**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA DE SÃO CARLOS**

LUKESE ROSA MENEGUSSI

**Determinação das propriedades fotofísicas da pseudoisocianina no
microdomínio hidrotrópico e de alginato e em outros meios**

Exemplar Revisado

O exemplar original encontra-se disponível no
Serviço de Pós-Graduação do IQSC-USP.

SÃO CARLOS

2011

LUKESE ROSA MENEGUSSI

**Determinação das propriedades fotofísicas da pseudoisocianina no
microdomínio hidrotrópico e de alginato e em outros meios**

Dissertação apresentada ao Instituto de
Química de São Carlos da Universidade
de São Paulo para obtenção do título de
mestre em Ciências.

Área de concentração: Físico-Química

Orientador: Prof. Dr. Miguel Guillermo
Neumann

SÃO CARLOS

2011

*Dedico este trabalho a meus pais, Hilson e Ruth,
pelo apoio, amor e confiança e ao meu irmão Muriel.*

Agradecimentos

- A Deus através de Seu filho Jesus, “porque dele, e por meio dele, e para ele são todas as coisas. A ele, pois, a glória eternamente. Amém!” Rm 11:36
- Ao Prof. Dr. Miguel Guillermo Neumann pelo apoio, sugestões, discussões e pela compreensão sou imensamente grata.
- À Prof.^a Dr.^a Carla C. Schmitt Cavalheiro pelas sugestões que muito ajudaram a alavancar a pesquisa, tanto na parte teórica quanto na prática.
- Aos doutorandos Willy Glen e Letícia Abdias, pela ajuda na adaptação aos equipamentos de trabalho e pela experiência compartilhada. Sem o apoio de vocês este trabalho não teria acontecido!
- Aos meus pais Hilson e Ruth, pelo apoio durante toda a minha vida acadêmica. Vocês são o motivo das minhas conquistas.
- Ao Prof. Dr. Geovane Lopes de Sena pela indicação ao orientador deste trabalho e apoio no início e na finalização do trabalho.
- Aos colegas do Laboratório de Fotoquímica: Tatiana Batista e Josy Osajima pela acolhida para a realização da prova de seleção, e aos demais: Patrícia Coelho, Douglas Machado, Douglas Rosa, Ricardo Escripório e à técnica Alessandra Poli, dentre outros.
- À USP pela disponibilização de seu espaço físico.
- À CNPq pela bolsa concedida.
- Aos professores da comissão avaliadora, Erick L. Bastos e Marcio José Tiera, pela disponibilidade e disposição.
- Aos amigos que tornaram mais leve e alegraram a caminhada: Sara, Daniela, Kariny, Fabiana, Juliana, Denise, Fábio, Rita, Thayro, Elenice, Paulo Alberto, Isac, Lidyane, Luciana, Maria Alice, Tatiane, Tamara, Dhiego, Yara, Orlando, Wesley, meus tios Néia e João Carlos e também àqueles que não foram citados, obrigada!
- Agradeço em especial à Andréa Baraldi pelo apoio e amizade durante todo o tempo em que permaneci nesta cidade. Valeu companheira!
- Às secretárias Andreia Cristina Cardozo de Moraes e Maria Silvia de Guzzi Plepis e aos bibliotecários Bernadete L. C. B. Figueiredo Filho, Jeferson Adalberto Camargo e Eliana de C. Aquareli Cordeiro pela atenção e prestatividade.
- A todos que mesmo indiretamente, contribuíram para este trabalho.

O que quero realmente é isto: que estejamos ao lado da verdade.

Se estivermos ao lado da verdade, estaremos unidos.

E digo isso em todos os âmbitos: científico, social, financeiro, espiritual.

Apresento a partir de agora, a busca pela verdade sobre um sistema em particular.

E os convido a buscarem a verdade sobre ele, comigo.

Resumo

O meio hidrotrópico tem sido intensamente explorado pela indústria a fim de melhorar a solubilização de substâncias pouco solúveis em água. Os hidrótropos são compostos anfifílicos, como os surfactantes, mas os microdomínios formados não têm estruturas bem organizadas como as micelas. O mecanismo de solubilização hidrotrópica não está completamente elucidado. Muitos esforços têm sido feitos nesse sentido tanto em nosso grupo quanto por outros pesquisadores. Os alginatos também formam microdomínios em solução e tem sido bastante estudados devido a suas aplicações na agricultura, farmácia, medicina, dentre outras. Sabe-se que as propriedades fotofísicas de corantes são sensíveis ao meio no qual eles se encontram. Neste trabalho as propriedades fotofísicas do corante pseudoisocianina (PIC) foram determinadas em soluções hidrotrópicas de toluenossulfonato de sódio (TSS) e estirenosulfonato de sódio (ESS), em soluções de metanol, etanol, butanol e etilenoglicol, bem como em solução aquosa de alginato de sódio. Estes estudos também agregam informações para a compreensão do comportamento dos hidrótropos em solução aquosa, usando-se o corante PIC como sonda fotofísica.

Palavras-chave: fotofísica, pseudoisocianina, PIC, hidrótopo, microdomínio, alginato

Abstract

Hydrotropic media have been intensively explored by industry to improve the solubilization of poorly water-soluble substances. Hydrotropes are amphiphilic compounds, such as surfactants, that form microdomains that are not as well-organized as micelles. The mechanism of hydrotropic solubilization is not completely elucidated. Much effort has been done towards this end, in our group and by other researchers. Alginates also form microdomains in solution and have been largely studied due to their applications in agriculture, pharmacy, medicine, among others. It is well-known that the photophysical properties of dyes depend on the environment in which they are placed. In this work, photophysical properties of the dye pseudoisocyanine (PIC) have been determined in hydrotropic solutions of sodium toluenesulphonate (TSS) and sodium styrenesulphonate (ESS), in solutions of methanol, ethanol, butanol and etileneglycol, as well as in sodium alginate aqueous solution. This study also adds information to the understanding of hydrotrope behaviour in aqueous solution by using PIC as a photophysical probe.

Keywords: photophysic, pseudoisocyanine, PIC, hydrotrope, microdomain, alginate

Lista de Figuras

Figura 1 - Unidades químicas de alginato: M = ácido manurônico e G = ácido gulurônico.....	16
Figura 2 - Estrutura geral das cianinas. Adaptado de James e Mees	17
Figura 3 - Heterociclos encontrados nas estruturas das cianinas	17
Figura 4 - Estrutura da pseudoisocianina	18
Figura 5 - Exemplos de cianinas	18
Figura 6 - Espectro de absorção da pseudoisocianina (PIC) em solução aquosa. [PIC] = 5×10^{-6} M	19
Figura 7 - Estrutura da pseudoisocianina (1,1'-dietil-2,2'-cianina) e da 1,1'-metileno-2,2'-cianina.....	20
Figura 8 - Esquema simplificado do diagrama de Jablonski.....	21
Figura 9 - Principais mecanismos de transferência de energia eletrônica.....	24
Figura 10 - Esquema simplificado de espectrofotômetro.....	29
Figura 11 - Esquema simplificado de espectrofluorímetro.....	30
Figura 12 - Princípio da espectroscopia de fotólise por pulso de laser.....	31
Figura 13 - Esquema simplificado do sistema de fotólise por pulso de laser usado.....	32
Figura 14 - Arranjo óptico da luz de análise. Adaptado de LUZCHEM RESEARCH. Laser Flash Photolysis LFP: operating manual	33
Figura 15 - a) Espectros de absorção da pseudoisocianina (PIC) em solução aquosa. b) Absorbância em função da concentração no máximo de absorção.....	38
Figura 16 - Espectros de emissão de PIC em solução aquosa. λ_{EX} : a) 460 nm; b) 490 nm	39
Figura 17 - Estrutura da pseudoisocianina (1,1'-dietil-2,2'-cianina) e da 1,1'-metileno-2,2'-cianina.....	39
Figura 18 - Espectros de absorção (a) e emissão de fluorescência (b) do PICl em vários solventes. [PIC] = 1×10^{-5} M; λ_{EX} : 490 nm.....	40

Figura 19 - Espectros de absorção de PIC em soluções aquosas de: a) estirenosulfonato de sódio (ESS) e b) toluenosulfonato de sódio (TSS). [PIC] = 5×10^{-6} M	41
Figura 20 - Espectros de emissão de fluorescência de PIC em solução aquosa de: a) ESS e b) TSS. Também são mostrados os espectros de emissão de PIC em solução aquosa e o espalhamento dos hidrótropos. [PIC] = 5×10^{-6} M; λ_{EX} = 490 nm	42
Figura 21 - Efeito do aumento de ESS sobre (a) a absorbância e (b) o comprimento de onda do máximo de absorção de PIC em soluções aquosas. [PIC] = 5×10^{-6} M.....	43
Figura 22 - Efeito do aumento de TSS sobre (a) a absorbância e (b) o comprimento de onda do máximo de absorção de PIC em soluções aquosas. [PIC] = 5×10^{-6} M.....	43
Figura 23 - Variação da intensidade máxima de emissão de PIC em soluções aquosas de ESS (a) e TSS (b), corrigidas pelo espalhamento do hidrótropo. [PIC] = 5×10^{-6} M; λ_{EX} = 490 nm	44
Figura 24 - Variação do comprimento de onda do máximo de emissão de PIC em soluções aquosas de ESS (a) e TSS (b). [PIC] = 5×10^{-6} M; λ_{EX} = 490 nm	44
Figura 25 - Espectros de absorção de pseudoisocianina (PIC) em soluções aquosas de alginato de sódio. [PIC] = 5×10^{-6} M	45
Figura 26 - Variação da absorbância das bandas do monômero e do agregado J de PIC em função da concentração de alginato de sódio. [PIC] = 5×10^{-6} M	46
Figura 27 - Espectros de emissão de fluorescência de PIC em soluções aquosas de alginato de sódio. λ_{EX} : a) 460 nm; b) 490 nm. [PIC] = 5×10^{-6} M	46
Figura 28 - Variação da intensidade de emissão de fluorescência de PIC em solução aquosa de alginato de sódio. λ_{EX} : 490 nm. [PIC] = 5×10^{-6} M	47
Figura 29 - Interação PIC-alginato em função da concentração de alginato. M(s): monômero de PIC livre, M(lig): monômero de PIC interagindo com alginato, J: agregado J de PIC	48
Figura 30 - Espectros de emissão de alginato de sódio em solução aquosa. λ_{EX} : a) 460 nm; b) 490 nm	48
Figura 31 - Espectros do transiente de PIC em solução aquosa de toluenosulfonato de sódio. λ_{EX} = 532 nm; [PIC] = $5,7 \times 10^{-6}$ M; [TSS] = 1,8 M	49

Figura 32 - Decaimento do transiente em 640 nm de PIC em solução aquosa de toluenossulfonato de sódio. $\lambda_{EX} = 532$ nm; [PIC] = 5×10^{-6} M; [TSS] = 1,8 M	49
Figura 33 - Decaimento do transiente em 640 nm de PIC em solução aquosa de toluenossulfonato de sódio deoxigenada. $\lambda_{EX} = 532$ nm; [PIC] = $5,7 \times 10^{-6}$ M; [TSS] = 1,8 M	50
Figura 34 - Decaimento do transiente em 640 nm de PIC em solução aquosa de toluenossulfonato de sódio deoxigenado e homogeneizado por tempo curto. $\lambda_{EX} = 532$ nm; [PIC] = $5,7 \times 10^{-6}$ M; [TSS] = 1,8 M	51
Figura 35 - Decaimento do transiente em 640 nm de PIC em solução aquosa de toluenossulfonato de sódio para tempos maiores. $\lambda_{EX} = 532$ nm; [PIC] = $5,7 \times 10^{-6}$ M; [TSS] = 1,8 M	52
Figura 36 - Decaimento do transiente em 740 nm de PIC em solução aquosa de toluenossulfonato de sódio. $\lambda_{EX} = 532$ nm; [PIC] = $5,7 \times 10^{-6}$ M; [TSS] = 1,8 M	53
Figura 37 - Decaimento do transiente em 400 nm de PIC em solução aquosa de toluenossulfonato de sódio. $\lambda_{EX} = 532$ nm; [PIC] = $5,7 \times 10^{-6}$ M; [TSS] = 1,8 M	53
Figura 38 - Decaimento do transiente em 400 nm de PIC em solução aquosa de toluenossulfonato de sódio em escala de tempo estendida. $\lambda_{EX} = 532$ nm; [PIC] = $5,7 \times 10^{-6}$ M; [TSS] = 1,8 M.....	54
Figura 39 - Espectros dos transientes: a) de benzofenona em acetonitrila, e b) da mistura de benzofenona e PIC em solução de acetonitrila/água 50/50 (v/v). $\lambda_{EX} = 355$ nm; [BF] = 5×10^{-3} M; [PIC] = 5×10^{-6} M.....	55
Figura 40 - Decaimento do transiente em 600 nm de PIC sensibilizado por benzofenona em solução de acetonitrila/água 50/50 (v/v). $\lambda_{EX} = 355$ nm; [PIC] = 5×10^{-6} M; [BF] = 5×10^{-3} M.....	56
Figura 41 - Decaimentos do transiente em 600 nm de PIC sensibilizado por benzofenona em solução de acetonitrila/água 50/50 (v/v) e da benzofenona em acetonitrila. $\lambda_{EX} = 355$ nm; [PIC] = 5×10^{-6} M; [BF] = 5×10^{-3} M	56
Figura 42 - Fotofísica de PIC em presença de benzofenona (BF).....	57
Figura 43 - Espectros do transiente de PIC em solução aquosa de alginato de sódio. $\lambda_{EX} = 532$ nm; [PIC] = 5×10^{-6} M; [Alg] = $2,5 \text{ g.L}^{-1}$	57

