

7. Resultados e discussão

7.1 Absorção ótica

Inicialmente foi realizada a análise dos espectros dos BCD em solução de tampão fosfato (PBS) e em etanol, com as soluções estoques preparadas em etanol e ácido fórmico.

7.1a Espectros de absorção dos corantes em solução aquosa

Durante esta fase dos experimentos foi observado que nas soluções aquosas ocorrem mudanças na razão entre os picos dos espectros para concentrações de BCD $> 10^{-6}$ M, acredita-se que estas mudanças estão associadas com a interação entre as moléculas de BCD quando em concentrações altas. Os gráficos de 1 a 8 mostram o comportamento dos espectros para estas concentrações.

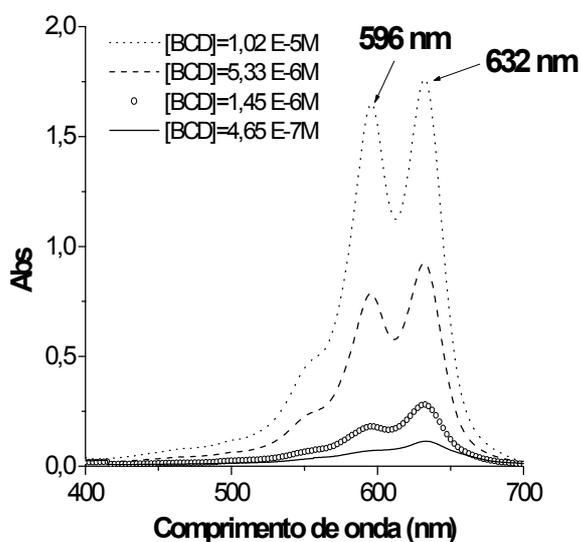


Gráfico 1 – Espectros de absorção do BCD(180°) em PBS em função da sua concentração

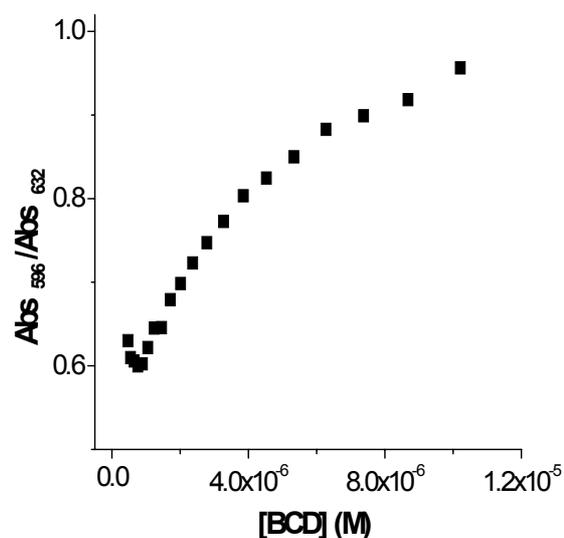


Gráfico 2 – Gráfico da razão entre as bandas de absorção em função da concentração do BCD(180°)

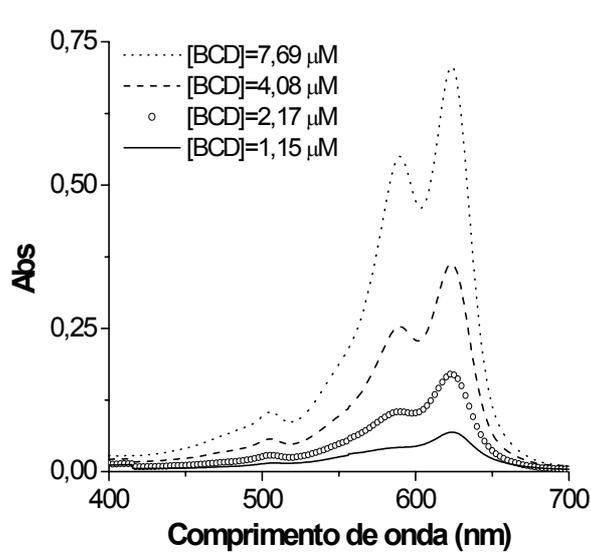


Gráfico 3 – Espectros de absorção do BCD(150°) em PBS em função da sua concentração

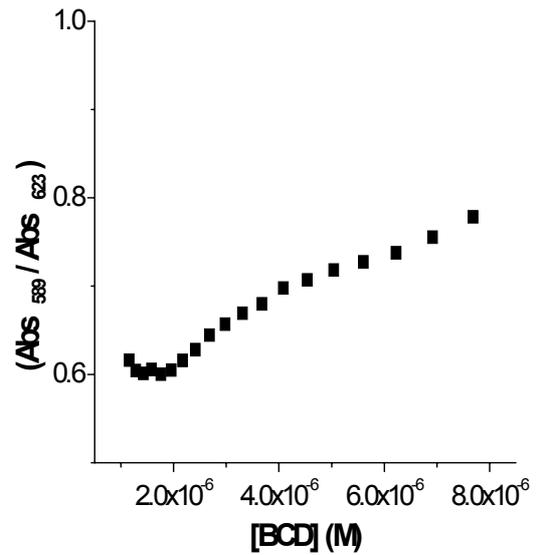


Gráfico 4 - Gráfico da razão entre as bandas de absorção em função da concentração do BCD(150°)

