

FOTOQUÍMICA

*Relatório da Disciplina de
Fotoquímica*

Programa, conteúdos e métodos

João Sérgio Seixas de Melo

Provas de agregação em Química

Coimbra

2012

Conteúdo

I.	<i>As Fundações da Fotoquímica, sua gênese e aplicações</i>	3
II.	<i>A Fotoquímica no ensino da química em Coimbra</i>	3
II.1	<i>A origem da Fotoquímica em Coimbra e em Portugal</i>	3
II.2	<i>O ensino da Fotoquímica em Coimbra</i>	5
III.	<i>Objetivos</i>	6
IV.	<i>Programa</i>	8
IV.1.	<i>Programa proposto (sumário)</i>	8
V.	<i>Conteúdos, métodos e bibliografia</i>	11
VI.	<i>Ensino teórico-prático</i>	46
VI.1	<i>Exercícios</i>	46
VI.2.	<i>Projetos (temas de desenvolvimento propostos para trabalhos monográficos)</i>	55
VII.	<i>Ensino Prático</i>	56
	<i>Trabalho 1</i>	56
	<i>Trabalho 2</i>	59
	<i>Trabalho 3</i>	62
	<i>Trabalho 4</i>	66
	<i>Trabalho 5</i>	69
	<i>Trabalho 6</i>	72
	<i>Trabalho 7</i>	76
	<i>Trabalho 8</i>	78
VIII.	<i>Avaliação</i>	82
IX.	<i>A introdução da fotoquímica no mestrado em química medicinal</i>	82

I. As Fundações da Fotoquímica, sua génese e aplicações

A fotoquímica constitui uma área da química da qual a origem não é fácil de descortinar. Uma vez que o fenómeno da luminescência (nele se incluindo a fluorescência e fosforescência) associado a processos fotoquímicos é, presumivelmente, conhecido desde 1603 -altura em que Vincenzo Cascariolo, alquimista de Bolonha, descobriu que determinadas pedras que calcinava com carbono continuavam, após expostas luz do sol, a brilhar no escuro- talvez se possa sugerir situarem-se aqui os primórdios das concepções fotoquímicas. Embora não tenha descoberto a pedra filosofal, como inicialmente previra, o nome de Cascariolo ficou associado ao “fósforo de Bolonha”, sendo que a palavra fósforo, significa portador de luz advindo do grego φορειν (portador) e φως (luz).[Bernard Valeur, *Lumière et Luminescence. Ces Phénomène qui nous entourent*. Belin, 2005] No entanto, só muito mais tarde com os trabalhos de Giacomo Giamician, efetuados nos finais do século XIX princípios do século XX, sobre a ação química da luz, cuja imagem dos “balões no telhado” se tornou célebre, é que a fotoquímica ganha expressão. Durante o século XX evolui de forma vertiginosa, com o grande salto dado pelo advento das técnicas temporais de alta resolução, posteriores à 2ª Grande Guerra. Em 1949, R. G. W. Norrish e George Porter publicam os primeiros trabalhos –que os conduz, em 1967, a partilharem o Prémio Nobel o qual se pode considerar como o primeiro a ser atribuído a investigações na área da Fotoquímica- sobre as técnicas de fotólise de relâmpago que permitem estudar transientes triplete (até então apenas a sua emissão de fosforescência era passível de ser detetada) e com o surgimento dos lasers surgem as técnicas de alta resolução que permitiram evoluir no estudo de reações ultra-rápidas com escalas temporais que vão desde os nanosegundos até ao estado atual onde já se ouve falar de fenómenos nos atosegundos (10^{-18} s)!

II. A Fotoquímica no ensino da Química em Coimbra

II. 1- A origem da Fotoquímica em Coimbra e em Portugal

As raízes da fotoquímica em Coimbra, como área de investigação, situam-se no início dos anos 1970 com o regresso a Portugal do Prof. Sebastião Formosinho, após conclusão do seu Doutoramento em Londres sob supervisão de Sir George Porter. Com o retorno a Portugal, é o próprio Sebastião Formosinho que se apercebe que irá, seguramente, ser assoberbado por tarefas administrativas que o impedirão de acompanhar assiduamente futuros alunos que desejassem efetuar investigação num grupo nascente.

FOTOQUÍMICA

[Livro de Resumos do 8º Encontro Nacional de Fotoquímica, Coimbra, Dezembro de 2005, pág. XVIII]. Surge então a necessidade de ter um “compagnon de route” que, estando mais disponível no laboratório, o auxilie e permita o debater de ideias na então emergente área da fotoquímica. O Prof. Hugh Burrows é o escolhido (com um convite efetuado pelos Prof. Formosinho e Prof. Pinto Coelho num jantar em Londres num restaurante italiano), e com ele vieram para Coimbra os estudos, então na moda, sobre o ião uranilo (a sua fotoquímica e fotofísica) e sobre reações de transferência de eletrão. Simultaneamente em Lisboa a Prof. Sílvia Costa, que também tinha efetuado os seus trabalhos de doutoramento em Inglaterra, tendo privado de perto com o Prof. Formosinho, inicia, no Instituto Superior Técnico, a formação dum outro grupo de Fotoquímica. Muitos outros grupos se constituíram desde então, uns a partir destes, outros mais ou menos em simultâneo; mais recentemente podem encontrar-se em Portugal grupos ou núcleos de fotoquímica, para além dos de Coimbra e do CQE-IST, em Braga, da FCT-UNL, CQFM-IST, Porto (fotocatálise), Algarve, Aveiro (com aplicações na ciências dos materiais).

A Fotoquímica adquiriu pois um caminho que a tornou, sem sombra de dúvida, uma das áreas mais relevantes da química portuguesa da atualidade. Um exemplo adicional desta dinâmica encontra-se na realização, de quatro em quatro anos, dos encontros Ibéricos de Fotoquímica, organizados em conjunto com o grupo de fotoquímica da SPQ e o GRUFO da RSEQ, que ocorreram em 2003 (Santiago de Compostela), 2007 (Faro) e 2011 (Granada), que se intervalam com os nacionais (peridiocidade bianual) dos dois países. A proposta saída do último encontro (Granada, setembro de 2011) vai no sentido dos encontros nacionais se fundirem definitivamente nos Ibéricos, passando a ocorrer em simultâneo (ambos os grupos, espanhol e português) com periodicidade bianual.

Sendo a química uma das áreas de maior impacto e relevo na ciência que se efetua em Portugal, pensamos ser a lecionação de uma disciplina de Fotoquímica, em qualquer curso de química ou relacionado (bioquímica, materiais, química medicinal, etc.), de extrema relevância; não só como disciplina abrangente mas também porque a qualidade da ciência fotoquímica efetuada em Portugal é garantia de uma cuidada, científica e pedagógica, lecionação dos seus conteúdos. Para além disso, com a introdução, no ano letivo de 2010/2011, da inovadora (em Portugal) licenciatura em química medicinal, curso resultante de uma parceria entre três faculdades da UC (FCTUC, FFUC e FMUC) a que se seguirá um mestrado de especialidade (na mesma área mas ainda em fase de implementação) com o seu provável início no ano letivo de 2012/2013, julgo ser importante considerar, na disciplina de fotoquímica, um capítulo que possa motivar o aluno deste novo mestrado e assim propôr-se a sua inclusão como unidade curricular (optativa) do curso.

II. 2- O ensino da Fotoquímica em Coimbra

Pelo que atrás ficou dito a Fotoquímica, como disciplina curricular dos cursos de química, química industrial e bioquímica, encontra-se também intimamente ligada aos seus investigadores. Presente desde os anos 1970 nos *curricula* das diferentes licenciaturas ligadas ao Departamento de Química (química, química industrial e bioquímica -no final dos anos 1980 a criação do Departamento de Bioquímica conduziu a que a licenciatura com esta designação passasse a ser da responsabilidade desse Departamento-), sobreviveu sempre a todas as revisões curriculares. Tem sido, nas últimas décadas, facultada aos alunos como disciplina de opção e sempre frequentada por um número que variou entre os 15 e 30 alunos. Mesmo nos últimos anos, onde o decréscimo demográfico teve forte influência na menor escolha dos alunos universitários por áreas científicas (em particular matemática, física e química), a fotoquímica manteve-se sempre como uma disciplina de bastante procura. Ao longo dos anos a disciplina tem sido lecionada pelos Professores Doutores Sebastião Formosinho, Hugh Burrows e Maria da Graça Miguel. Desde o ano de 1997/1998 passou a ser lecionada igualmente por mim próprio, em conjunto com os docentes anteriormente mencionados ou isoladamente. A disciplina funciona em regime semestral e, até ao ano de 2007, no segundo semestre. Antes da implementação do processo relativo ao *Tratado de Bolonha*, a Fotoquímica entrava, como disciplina de opção, nos *curricula* do 3º ou 4º anos das diferentes licenciaturas. Depois da implementação do modelo de Bolonha começou a ser lecionada no 3º ano da licenciatura e no 1º ano do mestrado em química avançada com a designação de *Fotoquímica e químicas das radiações*. A partir do ano letivo de 2011-2012 deixa de pertencer ao leque disponível na licenciatura em química, continuando, no entanto, a ser oferecida como disciplina de opção aos cursos de química industrial (em extinção) e bioquímica, sendo também frequentada por alunos brasileiros de química (Erasmus e Plano de Licenciaturas Internacionis, PLI) e igualmente no mestrado em química como a disciplina (de opção) de *Fotoquímica e Espectroscopia* (neste caso lecionada em conjunto com o Prof. Rui Fausto). Esta última resulta da reestruturação efetuada no ano letivo 2011-2012, devida à necessidade sentida de valorização do mestrado em química.

A Fotoquímica é pois uma disciplina que pressupõe um conhecimento prévio de matérias constantes dos *curricula* de química-física, espectroscopia e mesmo química orgânica. No entanto, dada a abrangência de matérias e o diferente grau de preparação que os alunos dos diferentes cursos apresentam, todos os aspetos mais relevantes da matéria são de novo abordados e, quando necessário, de forma detalhada e integrada (com os aspetos específicos da fotoquímica). Formalmente a disciplina deverá conter uma componente teórico-prática. Todavia, esta componente é por vezes englobada na componente prática onde são colocadas diversas questões no final dos trabalhos. Na componente prática (coadjuvada nos últimos dois anos pelo

Dr. João Pina) o aluno entra em contato com os diferentes equipamentos dos laboratórios de fotoquímica; tem a virtude (e vantagem) de o introduzir aos problemas diretos que a fotoquímica/fotofísica apresenta e que são previamente enquadrados na componente teórica.

Os conteúdos programáticos desta unidade curricular são, em parte, introduzidos com diversos exemplos e nalguns casos (como são os exemplos das cinéticas de estado excitado envolvendo duas ou mais espécies) com casos concretos estudados no nosso laboratório. Por outro lado, com a exceção do presente ano letivo (2011-2012), uma outra actividade foi introduzida: a elaboração de um trabalho de índole teórico (que pode, no entanto, incluir componente experimental) cujos temas são, na sua grande maioria, igualmente introduzidos na componente teórica de lecionação. Posteriormente, no final do semestre, o aluno desenvolve o tema que apresenta sob a forma escrita e em exposição oral.

Atualmente a disciplina apresenta-se com uma aula teórica semanal (com um total de três horas) sendo lecionada durante todo o primeiro semestre, ou num bloco de 7 semanas (mestrado). No ano letivo de 2011-2012 com início às 9:00 e fim às 13:30, mas nesta se incluindo igualmente a componente prática. Faz também, como se disse, parte integrante dos *curricula* do Mestrado em Química, lecionado no Departamento de Química da Universidade de Coimbra. No ano letivo de 2011-2012 parte dos conteúdos programáticos das disciplinas da licenciatura e do mestrado foram dados em conjunto, se bem que a avaliação tenha sido diferenciada, uma vez que a disciplina do mestrado contém uma parte curricular adicional (espectroscopia molecular) lecionada pelo Prof. Rui Fausto.