Figura 44 - Decaimento do transiente em 740 nm de PIC em solução aquosa de alginato de sódio com ajuste: a) bi-exponencial e b) mono-exponencial, registrados na escala de 2,5 μ s. $\lambda_{EX} = 532$ nm; [PIC] = 5×10^{-6} M; [Alg] = 2,5 g.L ⁻¹	58
Figura 45 - Decaimento do transiente em 400 nm de PIC em solução aquosa de alginato de sódio na escala de 2,5 μ s, com ajuste: a) bi-exponencial e b) mono-exponencial. $\lambda_{EX} = 532$ nm; [PIC] = 5×10^{-6} M; [Alg] = 2,5 g.L ⁻¹	58
Figura 46 - Decaimentos dos transientes em 740 e 400 nm de PIC em solução aquosa de alginato de sódio, na escala de 2,5 μ s. $\lambda_{EX} = 532$ nm; [PIC] = 5×10^{-6} M; [Alg] = 2,5 g.L ⁻¹	59
Figura 47 - a) Decaimento do transiente em 740 nm de PIC em solução aquosa de alginato de sódio, na escala de 500 ns; b) ajuste mono-exponencial para a curva de decaimento. $\lambda_{EX} = 532$ nm; [PIC] = 5×10^{-6} M; [Alg] = 2,5 g.L ⁻¹	59
Figura 48 - a) Decaimento do transiente em 740 nm de PIC em solução aquosa de alginato de sódio, na escala de 1 μ s; b) ajuste mono-exponencial para a curva de decaimento. $\lambda_{EX} = 532$ nm; [PIC] = 5×10^{-6} M; [Alg] = 2,5 g.L ⁻¹	60
Figura 49 - a) Decaimento do transiente em 740 nm de PIC em solução aquosa de alginato de sódio, na escala de 2,5 μ s; b) ajuste mono-exponencial para a curva de decaimento. $\lambda_{EX} = 532$ nm; [PIC] = 5×10^{-6} M; [Alg] = 2,5 g.L ⁻¹	60
Figura 50 - a) Decaimento do transiente em 400 nm de PIC em solução aquosa de alginato de sódio, na escala de 1 μ s; b) ajuste mono-exponencial para a curva de decaimento. $\lambda_{EX} = 532$ nm; [PIC] = 5×10^{-6} M; [Alg] = 2,5 g.L ⁻¹	61
Figura 51 - Decaimento do transiente em 740 nm de PIC em solução aquosa de alginato de sódio, na escala de 1 μ s. $\lambda_{EX} = 532$ nm; [PIC] = $5,7 \times 10^{-6}$ M; [Alg] = 0,2 g.L ⁻¹	61
Figura 52 - Decaimento do transiente em 400 nm de PIC em solução aquosa de alginato de sódio, na escala de 500 ns. $\lambda_{EX} = 532$ nm; [PIC] = $5,7 \times 10^{-6}$ M; [Alg] = 0,2 g.L ⁻¹	62
Figura 53 - Decaimento do transiente em 600 nm de PIC em solução aquosa de alginato de sódio, na escala de 500 ns. $\lambda_{EX} = 532$ nm; [PIC] = $5,7 \times 10^{-6}$ M; [Alg] = 0,2 g.L ⁻¹	62

- Figura 54 - Decaimento do transiente em 740 nm de PIC em solução aquosa de alginato de sódio, na escala de 500 ns. $\lambda_{EX} = 532$ nm; $[PIC] = 5,7 \times 10^{-6}$ M; $[Alg] = 1,0 \text{ g.L}^{-1}$ 62
- Figura 55 - Decaimento do transiente em 400 nm de PIC em solução aquosa de alginato de sódio, na escala de 500 ns. $\lambda_{EX} = 532$ nm; $[PIC] = 5,7 \times 10^{-6}$ M; $[Alg] = 1,0 \text{ g.L}^{-1}$ 63
- Figura 56 - Decaimento do transiente em 600 nm de PIC em solução aquosa de alginato de sódio, na escala de 250 ns. $\lambda_{EX} = 532$ nm; $[PIC] = 5,7 \times 10^{-6}$ M; $[Alg] = 1,0 \text{ g.L}^{-1}$ 63

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Classificação das cianinas de acordo com o número n de grupos metino na fórmula.....	18
Tabela 2 - Características dos processos fotofísicos unimoleculares	22
Tabela 3 - Estrutura dos principais compostos utilizados e suas especificações....	27
Tabela 4 - Lasers comumente usados em sistemas de fotólise por pulso de laser.	32
Tabela 5 - Informações sobre o preparo e o tratamento das soluções de PIC em TSS usadas no estudo por fotólise por pulso de laser	35
Tabela 6 - Informações sobre o preparo e o tratamento das soluções de PIC em alginato de sódio usadas no estudo por fotólise por pulso de laser	37
Tabela 7 - Principais resultados dos estudos de PIC em TSS por fotólise por pulso de laser	55
Tabela 8 - Tempos de vida dos transientes de PIC em alginato de sódio.....	64

Sumário

1 INTRODUÇÃO	15
1.1 Hidrótipos	15
1.2 Alginato de sódio	16
1.3 Microdomínios heterogêneos e fotofísica de corantes	16
1.4 Pseudoisocianina.....	17
1.5 Fotoquímica de corantes: Processos fotofísicos em estados eletronicamente excitados	20
2 OBJETIVOS	26
3 PARTE EXPERIMENTAL.....	27
3.1 Compostos utilizados.....	27
3.2 Equipamentos.....	28
3.3 Técnicas Instrumentais	28
3.3.1 Absorção UV-Vis	28
3.3.2 Fluorescência estacionária	29
3.3.3 Fotólise por pulso de laser.....	30
3.4 Procedimentos de preparo das soluções	33
3.4.1 Soluções do corante em meio aquoso.....	33
3.4.2 Absorção e emissão de fluorescência estacionária	34
<u>Soluções do corante em outros meios</u>	34
<u>Soluções de hidrótipos</u>	34
<u>Soluções de alginato de sódio</u>	34
3.4.3. Fotólise por pulso de laser.....	34
<u>Soluções do corante em TSS</u>	34
<u>Soluções do corante em benzofenona</u>	35
<u>Soluções do corante em alginato de sódio</u>	36
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	38

4.1	Absorção eletrônica e emissão de fluorescência estacionária	38
4.1.1	PIC em meio aquoso e de diversos solventes	38
4.1.2	PIC em meio hidrotópico	41
4.1.3	PIC em alginato de sódio.....	45
4.2	Fotólise por pulso de laser	49
4.2.1	PIC e TSS	49
4.2.2	PIC sensibilizado por Benzofenona	55
4.2.3	PIC e Alginato de sódio	57
5	CONCLUSÕES	65
5.1	Estudos de Absorção eletrônica e emissão de fluorescência estacionária	65
5.2	Estudos de Fotólise por pulso de laser	66
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	67
7	APÊNDICE.....	73
7.1	Espalhamento da água.....	73
7.2	Espalhamento dos hidrótopos	75

1 INTRODUÇÃO

1.1 Hidrótropos

Os hidrótropos são compostos anfifílicos que aumentam a solubilidade de compostos orgânicos em água. Uma classe de moléculas com propriedades semelhantes às dos hidrótropos são os surfactantes. Porém, ao contrário dos surfactantes, os hidrótropos não formam estruturas bem organizadas como são as micelas.¹

Os primeiros estudos dessas substâncias foram feitos por Neuberg em 1916.² Neuberg introduziu o termo agente hidrotrópico para designar sais orgânicos aniônicos os quais, em alta concentração, aumentavam consideravelmente a solubilidade em água de compostos orgânicos pouco solúveis. Exemplos de sais orgânicos aniônicos são o benzoato de sódio, os salicilatos, os benzeno-, tolueno-, xileno-, e naftalenossulfonatos, etc. Todavia, moléculas catiônicas como o hidrocloreto do ácido p-aminobenzóico e da procaína e moléculas não iônicas como a cafeína, o pirogallol, o resorcinol e o catecol também apresentam propriedades hidrotrópicas.¹

O aumento da solubilidade promovido pelos hidrótropos é mais expressivo a partir de uma determinada concentração denominada concentração hidrotrópica mínima (MHC, minimum hydrotropic concentration).³ Embora se reconheça que as propriedades dos hidrótropos sofrem grandes mudanças nessa região, o mecanismo de solubilização hidrotrópica não está completamente elucidado. Muitos esforços têm sido feitos nesse sentido tanto em nosso grupo de pesquisa,⁴ quanto por outros pesquisadores.⁵⁻⁷

O extenso uso dos hidrótropos na indústria justifica o grande interesse em entender o comportamento desses sistemas. Eles podem ser encontrados em detergentes e em cosméticos a fim de se obter formulações líquidas homogêneas que preservem seu aspecto e propriedades durante o uso e estocagem.⁷ Também são utilizados para solubilizar drogas pouco solúveis,⁸⁻¹⁰ dentre outras aplicações.

1.2 Alginato de sódio

Os alginatos são polímeros naturais biodegradáveis, hidrofílicos e atóxicos.¹¹ Podem ser definidos como copolímeros dos ácidos α -L-gulurônico e β -D-manurônico ligados por ligações glicosídicas nas posições 1, 4.¹²⁻¹⁴ Essas unidades estruturais dos alginatos são mostradas na Figura 1. As cadeias de ácido β -D-manurônico são mais flexíveis do que as de ácido α -L-gulurônico. Por conseguinte, as propriedades físicas desses polímeros variam com a fração de cadeias de cada ácido que os compõem.¹⁵

Figura 1 - Unidades químicas de alginato: M = ácido manurônico e G = ácido gulurônico.¹⁶

Os alginatos são encontrados nas paredes celulares de algas na forma de sais de cálcio, magnésio ou sódio. Portanto, são muito abundantes na natureza e têm baixo custo de processamento.¹¹ Possuem várias aplicações: na agricultura, como matrizes para a liberação controlada de pesticidas e reguladores de crescimento de plantas. Por serem biodegradáveis, esses polímeros não se acumulam no solo.¹⁷ Em medicina, na engenharia de tecidos, são usados como matrizes para o crescimento de células a fim de obter-se um tecido funcional. O tecido formado dessa maneira pode ser implantado num defeito para restaurar-lhe a função.^{18, 19} Em farmácia, é utilizado para transporte e liberação de drogas,¹¹ e como antiácido,²⁰ dentre outras aplicações.

1.3 Microdomínios heterogêneos e fotofísica de corantes

Tanto os alginatos¹³ quanto os hidrótropos⁵ são exemplos de substâncias que formam microdomínios em solução. Também se podem citar os surfactantes formadores de micelas e alguns polímeros, como o ácido polimetacrílico – PMAA.²¹

Microdomínios são micro-regiões formadas pela interação de moléculas ou outras espécies em solução. As propriedades fotofísicas dos corantes são sensíveis ao meio em que eles se encontram. Portanto, podem variar quando se encontram em microdomínios diferentes.

1.4 Pseudoisocianina

O corante pseudoisocianina (PIC) pertence a uma classe de corantes denominados cianinas.²² A estrutura geral de uma cianina é mostrada na Figura 2. As cianinas possuem dois heterociclos com nitrogênio, um dos quais, quaternário. Os heterociclos podem ser a quinolina, a piridina, o tiazol, o benzotiazol, etc. Na Figura 3 estão mostrados alguns dos heterociclos que podem estar presentes

Figura 2 - Estrutura geral das cianinas. Adaptado de James e Mees.²²

Figura 3 - Heterociclos encontrados nas estruturas das cianinas.²²

Geralmente, grupos alquila ou arila estão ligados ao nitrogênio do heterociclo. As cianinas são sais complexos de amidínio. O íon amidínio é o responsável pela cor do corante. O contra íon pode ser o iodeto, brometo ou cloreto, p-toluenossulfonato, etc. O termo cianina advém da cor da primeira cianina descoberta (Figura 5Figura 5a).

As cianinas são classificadas segundo o número de grupos metino na fórmula (n), como mostrado na Tabela 1.

Tabela 1 - Classificação das cianinas de acordo com o número n de grupos metino na fórmula.²²

n	Cadeia entre os heterociclos	Classe
0	=CH-	Cianina simples
1	=CH-CH=CH-	Carbocianina
2	=CH-CH=CH-CH=CH-	Dicarbocianina
3	=CH-CH=CH-CH=CH-CH=CH-	Tricarbocianina

A pseudoisocianina é uma cianina simples formada por dois anéis quinolínicos com grupos etila ligados aos nitrogênios dos anéis quinolínicos (Figura 4).

Figura 4 - Estrutura da pseudoisocianina.

Figura 5 - Exemplos de cianinas.²²

O termo pseudoisocianina denota a posição na qual os heterociclos quinolínicos estão ligados à cadeia metínica. Quando ambos os heterociclos estão ligados na posição 4, tem-se uma cianina (Figura 5a). Quando um dos heterociclos está na posição 2, tem-se uma isocianina (Figura 5b). E quando ambos os heterociclos estão ligados à cadeia nas posições 2, tem-se uma pseudoisocianina.

A pseudoisocianina possui uma história relativamente longa na literatura, começando pelo seu uso como sensibilizador espectral em fotografia. A fotofísica desse corante é bem conhecida.^{21,23} O espectro de absorção obtido da

pseudoisocianina é mostrado na Figura 6, e é semelhante ao registrado na literatura.²³

Figura 6 - Espectro de absorção da pseudoisocianina (PIC) em solução aquosa. [PIC] = 5×10^{-6} M.