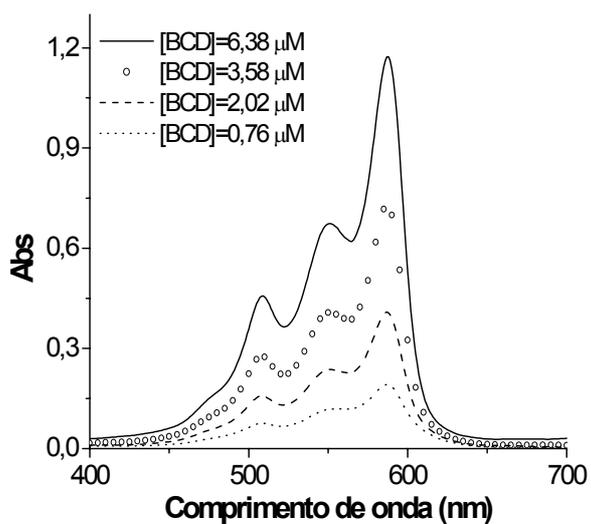


Gráfico 5 – Espectros de absorção do BCD(120°) em PBS em função da sua concentração

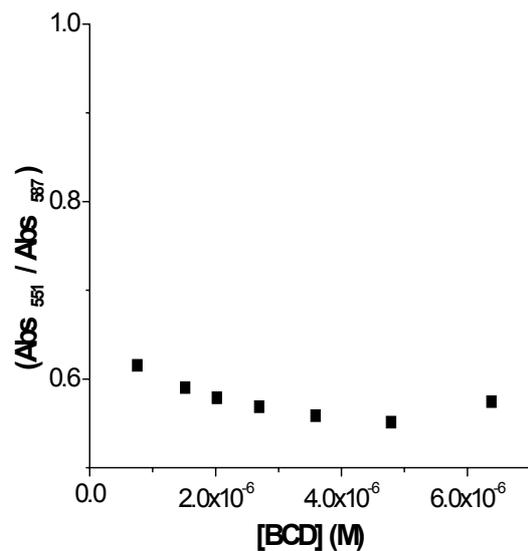


Gráfico 6 – Gráfico da razão entre as bandas de absorção em função da concentração do BCD(120°).

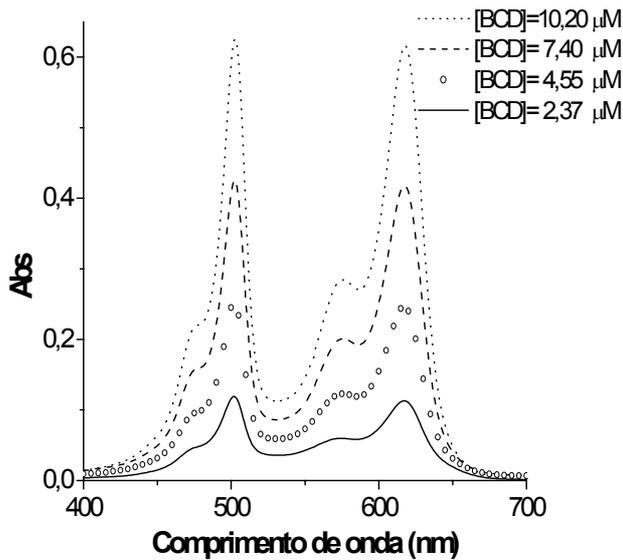


Gráfico 7 – Espectros de absorção do BCD(90°) em PBS em função da sua concentração

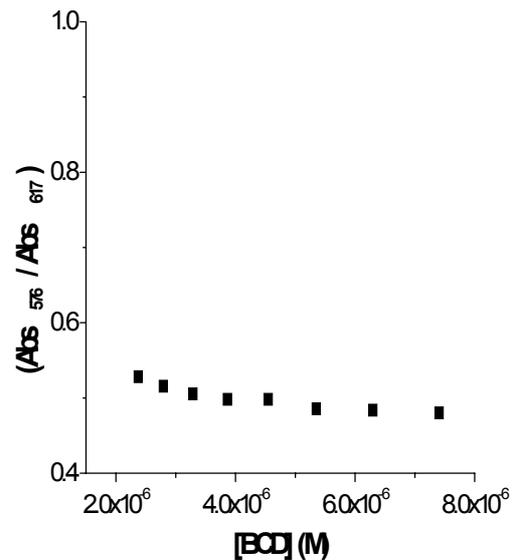


Gráfico 8 – Gráfico da razão entre as bandas de absorção em função da concentração do BCD(90°)

Os gráficos mostram que para os corantes com 180° e 150° ocorre um aumento na intensidade da absorção na região de comprimentos de onda menores comparado com a absorção do pico principal do corante (da direita para a esquerda), quanto que para os corantes com 120° e 90° esse efeito não ocorre em valores significativos. Estes resultados podem ser observados na análise da razão entre a banda principal de cada um e a segunda banda.