III. Objetivos

Os objetivos que se pretendem atingir com esta disciplina são facilmente identificáveis: (i) proporcionar o acesso a conhecimentos que possibilitem a interpretação de fenómenos fotoquímicos e fotofísicos incluindo técnicas e metodologias experimentais correntemente utilizadas, (ii) possibilitar que este conhecimento possa ser utilizado em outras áreas que transcendam a fotoquímica mas que com ela se relacionam (um exemplo é o capítulo dedicado à fotobiologia) e (iii) promover competências que possibilitem ao estudante utilizar, na sua futura vida profissional, os conhecimentos adquiridos como base para desenvolvimento de novos projetos.

O primeiro ponto constitui o cerne e essência da disciplina, sendo abordados de forma exaustiva os aspetos que versam a interação da luz com a matéria, dum ponto de vista molecular. De facto, o estudo da fotoquímica relaciona-se com um tipo único de reação (química): uma reacção bimolecular, envolvendo a interacção de um *quantum* de luz com uma molécula com as subsequentes modificações químicas e físicas daí resultantes. Num sistema

fotoquímico a luz constitui sempre um dos reagentes envolvidos, sendo por isso fundamental uma correta compreensão das propriedades da mesma. Um conhecimento destas propriedades constitui pois um pré-requisito a ter em consideração quando se estudam as leis da interação da luz com a matéria e da natureza das mudanças fotoquímicas que se seguem à excitação molecular por absorção de luz. O estudo detalhado de todos estes processos é contemplado nas secções 1, 2 e 4. Algumas das metodologias e técnicas utilizadas em fotoquímica são inicialmente introduzidas no capítulo 1, introdutório, merecendo um tratamento mais detalhado no capítulo 7. A teoria de grupos, aplicada às transições eletrónicas, com previsão da permissão ou proibição de transições em moléculas tipo, é efetuada num capítulo individualizado (capítulo 3).

No item (ii) dos objetivos propostos é feita a ligação com outras áreas que com a fotoquímica se relacionam. Para tal introduzem-se áreas como a fotobiologia (capítulo 8), fotoquímica orgânica (capítulo 5) e inorgânica (capítulo 6). No entanto, durante a descrição de diversos fenómenos, como sejam a formação de excímero ou transferência de energia eletrónica, é efetuado o relacionamento com outras áreas. É, por exemplo, demonstrado como a associação intramolecular e intermolecular em polímeros pode ser seguida através da formação de excímero; ou como a transferência de energia eletrónica [*Förster Resonance Energy Transfer (FRET)*], depende da distância espacial entre o aceitador e o doador constituindo um método de estudo de alterações conformacionais em polímeros e de associação interpolimérica (por combinação de dois cromóforos em cadeias distintas) ou na determinação da distância entre dois extremos de uma proteína (marcada com um doador e aceitador) permitindo a obtenção do seu tamanho (e simultaneamente da sua estrutura conformacional) no método conhecido por “régua molecular”.

Por último, o terceiro ponto (item iii) é atingido, ainda dentro do espaço temporal da disciplina, com a elaboração do trabalho final onde o aluno tem necessariamente de interagir com o(s) docente(s) apresentando um trabalho de natureza científica. Na ausência de avaliação através deste trabalho final, pensamos que o terceiro item fica corretamente estabelecido com a avaliação por prova escrita bem como pela realização, com elaboração de relatórios, dos diferentes trabalhos práticos que abordam as questões mais relevantes da fotoquímica/fotofísica lecionada. Para alunos de licenciatura (1º ciclo), a realização dos trabalhos práticos parece-nos, inclusive, o método mais adequado de interiorização de muitas das noções da fotoquímica.

Fora do espaço da disciplina, espera-se que esta permita aos alunos que escolham a(s) área(s), ou linha de investigação, ligadas à fotoquímica e espectroscopia molecular, química orgânica, química teórica, catálise, processos biológicos, etc., possam tirar o melhor partido dos conhecimentos adquiridos de forma a potenciar o seu trabalho. Em resumo, pretende-se que os estudantes fiquem a *saber como fazer*, aqui se incluindo o olhar para um

sistema com uma perspectiva fotoquímica, com a sua correta análise e metodologia.

IV. Programa

IV.1.- Programa proposto (sumário)

Desde o ano letivo de 1997/1998 que o programa global da disciplina sofre apenas alterações pontuais, muito função do número de alunos e da natureza dos cursos ou ciclos (licenciatura ou mestrado) em cujos alunos são maioritários. O programa abaixo detalhado traduz globalmente o que foi lecionado entre os anos lectivos de 1997/1998 e 2011/2012, respetivamente o primeiro e o ano mais recente em que a disciplina contou com a minha contribuição na sua leção.

1. Introdução

As fundações da fotoquímica.

O interesse da fotoquímica; Reações fotoquímicas. Leis da Fotoquímica.

Fotoquímica e fotofísica. O estado excitado como uma nova entidade. Exemplos de moléculas cuja geometria, distribuição de carga, pK 's, etc., são diferentes no estado fundamental e excitado. Processos fotoquímicos. Reatividade fotoquímica. O tempo em fotoquímica. Estados excitados eletrónicos. Obtenção das energias dos estados excitados. Diagramas de energia. O Diagrama de Jablonski-estados singuleto e tripleto.

2 aulas

2. Fotofísica Molecular

Estados excitados: características e parâmetros. Absorção e emissão; fluorescência e fosforescência. Desvio de Stokes. Características inerentes à emissão de fluorescência. Regra de Kasha/Vavilov; algumas exceções a esta regra. Obtenção das energias dos estados. Rendimentos quânticos de fluorescência, fosforescência e de formação de estado tripleto. Fluorescência: fatores que a influenciam. Desdobramento singuleto-triplete. Interação da luz com moléculas em solução. Fatores experimentais que influenciam o espectro de emissão. Polarização e anisotropia de fluorescência. Transições radiativas: absorção e emissão. Tratamento teórico da intensidade de absorção; força do oscilador (f); princípio e fatores de Franck-Condon. Tempo de vida do estado singuleto ou tempo experimental de decaimento (τ) vs tempo de vida radiativo (τ_F^0). Relação entre o espectro de absorção e o tempo de vida: os coeficientes de Einstein e a equação de Strickler-Berg. Validade e aplicações da equação de Strickler-Berg. Tempo de vida do estado tripleto.

Intensidade e regras de seleção para as transições eletrónicas. O integral do momento de transição. Transições proibidas por simetria: interações vibrónicas.

FOTOQUÍMICA

Obtenção das constantes de velocidade resultantes dos processos de desactivação: k_F , k_{IC} e k_{ISC} . A dependência de ϕ_F com a temperatura. A dependência das constantes de velocidade não-radiativas com a temperatura. Transições não-radiativas: natureza dos processos. A “Golden Rule” das transições não-radiativas: parâmetros constitutivos. Transições singuleto-triplete e incremento destas por perturbação interna e externa; o efeito do átomo pesado. Acoplamento spin-orbital. O operador spin-orbital, H_{SO} . As regras de El-Sayed.

Fatores que afetam os espectros de absorção e de emissão; efeitos do solvente; efeitos do solvente nos estados n,π^* e π,π^* ; desvios para o azul e vermelho (hipocrômico e batocrômico). Variação da intensidade de absorção: hipocrômico e hiperocrômico. Influência do meio/solvente na inversão energética entre estados excitados n,π^* e π,π^* . Estados de transferência de carga. O estado de transição de Franck-Condon. O efeito da temperatura nos espectros de emissão de fluorescência. Correlações empíricas da polaridade do solvente: o parâmetro $E_T(30)$.

Introdução de uma tabela periódica para as moléculas de acordo com as suas propriedades espectrais e fotofísicas.

6 aulas

3. Introdução às aplicações de Simetria na Química

Teoria de Grupos. Elementos de simetria. Tabelas de Grupo Pontuais. Aplicação à previsão de transições eletrônicas. Os exemplos de previsão das transições eletrônicas no formaldeído e etileno.

2 aulas

4. A Química dos Estados Excitados

Reações ácido-base: o exemplo do β -naftol. Determinação do pK_a de estado excitado (pK_a^*): o ciclo de Förster.

Formação de excímero intermolecular: o caso do pireno. Exciplexos, zwitteriões e tautómeros: transferência de eletrão e de protão.

Transferência de energia: os modelos de Förster e Dexter.

Resolução de cinéticas de estado excitado. O esquema cinético de Birks. Aplicações: formação de excímero inter- e intra-molecular e equilíbrios ácido-base no estado excitado: o exemplo do β -naftol. Supressão de fluorescência. A equação de Stern-Volmer. Os estados ICT vs. TICT: uma polémica fotoquímica.

3 aulas

5. Fotoquímica Orgânica

Fotodissociação e fotoeliminação. Fotoisomerização. Rearranjos concertados: processos sigmatrópicos e electrocíclicos. O princípio da

FOTOQUÍMICA

conservação da simetria orbital. Regras de Woodward-Hoffman. Fotocromismo. O “efeito vibrônico”.

2 aulas

6. Fotoquímica Inorgânica

Reacções redox fotoinduzidas. Fotólise dos aniões I e $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$. Fotofísica e fotoquímica de complexos metálicos – transições LMCT e MLCT. O exemplo do $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$. Fotosubstituição e fotoisomerização. Reacções fotoquímicas do ião uranilo.

1 aula

7. Métodos e Técnicas Experimentais em Fotoquímica

Métodos estacionários e métodos dinâmicos. Fontes de luz, filtros e monocromadores. Espectros de emissão e de excitação de fluorescência. Métodos dinâmicos de luminescência. Decaimentos de fosforescência e de fluorescência: a técnica de contagem de monofotão correlacionada temporalmente; métodos de fase e modulação. Os espectros de absorção dos estados tripleto: a técnica de fotólise de relâmpago. A calorimetria fotoacústica.

1 aula

8. Fotobiologia

Fotossíntese – os processos básicos. Fotossensibilizadores. Parâmetros fotofísicos definidores de um fotossensibilizador; mecanismos de fotossensibilização: as reacções do tipo I e II. O singuleto de oxigénio. Acção fotodinâmica em alvos biológicos. Reacções fotossensibilizadas ocorrendo na natureza. Terapia fotodinâmica (PDT). Fotossensibilizadores de ocorrência natural. Processos fotoquímicos envolvidos no mecanismo da visão.

2 aulas

Apresentação e discussão dos trabalhos propostos

ou

Aulas práticas: 7-8 trabalhos, cada um com 2-3 horas de duração.

6 aulas

V. Conteúdos, métodos e bibliografia

Os objetivos específicos de cada capítulo são diferenciados não se seguindo, na lecionação da disciplina, obrigatoriamente a ordem apresentada. Excetuam-se os dois primeiros capítulos que constituem, grosso modo, a matéria lecionada nas primeiras aulas. Analisar-se-á, de seguida, cada um destes capítulos sem cair na tentação da apresentação exaustiva dos tópicos, mas também usando de algum detalhe sempre que justificado. Indicar-se-á, igualmente, a bibliografia que julgamos adequada para cada unidade e para utilização por parte dos estudantes. Esta bibliografia deve ser considerada complementar a dois livros de texto que constituem obras de referência para a fotoquímica. O primeiro deles, “*Modern Molecular Photochemistry*” de Nicholas J. Turro, continua, apesar da sua edição já datar de há mais de 16 anos, a ser considerado pela maioria dos fotoquímicos como o livro de referência para uma iniciação e aprofundamento das diversas noções associadas a esta área da química. É geralmente este o livro que encontramos nas pastas dos estudantes que frequentam a disciplina. O livro existe agora numa edição de 2010 (“*Modern Molecular Photochemistry of Organic Molecules*”) onde para além de N. J. Turro são também autores V. Ramamurthy e J. C. Scaiano.

O segundo livro, “*Theory and interpretation of fluorescence and phosphorescence*”, de Ralph Becker, é um livro já descontinuado (edição de 1969). No entanto, os conceitos básicos da teoria e interpretação dos fenómenos fotofísicos encontram-se aí descritos de uma forma que considero ser, ainda hoje, bastante clara. Existe também um óbvio caráter mais pessoal, devido a ter privado de perto com o autor, encontrando-me portanto familiarizado com muitos dos conteúdos aí apresentados.