O espectro de absorção de PIC, mostrado na Figura 6, que é o do corante na forma monomérica, possui uma banda de absorção em 520 nm, com um ombro vibrônico em 490 nm e ainda, outro ombro menor em 460 nm.²³ O decréscimo da banda do monômero com o aumento da concentração de corante, acompanhado do aparecimento de uma banda de absorção em 485 nm, perto do ombro vibrônico, caracteriza a formação do dímero.²³

Além destas bandas, outras bandas foram observadas em comprimentos de onda maiores do que o da banda do monômero. Essas bandas foram descobertas independentemente por Scheibe²⁴ e Jelley,²⁵ e atribuídas a outro tipo de agregados. Estes agregados são conhecidos como agregados de Scheibe ou agregados J e a banda que os caracteriza é chamada de banda J.²⁶ A banda J é uma banda fina que aparece na região de 570 nm.

Esses agregados podem ser formados em determinadas condições. Em solução aquosa, foram observados em altas concentrações de PIC,^{27,28} em baixas temperaturas^{29,30} e em altas concentrações de contra-íons.³¹ Também foram encontrados em soluções e filmes poliméricos. Assim, identificaram-se agregados J de PIC em soluções de poliestirenosulfonato³² e de alginato,¹⁵ e em filmes de álcool polivinílico³³ e de alginato.³⁴ Além disso, esses agregados também estão presentes em suspensões de argila³¹ e em filmes de silicatos.³⁵

Outra característica da pseudoisocianina é o fato de ela possuir um tempo de vida no estado excitado singlete muito curto (12-18 ps)^{36,37} e baixo rendimento

quântico de fluorescência em meios pouco viscosos ($6,8 \times 10^{-5}$).^{38,39} Essas características podem estar relacionadas a perdas de energia por desativação não-radiativa do estado singlete devido ao movimento de rotação dos anéis ao redor do grupo metino. De fato, o corante 1,1'-metileno-2,2'-cianina (Figura 7b), cuja estrutura difere de PIC apenas pela ligação rígida do metino entre os anéis aromáticos heterocíclicos, apresenta alta intensidade de emissão mesmo em meios fluidos a temperatura ambiente.⁴⁰

Figura 7 - Estrutura da pseudoisocianina (1,1'-dietil-2,2'-cianina) e da 1,1'-metileno-2,2'-cianina.

Devido ao eficiente decaimento não radiativo do estado singlete excitado, o estado triplete de PIC não pode ser detectado diretamente em solventes não viscosos. Porém, utilizando a benzofenona (BF) como sensibilizador de estados tripletes de menor energia, o triplete foi identificado.²¹

Neste trabalho, foi aproveitada a formação de microdomínios presentes em solução de alginato de sódio e os agregados de toluenossulfonato de sódio para restringir a rotação dos anéis quinolínicos de PIC, permitindo a identificação do transiente do corante. Além disso, estudos de absorção e emissão de fluorescência foram realizados a fim de se entender o comportamento do corante nesses meios.

1.5 Fotoquímica de corantes: Processos fotofísicos em estados eletronicamente excitados^{41,42}

Os processos fotofísicos⁴¹ de uma molécula orgânica podem ser resumidos no diagrama de Jablonski. Um esquema simplificado desse diagrama é mostrado na Figura 8.

Figura 8 - Esquema simplificado do diagrama de Jablonski.⁴³

Ao absorver um fóton, a molécula do corante no estado fundamental singlete (S_0) passa ao primeiro estado excitado singlete (S_1). A partir desse estado, a molécula pode: (i) ser levada ao estado tripleto T_1 , processo denominado cruzamento entre sistemas (ISC); (ii) retornar ao estado fundamental com a emissão de um fóton, por fluorescência ou (iii) sem emissão de fóton, através de conversão interna (IC).

A molécula no estado excitado tripleto (T_1) pode retornar ao estado fundamental: (i) após a emissão de um fóton, fenômeno conhecido como fosforescência ou (ii) sem emitir luz, por cruzamento entre sistemas. A excitação para os estados excitados singlete de maior energia (S_2 , S_3 , etc.) e para os estados excitados tripleto de maior energia (T_2 , T_3 , etc.) geralmente resultam em desativação por relaxação vibracional e conversão interna para os estados S_1 e T_1 , respectivamente, mais rápida do que qualquer outro processo mensurável.⁴²

Os processos fotofísicos são classificados em radiativos, quando envolvem a emissão ou absorção de um fóton. Caso contrário, são ditos não radiativos. As transições radiativas compreendem a absorção de luz, a fluorescência, entre os estados S_1 e S_0 , e a fosforescência, transição T_1 - S_0 . Esses processos estão representados no diagrama da Figura 8 com setas retas. Já as setas onduladas, indicam os processos não radiativos - conversão interna (IC), relaxamento vibracional (VR) e cruzamento entre sistemas (ISC). Dos três processos citados, apenas o cruzamento entre sistemas ocorre entre estados de diferentes multiplicidades.

A possibilidade de ocorrência desses processos é determinada por regras de seleção mecânico-quânticas. Segundo essas regras, as transições eletrônicas entre os estados dependem das energias relativas e da multiplicidade (spin) dos estados. Quanto mais semelhantes as energias dos estados envolvidos na transição, mais provável será a transição. Com respeito à multiplicidade, as transições entre estados de igual multiplicidade são permitidas, enquanto que as mudanças de multiplicidade são proibidas. Transições S_0 - S_1 e T_1 - T_2 são exemplos de transições permitidas. O outro tipo de transição - a proibida - ocorre entre estados de multiplicidades diferentes T-S e S-T. A característica de transição proibida não significa que a transição não possa ocorrer, mas que ocorrerá com baixa probabilidade e velocidade. A Tabela 2 classifica cada uma das transições eletrônicas entre os estados energéticos segundo as regras citadas e fornece o tempo de duração estimado para esses processos.

Tabela 2 - Características dos processos fotofísicos unimoleculares.⁴³

Processo	Transição	Ocorrência	Tempo
absorção	$S_0 + h\nu \rightarrow S_1$	permitida	$\sim 10^{-6}$ ps
fluorescência	$S_1 \rightarrow h\nu_f + S_0$	permitida	1 ns - 1 μ s
conversão interna	$S_n \rightarrow S_1 + \text{calor}$	permitida	0,01 - 10 ps
conversão interna	$S_1 \rightarrow S_0 + \text{calor}$	permitida	1 ps - 1 μ s
ISC (ST)	$S_1 \rightarrow T_1 + \text{calor}$	proibida	1 ns - 0,1 ms
fosforescência	$T_1 \rightarrow S_0 + h\nu_p$	proibida	0,1 ms - 10 s
conversão interna	$T_2 \rightarrow T_1 + \text{calor}$	permitida	0,1 - 1,0 ps
ISC (TS)	$T_1 \rightarrow S_0 + \text{calor}$	proibida	1 μ s - 10 s
relaxação vibracional	$^{(v=n)}S_1 \rightarrow ^{(v=0)}S_1 + \text{calor}$	permitida	0,1 - 1,0 ps

Além dos processos fotofísicos unimoleculares mostrados na Tabela 2, a desativação dos corantes excitados pode ocorrer por processos fotofísicos bimoleculares,⁴⁴⁻⁴⁶ mediante a interação com outras moléculas. Esses processos são denominados processos de supressão. Os supressores podem ser o solvente, impurezas ou até mesmo, o próprio corante. Os processos de desativação de moléculas excitadas por supressores são detalhados a seguir.⁴¹ Os termos D^* e D_0 designam respectivamente, a molécula eletronicamente excitada e no estado

fundamental - essa molécula é chamada de doador; S, Q e A representam, respectivamente, uma molécula de solvente, de um composto qualquer presente no meio e um acceptor de energia.

Nos mecanismos 1 a 3, a energia da molécula excitada (D^*) é transferida ao meio, na forma de energia vibracional, rotacional ou translacional, através de colisões. Esse caso de transferência de energia também se aplica ao processo de relaxação vibracional já visto, no qual o excesso de energia vibracional da molécula excitada é transferido para as moléculas do solvente por meio de colisões. Assim, a energia vibracional é convertida em translacional.

No mecanismo 4, a transferência de energia da molécula doadora excitada D^* para a molécula acceptora (A) promove a excitação do acceptor. Embora todos os processos de supressão de uma molécula eletronicamente excitada (D^*) requeiram a transferência de energia dessa molécula para o supressor, o termo transferência de energia é geralmente restrito aos processos que ocorrem segundo o mecanismo 4, nos quais a energia transferida é a eletrônica. Esse caso de transferência de energia é de grande importância na fotoquímica e será detalhado a seguir.

A molécula doadora de energia (D^*) às vezes também é chamada de sensibilizador. O sensibilizador é uma molécula capaz de absorver energia em um certo comprimento de onda e transferi-la ao acceptor.⁴⁶ A transferência de energia segundo o mecanismo 4, pode ser do tipo intermolecular, quando envolve duas moléculas distintas ou intramolecular, quando ocorre entre diferentes grupos de uma mesma molécula. Ela também pode ser classificada quanto ao mecanismo, sendo radiativa ou não radiativa. A Figura 9 apresenta os principais mecanismos de transferência de energia.

Figura 9 - Principais mecanismos de transferência de energia eletrônica.⁴⁶

Os processos radiativos de transferência de energia também são conhecidos como “triviais”.⁴⁴ Eles recebem esse nome devido à simplicidade de seu mecanismo. Esse processo ocorre em duas etapas. Na primeira, a molécula excitada (D^*) emite um fóton, decaindo ao estado fundamental. A seguir, o aceptor (A) absorve a energia liberada e adquire a configuração de um estado eletrônico excitado (A^*). Esse processo pode ocorrer a longas distâncias.⁴⁶ O mecanismo trivial é esquematizado a seguir:

Os processos não radiativos de transferência de energia ocorrem devido a interações fracas entre as moléculas do doador e do aceptor, durante o tempo em que o doador permanece excitado, antes que aconteça a emissão da radiação.⁴⁴ Podem seguir o mecanismo de Förster ou o de Dexter.⁴⁵ O processo segue o mecanismo de Förster quando há um forte acoplamento dos momentos de transição do aceptor e do doador (acoplamento dipolo-dipolo). A transferência de energia, nesse caso, ocorre por interações coulômbicas, a distâncias maiores ou iguais a 50 Å, distâncias muito maiores do que as dimensões moleculares. Já os processos segundo Dexter, envolvem a sobreposição espacial dos orbitais do doador e do aceptor. Por isso, acontecem somente a curtas distâncias (menores do que 20 Å). Como esse processo requer a proximidade dos orbitais das moléculas envolvidas, que acontece durante as colisões entre as moléculas, é necessária a difusão dessas moléculas uma ao encontro da outra. Assim, a transferência de energia por esse mecanismo tem controle difusional.

A sobreposição dos orbitais moleculares no mecanismo de Dexter origina um complexo eletronicamente excitado chamado de exciplexo ($D^{\cdots}A^*$). Esse tipo de complexo também pode ser formado a partir da interação do doador com o aceptor no estado fundamental e ser excitado em seguida. Quando o doador e o aceptor são

moléculas da mesma espécie, o complexo excitado que elas formam denomina-se excímero. Um exciplexo ou um excímero podem iniciar vários processos fotofísicos ou fotoquímicos de acordo com suas próprias características.⁴¹ Tais complexos também podem emitir radiação e levar as moléculas novamente ao estado fundamental. A formação e emissão desses complexos são descritas a seguir:

ou

Os tipos mais comuns de transferência de energia observados na fotoquímica orgânica são⁴⁶:

Os processos de transferência de energia que foram tratados neste trabalho são: a transferência de energia triplete – triplete, na sensibilização do triplete de PIC por benzofenona, e a supressão do triplete de PIC pelo oxigênio, que precisou ser removido do sistema.

A transferência de energia triplete - triplete ocorre pelo mecanismo de Dexter. Já a transferência de energia singlete - singlete, pode ocorrer também pelo mecanismo de Förster.

2 OBJETIVOS

Objetivo principal:

- ✓ Determinar as propriedades fotofísicas do corante pseudoisocianina em diferentes meios (hidrotrópico, em diversos solventes orgânicos e em alginato de sódio);

Objetivos secundários:

- ✓ Obter os espectros de absorção e emissão de fluorescência da pseudoisocianina nos meios citados;
- ✓ Determinar o tempo de vida do estado excitado tripleto da pseudoisocianina em toluenossulfonato de sódio e em alginato de sódio; comparar o tempo de vida obtido nesses meios com o tempo de vida da pseudoisocianina sensibilizada por benzofenona.
- ✓ Agregar informações ao estudo do comportamento de hidrótrofos em solução aquosa.

3 PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Compostos utilizados

Os principais compostos utilizados nos estudos encontram-se relacionados na Tabela 3.

Tabela 3 - Estrutura dos principais compostos utilizados e suas especificações.

Substância	Estrutura	Procedência	Pureza	MM (g.mol ⁻¹)
1,1'-dietil-2,2'-cianina (pseudoisocianina, PIC)		Sigma-Aldrich	PICCl: 100% PICl: 97%	PICCl: 362,91 PICl: 454,35
Estirenosulfonato de Sódio (ESS)		Sigma-Aldrich	≥99%	206,19
Toluenosulfonato de Sódio (TSS)		Sigma-Aldrich	95%	194,19
Benzofenona (BF)		Vetec	99%	182,22
Alginate de sódio (Alg) ¹²		Sigma-Aldrich	-	-

Os solventes utilizados foram: Água purificada pelo sistema Milli-Q, etanol (Mallinckrodt), metanol (Tedia), butanol (Mallinckrodt), etilenoglicol (Mallinckrodt) e acetonitrila (Tedia).