O aumento na intensidade de absorção a esquerda da banda principal dos BCD, é típica do aparecimento de agregados do **tipo H**, pois a energia de absorção deste tipo de agregados é maior do que a dos monômeros. Os resultados obtidos mostram que a ordem da tendência para formar este tipo de agregado por efeito da concentração pode ser determinada em função do ângulo entre os cromóforos dos corantes: $180^\circ > 150^\circ > 120^\circ = 90^\circ$.

Os espectros de todos os corantes em etanol não mostram mudanças no perfil na região de concentrações até 10^{-5} M, mostrando que no ambiente menos polar (constante dielétrica $\epsilon = 24,3$) a formação de agregados é menos provável do que na água ($\epsilon = 81$).

7.1b Caracterização e comparação dos espectros de BCD em água e etanol

Baseado nos resultados mostrado acima pode-se considerar a presença, na região de concentrações $\leq 10^{-6}$ M, só de moléculas de corantes na forma monomérica tanto na água quanto em etanol. A análise dos espectros dos BCD foi feita nessa faixa de concentrações.

Os gráficos 9 e 10 mostram os espectros dos BCD em água e etanol.

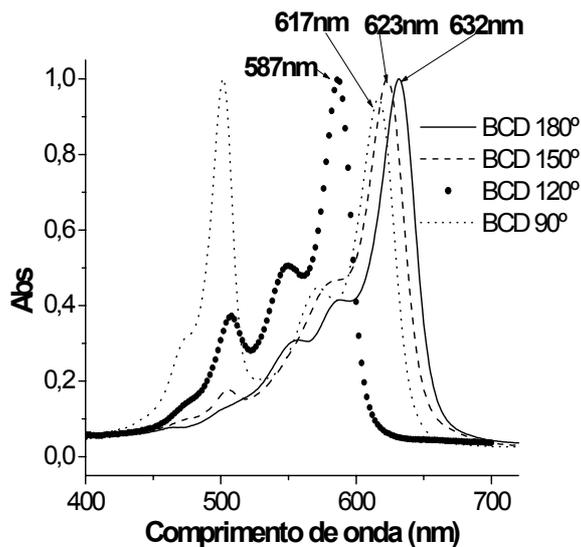


Gráfico 9 – Espectros normalizados de absorção óptica dos BCD em PBS

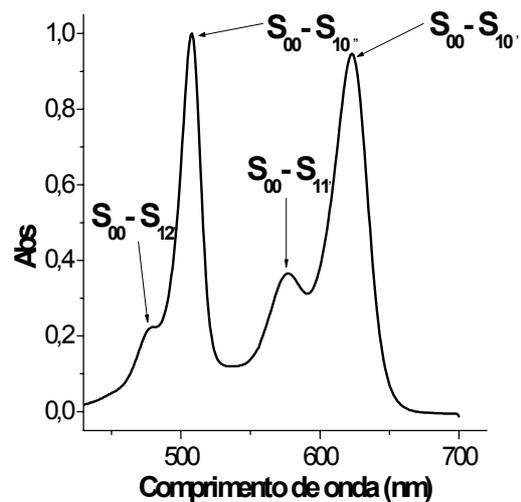


Gráfico 10 – Caracterização das bandas de absorção do corante com ângulo 90° entre os cromóforos.

Nestes gráficos podemos observar a dependência das características dos espectros na forma monomérica com ângulo entre os cromóforos. Pode-se observar que para o corante com ângulo 180° só a “banda longa” (λ_l) está presente no espectro. Quando o ângulo entre os cromóforos diminui, a razão entre as intensidades das bandas “curta” e “longa” (I_c/I_l) aumenta, e o corante com o ângulo 90° tem seu espectro de absorção caracterizado por duas bandas de absorção, curta (λ_c) e longa (λ_l), com intensidades praticamente iguais.

Além dos picos principais de transição ($S_{00} \rightarrow S_{10'}$ e $S_{00} \rightarrow S_{10''}$), os espectros mostram a presença, à esquerda dos picos principais, de dois picos (Gráfico 10) que foram definidos como

resultado de transições entre o nível vibracional de menor energia do estado fundamental e os segundos níveis vibracionais dos estados excitados ($S_{00} \rightarrow S_{11}'$ e $S_{00} \rightarrow S_{12}''$).

Os gráficos de 11 a 14 mostram as diferenças entre os espectros dos BCD para soluções feitas em PBS e etanol.