É também de notar que os conteúdos e a forma como a lecionação da disciplina é estabelecida traduzirem uma forma pessoal de leitura da “fotoquímica e fotofísica das moléculas” pelo que são facultados aos alunos elementos utilizados nas aulas, ou estas são dadas com recurso a ‘muito quadro’.

1. INTRODUÇÃO

Dão-se exemplos de áreas e fenómenos da química mais comuns que podem (e devem) ser associados à fotoquímica. Alguns dos exemplos são a conversão de energia solar, a utilização de lasers, a (foto)química da atmosfera, processos de fotodegradação, fenómenos de fototropismo, terapia fotodinâmica, mecanismo da visão, processos de síntese exclusivos, etc.

FOTOQUÍMICA

Efetua-se uma divisão (limitada e certamente artificial) da fotoquímica em três campos mais específicos: fotoquímica (orgânica e inorgânica), fotofísica e fotobiologia.

Introduz-se a noção, de âmbito mais geral, de um estudo fotoquímico envolver a caracterização de estados excitados.

Promove-se uma breve cronologia da fotoquímica como área da química. Efetua-se uma divisão -mais uma vez, e de alguma forma, podendo ser considerada artificial- em três períodos com alguns dos seus marcos históricos. 1) 1850-1920: experiências de Stokes, Ciamician, Perrin, etc., bem como as primeiras experiências de Oscar Raabe (promoção da morte de protozoários com xantenos como a eosina quando expostos à luz); 2) 1920-1950: estudos de fotoreações no estado gasoso; diagramas de Jablonski (ainda sem estado tripleto); estudos de Michael Kasha onde se identifica a fosforescência como responsável pela emissão do estado tripleto de menor energia e finalmente um terceiro período 3) de 1950 até aos nossos dias onde a evolução das técnicas espectroscópicas e de resolução temporal permitiu uma revolução ímpar nos campos abrangidos pela fotoquímica. Identificam-se, nesse período, dois Prêmios Nobel claramente relacionados com a fotoquímica: George Porter em 1967 (técnica de fotólise de relâmpago) e Ahmed Zewail em 1999 (reações químicas nos femtosegundos).

É estabelecida a cronologia de uma reação fotoquímica e introduzidas as leis da fotoquímica. A noção de tempo em fotoquímica (fenómenos ultrarápidos) é efetuada por comparação com o tempo “normal” de uma reação química. O estado excitado e seu estudo começam a ser desvendados. Introduz-se a molécula de formaldeído para mostrar as diferenças existentes entre algumas das suas (diferentes) propriedades (energia, simetria, momento dipolar, comprimento e frequência de ressonância associados à ligação C=O, tempo de vida, etc.) nos estados fundamental (EF) e excitado (EE). Este exemplo é estendido à diferença de geometria entre o EE e o EF para muitas outras moléculas (ex: bifenilo e etileno). Outras propriedades importantes como o momento dipolar e o pK_a (ambas resultantes da diferente distribuição de carga no EF e EE) são ilustradas com exemplos. São lembrados os conceitos de orbitais moleculares σ , σ^* , n , π , e π^* bem como a configuração dos EF e EE. É mostrado que somente as orbitais envolvidas em transições electrónicas são importantes na definição das transições energéticas e conseqüentemente dos estados de interesse (de uma forma geral) a um fotoquímico. São apresentadas as transições e orbitais envolvidas em moléculas tipo (formaldeído, anilina, piridina, etileno, etc).

Introduzem-se os diagramas de energia, transitando-se para o diagrama de Jablonski. É transmitida a noção de que cada estado excitado pode ser parcialmente caracterizado por um tempo de vida, um rendimento quântico e uma dada polarização (este conceito só é detalhado em aula posterior).

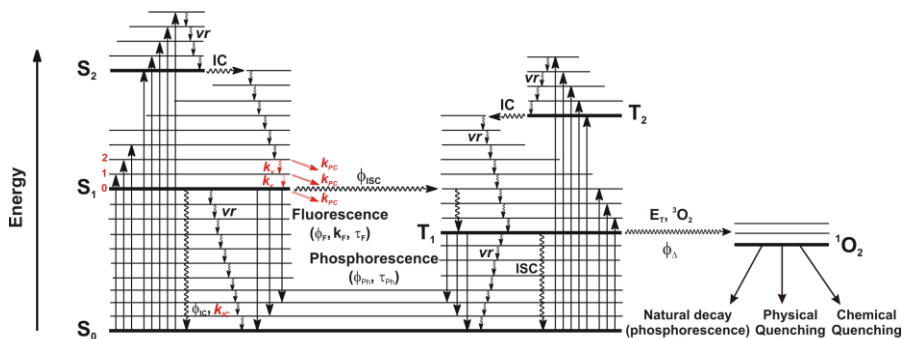


Diagrama de Jablonski, representando os diversos níveis decorrentes de uma excitação eletrônica e os processos de desativação deles resultantes

Com base no diagrama de Jablonski estabelece-se uma primeira noção da Regra de Kasha, mostrando-se que após a excitação inicial S_n a molécula regressa ao mais baixo nível de energia vibracional, v=0, do estado S_{n-1} em cerca de 10⁻¹¹-10⁻¹² s, e assim sucessivamente até ao estado S₁. Discutem-se os valores associados às constantes de velocidade de cada processo (ou seus tempos de vida) mostrando-se o porquê da fluorescência poder competir com a conversão interna a partir de S₁.

A reatividade fotoquímica é ilustrada com exemplos de reações (e seus diferentes produtos) quando expostos à luz (com um comprimento de onda específico) por contraponto à reação no 'escuro', dando-se também exemplos das mesmas na presença de oxigénio, ou diferentes comprimentos de onda de excitação.

Bibliografia

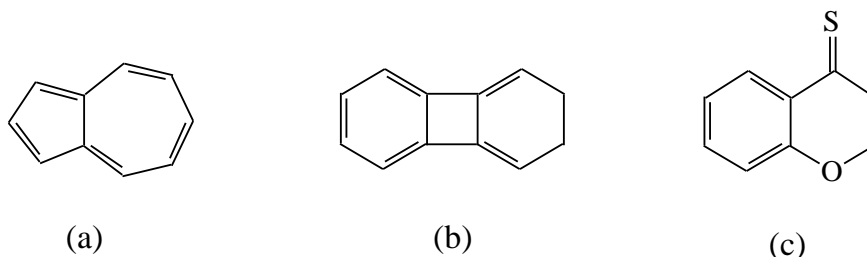
- N. J. Turro, *Modern Molecular Photochemistry*, University Science Books, Sausalito, California, 1991.
- N. J. Turro, V. Ramamurthy, J. C. Scaiano, *Modern Molecular Photochemistry of Organic Molecules*, University Science Books, Sausalito, California, 2010.
- P. Suppan, *Chemistry and Light*, Royal Society of Chemistry, 1993.

2. FOTOFÍSICA MOLECULAR

Na sequência da descrição do diagrama de Jablonski faz-se notar que o singuleto e tripleto respetivo não possuem a mesma energia. É introduzida a noção de desdobramento singuleto-triplete (ΔE_{S-T}) mostrando-se assim que a energia média de repulsão eletrostática é, em estados singuleto, superior à observada em estados tripleto. São dados os exemplos do naftaleno ($\Delta E_{S-T} = 10\ 000\ \text{cm}^{-1}$) e de porfirinas ($\Delta E_{S-T} = 2000\text{-}3000\ \text{cm}^{-1}$).

FOTOQUÍMICA

É introduzido o espectro de fluorescência -com características associadas como sejam a resolução vibracional ou ausência desta, relação imagem no espelho com o espectro de absorção, etc.- com a apresentação dos espectros do perileno e do bisulfato de quinino. São descritas as principais características associadas à emissão de fluorescência: desvio de Stokes (diferença energética entre os máximos -ou 0,0- de absorção e emissão), regra de Kasha/Vavilov (energia dos espectros de fluorescência e fosforescência independente da energia de excitação -formulação de Vavilov- e emissão de fluorescência e fosforescência ocorrer a partir do estado excitado de menor energia, S_1 e T_1 -formulação de Kasha-), rendimento quântico de fluorescência (razão entre o número de *quanta* de fluorescência emitidos e o número de *quanta* absorvidos para um estado S_n). O desvio de Stokes é ilustrado com exemplos de espectros de absorção e emissão de compostos em solução. A regra de Kasha/Vavilov é ilustrada com o naftaleno e com uma exceção: o azuleno (isómero estrutural do naftaleno). Mostram-se que existem outras exceções para além do azuleno (a) como o bifenileno (b) e tiocromonas (c), que constituem casos muito particulares de moléculas que também possuem emissão de fluorescência a partir de S_2 (detetável).



É referenciado o exemplo do “efeito vibrónico”, que será posteriormente discutido com mais detalhe no capítulo 5, com exemplos de moléculas (fotocrómicas) cujo comportamento escapa à regra de Kasha, constituindo um ponto de confronto de ideias da fotoquímica atual. Refere-se, de forma breve, que muitos aspetos deste modelo não estão de acordo com “a descida/desativação em escada” entre níveis vibracionais (de S_n a S_1) implícitos na regra de Kasha.

São detalhadas as características associadas ao espectro de emissão e por acréscimo são abordados, de forma mais ou menos detalhada e sempre com exemplos, alguns dos fatores que afetam a fluorescência; nestes salientam-se a i) rigidez molecular, ii) natureza da substituição, iii) presença de iões metálicos, v) temperatura e vi) dependência com o pH.

A partir do diagrama de Jablonski identificam-se os diferentes rendimentos quânticos resultantes da desativação de uma molécula no estado excitado. Descreve-se a noção de rendimento quântico. Na determinação do rendimento quântico de fluorescência de forma absoluta (*quanta in/quanta out*)

$$\phi_F = \frac{\text{n}^\circ \text{ de "quanta" de fluorescência emitidos}}{\text{n}^\circ \text{ de "quanta" absorvidos para um estado singuleto excitado}}$$

é acrescentada a forma de determinação de um rendimento quântico de fluorescência relativo (por comparação com uma referência), método genericamente utilizado nestas determinações. Demonstra-se como se determina experimentalmente o rendimento quântico de fluorescência pelo método comparativo através da equação

$$\phi_{\text{Comp}} = \frac{\int I_{\text{comp}} d\lambda}{\int I_{\text{ref}} d\lambda} \times \frac{D.O._{\text{ref}}}{D.O._{\text{comp}}} \times \frac{n_{\text{comp}}^2}{n_{\text{ref}}^2} \times \frac{f_{\text{comp}}^{\text{des}}}{f_{\text{ref}}^{\text{des}}} \times \phi_{\text{ref}}$$

onde o termo $\int I_x d\lambda$ se refere à integração do espectro de emissão de fluorescência para o composto (comp) e para a referência (ref); $D.O._x \equiv$ densidade ótica das soluções ao comprimento de onda de excitação; $n_x \equiv$ índice de refração do solvente no qual se encontra dissolvido o composto (n_{comp}) ou a referência (n_{ref}) e ϕ_{ref} o rendimento quântico absoluto do composto de referência utilizado. Como normalmente estas experiências são feitas em condições normais de laboratório, i.e., onde o oxigênio existe dissolvido nas soluções, e como o rendimento quântico de fluorescência é um valor obtido na ausência de O_2 , indica-se ser necessário introduzir um fator de correção na expressão (razão entre as áreas das bandas de emissão de fluorescência na ausência e na presença de O_2).