3.2 Equipamentos

As medidas de absorção foram realizadas utilizando-se um espectrofotômetro UV-vis Shimadzu, Modelo UV-2550; e as de fluorescência, usando um espectrofluorímetro Hitachi, Modelo F-4500. As medidas de fotólise por pulso de laser foram obtidas em um sistema Luzchem, Modelo LFP-112/122, conjugado a um laser de Nd:YAG Quantel, Modelo Brilliant B, com pulso de 5,2 ns de duração.

3.3 Técnicas Instrumentais

3.3.1 Absorção UV-Vis^{47,48}

A espectroscopia de absorção molecular é baseada na medida da transmitância T ou da absorbância A de soluções contidas em células transparentes de caminho ótico b (cm). A concentração C de uma substância que absorve radiação está relacionada à absorbância pela equação

$$A = -\log T = \log\left(\frac{1}{T}\right) = \epsilon b C \quad (11)$$

Onde ϵ é o coeficiente de extinção, que depende do comprimento de onda e pode ser alterado pelas condições experimentais, tais como temperatura e solvente.

Um esquema simplificado do espectrofotômetro usado está mostrado na Figura 10.

Figura 10 - Esquema simplificado de espectrofotômetro.

A lâmpada de deutério (D_2) fornece um espectro contínuo na região do ultravioleta, enquanto a lâmpada de tungstênio (WI) fornece radiação no visível e no infravermelho. O monocromador é usado para variar o comprimento de onda continuamente ao longo de uma faixa considerável. A fotomultiplicadora é o detector. Ela transforma o sinal luminoso em elétrico através da extração de elétrons do fotocátodo pelos fótons e a aceleração desses elétrons por diferença de potencial entre os eletrodos, o que resulta na amplificação do sinal elétrico. O conversor A/D converte a corrente alternada para contínua. O sinal elétrico é processado num computador. O micro-computador do aparelho controla a troca de lâmpadas, a seleção de filtros e a largura das fendas, e todos os comandos do computador.

3.3.2 Fluorescência estacionária^{49,50}

A fluorescência é o processo de retorno de uma espécie no primeiro estado excitado singlete (S_1) para o estado singlete fundamental, com a emissão de um fóton. Na espectroscopia de fluorescência estacionária a amostra é exposta a uma fonte de luz e a intensidade ou o espectro de emissão é registrado.

Um esquema simplificado do espectrofluorímetro usado está mostrado na Figura 11.

Figura 11 - Esquema simplificado de espectrofluorímetro.

O arranjo instrumental do espectrofluorímetro é semelhante ao do espectrofotômetro. A principal diferença entre os dois equipamentos é que no espectrofluorímetro, o monocromador de emissão e a fotomultiplicadora encontram-se a 90° da fonte para evitar interferências da radiação da lâmpada na emissão do fluoróforo.

3.3.3 Fotólise por pulso de laser⁵¹

O desenvolvimento da técnica de fotólise por pulso de laser deve-se principalmente aos trabalhos de Norrish e Porter publicados a partir de 1950.⁴¹ Entretanto, foi o desenvolvimento do laser em 1960 que permitiu que essa técnica alcançasse completamente seu potencial. O uso de fontes de alta intensidade (um pulso de luz de alta intensidade e de curta duração) tornou possível a geração de altas concentrações de transientes⁴¹ de tempos de vida curtos, tais como radicais, birradicais, estados eletronicamente excitados, excíplexos, íons radicais, etc.

As condições que determinam quando a técnica de fotólise por pulso de laser pode ser usada no estudo de um dado sistema químico são: (i) o precursor das espécies de interesse cinético deve absorver luz (normalmente do laser pulsado); (ii) essas espécies devem ser produzidas numa escala de tempo pequena, em relação ao seu tempo de vida no sistema.

No caso da análise do estado excitado triplete de uma molécula, incide-se um pulso de luz de alta intensidade e de curta duração sobre a amostra de modo a excitar uma população razoável de moléculas da amostra, que por cruzamento entre sistemas (ISC) passam para o estado triplete T_1 . Antes que essas moléculas retornem ao estado singlete fundamental, uma segunda fonte de luz é incidida na amostra e leva as espécies de T_1 ao segundo estado triplete T_2 pela absorção de um fóton, como ilustrado no esquema da Figura 12.⁴¹

Figura 12 - Princípio da espectroscopia de fotólise por pulso de laser.⁴³

Alguns lasers comumente usados nessa técnica são listados na Tabela 4. Os pulsos têm duração de 2-20 ns.⁵²

Tabela 4 - Lasers comumente usados em sistemas de fotólise por pulso de laser.⁵²

Laser	Fundamental / nm	Harmônicos / nm
Nitrogênio	337	
Excímero	157	
	193	
	248	
	308	
	351	
Rubi	694	347
Nd / YAG	1064	532, 355, 266

O laser de Nd / YAG compõe o sistema usado neste trabalho. Foi usado nos comprimentos de onda de 532 e 355 nm, adequados à excitação da pseudoisocianina e da benzofenona que sensibiliza o tripleto desse corante.

O sistema de detecção mais comum é similar ao de um espectrofotômetro, porém com detecção mais rápida.

Um esquema simplificado do sistema de fotólise por pulso de laser usado é mostrado na Figura 13 e o arranjo óptico da luz de análise é detalhado na Figura 14.

Figura 13 - Esquema simplificado do sistema de fotólise por pulso de laser usado.

Figura 14 - Arranjo óptico da luz de análise. Adaptado de LUZCHEM RESEARCH. Laser Flash Photolysis LFP: operating manual.⁵²

Na Figura 14, vê-se que o pulso de luz do laser incide ortogonalmente à amostra. Logo após o pulso de laser incidir sobre a amostra, a lâmpada de análise (uma lâmpada de xenônio) é acionada automaticamente e um pulso de luz chega à amostra através de fibras ópticas. Antes do feixe de luz chegar à amostra, a luz passa por um filtro que evita a irradiação da amostra em comprimentos de onda desnecessários, e por um colimador de feixe com lentes fundidas. Parte da luz é absorvida pelas moléculas em análise no estado tripleto T_1 que passam ao segundo estado excitado tripleto T_2 . A luz não absorvida pela amostra é levada ao monocromador através da fibra óptica e em seguida, à fotomultiplicadora, na qual o sinal luminoso é transformado em elétrico. O sinal pode ser lido no osciloscópio ou no computador, onde é processado.

3.4 Procedimentos de preparo das soluções

3.4.1 Soluções do corante em meio aquoso

Foi preparada uma solução estoque de PICCl na concentração de $1,9 \times 10^{-4}$ M, em meio aquoso. Por diluição, foram obtidas as concentrações de corante desejadas. Essa solução foi usada em todos os estudos em meio aquoso de ESS, TSS e alginato de sódio.

O preparo das demais soluções foi dividido em duas categorias, de acordo com a técnica usada.

3.4.2 Absorção e emissão de fluorescência estacionária

Soluções do corante em outros meios

Para o estudo de PIC em outros solventes, foi preparada uma solução estoque de PICI na concentração de 2×10^{-3} M em água e etanol. A solução estoque foi diluída nos solventes: água, etanol, metanol, butanol e etilenoglicol.

Soluções de hidrótipos

Foram preparadas soluções aquosas de ESS e TSS nas concentrações de 0,8 e 2,0 M, respectivamente. Por diluição, obtiveram-se as concentrações de hidrótipo desejadas.

Soluções de alginato de sódio

Foi preparada uma solução de alginato de sódio $2,8 \text{ g.L}^{-1}$. Por diluição, foram obtidas soluções nas concentrações de alginato desejadas.

3.4.3. Fotólise por pulso de laser

Soluções do corante em TSS

Foram preparadas soluções estoque de TSS na concentração de 2,0 M. Por diluição, foram obtidas soluções de TSS na concentração de 1,8 M. Entretanto, as soluções estoque receberam tratamentos diferentes para a solubilização do hidrótipo. A segunda solução de TSS preparada permaneceu no ultrassom por cerca de 10 min. Já a terceira solução, esteve no ultrassom por menos de 3 min.

Após a diluição, as soluções de PIC em TSS foram tratadas para remoção do oxigênio. Na primeira solução preparada, borbulhou-se nitrogênio por 40 min. Já as outras duas soluções foram submetidas a 5 ciclos de descongelamento / descongelamento. Em cada ciclo, a solução congelada esteve sob vácuo por cerca de 5 min.

Os detalhes do preparo das soluções de PIC em TSS mencionadas estão resumidos na Tabela 5.

Tabela 5 - Informações sobre o preparo e o tratamento das soluções de PIC em TSS usadas no estudo por fotólise por pulso de laser.

Sol.	[PIC] / M	Absorção (532 nm)	Remoção de O ₂	Tempo no ultrassom*
1	5×10^{-6}	0,3	N ₂ , 40 min	-
2	6×10^{-6}	0,5	5 ciclos de congelamento / descongelamento (5 min de vácuo / ciclo)	~10 min
3	6×10^{-6}	0,5	5 ciclos de congelamento / descongelamento (5 min de vácuo / ciclo)	<3 min

*Solução estoque de TSS.

Nos experimentos de fotólise por pulso de laser para o estudo de PIC em TSS, o laser foi utilizado na potência de 160 mJ. O comprimento de onda de excitação do laser foi de 532 nm.

Soluções do corante em benzofenona

Para obtenção do espectro e do decaimento do transiente da benzofenona foi preparada uma solução estoque de benzofenona 1×10^{-2} M em acetonitrila. Essa solução foi diluída em acetonitrila resultando numa solução 5×10^{-3} M.

Para análise do transiente de PIC em benzofenona foi utilizada a mesma solução estoque de PIC 2×10^{-3} M preparada em água e etanol usada no estudo de PIC em outros solventes. Para a benzofenona, foi preparada uma nova solução estoque na concentração de 1×10^{-2} M em acetonitrila. Essas soluções foram diluídas, resultando numa solução de PIC 5×10^{-6} M e benzofenona 5×10^{-3} M em 50/50 (v/v) acetonitrila / água.²¹

Soluções do corante em alginato de sódio

Foram preparadas três soluções estoque de alginato de sódio em água nas concentrações de $2,6 \text{ g.L}^{-1}$, $2,8 \text{ g.L}^{-1}$ e $1,5 \text{ g.L}^{-1}$. Por diluição, foram obtidas as soluções de alginato de sódio usadas nos experimentos. Todas as soluções estoque de alginato de sódio repousaram durante pelo menos 12h após preparadas até serem diluídas.

As soluções de PIC em alginato foram tratadas para remoção de oxigênio conforme o procedimento usado no estudo de PIC em TSS. Para a primeira solução de PIC em alginato $2,5 \text{ g.L}^{-1}$, só depois de 12 h do preparo foram obtidos sinais de transientes.

A mesma solução foi submetida a desareação por ciclos de congelamento / descongelamento, tendo permanecido sob vácuo por cerca de 10 min em cada ciclo. Na aquisição do espectro, foi necessário agitar a amostra a cada 5 pulsos (ou seja, a cada 10 nm), para homogeneizar a solução após os pulsos. A absorção da solução em 532 nm foi de 0,3, para uma concentração de PIC de $5 \times 10^{-6} \text{ M}$.

Nas demais soluções de PIC em alginato, o sinal obtido no experimento de fotólise por pulso de laser foi menor do que o obtido para a primeira solução analisada, para potência semelhante (44,5 mJ). Essas soluções foram analisadas logo após o tratamento de remoção do oxigênio. A absorção das soluções em 532 nm estiveram entre 0,2-0,3 para o corante na concentração de $5 \times 10^{-6} \text{ M}$ contendo $2,5 \text{ g.L}^{-1}$ de alginato e de $5,7 \times 10^{-6} \text{ M}$ para as duas outras soluções.

Os detalhes do preparo das soluções de PIC em alginato de sódio usadas nesse estudo são mostrados na Tabela 6.

Tabela 6 - Informações sobre o preparo e o tratamento das soluções de PIC em alginato de sódio usadas no estudo por fotólise por pulso de laser.*

Sol.	[Alg] / (g.L⁻¹)	Remoção de O₂
		2x 5 ciclos de congelamento / descongelamento
1	2,5	(6 e 10 min de vácuo / ciclo, respectivamente); intervalo entre os ciclos: ~12h
2	2,5	5 ciclos de congelamento / descongelamento (5 min de vácuo/ciclo)
3	0,2	5 ciclos de congelamento / descongelamento (5 min de vácuo / ciclo)
3	1,0	5 ciclos de congelamento / descongelamento (5 min de vácuo / ciclo)

*As concentrações de PIC em solução de alginato de sódio estiveram entre $5\text{-}6 \times 10^{-6}$ M, resultando em uma absorção de 0,3 em 532 nm.

Nos experimentos de fotólise por pulso de laser para o estudo de PIC em alginato de sódio, o laser foi utilizado na potência de aproximadamente 45 mJ. O comprimento de onda de excitação do laser foi de 532 nm.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Absorção eletrônica e emissão de fluorescência estacionária

4.1.1 PIC em meio aquoso e de diversos solventes

Medidas de absorção e emissão de fluorescência estacionária foram realizadas utilizando-se o corante pseudoisocianina (PIC) na presença do contra-íon cloreto para se avaliar o seu comportamento fotofísico nos estados fundamental e excitado. Os espectros de absorção eletrônica obtidos para o corante em meio aquoso, na faixa de concentração de 1×10^{-6} a 1×10^{-5} M, são apresentados na Figura 15; os de emissão de fluorescência, excitando-se o corante em 460 e em 490 nm, são mostrados na Figura 16.

Figura 15 - a) Espectros de absorção da pseudoisocianina (PIC) em solução aquosa. b) Absorbância em função da concentração no máximo de absorção.