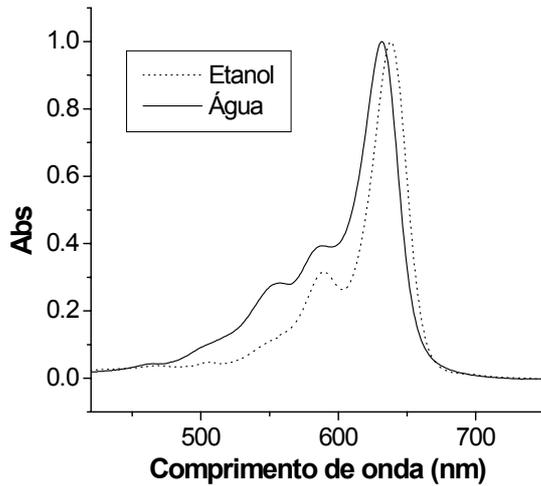


Gráfico 11 - Espectros normalizados de absorção ótica do BCD(180°) em água e etanol

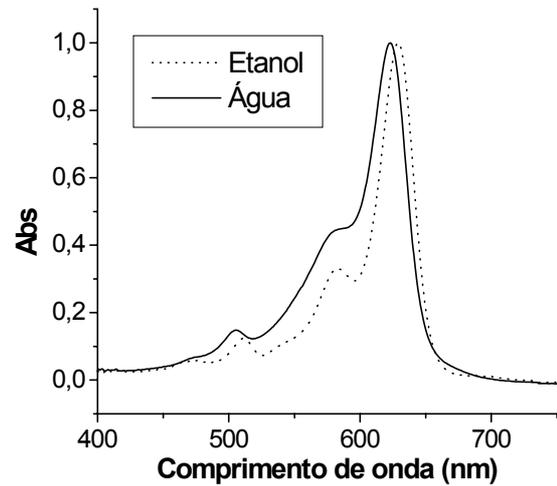


Gráfico 12 - Espectros normalizados de absorção ótica do BCD(150°) em água e etanol

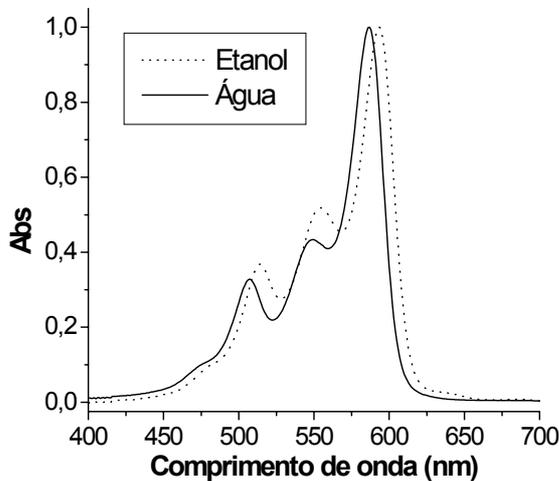


Gráfico 13 - Espectros normalizados de absorção ótica do BCD(120°) em água e etanol

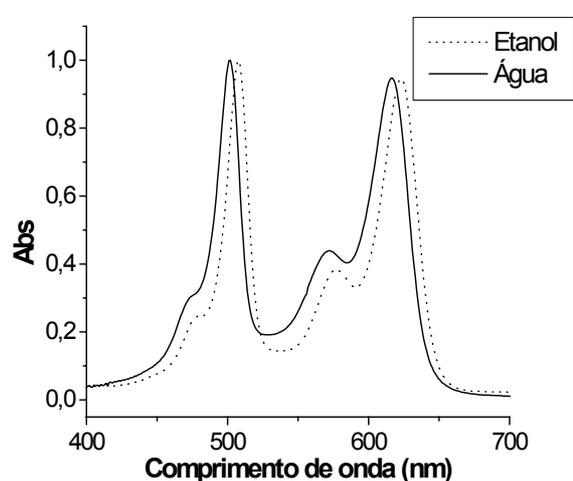


Gráfico 14 - Espectros normalizados de absorção ótica do BCD(90°) em água e etanol

A análise dos espectros mostra que as soluções em etanol têm seus espectros deslocados para região do vermelho se comparado com os espectros das soluções aquosas (Gráficos de 11 a 14 e Tabela 2) mostrando assim a diminuição da energia de transição entre o estado fundamental

S_0 e o excitado S_1 do corante. O fato de os corantes formarem agregados em água e não em etanol, pode significar que a interação entre as moléculas do corante e o ambiente menos polar (etanol) é mais forte do que com um ambiente de alta polaridade (água). Esse efeito pode ser também relacionado com a solvatação específica dos corantes em etanol.

7.1c Determinação dos coeficientes de absorção molar (ϵ)

A determinação dos ϵ foi realizada na região de concentrações $\leq 10^{-6}$ M onde estão presentes apenas os monômeros de BCD. A absorvência dos corantes nessa região é bastante baixa, mas o uso de uma cubeta com caminho ótico de 5cm permitiu obter com alta precisão os valores dos ϵ em soluções de PBS. Também as soluções estoque preparadas em ácido fórmico evitam os problemas de solubilidade destes corantes no PBS, e devido à baixa quantidade de solução estoque ($< 0,2\%$) inserida na solução não há mudança de pH.