São introduzidas algumas noções associadas à obtenção correta de espectros de fluorescência. O aparecimento dos picos de *Rayleigh* (proporcional ao tamanho da partícula de soluto) e de *Raman* do solvente (dependência deste com o c.d.o. de excitação); a necessidade e o porquê do fator geométrico na correção da intensidade de fluorescência: intensidade/resposta da intensidade da fonte de luz não constante com o c.d.o.; eficiência/resposta do monocromador e do detetor: a necessidade dos fatores (espectros) corretivos. Verificação de que a resposta da intensidade de fluorescência com a concentração é apenas linear para soluções diluídas, com conseqüente erro na determinação de rendimentos quânticos de fluorescência variando com a absorvância para valores 0.01(1.1%) a 0.2 (20%). São igualmente abordados outros efeitos: filtro interno e reabsorção.

São descritos os diferentes processos de desativação dos estados excitados em termos das suas constantes de velocidade, k_F , k_{IC} e k_{ISC} . Lembra-se a relação entre tempo e constante de velocidade, para um processo de primeira ordem, mostrando-se que para um processo do tipo $S_1 \xrightarrow{k_F} S_0$, o desaparecimento de S_1 com o tempo vem dado por

$-\frac{dS_1}{dt} = k_F S_1(t) dt$, o que integrando conduz a $S_1(t) = S_1(0)e^{-k_F t}$ [com $S_1(0)$ a “concentração” inicial de S_1 a $t=0$ e k_F a constante de velocidade para o processo de desativação em causa]. Mostra-se que substituindo a segunda equação na primeira resulta $-dS_1(t) = k_F S_1(0)e^{-k_F t} dt$. Mostra-se igualmente que dado que o tempo de vida médio, τ , de todas as moléculas de S_1 existentes a $t=0$ poder ser simplesmente expresso como resultando da média sobre todos os possíveis tempos de vida, cada qual sendo pesado relativamente ao número de moléculas para o qual ocorre; este vem dado por:

$\tau = \int_{S_1(0)}^0 \frac{-t}{S_1(0)} dS_1$ o que substituindo $dS_1(t)$ na equação anterior conduz a:

$$\tau = k_F \int_{S_1(0)}^0 t \cdot e^{-k_F t} dt = \frac{1}{k_F}.$$

É introduzida a noção de tempo de vida de fluorescência e efetuada a dedução da sua relação com a constante de velocidade, com base na existência de dois processos competitivos na desativação do estado excitado sendo generalizada para a presença de outros possíveis processos. É salientada a diferença entre o tempo de vida radiativo medido ou observado e o tempo de vida inerente ou natural. É efetuada uma abordagem breve aos dois métodos (domínio temporal e de frequência) utilizados para determinação experimental dos tempos de vida.

Mostra-se que o tempo de vida medido experimentalmente, τ_F , é dado por:

$$\tau_F = \frac{1}{k_F + \sum_i k_i} \text{ com } \sum_i k_i = k_{ISC} + k_{IC}$$

Relacionam-se as diferentes constantes de velocidades com os parâmetros experimentalmente obtidos.

$$k_{ISC} \text{- Constante de conversão intersistemas: } k_{ISC} = \frac{\phi_T}{\tau_F}$$

$$k_F \text{- Constante de desativação de emissão radiativa: } k_F = \frac{\phi_F}{\tau_F}$$

$$k_{IC} \text{- Constante de conversão interna } (S_1 \rightsquigarrow S_0): k_{IC} = \frac{1 - (\phi_T + \phi_F)}{\tau_F}$$

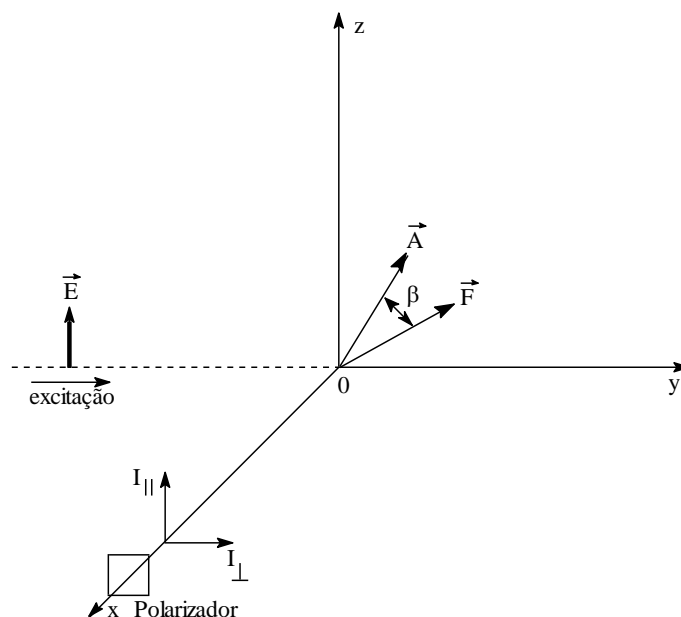
Descreve-se a dependência de ϕ_F com a temperatura. Mostra-se que, ao fazer variar a temperatura, o rendimento quântico de fluorescência pode diminuir, relativamente aos outros processos que desativam o estado S_1 (ϕ_{IC} e ϕ_{ISC}), que é traduzível pela relação:

$$\log \left[\frac{1}{\phi_F} - \left(1 + \sum_i k_i \tau_F^0 \right) \right] = B \cdot \frac{1}{T}$$

com $\sum k_i = k_F + k_{IC} + k_{ISC}$ e B uma constante dependente do composto em estudo.

Introduz-se a noção de polarização e anisotropia de fluorescência; mostra-se que a polarização da emissão (quer de fluorescência quer de fosforescência) pode ser utilizada para estabelecer a orientação do dipolo da transição de emissão relativamente à banda de absorção em causa.

Discute-se a necessidade experimental da observação de polarização necessitar que as moléculas estejam estacionárias durante o processo de excitação-emissão o que é obtido por recurso a solventes viscosos e/ou a baixa temperatura, com formação de uma matriz rígida estável (evitando-se a dispersão rotacional). Ilustra-se o fenómeno de interação do feixe de luz de excitação com os vetores da absorção e emissão.



Representação esquemática da polarização ou anisotropia relativa. O vector eléctrico \vec{E} encontra-se polarizado no plano yz; quando interage com a solução fluorescente (colocada na origem -0) é polarizado ao longo de 0z. A fluorescência emitida segundo as componentes $I_{||}$ e I_{\perp} é lida ao longo de x, através da orientação dos polarizadores. O vector \vec{A} é o vector orientação da absorção e o vector \vec{F} da fluorescência.

Mostra-se a diferença entre a anisotropia e a polarização; anisotropia, r , mede o valor relativo da componente paralela ($I_{||}$) ao vetor elétrico, \vec{E} , que a molécula possui; ao valor de $I_{||}$ deverá ser subtraída a outra componente que lhe é perpendicular e dividida pelo número total de componentes ($I_{||}+I_{\perp}=2I_{\perp}$ com $I_{||}=I_{\perp}$):

$$r = \frac{I_{||} + I_{\perp}}{I_{||} + 2I_{\perp}}$$

Indica-se que tal grandeza “corrige” o conceito e fórmula normalmente utilizados para o grau de polarização, em que apenas se considera uma componente perpendicular I_{\perp} . Define-se o grau de polarização através da equação:

$$P = \frac{I_{||} + I_{\perp}}{I_{||} + I_{\perp}} = \frac{3\cos^2\alpha - 1}{\cos^2\alpha + 3}$$

onde α ($\equiv\beta$) é o ângulo entre os momentos de transição de absorção e emissão, que variam entre 0° e 90° ; mostra-se que tal implica que o grau de polarização, P , varia entre $1/2$ e $-1/3$:

$$\left(\alpha = 0^\circ\right) \quad \frac{1}{2} \leq P \leq -\frac{1}{3} \quad \left(\alpha = 90^\circ\right).$$

Apresenta-se a equação para a anisotropia de fluorescência, r , de acordo com Perrin:

$$r(\beta) = \frac{2}{5} \cdot \left(\frac{3}{2} \cdot \cos^2\beta - \frac{1}{2}\right)$$

o que mostra que, de acordo com esta equação, os valores teóricos de r cobrem o intervalo, $-0,2 \leq r \leq 0,4$, sendo o valor mais elevado obtido quando os dois vetores, relativos às direções dos momentos de transição para a absorção e emissão, forem iguais, i.e., quando $\beta=0^\circ$.

Ilustra-se a importância da técnica fotoquímica por recurso à experiência de B. Valeur e G. Webber para a determinação das duas bandas referentes aos estados 1L_a e 1L_b do índole por meio de excitação de fluorescência a baixa temperatura.

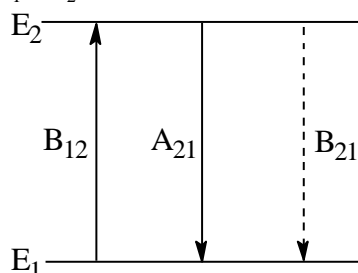
Bibliografia

- N. J. Turro, *Molecular Photochemistry*, N. A. Benjamin, Inc., N. Y., 1965.
- N. J. Turro, *Modern Molecular Photochemistry*, University Science Books, Sausalito Ca., 1991.
- N. J. Turro, V. Ramamurthy, J. C. Scaiano, *Modern Molecular Photochemistry of Organic Molecules*, University Science Books, Sausalito, California, 2010.

- A. Jablonski, *Z. Phys.* **94**, 38 (1935).
- M. Kasha, *Acta Phys. Pol.* **A71(5)**, 661 (1987).
- Andrew Gilbert & Jim Baggot, *Essentials of Molecular Photochemistry*, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1991.
- J.R. Lakowicz, *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, Plenum Press, NY, 2nd edn., 1998.
- Pina, F. *Química* **54**, 88 (1994).
- Beer, M. e Longuet-Higgins, H. *J. Chem. Phys.* **23**, 1390 (1955).
- Maciejewski, A. e Steer, R. P. *Chem. Rev.* **93**, 67 (1993).

Relação entre o espectro de absorção e o tempo de vida: os coeficientes de Einstein e a equação de Strickler-Berg

A dedução das expressões que relacionam a absorção e emissão de radiação entre dois estados E_1 e E_2 é efetuada com base na equação da radiação de Einstein, através dos coeficientes de Einstein para os processos de absorção, B_{12} , de emissão espontânea, A_{21} , e emissão estimulada, B_{21} , entre esses mesmos dois estados E_1 e E_2 .



Relembra-se que a probabilidade de um fóton ser absorvido de um estado E_1 para um estado E_2 é dependente do momento dipolar da transição, \vec{M}_{12} , sendo que esta probabilidade depende da densidade de radiação $\rho(\tilde{\nu}_{12})$, do número de onda $\tilde{\nu}$ e do número de moléculas no estado 1 que são excitadas, ou seja $n_1 B_{12} \rho(\tilde{\nu}_{12})$, onde B_{12} é o coeficiente de Einstein para a absorção e se relaciona com o momento do dipolo de transição.

Mostra-se que a relação de Einstein -relacionando a probabilidade para a absorção e emissão induzidas, B_{12} e B_{21} , com o da probabilidade de emissão espontânea, A_{21} - é, para esta última, diretamente proporcional à correspondente probabilidade de absorção e à terceira potência da frequência de transição, de acordo com a equação:

$$A_{21} = 8\pi h c \tilde{\nu}^3 \frac{g_1}{g_2} B_{12} = 8\pi h \tilde{\nu}^3 n^3 B_{12}$$

(onde h é a constante de Planck e g_1 e g_2 são as degenerescências dos estados E_1 e E_2) sendo que esta relaciona a probabilidade de emissão espontânea A_{21} com a probabilidade de absorção (ou emissão estimulada, B_{21}) $B_{12}\rho(\tilde{\nu})$ para transições radiativas entre dois estados que diferem energeticamente de $h\tilde{\nu}c$, num átomo ou molécula inseridos num meio de índice de refração n . Estabelece-se, igualmente, uma relação para o correspondente coeficiente da transição (de absorção) com parâmetros experimentalmente mensuráveis:

$B_{12} = \frac{2303c}{hNn} \int_{\tilde{\nu}_1}^{\tilde{\nu}_2} \frac{\epsilon(\tilde{\nu})}{\tilde{\nu}} d\tilde{\nu}$, onde N é o número de Avogadro, $\epsilon(\tilde{\nu})$ é o coeficiente de extinção molar (com o integral medido para a banda de absorção delimitada por $\tilde{\nu}_1$ e $\tilde{\nu}_2$).