Figura 16 - Espectros de emissão de PIC em solução aquosa. λ_{EX} : a) 460 nm; b) 490 nm.

Na Figura 15a, notam-se a banda de absorção do monômero em 520 nm e as bandas vibrônicas em 490 e 460 nm. A relação entre as intensidades da banda e do ombro vibrônico em 490 nm é constante na faixa de concentração de corante considerada. Portanto, PIC encontra-se na forma monomérica nesse intervalo de concentrações. De fato, a formação de dímeros de PIC só foi observada em solução aquosa para concentrações de corante acima de aproximadamente $5 \times 10^{-4} \text{ M}$.²³

Na Figura 15b, está o gráfico para calcular o coeficiente de extinção molar de PIC obtido a partir dos espectros da Figura 15a, encontrando-se um valor de $8,4 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$. Esse valor é coerente com os valores registrados na literatura, os quais são de aproximadamente $6,2 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.^{23,21}

Na Figura 16a e b, observa-se que pseudoisocianina apresentou baixa emissão de fluorescência. Esse comportamento deve-se ao considerável decaimento não-radiativo do estado excitado singlete. O movimento de rotação em torno do metino desempenha um papel importante nesse processo.²¹ De fato, o corante 1,1'-metileno-2,2'-cianina (Figura 17), cuja estrutura difere de PIC apenas pela ligação rígida do metino entre os anéis aromáticos heterocíclicos, apresenta alta intensidade de emissão mesmo em meios fluidos, a temperatura ambiente.⁴⁰

Figura 17 - Estrutura da pseudoisocianina (1,1'-di-2,2'-cianina) e da 1,1'-metileno-2,2'-cianina.

A fim de se avaliar a influência da viscosidade do meio na absorção e na emissão de fluorescência do corante, medidas de absorção e emissão de fluorescência estacionária foram realizadas em solução aquosa e em diferentes solventes orgânicos: etanol, butanol e etilenoglicol. Os espectros de absorção e emissão do PICl nesses solventes são mostrados na Figura 18.

Figura 18 - Espectros de absorção (a) e emissão de fluorescência (b) do PICl em vários solventes. $[PIC] = 1 \times 10^{-5} \text{ M}$; $\lambda_{EX} = 490 \text{ nm}$.

Nota-se que a absorção do corante não segue um padrão ao se considerar o aumento da cadeia carbônica do solvente. A absorção é maior em etanol, comparado com a água, porém menor em butanol; já no etilenoglicol, a absorção aumenta em relação à água, mas também em relação ao butanol, meio no qual a absorção é menor que em água. Esses resultados levam à consideração que outros fatores além da viscosidade do meio afetam a absorção. Dentre eles, pode-se citar a constante dielétrica do solvente.

Por outro lado, pode-se observar que a emissão de fluorescência do corante aumenta com a viscosidade do solvente. A explicação para esse comportamento é que o aumento da rigidez do meio dificulta a rotação dos anéis quinolínicos de PIC ao redor do grupo metino, o que minimiza a desativação não-radiativa. O caso extremo desse efeito seria a total rigidez da ligação, como ocorre no análogo de PIC citado, que resulta em altas intensidades de emissão de fluorescência.

4.1.2 PIC em meio hidrotrópico

Espectros de absorção e emissão do corante também foram obtidos em meio hidrotrópico. Dois hidrótropos foram estudados: o estirenosulfonato de sódio (ESS) e o toluenosulfonato de sódio (TSS). As concentrações de ESS estiveram na faixa de 0,03 a 0,6 M e as de TSS, de 0,2 a 1,8 M. Os intervalos de concentração foram escolhidos com o intuito de englobar as regiões de Concentração Hidrotrópica Mínima (MHC) de cada hidrótropo, que é em torno de 1,0 M para o TSS e de 0,1 M para o ESS.³ É importante conhecer o sistema nessa faixa de concentração, pois, a mesma corresponde à região de concentração a partir da qual há mudanças nas estruturas e propriedades do hidrótropo no meio aquoso. Os espectros de absorção e emissão de fluorescência obtidos para o corante em meio hidrotrópico são mostrados nas Figuras 19 e 20, respectivamente.

Figura 19 - Espectros de absorção de PIC em soluções aquosas de: a) estirenosulfonato de sódio (ESS) e b) toluenosulfonato de sódio (TSS). $[PIC] = 5 \times 10^{-6}$ M.

Figura 20 - Espectros de emissão de fluorescência de PIC em solução aquosa de: a) ESS e b) TSS. Também são mostrados os espectros de emissão de PIC em solução aquosa e o espalhamento dos hidrótropos. $[PIC] = 5 \times 10^{-6} \text{ M}$; $\lambda_{EX} = 490 \text{ nm}$.

Os máximos de absorção do corante em meio de ESS e TSS, (nas Figuras 19a e b, respectivamente), mostram um deslocamento batocrômico devido à presença dos hidrótropos na solução. Além disso, o corante apresentou maior absorção nesse meio comparado ao meio aquoso. Esses efeitos assemelham-se aos observados para o corante em solução aquosa de ácido poli(metacrílico) (PMAA) a pH baixo²¹ e devem-se principalmente à interação hidrofóbica de PIC com o polímero enovelado. Já em pHs mais elevados, o polímero enovelado passa a uma conformação estendida e a interação eletrostática entre o corante e o polímero torna-se mais importante. A partir desses dados, pode-se inferir que os efeitos observados na fotofísica do corante em meio hidrotrópico podem se dever a interações eletrostáticas entre o grupo sulfonato dos hidrótropos e o corante catiônico, assim como a interações hidrofóbicas entre o corante e os agregados do hidrotropo. Muito possivelmente exista a influência de ambos os fatores.

A seleção do comprimento de onda de excitação de 490 nm para o estudo de emissão de PIC em meio hidrotrópico foi feita a partir da análise dos espectros de emissão de fluorescência do corante nesse meio em vários comprimentos de onda de excitação. O comprimento de onda de excitação escolhido minimiza o espalhamento do hidrotropo em solução. Os hidrótropos potencializam o espalhamento da água e os espalhamentos variam em função do comprimento de onda. Os detalhes dessa análise são discutidos no Apêndice.

A emissão de fluorescência do corante (Figuras 20a e b) também aumenta no meio hidrotrópico, semelhantemente ao observado para PIC em presença de PMAA

a baixo pH.²¹ A explicação desse comportamento é semelhante ao sugerido para o caso dos outros meios rígidos: a interação corante - hidrótopo diminui a mobilidade da ligação entre os anéis quinolínicos, aumentando a emissão.

O deslocamento dos máximos de absorção e a variação da absorbância, bem como dos máximos de emissão de fluorescência e da intensidade de emissão de fluorescência estão mostradas nas Figuras 21 e 22.

Figura 21 - Efeito do aumento de ESS sobre (a) a absorbância e (b) o comprimento de onda do máximo de absorção de PIC em soluções aquosas. $[PIC] = 5 \times 10^{-6}$ M.

Nas Figuras 21a e b, observa-se que a variação da absorbância e o deslocamento do comprimento de onda do máximo do corante são maiores na região da MHC do ESS, ao redor de 0,1 M. Em concentrações de ESS acima dessa região, a absorbância parece ser constante. Este comportamento de PIC em ESS é semelhante ao obtido em TSS, mostrado na Figura 22.

Figura 22 - Efeito do aumento de TSS sobre (a) a absorbância e (b) o comprimento de onda do máximo de absorção de PIC em soluções aquosas. $[PIC] = 5 \times 10^{-6}$ M.

Na Figura 22a, nota-se que a absorção cresce em função da concentração de TSS e se mantém constante na faixa de concentração de TSS que vai de 0,8 até 1,8 M, região nas proximidades da MHC do TSS, que é aproximadamente 1,0 M. O mesmo foi observado na Figura 22b, com relação ao deslocamento do máximo de absorção.

Figura 23 - Variação da intensidade máxima de emissão de PIC em soluções aquosas de ESS (a) e TSS (b), corrigidas pelo espalhamento do hidrótropo. $[PIC] = 5 \times 10^{-6} \text{ M}$; $\lambda_{EX} = 490 \text{ nm}$.

Na Figura 23a, nota-se que a emissão de fluorescência aumenta em função da concentração de ESS até aproximadamente 0,1 M, permanecendo constante na região de 0,1 a 0,3 M, já acima da MHC.

Da mesma forma, a emissão de fluorescência de PIC aumenta com a adição de TSS ao meio.

Figura 24 - Variação do comprimento de onda do máximo de emissão de PIC em soluções aquosas de ESS (a) e TSS (b). $[PIC] = 5 \times 10^{-6} \text{ M}$; $\lambda_{EX} = 490 \text{ nm}$

Nas Figuras 24a e b, observa-se o efeito hipsocrômico devido à presença dos hidrótropos na solução. O efeito é maior até próximo da MHC. Acima dessa região, o comprimento de onda parece que não muda.

4.1.3 PIC em alginato de sódio

O espectro de absorção eletrônica de PIC em solução aquosa de alginato de sódio pode ser visto na Figura 25. Este espectro é semelhante ao registrado na literatura.¹⁵

Figura 25 - Espectros de absorção de pseudoisocianina (PIC) em soluções aquosas de alginato de sódio. $[PIC] = 5 \times 10^{-6}$ M.

Após a adição de uma pequena quantidade de alginato de sódio à solução observa-se a formação de uma banda por volta de 570 nm. Esta banda caracteriza o agregado J do corante^{15,34,27,32,33} e aumenta à medida que há um acréscimo de alginato de sódio à solução. A Figura 26 mostra as absorbâncias no máximo de absorção do monômero e do agregado J do corante, extraídos dos espectros da Figura 25. Observa-se que o crescimento da banda J é concomitante com a diminuição da banda do monômero.

Figura 26 - Variação da absorbância das bandas do monômero e do agregado J de PIC em função da concentração de alginato de sódio. $[PIC] = 5 \times 10^{-6}$ M.

Os espectros de emissão de fluorescência de PIC também foram obtidos nesse meio, com excitação em dois comprimentos de onda diferentes, 460 e 490 nm (Figura 27). Comparando-se ambos os espectros, vê-se que o comportamento de PIC é semelhante para ambos os comprimentos de onda de excitação. A variação do máximo de emissão do corante em função da concentração de alginato excitado em 490 nm está mostrada na Figura 28.

Figura 27 - Espectros de emissão de fluorescência de PIC em soluções aquosas de alginato de sódio. λ_{EX} : a) 460 nm; b) 490 nm. $[PIC] = 5 \times 10^{-6}$ M.

Figura 28 - Variação da intensidade de emissão de fluorescência de PIC em solução aquosa de alginato de sódio. λ_{EX} : 490 nm. $[PIC] = 5 \times 10^{-6}$ M.

O comportamento do corante observado nas Figuras 27 e 28 pode ser explicado pela forma como ele se posiciona em relação ao agregado de alginato (Figura 29). A interação corante-alginato diminui a mobilidade da ligação entre os anéis quinolínicos da molécula de corante, reduzindo os decaimentos não radiativos de energia e, por conseguinte, aumenta a emissão. A aproximação dos monômeros de PIC ao agregado de alginato também propicia maior contato entre os monômeros, favorecendo sua agregação e dando lugar ao crescimento da banda de absorção do agregado. Ambos os efeitos estão esquematizados na Figura 29b. A quantidade de monômeros que interagem com os agregados de alginato e a de agregados J aumenta até a concentração de alginato de $2,0 \times 10^{-1}$ g.L⁻¹ (Figura 29c). Porém, nas concentrações superiores, o número de sítios ligantes de COO⁻ aumenta muito e os monômeros ligados ao alginato por estar mais próximos, podem interagir entre si e formar agregados (Figura 29d). Assim, há uma diminuição da intensidade de emissão, mas um aumento da absorção na banda em 570 nm. A situação na concentração mais alta de alginato assemelha-se então à inicial, na menor concentração de alginato, pois se tem uma quantidade similar de monômeros ligados ao alginato. Resultados similares foram obtidos para PIC em soluções de poliacrilato de sódio, PA (MM 30.000 g.mol⁻¹) e de polivinilsulfonato de potássio, PVS, e em filme de ácido poliestirenosulfônico, PSS.⁵³

Figura 29 - Interação PIC-alginato em função da concentração de alginato. M(s): monômero de PIC livre, M(lig): monômero de PIC interagindo com alginato, J: agregado J de PIC.

A emissão do alginato de sódio em solução aquosa também foi analisada excitando nos dois comprimentos de onda do estudo de PIC. Foi encontrado que essa emissão é desprezível para a análise do corante nesse meio, devido a que sua intensidade é muito pequena quando comparada com a emissão do corante. Os espectros de emissão do alginato, ou espalhamento, são mostrados na Figura 30.

Figura 30 - Espectros de emissão de alginato de sódio em solução aquosa. λ_{EX} : a) 460 nm; b) 490 nm.

4.2 Fotólise por pulso de laser

4.2.1 PIC e TSS

Figura 31 - Espectros do transiente de PIC em solução aquosa de toluenossulfonato de sódio. $\lambda_{EX} = 532 \text{ nm}$; $[PIC] = 5,7 \times 10^{-6} \text{ M}$; $[TSS] = 1,8 \text{ M}$.

O espectro do transiente de PIC em solução aquosa de toluenossulfonato de sódio está mostrado na Figura 31. Nota-se um mínimo na região de absorção do corante (entre 500 e 560 nm) que é concomitante à formação das bandas em 640 nm e na região de 400 nm.

O decaimento do transiente observado na região de 640 nm é mostrado na Figura 32.