O ϵ foi determinado variando a concentração dos BCD nessa região determinando a tangente do gráfico de absorção ótica pela concentração, conforme a equação (Gráficos 15 a 30):

$$\epsilon(\lambda) = \frac{A}{Cl}$$

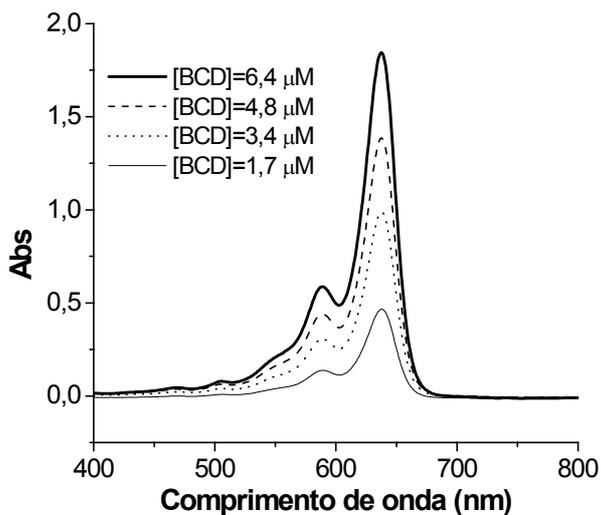


Gráfico 15 - Espectros de absorção ótica do BCD(180°) em solução de etanol. Cubeta com $l = 1\text{ cm}$

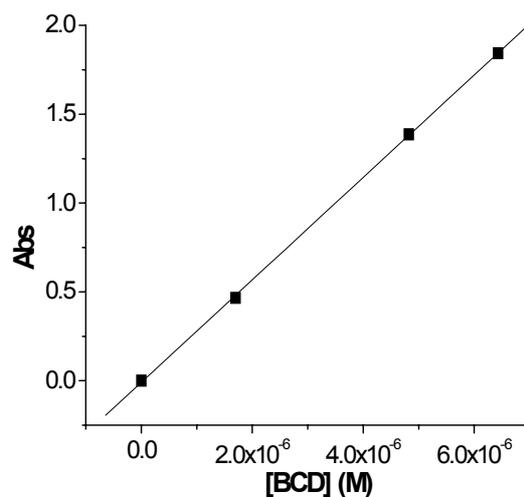


Gráfico 16 - Cálculo do ϵ para BCD(180°) para $\lambda = 638\text{ nm}$. $\epsilon = 2,88 \pm 0,02 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1}\text{ cm}^{-1}$

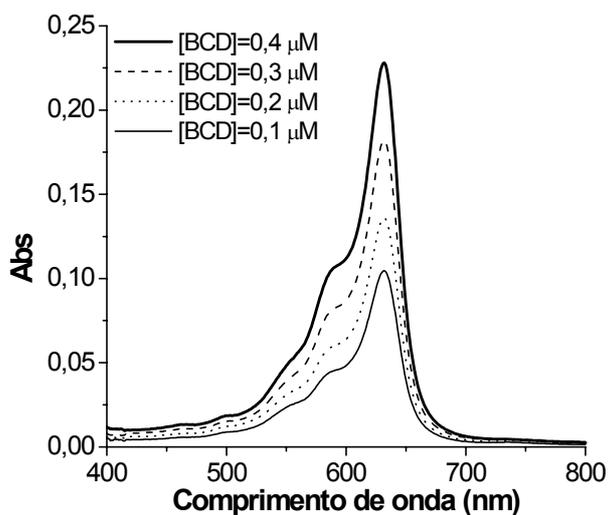


Gráfico 17 - Espectros de absorção ótica do BCD(180°) em PBS. Cubeta com $l = 5\text{ cm}$

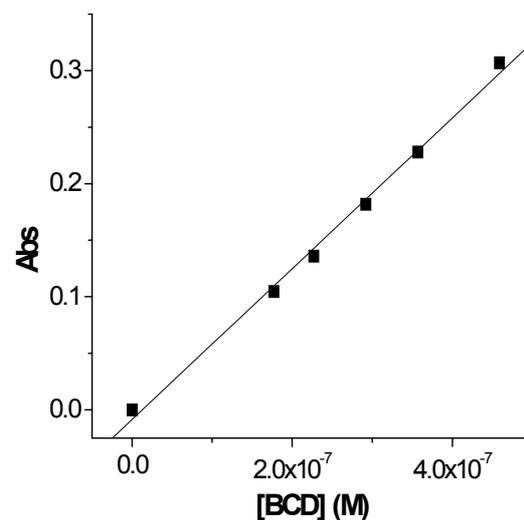


Gráfico 18 - Cálculo do ϵ para BCD(180°) para $\lambda = 632\text{ nm}$. $\epsilon = 1,33 \pm 0,05 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1}\text{ cm}^{-1}$

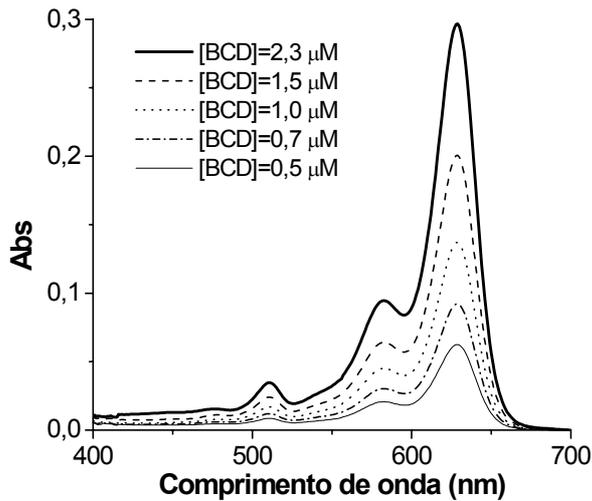


Gráfico 19 - Espectros de absorção ótica do BCD(150°) em etanol. Cubeta com $l = 1\text{ cm}$