A partir daqui relacionam-se as equações anteriores mostrando-se que para transições/bandas 0-0 estas dão origem a:

$$k_F^t = \left(\frac{2303 \times 8\pi c}{N} \right) n^2 \tilde{\nu}_m^2 \int_{\tilde{\nu}_1}^{\tilde{\nu}_2} \epsilon(\tilde{\nu}) d\tilde{\nu} = 2,88 \times 10^{-9} n^2 \tilde{\nu}_m^2 \int_{\tilde{\nu}_1}^{\tilde{\nu}_2} \epsilon(\tilde{\nu}) d\tilde{\nu}$$

onde $\tilde{\nu}_m^2$ constitui a frequência média para a banda de absorção integrada. No entanto, a simplicidade desta equação conduz a que somente seja utilizada para transições atômicas. Introduce-se a equação de Förster

$$k_F^t = 2,88 \times 10^{-9} n^2 \int_{\tilde{\nu}_1}^{\tilde{\nu}_2} \frac{(2\tilde{\nu}_0 - \tilde{\nu})^3}{\tilde{\nu}} \cdot \epsilon(\tilde{\nu}) d\tilde{\nu}$$

e a de Strickler-Berg:

$$k_R^{SB} = (2,88 \times 10^{-9}) \cdot n^2 \cdot \langle \tilde{\nu}_F^{-3} \rangle_m^{-1} \cdot \int_{\tilde{\nu}_1}^{\tilde{\nu}_2} \frac{\epsilon(\tilde{\nu})}{\tilde{\nu}} d\tilde{\nu}$$

onde $\langle \tilde{\nu}_F^{-3} \rangle_m^{-1} = \frac{\int I(\tilde{\nu}_F) d\tilde{\nu}}{\int \tilde{\nu}_F^{-3} I(\tilde{\nu}_F) d\tilde{\nu}}$, representa o valor médio de $\tilde{\nu}^{-3}$ ao longo

de todo o espectro de fluorescência, $\int I(\tilde{\nu}_F) d\tilde{\nu}$, e n o índice de refração do meio.

A validade (e aplicações) da equação de Strickler-Berg é ilustrada com alguns exemplos, nomeadamente o trabalho dos próprios autores.

Bibliografia

- S. J. Strickler e R. A. Berg *J. Chem. Phys.* **37**, 814 (1962).
- J. B. Birks e D. J. Dyson *Proc. Roy. Soc. London, Ser. A.* **275**, 135 (1963).
- I. B. Berlman, *Handbook of Fluorescence Spectra of Aromatic Molecules*, Academic Press, N. Y., 1965.

- G. M. Barrow, *Introduction to Molecular Spectroscopy*, McGraw-Hill Book Company, Inc. & Kogakusha Company, Ltd., Tokyo, 1962.
- R. S. Becker, *Theory and interpretation of Fluorescence and Phosphorescence*, Wiley Interscience, John Wiley & Sons, N. Y., 1969.

Transições não-radiativas

É introduzida a noção da natureza dos processos de desativação ou transições não-radiativas e teorias associadas. É igualmente introduzida a noção de que a conversão ou transição não-radiativa resulta de transições entre estados eletrônicos onde a energia de excitação eletrônica é parcial ou totalmente convertida em energia vibracional do sistema, como um todo, resultando de processos nos quais as moléculas transitam entre estados eletrônicos sem emissão de radiação. Os fenômenos associados aos processos não-radiativos bem como a “golden rule” de Fermi

($k_{NR} = \frac{2\pi}{\hbar} \rho \cdot \beta_{el} \cdot f(E)$) são apresentados e discutidos, nomeadamente em

termos das contribuições dos três termos: fator eletrônico, β_{el} (elementos de matriz eletrônicos), densidade de estados finais, ρ , e o fator de Franck-Condon $f(E)$ [que tem em conta o grau de sobreposição dos níveis vibracionais dados pelas funções de onda vibracionais ϕ_f e ϕ_i (inicial e final respectivamente)].

São descritas, de forma breve, algumas das teorias das transições não-radiativas: Robinson e Frosch, Siebrand e Kasha.

Bibliografia

- N. J. Turro, *Molecular Photochemistry*, N. A. Benjamin, Inc., N. Y., 1965.
- N. Turro, *Modern Molecular Photochemistry*, University Science Books, Sausalito Ca., 1991.
- N. J. Turro, V. Ramamurthy, J. C. Scaiano, *Modern Molecular Photochemistry of Organic Molecules*, University Science Books, Sausalito, California, 2010.
- R. S. Becker, *Theory and Interpretation of fluorescence and phosphorescence*, John Wiley & Sons, NY, 1969.
- S. J. Formosinho, *Um modelo de efeito de túnel para as transições não-radiativas em hidrocarbonetos aromáticos*, Academia das Ciências de Lisboa, Lisboa, 1974.
- Andrew Gilbert & Jim Baggot, *Essentials of Molecular Photochemistry*, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1991.
- Robinson, G. W. e Frosch, R. P. *J. Chem. Phys.* **37**, 1962 (1962).
- Robinson, G. W. e Frosch, R. P. *J. Chem. Phys.* **38**, 1187 (1963).
- Siebrand, W. *J. Chem. Phys.* **44**, 4055 (1966).
- Siebrand, W. *J. Chem. Phys.* **46**, 440 (1967).

Intensidade e Regras de seleção para as transições eletrônicas. O integral do momento de transição.

É lembrado o princípio de Born-Oppenheimer e introduzido o princípio de Franck-Condon para as transições eletrônicas.

É discutida a fatorização da função de onda total de um sistema nas suas componentes eletrônicas, ϕ_e , vibracional, χ_v e de spin, ϕ_s , $\Psi_T = \phi_e \chi_v \phi_s$, conduzindo à separação do momento de transição em três componentes,

$\vec{M}_{if} = \vec{m}_{if} S_v S_s$ ($\vec{m}_{if} \equiv$ momento dipolar eletrônico médio e os termos S_v e S_s são, respetivamente, os integrais de sobreposição vibracional e de spin). É introduzida a noção de dada ser a probabilidade de absorção (e de emissão) diretamente proporcional ao quadrado do momento do dipolo da transição, \vec{M}_{if}^2 , esta torna-se proibida se qualquer um dos anteriores termos for nulo.

Introduz-se a noção de momento da transição entre dois estados que se pode calcular a partir do integral do produto das funções de onda dos estados inicial (m) e final (n) da transição espectral e do operador do momento do dipolo da radiação, $\vec{M}_{mn} = e \int \psi_n^* \sum_i Z_i \vec{r}_i \psi_m d\tau$ (com o operador do momento

dipolar $\vec{M} = \vec{M}_x + \vec{M}_y + \vec{M}_z = \sum_i e \vec{r}_i$), sendo \vec{r}_i o vetor posição da

partícula i (distância da partícula i à origem de um sistema de coordenadas fixas) de carga eZ_i (onde e é a carga nos N electrões) estendendo-se o somatório a todas as coordenadas de todas as partículas carregadas (electrões e núcleo). Discute-se a probabilidade das transições com base na interação entre os vetores elétrico do fóton, \vec{E} , e do momento dipolar da transição da molécula. É, subseqüentemente, introduzida a noção duma transição ser proibida se os dois vetores forem, por razões de simetria (das orbitais) da molécula, perpendiculares. Todos os conceitos são complementados com exemplos ilustrativos.

A introdução da noção de acoplamento spin-orbital é efetuada mostrando-se que o operador associado mistura, eficientemente, algum carácter de singuleto no(s) estado(s) tripleto e algum carácter tripleto no(s) estado(s) singuleto, destruindo assim o carácter puro de cada um. Mostra-se que a interação spin-orbital adiciona ao Hamiltoniano um novo termo ou fator, H_{SO} , que traduz tal acoplamento. A partir deste ponto são introduzidas as transições singuleto-triplete e o incremento destas por perturbação interna e externa através do efeito do átomo pesado.

São introduzidas as regras de El-Sayed para explicar a maior eficiência entre transições singuleto-triplete com diferente origem relativamente às transições entre estados com a mesma origem. Tal é exemplificado, tanto

para sistemas heterocíclicos contendo o átomo de azoto, onde a razão entre o acoplamento de estados singuleto e tripleto de diferente origem é

$$\frac{\langle S_{\pi,\pi^*} | H_{SO} | T_{n,\pi^*} \rangle}{\langle S_{n,\pi^*} | H_{SO} | T_{n,\pi^*} \rangle} = 31,6$$

como para moléculas contendo o grupo C=O, onde esta razão de interação spin-orbital é:

$$\frac{\langle n, \pi^* | H_{SO} | \pi, \pi^* \rangle}{\langle \pi, \pi^* | H_{SO} | \pi, \pi^* \rangle} \geq 20 - 30$$

Bibliografia

- N. J. Turro, *Modern Molecular Photochemistry*, University Science Books, Sausalito Ca., 1991.
- N. J. Turro, V. Ramamurthy, J. C. Scaiano, *Modern Molecular Photochemistry of Organic Molecules*, University Science Books, Sausalito, California, 2010.
- Ralph S. Becker, *Theory and interpretation of fluorescence and phosphorescence*, John Wiley & Sons, NY, 1969.
- Andrew Gilbert & Jim Baggot, *Essentials of Molecular Photochemistry*, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1991.
- Born M. e Oppenheimer, R. *Ann. Physik* **84**, 457 (1927).
- McGlynn, S. P.; Azumi, T. e Kinoshita, M. em *Molecular Spectroscopy of the Triplet State*, Prentice-Hall: Englewood Cliffs, N. J., 1969.
- El-Sayed, M. A. *Acc. Chem. Res.* **1**, 8 (1966).

Fatores que afetam os espectros de absorção e de emissão; efeitos de solvente; efeitos de solvente nos estados n, π e π, π**

São lembrados conceitos básicos de espectroscopia do UV/visível, correndo-se aqui o risco, assumido, de existir alguma sobreposição com os *curricula* constantes das disciplinas de química-física II, química estrutural e mesmo química geral II. São lembrados, e integrados, mas agora na perspectiva de um fotoquímico, os efeitos que a mudança de solvente induz na posição (relativa) das bandas do espectro de absorção, nomeadamente o facto de poder ser utilizado para atribuição do tipo de estados característicos dessas bandas ($\pi \rightarrow \pi^*$, $n \rightarrow \pi^*$ ou $n \rightarrow \sigma^*$). São exemplificados os desvios para o azul e vermelho com o aumento da polaridade do solvente. Mostra-se que o desvio das bandas para o azul é normalmente atribuído a transições $n \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \sigma^*$, enquanto que o desvio para o vermelho a transições $\pi \rightarrow \pi^*$. Faz-se notar que os espectros de absorção e fluorescência de compostos heterocíclicos (carbonílicos ou contendo átomos de azoto) é muito sensível à polaridade do solvente mas muito particularmente à ligação de hidrogénio, do que resulta que numa transição $n \rightarrow \pi^*$ a densidade eletrónica do

heteroátomo (O, N, S, etc) deverá decrescer, conduzindo a um enfraquecimento da(s) ligação(ões) de hidrogénio entre esse átomo e os doadores externos de ligação de hidrogénio (normalmente o próprio solvente), mostrando-se assim que a energia do nível vibracional 0-0 da banda de absorção respeitante a transições do tipo $n \rightarrow \pi^*$ deverá, com o aumento do poder de doação de hidrogénio do solvente, deslocar-se para valores energeticamente superiores.