Figura 32 - Decaimento do transiente em 640 nm de PIC em solução aquosa de toluenossulfonato de sódio. $\lambda_{EX} = 532 \text{ nm}$; $[PIC] = 5 \times 10^{-6} \text{ M}$; $[TSS] = 1,8 \text{ M}$.

O tempo de vida do transiente é de cerca de 7 μs . Esse tempo de vida é semelhante ao obtido para o corante sensibilizado por benzofenona (8 μs , em 600 nm) na ausência de hidrótropo.

A fim de se avaliar o efeito do oxigênio, refez-se o decaimento do transiente partindo-se de uma solução de PIC e TSS onde o oxigênio foi removido mediante ciclos de congelamento e descongelamento da solução. O decaimento do transiente, nestas condições, no mesmo comprimento de onda do experimento anterior é mostrado na Figura 33.

Figura 33 - Decaimento do transiente em 640 nm de PIC em solução aquosa de toluenossulfonato de sódio deoxigenada. $\lambda_{\text{EX}} = 532 \text{ nm}$; $[\text{PIC}] = 5,7 \times 10^{-6} \text{ M}$; $[\text{TSS}] = 1,8 \text{ M}$.

Nota-se que o tempo de vida do transiente que era de cerca de 7 μs aumentou para 16 μs . Esse aumento era esperado devido à remoção do oxigênio do meio.²¹ Também foi estudado o decaimento deste mesmo transiente em uma nova solução na qual o TSS ficou menos tempo no ultrassom para homogeneização. A remoção de oxigênio também foi feita mediante ciclos de congelamento / descongelamento. O decaimento observado, mostrado na Figura 34, corresponde a um tempo de vida de 26 μs , maior do que determinados anteriormente.

Figura 34 - Decaimento do transiente em 640 nm de PIC em solução aquosa de toluenossulfonato de sódio deoxigenado e homogeneizado por tempo curto. $\lambda_{EX} = 532 \text{ nm}$; $[PIC] = 5,7 \times 10^{-6} \text{ M}$; $[TSS] = 1,8 \text{ M}$.

O aumento no tempo de vida do transiente pode ser explicado por dois fatores: por um lado, o curto tempo no qual a solução estoque de TSS, diluída para gerar essa solução, esteve no ultrassom, o que possivelmente diminuiu a solubilidade de oxigênio nos microambientes do hidrótopo; e por outro lado, a melhor remoção do oxigênio do meio mediante os ciclos de congelamento / descongelamento. Considerando-se que o melhor valor de tempo de vida (que sempre é o maior) foi observado para essa solução, as análises dos transientes nas demais regiões serão mostradas apenas para essa solução.

Na Figura 34 observa-se, ainda, que o decaimento do transiente não volta à linha de base. Para avaliar o término do decaimento do transiente foi ampliada a escala de tempo, mostrada na Figura 35.

Figura 35 - Decaimento do transiente em 640 nm de PIC em solução aquosa de toluenossulfonato de sódio para tempos maiores. $\lambda_{EX} = 532 \text{ nm}$; $[PIC] = 5,7 \times 10^{-6} \text{ M}$; $[TSS] = 1,8 \text{ M}$.

Na Figura 35, embora o decaimento do transiente termine mais próximo da linha de base que o obtido na escala menor, o tempo de vida determinado para o transiente em 640 nm, na escala de 500 μs , não difere do obtido na primeira escala. Portanto, esta absorvância não pode ser atribuída ao triplete de PIC, já que o triplete (sensibilizado por benzofenona) tem um tempo de vida ao redor de 8 μs .

O fato de os decaimentos dos transientes analisados não voltarem à linha de base também foi notado para PIC em solução de PMAA, na ausência de oxigênio.²¹ Existem duas hipóteses para esse comportamento:

- 1) Forma-se uma espécie estável a partir do triplete, que portanto, não decai.
- 2) Forma-se uma espécie instável com tempo de vida muito longo e que é visto como sendo constante na escala usada.

Um comportamento semelhante ao de PIC em TSS e em PMAA também foi observado para o corante Safranina.⁵⁴ Dependendo das condições de pH, a absorvância residual foi atribuída à formação de uma espécie radicalar semi-oxidada ou semi-reduzida.

Figura 36 - Decaimento do transiente em 740 nm de PIC em solução aquosa de toluenossulfonato de sódio. $\lambda_{EX} = 532 \text{ nm}$; $[PIC] = 5,7 \times 10^{-6} \text{ M}$; $[TSS] = 1,8 \text{ M}$.

O decaimento do transiente em 740 nm é mostrado na Figura 36, apresentando um tempo de vida de aproximadamente 8 μs . Esse valor é igual ao tempo de vida do triplete do corante sensibilizado por benzofenona, indicando que a espécie observada é o triplete de PIC. O fato de o triplete de PIC em TSS ter sido identificado em 740 nm não significa que ele não absorva também em 640 nm. Porém, na análise em 640 nm predomina o decaimento de uma espécie mais estável que o triplete, enquanto em 740 nm predomina o decaimento do triplete.

Figura 37 - Decaimento do transiente em 400 nm de PIC em solução aquosa de toluenossulfonato de sódio. $\lambda_{EX} = 532 \text{ nm}$; $[PIC] = 5,7 \times 10^{-6} \text{ M}$; $[TSS] = 1,8 \text{ M}$.

O decaimento do transiente em 400 nm, mostrado na Figura 37, pode ser comparado com os decaimentos observados em comprimentos de onda maiores. Observa-se que tempo de vida em 400 nm é próximo de 20 μ s. Nota-se também que o decaimento não chega à linha de base inicial. Para se certificar o término do decaimento do transiente, repetiu-se a análise numa escala de tempo maior, mostrada na Figura 38.

Figura 38 - Decaimento do transiente em 400 nm de PIC em solução aquosa de toluenossulfonato de sódio em escala de tempo estendida. $\lambda_{EX} = 532$ nm; [PIC] = $5,7 \times 10^{-6}$ M; [TSS] = 1,8 M.

Observa-se que o tempo de vida da espécie que era de 20 μ s na escala de 100 μ s, aumenta para 30 μ s, na análise em 500 μ s. Esses valores de tempos de vida são próximos do tempo de vida do transiente observado em 640 nm (26 μ s). Portanto, pode-se propor que se trata da mesma espécie, caracterizada por duas bandas espectrais.

Os resultados dos estudos de fotólise por pulso de laser obtidos para PIC em solução de TSS estão resumidos na Tabela 7.

Tabela 7 - Principais resultados dos estudos de PIC em TSS por fotólise por pulso de laser.

Sol.	λ / nm	τ^* / μ s	Observações
1	640	7	Resíduos de O ₂
2	640	16	-
3	640	26	Melhor tempo de vida - Solução estoque de TSS: menor tempo no ultrassom e remoção de O ₂ por ciclos de congelamento / descongelamento
3	740	8	Triplete de PIC
3	400	20	Mesma espécie vista em 640 nm

*Os erros dos tempos de vida estão entre 1-2 μ s. A escala de tempo usada foi de 100 μ s. λ_{EX} = 532 nm.

Na Tabela 7, identificam-se duas espécies de PIC em TSS, após a excitação: uma com decaimento mais longo, com tempo de vida entre 20-30 μ s e outra com decaimento mais curto, com tempo de vida em torno de 8 μ s.

4.2.2 PIC sensibilizado por Benzofenona

O estado excitado triplete de PIC foi sensibilizado por benzofenona conforme o procedimento descrito na literatura.²¹ Os espectros do transiente do corante e da benzofenona encontram-se na Figura 39.

Figura 39 - Espectros dos transientes: a) de benzofenona em acetonitrila, e b) da mistura de benzofenona e PIC em solução de acetonitrila/água 50/50 (v/v). λ_{EX} = 355 nm; [BF] = 5×10^{-3} M; [PIC] = 5×10^{-6} M.

Na Figura 39a, identifica-se o transiente da benzofenona em 520 nm, o qual permanece até cerca de 9 μs . No espectro da Figura 39b, o transiente da benzofenona desaparece já antes dos 4 μs , aparecendo um transiente em 600 nm, atribuído ao estado triplete de PIC.²¹ Os decaimentos dos tripletes do PIC e da benzofenona obtidos nesses comprimentos de onda são apresentados nas Figuras 40 e 41.

Figura 40 - Decaimento do transiente em 600 nm de PIC sensitzado por benzofenona em solução de acetonitrila/água 50/50 (v/v). $\lambda_{\text{EX}} = 355 \text{ nm}$; $[\text{PIC}] = 5 \times 10^{-6} \text{ M}$; $[\text{BF}] = 5 \times 10^{-3} \text{ M}$.

Figura 41 - Decaimentos do transiente em 600 nm de PIC sensitzado por benzofenona em solução de acetonitrila/água 50/50 (v/v) e da benzofenona em acetonitrila. $\lambda_{\text{EX}} = 355 \text{ nm}$; $[\text{PIC}] = 5 \times 10^{-6} \text{ M}$; $[\text{BF}] = 5 \times 10^{-3} \text{ M}$.

Vê-se que o tempo de vida do triplete de PIC sensibilizado por benzofenona é de cerca de 8 μs . Na Figura 41, nota-se que o decaimento do triplete do corante é diferente do decaimento da benzofenona excitada. O mecanismo de sensibilização de PIC por benzofenona é mostrado na Figura 42.

Figura 42 - Fotofísica de PIC em presença de benzofenona (BF).

A energia do estado excitado triplete do sensibilizador, $\text{BF}^* (\text{T}_1)$, é transferida para PIC e BF retorna ao estado fundamental. Ao mesmo tempo, esta energia transferida ao PIC leva-o ao estado excitado triplete - $\text{PIC}^* (\text{T}_1)$.

Para uma transferência de energia triplete - triplete ser eficiente é necessário que a energia do triplete do sensibilizador seja maior do que a energia do triplete do aceptor.⁵⁵ Esse requisito é satisfeito pelas energias do triplete da BF^{55} ($E_T = 69 \text{ kcal.mol}^{-1}$) e do PIC ($E_T = \text{ca. } 43 \text{ kcal.mol}^{-1}$).⁵⁶

4.2.3 PIC e Alginato de sódio

O espectro do transiente de PIC em solução aquosa de alginato de sódio pode ser observado na Figura 43.

Figura 43 - Espectros do transiente de PIC em solução aquosa de alginato de sódio. $\lambda_{\text{EX}} = 532 \text{ nm}$; $[\text{PIC}] = 5 \times 10^{-6} \text{ M}$; $[\text{Alg}] = 2,5 \text{ g.L}^{-1}$.

Nota-se um mínimo na região de absorção do corante (entre 500 e 590 nm) que é concomitante à formação de duas bandas em 740 nm e na região de 400 nm. Esse comportamento é semelhante ao observado para o triplete do PIC em meio hidrotrópico (Figura 31). O transiente observado na região de 740 nm foi analisado em relação ao seu decaimento, conforme mostrado na Figura 44.

Figura 44 - Decaimento do transiente em 740 nm de PIC em solução aquosa de alginato de sódio com ajuste: a) bi-exponencial e b) mono-exponencial, registrados na escala de 2,5 μs . $\lambda_{\text{EX}} = 532 \text{ nm}$; $[\text{PIC}] = 5 \times 10^{-6} \text{ M}$; $[\text{Alg}] = 2,5 \text{ g.L}^{-1}$.

Dependendo do ajuste realizado, os transientes de PIC em alginato possuem tempos de vida de 170 ns (68%) e 30 ns (32%), com o ajuste bi-exponencial e de 135 ns, no mono-exponencial.

Analisou-se também o decaimento do transiente na região de 400 nm, para se comparar com o transiente que aparece em comprimentos de onda maiores, conforme mostrado na Figura 45.

Figura 45 - Decaimento do transiente em 400 nm de PIC em solução aquosa de alginato de sódio na escala de 2,5 μs , com ajuste: a) bi-exponencial e b) mono-exponencial. $\lambda_{\text{EX}} = 532 \text{ nm}$; $[\text{PIC}] = 5 \times 10^{-6} \text{ M}$; $[\text{Alg}] = 2,5 \text{ g.L}^{-1}$.

Dependendo do ajuste realizado, os transientes de PIC em alginato possuem tempos de vida de 130 ns (43%) e 35 ns (57%), com o ajuste bi-exponencial e de 75 ns, no mono-exponencial. Estes valores de tempos de vida são semelhantes aos do transiente em 740 nm. Portanto, trata-se da mesma espécie que se caracteriza por duas bandas espectrais. Adicionalmente, os decaimentos dos transientes em ambos

os comprimentos de onda de PIC em alginato foram comparados na Figura 46. A semelhança nos decaimentos das espécies reafirma que se trata da mesma espécie.

Figura 46 - Decaimentos dos transientes em 740 e 400 nm de PIC em solução aquosa de alginato de sódio, na escala de 2,5 μs . $\lambda_{\text{EX}} = 532 \text{ nm}$; $[\text{PIC}] = 5 \times 10^{-6} \text{ M}$; $[\text{Alg}] = 2,5 \text{ g.L}^{-1}$.

O decaimento do transiente de PIC foi repetido para uma nova solução de PIC em alginato na mesma concentração. Os decaimentos obtidos nas escalas de 500 ns, 1 μs e 2,5 μs , são mostrados nas Figuras 47 a 49, nessa sequência.

Figura 47 - a) Decaimento do transiente em 740 nm de PIC em solução aquosa de alginato de sódio, na escala de 500 ns; b) ajuste mono-exponencial para a curva de decaimento. $\lambda_{\text{EX}} = 532 \text{ nm}$; $[\text{PIC}] = 5 \times 10^{-6} \text{ M}$; $[\text{Alg}] = 2,5 \text{ g.L}^{-1}$.

a)

b)

Figura 48 - a) Decaimento do transiente em 740 nm de PIC em solução aquosa de alginato de sódio, na escala de 1 μ s; b) ajuste mono-exponencial para a curva de decaimento. $\lambda_{EX} = 532$ nm; [PIC] = 5×10^{-6} M; [Alg] = 2,5 g.L $^{-1}$.