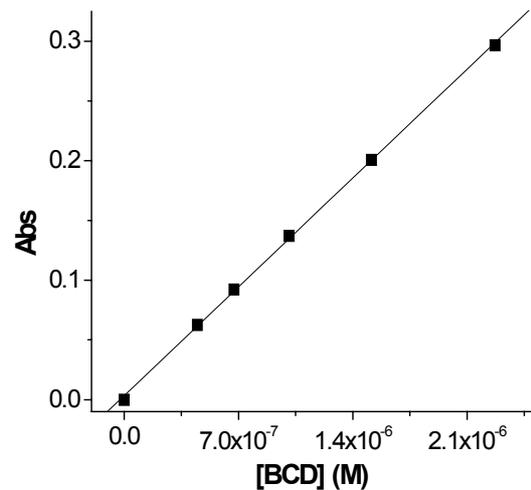


Gráfico 20 - Cálculo do ϵ para BCD(150°) para $\lambda = 629\text{ nm}$. $\epsilon = 1,30 \pm 0,01 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

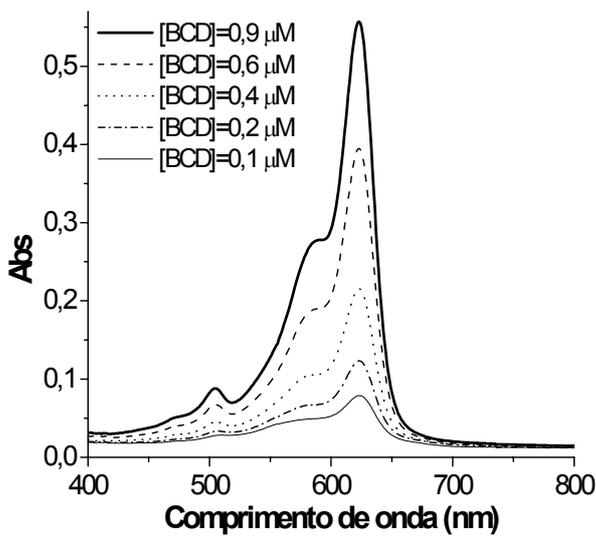


Gráfico 21 - Espectros de absorção ótica do BCD(150°) em PBS; Cubeta com $l = 5\text{ cm}$

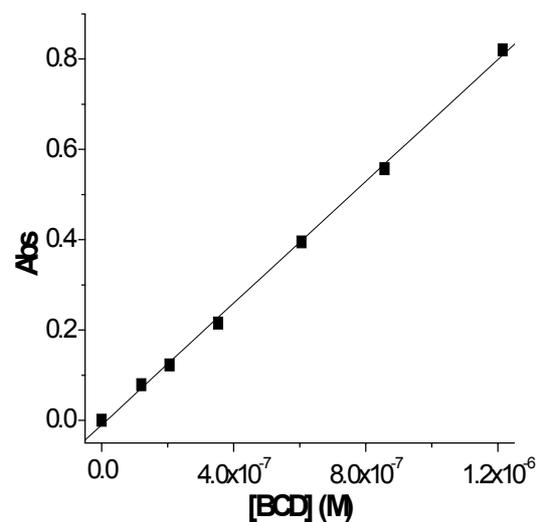


Gráfico 22 - Cálculo do ϵ para BCD(150°) para $\lambda = 623\text{ nm}$. $\epsilon = 1,35 \pm 0,02 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

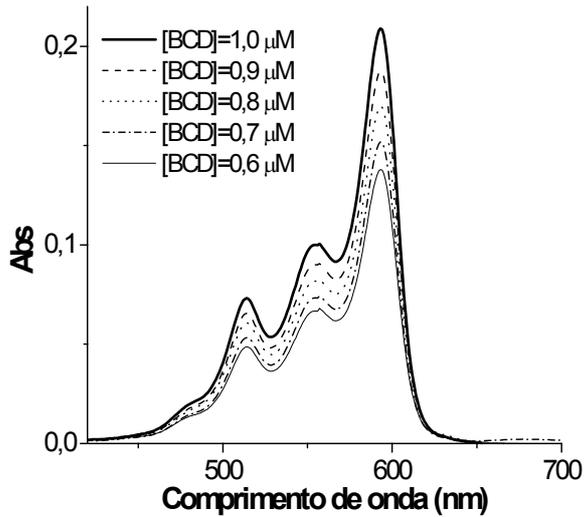


Gráfico 23 - Espectros de absorção óptica do BCD(120°) em etanol; Cubeta com $l = 1\text{cm}$