A influência do solvente na inversão energética de estados n, π^* e π, π^* é descrita como sendo determinante nas propriedades espectrais, fotofísicas e fotoquímicas de moléculas conjugadas contendo heteroátomos. Exemplifica-se com um caso concreto: a observação de fluorescência muito ténue, ou mesmo nula, proveniente de compostos aromáticos carbonílicos ou contendo átomos de azoto em solventes apróticos e não-polares, que é levantada com a adição de solventes doadores de ligação de hidrogénio e que se traduz, nomeadamente, no aparecimento (ou incremento) da fluorescência. Mostra-se, mais uma vez recorrendo a um exemplo concreto, que em tais compostos o estado S_1 é normalmente n, π^* (consequentemente pouco fluorescente) mas como frequentemente existe um estado π, π^* energeticamente próximo, o aumento da polaridade do solvente conduz a que o estado $n\pi^*$ suba de energia e o estado π, π^* desça para valores energéticos mais baixos (relativamente ao estado fundamental), promovendo-se assim uma inversão da ordem dos dois estados.

Bibliografia

- Kasha, M. em *Light and Life. The Nature and Significance of $n \rightarrow \pi^*$ Transitions*. Ed. por McElroy W. D. e Glass, B., The Johns Hopkins Press, 1961.
- R. S. Becker, *Theory and interpretation of fluorescence and phosphorescence*, John Wiley & Sons, NY, 1969.

Os Parâmetros Empíricos de Polaridade; o parâmetro $E_T(30)$

Nesta seção, e de uma forma breve, o aluno é colocado perante o facto de se poder definir uma forma de classificação dos efeitos de solvente, baseada na polaridade destes. Mostra-se que qualquer correlação do efeito do solvente, num dado processo, com um parâmetro do mesmo solvente é, na realidade, apenas uma comparação com um processo de referência. Mostra-se que os parâmetros de polaridade encontrados tentam, deste modo, contabilizar todos os tipos de interação existente no próprio solvente, como por exemplo, interações do tipo carga-dipolo, dipolo-dipolo, carga-carga, dipolo induzido-dipolo, ligação por pontes de hidrogénio, etc. Apresenta-se aquele que consideramos ser, dos parâmetros obtidos por meios espectroscópicos, o mais largamente divulgado e aplicado à determinação do grau de polaridade de um solvente: o $E_T(30)$ de Dimroth e Reichardt, que preenche o requisito de

ser largamente correlacionado com outros parâmetros de polaridade (obtidos por medidas não espectroscópicas). Mostra-se que o valor absoluto resultante desta escala é obtido pela relação $E_T(30)[\text{kcal/mol}^{-1}] = 28591/\lambda_{\text{máx}}$, onde o $\lambda_{\text{máx}}$ corresponde ao comprimento de onda a que uma dada betaína absorve no solvente em questão.

Bibliografia

- Kosower, E. M., *An Introduction to Physical Organic Chemistry*, Plenum Press, N. Y., 1981.
- Reichardt, C. *Solvents and Solvent Effects in Organic Chemistry*. 2nd Ed. VCH Publishers, Weinheim, 1988.
- Reichardt, C. *Chem. Soc. Rev.* 147 (1992).
- Reichardt, C. *Chem. Rev.* **94**, 2319 (1994).

Uma Tabela Periódica para as Moléculas

É feita a introdução de uma forma de apresentação de moléculas, de acordo com as suas propriedades espectrais e fotofísicas, que configura uma tabela periódica. De acordo com estas propriedades, é estabelecida uma classificação de moléculas com uma divisão em cinco grupos (tipo I a V), que se esquetmatiza na tabela seguinte.

I	II	III	IV	V

São descritos, como em baixo se indica, as características fotofísicas a que os compostos devem obedecer de forma a serem incluídos nestas famílias.

Compostos do tipo I- as constantes k_F e k_{ISC} (para $S_{n,\pi^*} \rightarrow T_{n,\pi^*}$), são de valor idêntico, o que conduz a que a fluorescência (Fluo) e fosforescência (Fosf) se encontrem presentes. Possuem um τ_F^0 longo e um τ_{ph} curto. Os estados $n \rightarrow \pi^*$ (S_1) e $\pi \rightarrow \pi^*$ (S_2) encontram-se separados por ≥ 1 eV (valor relativamente elevado). Exemplos: acetona, formaldeído, tiobenzofenona, diacetilo, 2,3-butanodiona.

Compostos do Tipo II- S_1 e T_1 são n,π^* , com um tripleto intermédio entre estes estados, de tipo π,π^* . O valor de k_{ISC} ($\approx 10^{-11}$ s) é elevado e refere-se a uma transição, $S_{n,\pi^*} \rightarrow T_{\pi,\pi^*}$; a fosforescência é “curta” ($\tau_{ph} \approx 10^{-4} - 10^{-2}$ s), com origem no estado T_{n,π^*} . A probabilidade da conversão $S \rightarrow T$, ϕ_T , é elevada e responsável pelo baixo valor da fluorescência $\phi_F \leq 10^{-3}$.

Compostos do Tipo III- Os estados S_{n,π^*} e T_{n,π^*} encontram-se localizados entre um singuleto e um tripleto de origem π,π^* . A banda de absorção n,π^* , pouco intensa, existindo para maiores c.d.o., encontra-se fortemente sobreposta pela transição π,π^* . A absorção n,π^* aparece pois como uma pequena inflexão ou ombro da banda visível, de difícil observação experimental. A fluorescência é normalmente inexistente. Existe uma eficiente ISC, $S_{n,\pi^*} \rightarrow T_{\pi,\pi^*}$. Por baixo do estado S_{n,π^*} , existem dois tripletos de diferente configuração, i.e., n,π^* e π,π^* ; tal conduz à possibilidade de $S_{n,\pi^*} \rightarrow T_{\pi,\pi^*}$, com uma probabilidade elevada e uma segunda possibilidade, $S_{n,\pi^*} \rightarrow T_{n,\pi^*}$, de baixa probabilidade. Na primeira situação temos um $\tau_{ph} \approx 0,1 - 10$ s, devido à transição $T_{\pi,\pi^*} \rightarrow S_0$, enquanto se for a segunda situação a ocorrer, como T_1 é π,π^* , o T_{n,π^*} desativará para este. Os valores de $\phi_F \leq 10^{-3}$ são devidos a uma contribuição mínima de $S_2(\pi,\pi^*)$, que assim levanta parte da proibição de emissão. Exemplos: ácido benzóico, anidrido ftálico, cumarina, etc.

Compostos do Tipo IV- Os estados S_1 e T_1 são de origem π,π^* . No entanto, dada a grande proximidade energética de um estado T_{n,π^*} do singuleto $S_1(\pi,\pi^*)$ a eficiência do processo de ISC torna-se elevada, roubando-a ao processo de fluorescência. Embora pequeno, o valor de ϕ_F é maior do que o observado para as moléculas dos grupos anteriores uma vez que neste caso k_F (para estados S_{π,π^*}) é superior ao apresentado por estados S_{n,π^*} . Se nos grupos anteriores é de difícil escrutínio a observação das bandas de absorção relativas às transições $n \rightarrow \pi^*$, neste grupo tal ainda é mais acentuado pois esta transição encontra-se sobreposta pela banda fortemente intensa relativa à transição $\pi \rightarrow \pi^*$. Exemplos: quinolina e acridina em solventes não polares.

Compostos do Tipo V- Os estados S_2 e T_2 são de origem n,π^* acima de S_1 e T_1 (π,π^*) o que conduz a que ϕ_F e ϕ_{ph} sejam elevados. O único processo de ISC possível, $S_{\pi,\pi^*} \rightarrow T_{\pi,\pi^*}$ é lento ($\geq 10^{-9}$ s). As bandas referentes às transições $n \rightarrow \pi^*$, encontram-se sobrepostas por bandas π,π^* intensas. Exemplos: grande variedade de corantes orgânicos.

Em resumo, é salientado que as principais diferenças entre moléculas dos grupos III e IV residem na possibilidade das deste último grupo se “converterem” em moléculas do grupo V por influência da mudança da polaridade do solvente, nomeadamente quando com estes se estabelecem ligações de hidrogénio. Dado ser a diferença energética entre os estados S_{π,π^*} e T_{n,π^*} baixa, $\sim 1000 \text{ cm}^{-1}$, o aumento da polaridade do solvente promove uma estabilização no primeiro estado e uma desestabilização do segundo, fazendo com que a conversão $S_{\pi,\pi^*} \rightarrow T_{n,\pi^*}$ seja energeticamente desfavorável. Dão-se outros exemplos clarificadores; salienta-se que tal classificação apenas serve para uma melhor compreensão das propriedades fotofísicas das moléculas não sendo, de todo, exaustiva funcionando mais como uma ferramenta pedagógica.

Bibliografia

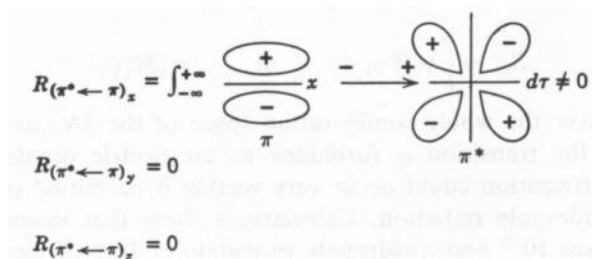
- N. J. Turro, *Modern Molecular Photochemistry*, University Science Books, Sausalito Ca., 1991.
- N. J. Turro, V. Ramamurthy, J. C. Scaiano, *Modern Molecular Photochemistry of Organic Molecules*, University Science Books, Sausalito, California, 2010.
- P. Suppan *Chemistry and Light*, Royal Society of Chemistry, 1993.
- Malkin, J. *Photophysical and Photochemical Properties of Aromatic Compounds*, CRC Press, Boca Raton (1992).
- Nurmukhametov, R. N.; Plotnikov, V. G. e Shigorin, D. N. *Russ. J. Phys. Chem.* **40**, 622 (1966).

3. INTRODUÇÃO ÀS APLICAÇÕES DE SIMETRIA NA QUÍMICA

Aborda-se a probabilidade de uma transição com base na teoria de grupos. É introduzida a noção de simetria molecular. Refere-se que no caso da fotoquímica o interesse reside em saber se o integral do momento de transição é igual ou diferente de zero e como é possível estabelecer isso através da simetria das moléculas. Esta noção é introduzida inicialmente com exemplos muito simples como sejam a de uma transição de um eletrão entre uma orbital s e uma orbital p_x .

$$(R_{p \leftarrow s})_x = \int_{-\infty}^{+\infty} \psi_{1s} M_x \psi_{2p_x} d\tau$$

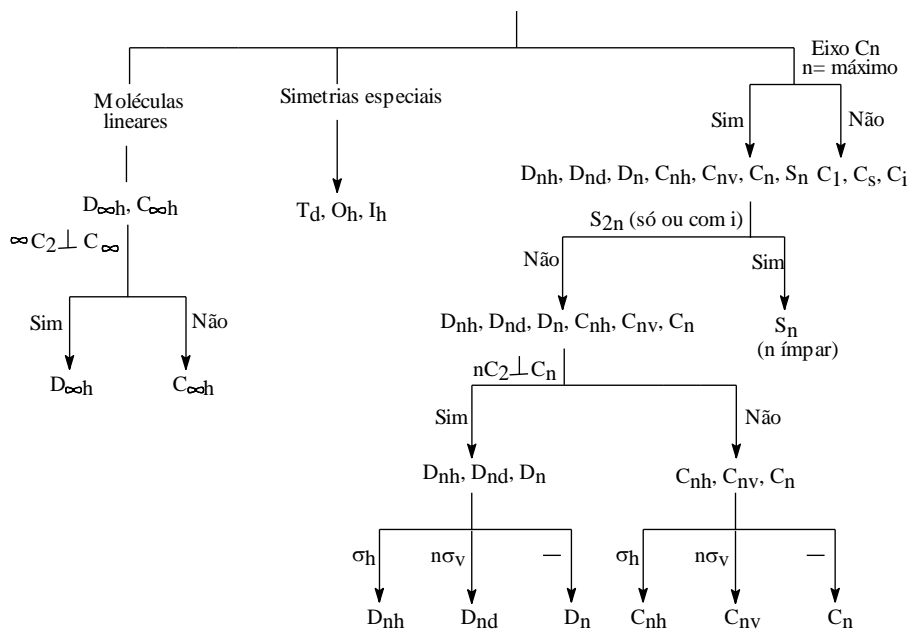
ou da transição entre orbitais π e π^* no etileno.