Figura 49 - a) Decaimento do transiente em 740 nm de PIC em solução aquosa de alginato de sódio, na escala de 2,5 μ s; b) ajuste mono-exponencial para a curva de decaimento. $\lambda_{EX} = 532$ nm; [PIC] = 5×10^{-6} M; [Alg] = 2,5 g.L $^{-1}$.

Observa-se que o tempo de vida aproximado do transiente em 740 nm de PIC em alginato é de 20 ns, para qualquer escala. Esse valor é semelhante a um dos valores obtidos para o transiente de PIC na primeira solução, porém, é bem menor que o outro tempo de vida obtido, que é próximo de 150 ns. O aparecimento da espécie com tempo de vida mais longo na primeira solução está relacionado ao longo tempo de repouso entre o preparo e análise da solução.

Tempos de vida semelhantes aos do transiente em 740 nm de PIC foram obtidos em 400 nm para PIC em 2,5 g.L $^{-1}$ de alginato, assim como para soluções contendo 0,2 e 1,0 g.L $^{-1}$ de alginato, em qualquer escala de tempo. A seguir, são mostrados os decaimentos em apenas uma escala de tempo para cada

concentração de alginato e comprimento de onda nas Figuras 50 a 56. Os valores de tempos de vida são listados na Tabela 8.

Figura 50 - a) Decaimento do transiente em 400 nm de PIC em solução aquosa de alginato de sódio, na escala de 1 μs ; b) ajuste mono-exponencial para a curva de decaimento. $\lambda_{\text{EX}} = 532$ nm; $[\text{PIC}] = 5 \times 10^{-6}$ M; $[\text{Alg}] = 2,5 \text{ g.L}^{-1}$.

Figura 51 - Decaimento do transiente em 740 nm de PIC em solução aquosa de alginato de sódio, na escala de 1 μs . $\lambda_{\text{EX}} = 532$ nm; $[\text{PIC}] = 5,7 \times 10^{-6}$ M; $[\text{Alg}] = 0,2 \text{ g.L}^{-1}$.

Figura 52 - Decaimento do transiente em 400 nm de PIC em solução aquosa de alginato de sódio, na escala de 500 ns. $\lambda_{EX} = 532 \text{ nm}$; $[PIC] = 5,7 \times 10^{-6} \text{ M}$; $[Alg] = 0,2 \text{ g.L}^{-1}$.

Figura 53 - Decaimento do transiente em 600 nm de PIC em solução aquosa de alginato de sódio, na escala de 500 ns. $\lambda_{EX} = 532 \text{ nm}$; $[PIC] = 5,7 \times 10^{-6} \text{ M}$; $[Alg] = 0,2 \text{ g.L}^{-1}$.

Figura 54 - Decaimento do transiente em 740 nm de PIC em solução aquosa de alginato de sódio, na escala de 500 ns. $\lambda_{EX} = 532 \text{ nm}$; $[PIC] = 5,7 \times 10^{-6} \text{ M}$; $[Alg] = 1,0 \text{ g.L}^{-1}$.

Figura 55 - Decaimento do transiente em 400 nm de PIC em solução aquosa de alginato de sódio, na escala de 500 ns. $\lambda_{EX} = 532 \text{ nm}$; $[PIC] = 5,7 \times 10^{-6} \text{ M}$; $[Alg] = 1,0 \text{ g.L}^{-1}$.

Figura 56 - Decaimento do transiente em 600 nm de PIC em solução aquosa de alginato de sódio, na escala de 250 ns. $\lambda_{EX} = 532 \text{ nm}$; $[PIC] = 5,7 \times 10^{-6} \text{ M}$; $[Alg] = 1,0 \text{ g.L}^{-1}$.

Tabela 8 - Tempos de vida dos transientes de PIC em alginato de sódio.

Sol.	[Alg] / g.L⁻¹	λ / nm	Escala	τ^* / ns
1	2,5	740	2,5 μ s	170 e 30 ns
1	2,5	400	2,5 μ s	130 e 35 ns
2	2,5	740	500 ns, 1 μ s e 2,5 μ s	20
2	2,5	400	1 μ s	15
3	0,2	740	1 μ s	30
3	0,2	400	500 ns	20
3	0,2	600	500 ns	27
3	1,0	740	500 ns	25
3	1,0	400	500 ns	20
3	1,0	600	250 ns	25

*Os erros dos tempos de vida ficaram entre 0,5-3 ns.

O tempo de vida do transiente de PIC em solução de alginato de sódio depende do tempo de repouso da solução. Assim, o tempo de vida ficou entre 15 e 30 ns para as soluções analisadas logo após o preparo e aparecendo uma componente da ordem de 150 ns para a solução deixada em repouso por um tempo. O tempo de vida de 15-30 ns é atribuído ao agregado J. Quando este agregado estabiliza-se no meio de alginato, seu tempo de vida aumenta para aproximadamente 150 ns.

5 CONCLUSÕES

5.1 Estudos de Absorção eletrônica e emissão de fluorescência estacionária

PIC em meio aquoso e de diversos solventes

O perfil de absorção e de emissão de fluorescência obtidos para a pseudoisocianina em várias concentrações em meio aquoso está de acordo com os encontrados na literatura. O coeficiente de extinção molar obtido para PIC na presença de contra-íon cloreto foi de $8,4 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$. Esse valor também concorda com os valores conhecidos.

A absorção do corante em diferentes solventes não segue um padrão ao se considerar o aumento da cadeia carbônica do solvente. Esses resultados levam à consideração que outros fatores além da viscosidade do meio afetam a absorção. Dentre eles, pode-se citar a constante dielétrica do solvente. Não se observou a formação de agregados na faixa de concentração escolhida para o estudo do corante em meio aquoso.

A emissão de fluorescência do corante aumenta com a viscosidade do solvente, devido a que meios mais rígidos dificultam o movimento de rotação dos anéis ao redor do grupo metino, minimizando a desativação não-radiativa.

PIC em meio hidrotrópico

A presença dos hidrótropos ESS e TSS no meio químico provocou um efeito batocrômico nos espectros de absorção do corante. Além disso, a absorção do corante é maior nesses meios comparados ao meio aquoso. Esses efeitos assemelham-se aos observados para o corante numa solução aquosa de ácido polimetacrílico (PMAA) em baixo pH.

A emissão de fluorescência do corante na presença dos hidrótropos aumentou comparada à solução aquosa.

PIC em alginato de sódio

Identificou-se a formação de agregado J do corante em solução aquosa de alginato de sódio. A banda de absorção do agregado J cresce com a concentração de alginato.

A emissão de fluorescência do corante aumenta em função da concentração de alginato até $2,0 \times 10^{-1} \text{ g.L}^{-1}$ de alginato. A partir dessa concentração, a emissão do corante diminui até a concentração de $2,5 \text{ g.L}^{-1}$ de alginato. Esse comportamento pode ser explicado pela interação do corante com o alginato que diminui a mobilidade da ligação entre os anéis quinolínicos de PIC seguida do aumento de agregados J devido à maior proximidade entre os monômeros nos sítios de alginato.

5.2 Estudos de Fotólise por pulso de laser

O tempo de vida do triplete de PIC sensibilizado por benzofenona é de aproximadamente $8 \mu\text{s}$.

Foram identificadas duas espécies de PIC em toluenossulfonato de sódio: uma com tempo de vida em torno de $8 \mu\text{s}$, e a outra com tempo de vida entre $20\text{-}30 \mu\text{s}$. A primeira corresponde ao triplete do PIC, e a outra pode ser uma espécie estável do corante, ou um transiente com vida mais longa.

O tempo de vida do transiente de PIC em solução de alginato de sódio depende do tempo de repouso da solução. Assim, o tempo de vida ficou entre 15 e 30 ns para as soluções analisadas logo após o preparo e aparecendo uma componente da ordem de 150 ns para a solução deixada em repouso por um tempo. O tempo de vida de $15\text{-}30 \text{ ns}$ é atribuído ao agregado J. Quando este agregado estabiliza-se no meio de alginato, seu tempo de vida aumenta para aproximadamente 150 ns .

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ¹ HODGDON, T. K.; KALER, E. W. Hydrotropic solutions. **Current Opinion in Colloid and Interface Science**, v. 12, p. 121-128, 2007
- ² NEUBERG, C. **Journal of the Chemical Society**, v. 110, p. 555, 1916 apud HODGDON, T. K.; KALER, E. W. Hydrotropic solutions. **Current Opinion in Colloid and Interface Science**, v. 12, p. 121-128, 2007
- ³ NEUMANN, M. G.; SCHMITT, C. C.; PRIETO, K. R.; GOI, B. E. The photophysical determination of the minimum hydrotrope concentration of aromatic hydrotropes. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 315, p. 810–813, 2007
- ⁴ MACHADO, D. S.; CAVALHEIRO, C. C. S; NEUMANN, M. G.; OLIVEIRA NETO, M.; CRAIEVICH, A. F.; POLIKARPOV, I. Evidences of hydrotropic organization in solution by SAXS. In: REUNIÃO ANUAL DE USUÁRIOS DO LNLS, 20., 2010, Campinas. **Resumo...** Campinas: Laboratório Nacional de Luz Síncrotron, 2010. p. 108.
- ⁵ BAUDUIN, P.; RENONCOURT, A.; KOPF, A.; TOURAUD, D.; KUNZ, W. Unified concept of solubilization in water by hydrotropes and cosolvents. **Langmuir**, v. 21, p. 6769-6775, 2005.
- ⁶ BALASUBRAMANIAN, D.; SRINIVAS, V.; GAIKAR, V. G.; SHARMA, M. M. Aggregation behavior of hydrotropic compounds in aqueous solution. **Journal of Physical Chemistry**, v. 93, p. 3865-3870, 1989.
- ⁷ GONZÁLEZ, G.; NASSAR, E. J.; ZANIQUELLI, M. E. D. Examination of the Hydrotropic effect of sodium p-toluenesulfonate on a nonionic surfactant (C₁₂E₆) solution. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 230, n. 2, p. 223–228, 2000.
- ⁸ MAHESHWARI, R. K.; SAXENA, M.; GAHLOT, M.; CHAKI, R.; KINARIWALA, M.; JAGWANI, Y. Novel application of hydrotropic solubilizing additives in the estimation of aspirin in tablets. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 72, n. 5, p. 649–651, 2010
- ⁹ MAHESHWARI, R. K.; MOONDRA, S.; PRAJAPATI, M. M. S. P.; VERMA, S. Quantitative spectrophotometric determination of cefixime tablet formulation using sodium tartarate as hydrotropic solubilizing agent. **International Journal of Pharmacy and Technology**, v. 2, n. 3, p. 828-836, 2010

- ¹⁰ MAHESHWARI, R. K.; LAKKADWALA, S.; VYAS, R.; GHODE, P. Spectrophotometric determination of naproxen tablets using niacinamide as hydrotropic solubilizing. **Journal of Current Pharmaceutical Research**, v. 4, p. 11-14, 2010
- ¹¹ LIU, Z.; JIAO, Y.; WANG, Y.; ZHOU, C.; ZHANG, Z. Polysaccharides-based nanoparticles as drug delivery systems [Review]. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 60, p. 1650–1662, 2008
- ¹² BALDURSDÓTTIR, S. G.; KJØNIKSEN, A. L.; KARLSEN, J.; NYSTRÖM, B.; ROOTS, J.; TØNNESEN, H. H. Riboflavin-photosensitized changes in aqueous solutions of alginate. rheological studies. **Biomacromolecules**, v. 4, p. 429-436, 2003
- ¹³ NEUMANN, M. G.; SCHMITT, C. C.; IMAZAKI, E. T. A fluorescence study of the interactions between sodium alginate and surfactants. **Carbohydrate Research**, v. 338, p. 1109–1113, 2003
- ¹⁴ REHM, B. H. A. (Ed.). **Alginates: biology and applications**. [Prefácio] London: Springer, 2009. 266 p. (Microbiology Monographs, 13)
- ¹⁵ PAL, M. K.; MANDAL, N. Binding of cationic dyes to potassium alginate: a spectrophotometric and dichroic probe. **Biopolymers**, v. 29, p. 1541-1548, 1990
- ¹⁶ REHM, B. H. A. Biosynthesis and applications of alginates. In: WNEK, G.; BOWLIN, G. (Ed.). **Encyclopedia of biomaterials and biomedical engineering**. New York: Marcel Dekker, 2005. p. 1-9
- ¹⁷ KENAWY, E. R.; SAKRAN, M. A. Controlled release formulations of agrochemicals from calcium alginate. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 35, n. 10, p. 3726-3729, 1996
- ¹⁸ DVIR, T.; TIMKO, B. P.; KOHANE, D. S.; LANGER, R. Nanotechnological strategies for engineering complex tissues [Review]. **Nature Nanotechnology**, v. 6, p. 13-22, 2011
- ¹⁹ EISELT, P.; YEH, J.; LATVALA, R. K.; SHEA, L. D.; MOONEY, D. J. Porous carriers for biomedical applications based on alginate hydrogels. **Biomaterials**, v. 21, p. 1921-1927, 2000
- ²⁰ GAVISCON. Disponível em: <<http://www.chemistryinyourcupboard.org/gaviscon>>. Acesso em: 12 maio 2011.

