE QUÍMICA DA REGIÃO SUL, no período de 04 a 06 de novembro, na Universidade Estadual de Maringá, Paraná.

1999

- 22ª REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, realizada em Poços de Caldas, Minas Gerais, em 28 de maio.
- VII ENCONTRO DE QUÍMICA DA REGIÃO SUL, realizado no período de 03 a 05 de novembro em Tubarão, SC.

2000

- 23ª REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, Poços de Caldas, Minas Gerais, 23-26 maio.

7.3. Trabalhos Apresentados em Congressos e Seminários

1999

- Cavalli, V.; Machado, C.; Soldi, V.; Estudos de Fluorescência de Corantes Solvatocrômicos, VII Encontro de Química da Região Sul, Tubarão, SC, 03-05 nov. (FQ-034).

2000

- Cavalli, V.; Machado, C.; Soldi, V.; Influência do Solvente Sobre os Espectros de Fluorescência de Corantes Solvatocrômicos, 23ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Poços de Caldas, 23-26 mai. (FQ-075).