Introduz-se como exemplo/exercício adicional, o caso do naftaleno. Mostra-se que com excitação bifotónica é possível levantar a proibição associada à transição de mais baixa energia.

São definidos os elementos e respetivos símbolos para as diferentes operações de simetria. São dados vários exemplos de como operar com um dado elemento de simetria. Introduzem-se as combinações de operações de simetria. Introduz-se a tabela do produto de operações de simetria; mostra-se que as operações de simetria, que se aplicam a uma dada molécula, formam um grupo que obedece a quatro princípios (definição de grupo matemático). Classificam-se as moléculas de acordo com os grupos pontuais de simetria. Identificam-se moléculas associadas a cada um dos grupos. Utiliza-se o esquema apresentado em baixo para mais facilmente identificar o grupo pontual de simetria de uma dada molécula.

$C_{\infty h}$, $D_{\infty h}$, T_d , O_h , I_h , C_1 , C_s , C_i , D_{nd} , D_{nh} , D_n , C_{nh} , C_{nv} , C_n , S_n



Efetua-se a representação matricial para os operadores de simetria. Mostra-se que qualquer conjunto de números de matrizes, que possuam a mesma tabela de multiplicação que as operações no grupo, formam uma representação do grupo. Mostra-se que este número é infinito mas que existe um número finito que em termos matemáticos é mais fundamental que outros: as representações irredutíveis. Introduce-se a noção de carácter de um grupo como sendo a soma dos elementos diagonais da matriz representação. Mostra-se que as operações de simetria podem ser aplicadas a funções de onda e que consequentemente estas podem ser classificadas pelas suas propriedades de simetria. Atribui-se o significado das designações das representações irredutíveis nas tabelas de grupo. Descreve-se, ilustrando-se com vários exemplos, como se reduzem as representações redutíveis. Mostra-se como se utiliza um sistema de $3n$ coordenadas como base para a representação de um grupo. Exemplifica-se com a molécula de água. Mostra-se que com um sistema de coordenadas cartesianas se representam os movimentos da molécula. Associa-se a matriz transformação. Mostra-se que os elementos diagonais da matriz ocorrem somente se a operação em causa deixar a posição do átomo inalterada. Reduz-se a matriz introduzindo-se a noção de traço da matriz. Mostra-se como se transforma a representação redutível (Γ) em termos dos caracteres das representações irredutíveis. Mostra-se que a Γ contém, especificando-se para o caso da água, representações dos tipos de simetria de acordo com

$$\Gamma = 3A_1 + A_2 + 2B_1 + 3B_2$$

o que traduz nove movimentos da molécula e que descontando as 3 rotações ($A_2+B_1+B_2$) e 3 translações ($A_1+B_1+B_2$), verificadas através da tabela de grupo C_{2v} , resulta em $\Gamma_{vib} = 2A_1 + B_2$, ou seja os três movimentos de vibração característicos do IV da molécula de água.

Passa-se de seguida à avaliação da proibição/permissão de transições eletrónicas. Ilustra-se a simetria orbital com o formaldeído e as suas orbitais π , π^* e n . Mostra-se que todas as configurações fechadas, ou seja todas as orbitais preenchidas, possuem funções de onda eletrónicas totalmente simétricas. Mostra-se que como as orbitais do cerne de uma molécula não se encontram envolvidas em transições eletrónicas, a sua simetria é descrita pela representação totalmente simétrica.

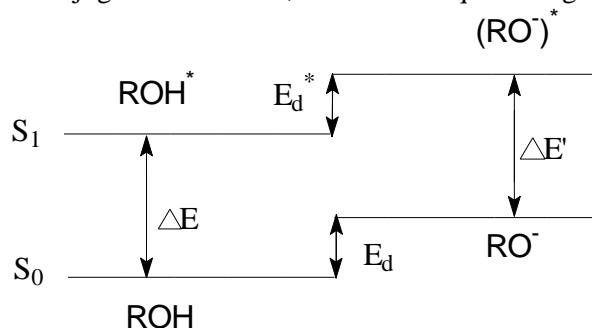
Depois de se mostrar que se podem associar as orbitais, bem como o operador do momento dipolar, às representações de uma tabela de grupo pontual, decompõe-se o integral do momento de transição nas suas componentes cartesianas e mostra-se, através de simples operações com base na tabela de grupo, que se pode prever se uma dada transição eletrónica é permitida ou proibida. Tal é exemplificado com o formaldeído.

Bibliografia

- Ralph S. Becker, *Theory and Interpretation of fluorescence and phosphorescence*, John Wiley & Sons, NY, 1969.
- Andrew Gilbert & Jim Baggot, *Essentials of Molecular Photochemistry*, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1991.
- Alan Vincent, *Molecular Symmetry and Group Theory*, 2nd ed., John Wiley & Sons, NY, 2001.
- J. P. Simons, *Photochemistry and Spectroscopy*, Wiley-Interscience, London, 1971.
- F. Albert Cotton, *Chemical Applications of Group Theory*, 3rd edition, Wiley-Interscience, New York, 1990.
- John D. Coyle, *Introduction to Organic Photochemistry*, John Wiley & Sons, Chichester, 1986.

4. A QUÍMICA DOS ESTADOS EXCITADOS

É recordado que a diferente distribuição de carga de uma molécula no estado excitado gera diferentes valores de pK^* e que por isso o valor de pK é normalmente diferente do de pK^* . Mostra-se como se determina experimentalmente o valor de pK_a^* através da equação de Förster; método baseado na determinação de diferenças de energia entre os estados S_0 e S_1 do par ácido-base conjugado. Mostra-se, através do esquema seguinte



a validade das relação $\Delta E + E_d^* = \Delta E' + E_d$ e que de acordo com acordo com a relação $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$, se retira a equação

$$\Delta G - \Delta G^* = -RT \ln \frac{K_a}{K_a^*} = \Delta E - \Delta E', \text{ a partir da qual se obtém:}$$

$$pK_a - pK_a^* = \frac{\Delta E - \Delta E'}{2,303 RT},$$

o que permite obter o valor pK_a^* desde que se conheça o valor de pK_a .

É introduzido o conceito de excímero, com o caso clássico da formação de excímero intermolecular na molécula de pireno. Mostra-se que o pireno

forma um dímero estável no estado excitado, o excímero, resultante do encontro a uma distância de contacto de $\approx 3\text{\AA}$ entre uma molécula de pireno no estado singuleto excitado e uma molécula de pireno no estado fundamental. Descreve-se o espectro de emissão do pireno como constando de duas bandas (monómero e excímero) cujas relações de intensidade são utilizadas na investigação de propriedades físico-químicas de polímeros (estudos conformacionais), surfatantes (determinação de CMC), etc. Mostra-se que a utilização do pireno como sonda de fluorescência não se restringe à necessidade de existência de excímero, estendendo-se ao espectro de emissão do monómero do pireno, cuja razão entre o modo vibrónico I_3 [correspondente à transição $S_1(v=0) \rightarrow S_0(v=2) (0,2)$] e o modo vibrónico I_1 [correspondente à transição $S_1(v=0) \rightarrow S_0(v=0) (0,0)$], I_1/I_3 , permite o estabelecimento duma escala de polaridade (designada de escala de polaridade-py).

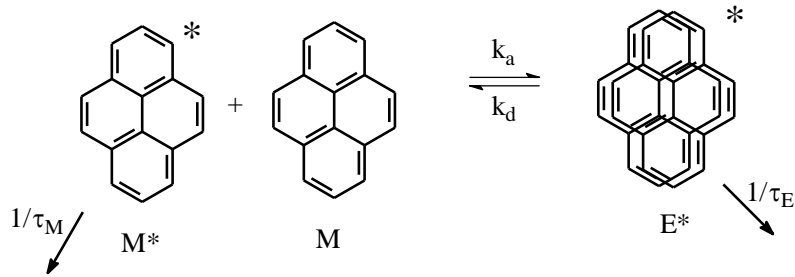
São descritas outras espécies como exciplexos, zwitteriões e tautómeros. Estas são englobadas, porque divididas, nos conceitos mais gerais de transferência de eletrão e de protão.

As equações de Debye-Smoluchowski e de Stokes-Einstein são apresentadas. Discute-se o conceito de reações controladas por difusão. Referem-se as reações de supressão de fluorescência da acridina por diversos supressores amínicos. Dão-se exemplos de formação de exciplexo inter- e intra-molecular. No primeiro caso apresenta-se o exemplo clássico do antraceno com a N,N'-dietilamina; no segundo caso apresenta-se o exemplo de um derivado do naftaleno: este com um espaçador de três metilos entre o mesmo e uma dimetil amina. A transferência de eletrão fotoinduzida e a relação de ΔG com os parâmetros experimentais do dador e aceitador (equação de Gould e Farid) é apresentada. É introduzida a transferência de energia e discutida em termos dos modelos de Förster e Dexter.

Mostra-se que as cinéticas de formação de excímero e de ácido-base no estado excitado podem ser descritas e resolvidas. É utilizada a aproximação do estado estacionário para obtenção das constantes de velocidade de um processo ácido-base. Dá-se o exemplo concreto do β -naftol, para comparação posterior com os dados da literatura e em particular do valor de pK_a^* , embora se saliente que as equações são genéricas para qualquer processo envolvendo duas espécies no estado excitado. A dedução das equações é efetuada passo a passo.

No caso do estado dinâmico a dedução é baseada no esquema cinético de Birks mostrando-se como se obtêm todas as constantes de velocidade descritas pelo esquema e envolvidas no processo de formação e desativação do excímero. Tal é efetuado de acordo com um esquema genérico de uma espécie no estado fundamental (A) e duas no estado excitado (A^* e B^*), sendo deduzidas as expressões que permitem obter as constantes de velocidade.

FOTOQUÍMICA



Mostra-se que, de acordo com o esquema acima indicado, a dependência temporal das intensidade de fluorescência colhidas nas regiões do monómero, $I_M(t)$, e do excímero, $I_E(t)$, vêm dadas por:

$$I_M(t) = a_{11}e^{-\lambda_1 t} + a_{12}e^{-\lambda_2 t}$$

e

$$I_E(t) = a_{21}e^{-\lambda_1 t} + a_{22}e^{-\lambda_2 t}$$

onde λ_1 e λ_2 são os recíprocos dos tempos de decaimento τ_1 e τ_2 dados por:

$$2\lambda_{2,1} = (k_X + k_Y) \pm \sqrt{(k_X - k_Y)^2 + 4k_d k_a}$$

com $k_X = k_a + 1/\tau_M$ e $k_Y = k_d + 1/\tau_E$, sendo os fatores pré-exponenciais das duas primeiras equações dados por:

$$a_{11} = \frac{k_X - \lambda_2}{\lambda_1 - \lambda_2}; \quad a_{12} = \frac{\lambda_1 - k_X}{\lambda_1 - \lambda_2}; \quad a_{21} = \frac{k_X - \lambda_1}{k_d} \times \frac{k_X - \lambda_2}{\lambda_1 - \lambda_2};$$

$$a_{22} = \frac{k_X - \lambda_2}{k_d} \cdot \frac{\lambda_1 - k_X}{\lambda_1 - \lambda_2}$$

que obedecem às seguintes condições fronteira:

$$a_{11} + a_{12} = 1 \quad \text{e} \quad a_{21} + a_{22} = 0.$$

Depois da dedução completa com obtenção das equações anteriores, obtêm-se as expressões que relacionam as constantes de velocidade dos processos de formação e desativação do excímero:

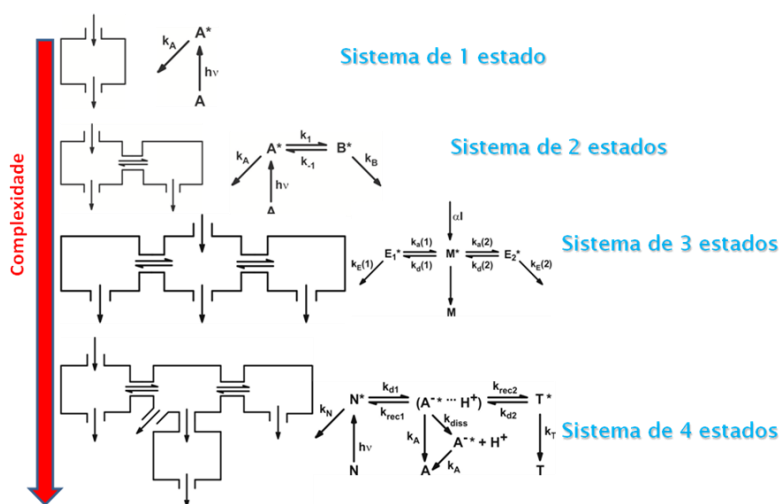
$$k_a = \frac{\lambda_1 + \left(\frac{a_{12}}{a_{11}}\right)\lambda_2}{\left(\frac{a_{12}}{a_{11}}\right) + 1} - k_M \quad \text{e} \quad k_d = \frac{k_X k_Y - \lambda_1 \lambda_2}{k_a}$$

Mostra-se que k_M é obtido, de forma independente, por recurso a um composto modelo (por exemplo no caso da cinética ácido-base por recurso a um composto metoxilado onde o equilíbrio ácido-base está ausente) ou, no caso da cinética de formação de excímero intermolecular do pireno, pelo valor de τ_M para baixas concentrações (10^{-6} - 10^{-7} M).