- ²¹ JONES II, G.; OH, C. Photophysical and electron-transfer properties of pseudoisocyanine in the hydrophobic microdomain of an aqueous polyelectrolyte. **Journal of Physical Chemistry**, v. 98, p. 2367-2376, 1994.
- ²² JAMES, T. H.; MEES, C. E. K. **The theory of the photographic process**. New York: Macmillan, 1966. 591 p.
- ²³ HORNG, M. L.; QUITEVIS, E. L. Visible absorption spectroscopy and structure of cyanine dimers in aqueous solution. An experiment for Physical Chemistry. **Journal of Chemical Education**, v. 77, n. 5, p. 637-639, 2000
- ²⁴ SCHEIBE, G. **Angewandte Chemie**, v. 50, p. 51, 1937 apud MÖBIUS, D. Scheibe aggregates [Review]. **Advanced Materials**, v. 7, n. 5, p. 437-444, 1995
- ²⁵ JELLEY, E. E. **Nature**, v. 138, p.1009, 1936 apud MÖBIUS, D. Scheibe aggregates [Review]. **Advanced Materials**, v. 7, n. 5, p. 437-444, 1995
- ²⁶ MÖBIUS, D. Scheibe aggregates [Review]. **Advanced Materials**, v. 7, n. 5, p. 437-444, 1995
- ²⁷ BERLEPSCH, H. von; BÖTTCHER, C.; DÄHNE, L. Structure of J-aggregates of pseudoisocyanine dye in aqueous solution. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 104, p. 8792-8799, 2000
- ²⁸ SCHEIBE, G. **Kolloid Zeitschrift**, v. 82, p.1, 1938 apud MÖBIUS, D. Scheibe aggregates [Review]. **Advanced Materials**, v. 7, n. 5, p. 437-444, 1995
- ²⁹ COOPER, W. Multiplet structure of aggregated states in 1,1'-diethyl-2,2'-cyanine dye. **Chemical Physics Letters**, v. 7, n. 1, p. 73-77, 1970
- ³⁰ YU, Z. X.; LU, P. Y.; ALFANO, R. R. Temperature dependence of J-band aggregate of the dye 1,1'-diethyl-2,2'-cyanine bromide studied by steady-state and time-resolved picosecond fluorescence spectroscopy. **Chemical Physics**, v. 79, p. 289-296, 1983
- ³¹ IWASAKI, M.; KITA, M.; ITO, K.; KOHNO, A.; FUKUNISHI, K. Intercalation characteristics of 1,1'-diethyl-2,2'-cyanine and other cationic dyes in synthetic saponite: orientation in the interlayer. **Clays and Clay Minerals**, v. 48, n. 3, p. 392-399, 2000

- ³² PEYRATOUT, C.; DONATH, E.; DAEHNE, L. Electrostatic interactions of cationic dyes with negatively charged polyelectrolytes in aqueous solution. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 142, p. 51–57, 2001
- ³³ TANI, T.; YAMAGUCHI, Y.; SAEKI, M.; ODA, M.; VACHA, M. Local reflection micro-spectroscopy of excitons in fibril-shaped molecular J-aggregates prepared in PVA thin films. **Journal of Luminescence**, v. 102–103, p. 27–33, 2003
- ³⁴ SLUCH, M. I.; VITUKHNOVSKY, A. G.; YONEZAWA, Y.; SATO, T.; KUNISAWA, T. Energy transfer between J-aggregates of quinocyanine dyes in the sodium alginate films. **Optical Materials**, v. 6, p. 261–266, 1996
- ³⁵ BUJDÁK, J.; IYI, N. Spectral properties and structure of the J-aggregates of pseudoisocyanine dye in layered silicate films. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 326, p. 426–432, 2008
- ³⁶ RENTSCH, S. K.; DANIELIUS, R. V.; GADONAS, R. A.; PISKARSKAS, A. Picosecond kinetics and transient spectra of pseudoisocyanine monomers and J-aggregates in aqueous solution. **Chemical Physics Letters**, v. 84, n. 3, p. 446–449, 1981
- ³⁷ KOPAINSKY, B.; KAISER, W. Ultrafast transient processes of monomers, dimers, and aggregates of pseudoisocyanine chloride (PIC). **Chemical Physics Letters**, v. 88, n. 4, p. 357–361, 1982
- ³⁸ STIEL, H.; TEUCHNER, K.; BECKER, W.; FREYER, W.; DÄHNE, S. **Journal of Molecular Structure**, v. 114, p. 351, 1984 apud JONES II, G.; OH, C. Photophysical and electron-transfer properties of pseudoisocyanine in the hydrophobic microdomain of an aqueous polyelectrolyte. **Journal of Physical Chemistry**, v. 98, p. 2367–2376, 1994.
- ³⁹ BUETTNER, A. V. Radiationless transitions in cyanine dyes. **Journal of Chemical Physics**, v. 46, n. 4, p. 1398–1401, 1967.
- ⁴⁰ COOPER, W. **Photographic Science and Engineering**, v. 17, p. 3, 1973 apud JONES II, G.; OH, C. Photophysical and electron-transfer properties of pseudoisocyanine in the hydrophobic microdomain of an aqueous polyelectrolyte. **Journal of Physical Chemistry**, v. 98, p. 2367–2376, 1994.
- ⁴¹ ROHATGI-MUKHERJEE, K. K. **Fundamentals of photochemistry**. New Delhi: Wiley Eastern Limited, 1992. 371 p.

- ⁴² TURRO, N. J.; RAMAMURTHY, V.; SCAIANO, J. C. **Principles of molecular photochemistry**. Sausalito: University Science Books, 2009. 495 p.
- ⁴³ VELANI, Hosana M. Maciel. **Polimerização foto iniciada de monômeros vinílicos carregados**. 2005. 127 f. Tese (Doutorado em Físico-Química) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2005.
- ⁴⁴ GESSNER, Fergus. **Influência do fator entrópico na transferência reversível de energia entre estados triplete excitados de moléculas orgânicas**. 1986. 196f. Tese (Doutorado em Ciências: Físico-Química) – Instituto de Física e Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1986.
- ⁴⁵ CERMINARO, Janaina Penteado. **Polimerização de metil metacrilato foto iniciado por pironina Y**. 2005. 109 f. Dissertação (Mestrado em Ciências: Físico-Química) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2005.
- ⁴⁶ BARLTROP, J. A.; COYLE, J. D. **Principles of photochemistry**. New York: John Wiley & Sons, 1978. 213 p.
- ⁴⁷ SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Principles of instrumental analysis**. Orlando: Harcourt Brace College Publishers, 1998. 849 p.
- ⁴⁸ SHIMADZU. **Instrumental Manual-UV2450/2550 spectrophotometer**: manual. Kyoto, 2006. 41 p.
- ⁴⁹ LAKOWICZ, J. R. **Principles of fluorescence spectroscopy**. New York: Kluwer Academic / Plenum Publishers, 1999. 698 p.
- ⁵⁰ HITACHI. **Instrumental Manual-Model F4500 Fluorescence spectrophotometer**: manual. Tokyo, 1997. 245 p.
- ⁵¹ ARNAUT, L.; FORMOSINHO, S.; BURROWS, H. **Chemical kinetics: from molecular structure to chemical reactivity**. Amsterdam: Elsevier, 2007. 549 p.
- ⁵² LUZCHEM RESEARCH. **Laser Flash Photolysis LFP**: operating manual. Ottawa, 2006. 158 p.
- ⁵³ LIU, M.; KIRA, A. Fabrication of J aggregate films in synthetic polyanion matrix and their chemochromism. **Thin Solid Films**, v. 359, p. 104-107, 2000

- ⁵⁴ BORSARELLI, C. D.; BERTOLOTTI, S. G.; PREVITALI, C. M. Thermodynamic changes in the photoinduced proton-transfer reaction of the triplet state of safranine-T. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 1, p. 574-580, 2002
- ⁵⁵ TURRO, N. J.; RAMAMURTHY, V.; SCAIANO, J. C. **Modern molecular photochemistry of organic molecules**. Sausalito: University Science Books, 2010. 1120 p.
- ⁵⁶ GRADL, G; FRIEDRICH, J.; DALTROZZO, E. Spectroscopy of the triplet state of pseudoisocyanine molecular aggregates. **Journal of Physical Chemistry**, v. 94, p. 2301-2305, 1990

7 APÊNDICE

A seguir são apresentadas algumas dificuldades encontradas na análise da fotofísica do corante pseudoisocianina (PIC) e o método desenvolvido para contorná-las. Os dois principais obstáculos neste estudo foram o aparecimento de bandas de emissão nas análises da água e dos hidrótropos em solução aquosa. Esses fenômenos foram observados em virtude da baixa emissão de fluorescência do corante.

7.1 Espalhamento da água

Os espectros de emissão de fluorescência obtidos para o corante PIC, incluindo o sinal da água, são mostrados na Figura A1.

Figura A1 - Espectros de emissão de fluorescência de pseudoisocianina (PIC) em solução aquosa para diversas concentrações de corante. λ_{EX} : a) 460 nm; b) 490 nm.

Na Figura A1a, nota-se que a água tem emissão com intensidade semelhante à do corante, quando excitados em 460 nm. Na verdade, esse sinal refere-se ao espalhamento Raman, que está presente em espectros de substâncias pouco fluorescentes⁴⁹. O sinal do espalhamento da água também foi observado no comprimento de onda de excitação de 490 nm, conforme mostrado na Figura A1b. Para o corante na concentração mais baixa (1×10^{-6} M), percebe-se que o espalhamento da água tem a mesma forma da emissão do corante. Nesse caso, o

espalhamento do solvente pode estar influenciando a emissão do corante. Porém, nas concentrações maiores de corante (de 5×10^{-6} a 1×10^{-5} M) a emissão de PIC parece encobrir o espalhamento do solvente, como ocorre no caso da emissão de corantes mais fluorescentes.⁴⁹

Não foi possível separar o espalhamento da água da emissão de fluorescência do corante, devido à semelhança na variação de ambos em função do comprimento de onda de excitação. Isto foi confirmado através da análise dos espectros da Figura A2.

Figura A2 - Espectros de emissão de fluorescência de PIC e da água para diferentes comprimentos de onda de excitação.

Através da Figura A2, nota-se adicionalmente que o espalhamento da água diminui com o aumento do comprimento de onda de excitação. Portanto, embora não seja possível separar o espalhamento da água da banda de emissão de PIC, pode-se minimizar sua influência nas medidas excitando-se as soluções em comprimentos de onda maiores. Por isso, o estudo foi feito usando o comprimento de onda de 490 nm para excitação. Além disso, foi necessário trabalhar numa concentração de corante superior a 5×10^{-6} M para minimizar os efeitos do espalhamento da água nos estudos de fluorescência estacionária.

7.2 Espalhamento dos hidrótropos

Os hidrótropos utilizados potencializam o espalhamento da água, como pode ser notado na Figura A3, para uma solução aquosa de toluenossulfonato de sódio.

Figura A3 - Espectros de emissão de toluenossulfonato de sódio (TSS) em solução aquosa e da água excitados em vários comprimentos de onda.

O espalhamento de ambos os hidrótropos usados também varia em função do comprimento de onda, como pode ser visto na Figura A4.

Figura A4 - Espectros da emissão de: a) toluenossulfonato de sódio (TSS) e b) estirenosulfonato de sódio, em solução aquosa para vários comprimentos de onda de excitação.

Observa-se que no caso dos hidrótropos o espalhamento também diminui com o aumento do comprimento de onda de excitação, conforme foi observado para

a água (Figuras A1 e 2). Além disso, em maiores comprimentos de onda de excitação, a banda do corante possui maior definição. A Figura A5 mostra os espectros de emissão de PIC em solução aquosa de ESS em função da concentração do corante, bem como das respectivas soluções aquosas de ESS, excitados em 440, 450, 460 e 490 nm.

Figura A5 - Espectros de emissão de PIC em soluções aquosas de ESS em função da concentração de hidrótropo e das respectivas soluções aquosas de ESS, excitados em: a) 440, b) 450, c) 460 e d) 490 nm.

Na Figura A5, vê-se que o comprimento de onda de excitação de 490 nm é o mais adequado ao estudo do corante em ESS, pois, nesse comprimento de onda o espalhamento do hidrótropo é menor. Além disso, a banda de emissão do corante é mais simples nesse comprimento de onda de excitação.

Figura A6 - Espectros de emissão de PIC em soluções aquosas de TSS em função da concentração de hidrótropo e das respectivas soluções aquosas de TSS, excitados em diferentes comprimentos de onda.

Resultados semelhantes foram obtidos para a emissão de fluorescência de PIC em solução aquosa de TSS. Os espectros de PIC nesse meio, em função do comprimento de onda de excitação são mostrados na Figura A6, onde se vê que o espalhamento do TSS diminui com o aumento do comprimento de onda de excitação, no intervalo de 460 a 490 nm. Também a banda de emissão do corante aumenta em intensidade e definição. Para confirmar esse comportamento de PIC em TSS, os espectros de emissão do corante foram obtidos em função da concentração de corante e hidrótropo bem como das respectivas soluções de TSS em dois comprimentos de onda de excitação: 460 e 490 nm. Os espectros são mostrados na Figura A7, onde se vê que a banda de emissão de PIC é mais definida no comprimento de onda de excitação de 490 nm (Figura A7b). Além disso, o espalhamento do TSS é menor nesse comprimento de onda de excitação. Portanto, escolheu-se apenas o comprimento de onda de 490 nm para as análises do corante em solução aquosa na presença ou não de hidrótropos.

Figura A7 - Espectros de emissão de PIC em soluções aquosas de TSS em função da concentração de hidrótopo, e das respectivas soluções aquosas de TSS, excitados em: a) 460 e b) 490 nm.