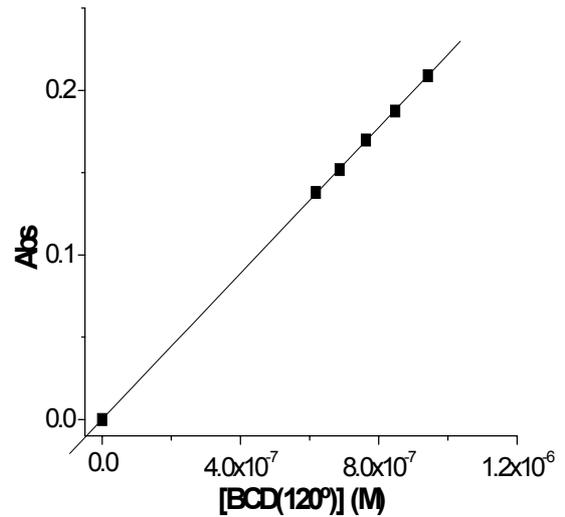


Gráfico 24 - Cálculo do ϵ para BCD(120°) para $\lambda = 593\text{nm}$. $\epsilon = 2,22 \pm 0,01 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$

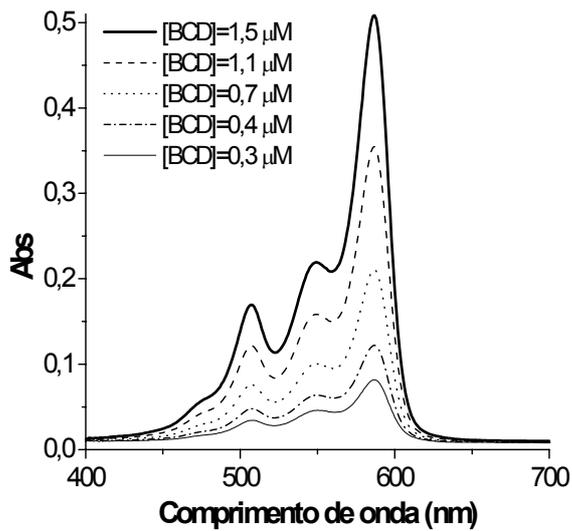


Gráfico 25 - Espectros de absorção óptica do BCD(120°) em PBS. Cubeta com $l = 5\text{cm}$

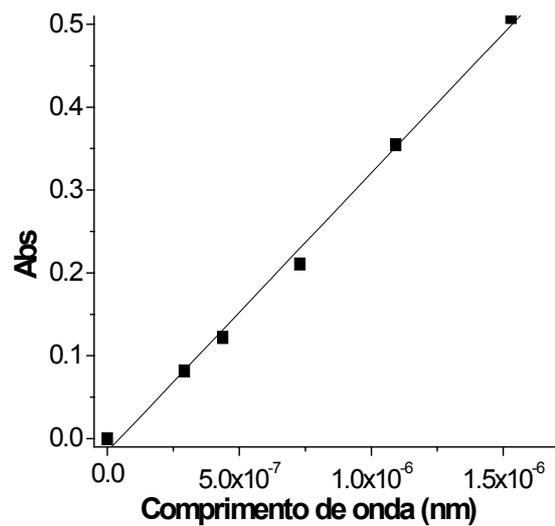


Gráfico 26 - Cálculo do ϵ para BCD(180°) para $\lambda = 587\text{nm}$. $\epsilon = 6,73 \pm 0,20 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$

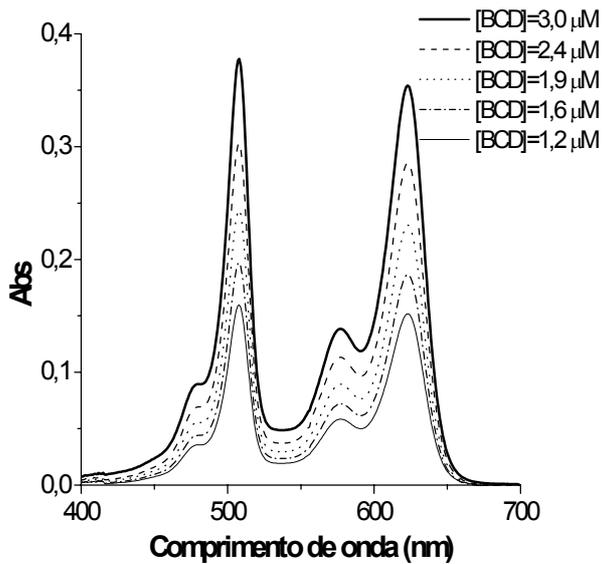


Gráfico 27 - Espectros de absorção ótica do BCD(90°) em etanol; Cubeta com $l = 1\text{cm}$

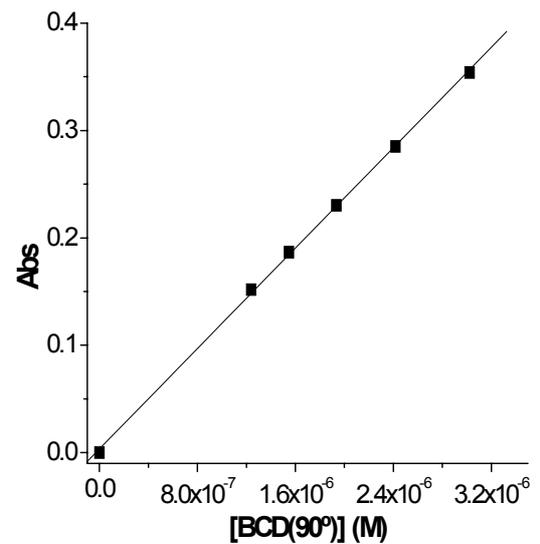


Gráfico 28 - Cálculo do ϵ para BCD(120°) para $\lambda = 623\text{nm}$. $\epsilon = 1,17 \pm 0,01 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$

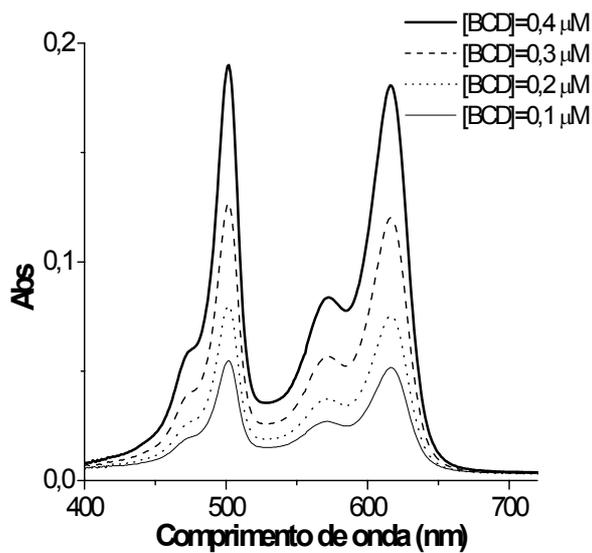


Gráfico 29 - Espectros de absorção ótica do BCD(90°) em PBS. Cubeta com $l = 5\text{cm}$

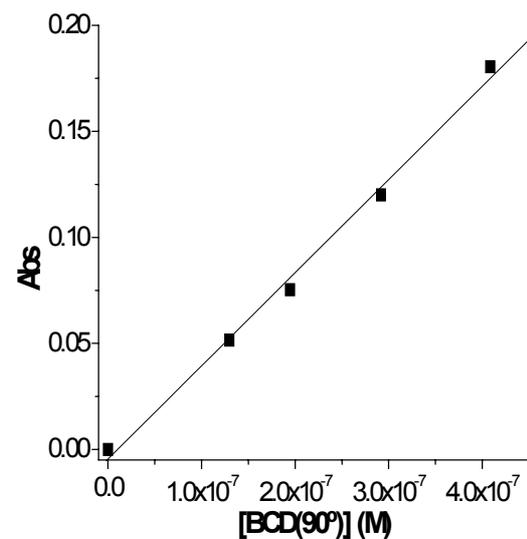


Gráfico 30 - Cálculo do ϵ para BCD(90°) para $\lambda = 617\text{nm}$. $\epsilon = 8,79 \pm 0,40 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$

Os valores dos ϵ para soluções de BCD em PBS e etanol são mostrados na tabela 1.

Observa-se que os valores do ϵ em etanol, com exceção de um BCD, é maior do que na água.

	Os valores de ϵ estão em unidades de $M^{-1}cm^{-1}$			
	BCD 180°	BCD 150°	BCD 120°	BCD 90°
PBS	$1,33 \pm 0,05E5$	$1,35 \pm 0,02E5$	$6,73 \pm 0,20E4$	$8,79 \pm 0,40E4$
Etanol	$2,88 \pm 0,02E5$	$1,30 \pm 0,01E5$	$2,22 \pm 0,01E5$	$1,17 \pm 0,01E5$

Tabela - 1: valores de ϵ para soluções de BCD em etanol e água

A tabela 2 mostra os valores das razões entre os ϵ das bandas longas e curtas para etanol e água, bem como valores comparativos do deslocamento por efeito do solvente e da presença de DNA.

BCD	λ_{curto} (nm)			λ_{longo} (nm)			ϵ_{curto} ($10^4 M^{-1} cm^{-1}$)		ϵ_{longo} ($10^4 M^{-1} cm^{-1}$)		$\epsilon_{curto}/\epsilon_{longo}$	
	Água	Etanol	DNA	Água	Etanol	DNA	Água	Etanol	Água	Etanol	Água	Etanol
90 ⁰	503	508	511	617	623	627	9.25	12.5	8.79	11.7	1.05	1.07
120 ⁰	508	514	517	587	593	595	2.20	7.78	6.73	22.2	0.33	0.35
150 ⁰	506	511	514	623	630	639	1.69	1.18	13.5	13.0	0.13	0.09
180 ⁰	-	-	-	632	638	643	-	-	13.3	28.8	-	-

Tabela - 2: Valores comparativos da razão entre os ϵ das bandas longa e curta para soluções de BCD em etanol e água, e o deslocamento dos espectros por efeito do solvente e DNA