É obtida a expressão para a supressão de fluorescência dinâmica: equação de Stern-Volmer. Ilustra-se com o exemplo concreto da supressão da emissão do $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ com metil viologénio. Exemplifica-se e obtém-se a constante de Stern-Volmer (K_{SV}) bem como a constante de supressão (k_q). Discute-se o valor da constante mostrando-se que esta é controlada por difusão. Definem-se as equações e situações na presença de supressão estática.

É introduzido um tema actual da fotoquímica e que tem gerado grande controvérsia: os estados ICT (*intramolecular charge transfer*) vs. TICT (*twisted intramolecular charge transfer*). Neste caso a cinética de estado excitado envolve duas espécies (LE e CT) traduzidas no esquema em baixo onde k_a e k_d são as constantes de formação e reversibilidade da espécie CT a partir da espécie LE e $1/\tau_0$ e $1/\tau'_0$ respetivamente as constantes de decaimento de LE e CT (LE= local excited state; CT= charge transfer state) na ausência de equilíbrio entre elas.

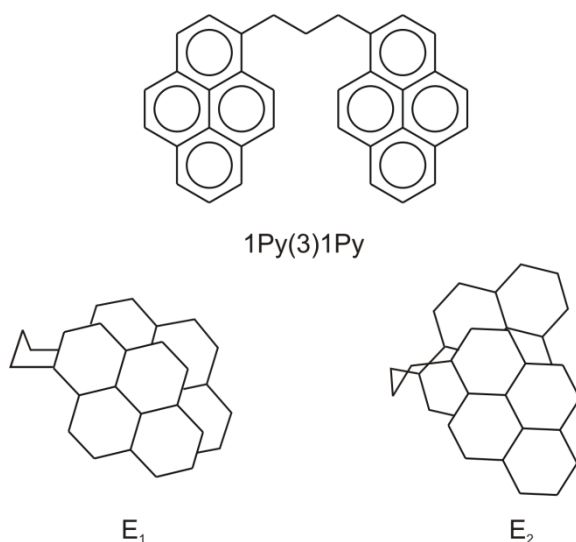
Cinéticas de Estado Excitado



A complexidade das diferentes cinéticas de estado excitado é complementada com exemplos concretos, partindo-se de um sistema mais simples, que sendo monoexponencial pode adquirir relevância especial (por exemplo como referência para decaimentos na região dos ps), até um sistema de 4 espécies acopladas. Para além da resolução do sistema de 2-estados

acima indicado, é igualmente feita a indicação de como se resolvem –por aproximação numérica utilizando ferramentas como o *Matlab*– os sistemas de 3 e 4 espécies. Esta complexidade é ilustrada por um sistema de vasos comunicantes cuja complexidade aumenta gradualmente com o número de espécies e interconversão entre elas.

Na situação de equilíbrio envolvendo 3 estados/espécies é dado o exemplo do dipirenil-propano [1Py(3)1Py] onde coexistem um monómero e dois excímeros, sendo que um dos excímeros corresponde à conformação em sanduíche com orientação paralela entre os dois pirenos (um excitado e um no estado fundamental) e a outra corresponde a uma orientação de sobreposição parcial.



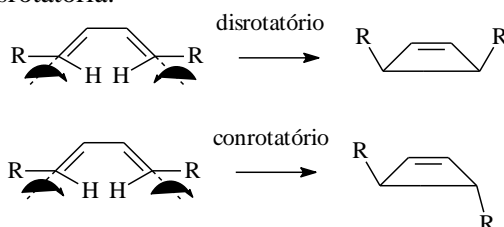
Bibliografia

- J. B. Birks, *Photophysics of Aromatic Molecules*, Wiley Interscience, Londres, 1970.
- J.B. Birks, *Organic Molecular Photophysics*, Volumes I e II, John Wiley & Sons, Inc., 1973.
- D. S.Karpovich e G. J. Blanchard, *J. Phys. Chem.* **99**, 3951 (1995).
- R. N. Kelly e S. G. Schulman, em *Molecular Luminescence Spectroscopy. Methods and Applications: Part 2*, Cap. 6: *Proton Transfer Kinetics of Electronically Excited Acids and Bases*. Ed. por Schulman, S. G. Wiley-Interscience, John Wiley & Sons, N. Y., 1988.
- P. Suppan, *Chemistry and Light*, Royal Society of Chemistry, Cambridge, 1994.
- I. R. Gould, R. H. Young, L. J. Mueller, A. C. Albrecht, S. Farid, *J. Am. Chem. Soc.* **116**, 8188 (1994).
- J. Sérgio Seixas de Melo, João Pina, Fernando B. Dias, António L. Maçanita, *Chapter 17. Experimental Techniques in Photochemistry (Characterisation of*

Singlet and Triplet Excited States) in *Applied Photochemistry*, Ed. por P. Douglas, H. D. Burrows e R. Evans, Springer, 2012 (em impressão).

5. FOTOQUÍMICA ORGÂNICA

Referem-se algumas das mais importantes reações de fotodissociação e de fotoeliminação envolvendo compostos orgânicos. São descritos alguns dos processos concertados de reações envolvendo rearranjos sigmatrópicos e electrocíclicos. Descreve-se a aproximação das orbitais fronteira. Descrevem-se os processos de fecho e abertura de anéis por reação conrotatória e disrotatória.

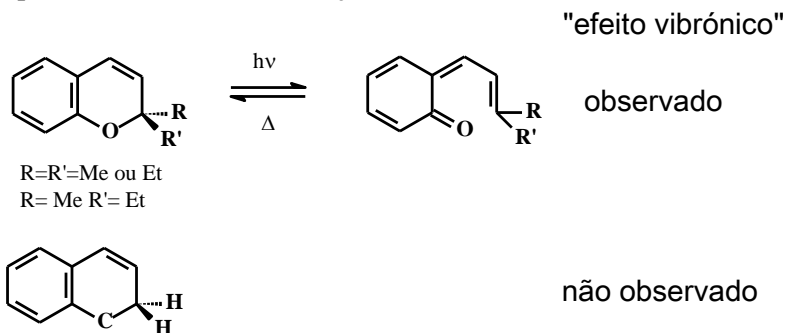


Descrevem-se as regras de Woodward-Hoffman. Mostra-se que de acordo com estas é possível estabelecer que a estereoquímica das reações electrocíclicas pode ser expressa em termos do número total de eletrões envolvidos nas mudanças de ligação e que é traduzida como um valor múltiplo ($4n$) ou não-múltiplo ($4n+2$) de 4, sendo n o número de electrões π . Tal é indicado e ilustrado com diversos exemplos que a tabela em baixo resume.

	Reação térmica	Reação fotoquímica
$4n$	Conrotatória	Disrotatória
$4n+2$	Disrotatória	Conrotatória

O fenómeno de fotocromismo é apresentado mostrando-se que um composto fotocromico consiste numa molécula que por absorção de luz sofre uma mudança de cor reversível, normalmente de incolor para fortemente corada. Apresentam-se diversos exemplos mostrando-se que o fenómeno pode ocorrer à temperatura ambiente, baixa temperatura ou em matrizes sólidas. Focam-se exemplos comuns do dia-a-dia como o que é encontrado nos óculos que escurecem quando expostos à luz solar mas perdem a sua cor (numa reação não-fotoquímica) quando expostos a luz menos intensa. A propósito do tema de fotocromismo, é introduzido o “efeito vibrónico” (onde existe competição entre relaxação vibracional e fotocromismo) onde se mostra que determinadas moléculas, mormente aquelas que apresentam processos fotocromicos, constituem mais um exemplo de exceções à regra de

Kasha. O “efeito vibrónico” é explicado com algum detalhe, mostrando-se como em 1969 se iniciou a observação deste fenómeno com duas moléculas estruturalmente semelhantes mas onde uma apresentava variação de ϕ_F com o comprimento de onda de excitação e outra não.



O efeito mais detalhado é trabalhado do ponto de vista de obtenção de todas as constantes de velocidade (no caso específico com ausência de ϕ_{ISC} e portanto $k_{ISC} \approx 0$), mostrando-se que existe competição entre k_v e k_{PC} porque possuem ambas valores da ordem dos $10^{10} s^{-1}$ e como se podem determinar os rendimentos quânticos para os diferentes processos: ϕ_v , ϕ_{PC} , $\phi_F(n)$. Efetua-se uma referência clara ao facto de não existir consenso sobre este fenómeno/efeito apontando-se algumas das críticas que se lhe associam.

Bibliografia

- John D. Coyle, *Introduction to Organic Photochemistry*, John Wiley & Sons, Chichester, 1986.
- R. S. Becker, E. Dolan, e D. E. Balke, *J. Chem. Phys.* **50**, 239 (1969).
- R. S. Becker, A. P. Pelliccioli, A. Romani, e G. Favaro, *J. Am. Chem. Soc.* **121**, 2104 (1999).
- F. Albert Cotton, *Chemical Applications of Group Theory*, 3rd edition, Wiley-Interscience, New York, 1990.

6. FOTOQUÍMICA INORGÂNICA

Relembrem-se os conceitos de transferência electrónica introduzidos anteriormente. São descritas reacções de fotólise de diversos complexos. A fotoquímica e fotofísica de complexos metálicos é efetuada com recurso aos complexos de trisbipiridilruténio (II), $Ru(bpy)_3^{2+}$. Mostra-se que de entre os elementos pertencentes ao Grupo VIII que formam complexos luminescentes, o que se forma entre o ruténio e três unidades de bipiridil, possui uma forte luminescência, devida a uma transferência metal-ligando (MLCT). Mostra-se que a versatilidade destes complexos resulta da

combinação única de estabilidade química (muito estável termicamente e à luz), propriedades redox (pode oxidar-se reversivelmente a Ru(III) +1,27V ou reduzir-se a Ru(I) -1,26 V), reatividade no estado excitado (o seu estado excitado pode dar origem a transferência de energia, possuindo uma química redox muito versátil porque pode oxidar-se a -0,83 V e reduzir-se a +0,84V), emissão de luminescência (com emissão do estado tripleto de longo tempo de vida, na escala das centenas de nanosegundos) faz com que os complexos de Ru(bpy)₃²⁺ sejam excelentes absorvedores de luz para utilização nos ciclos de conversão de energia solar ou de fotocatalise, fotodecomposição da água em hidrogénio e oxigénio, sensor de oxigénio molecular, etc.

São descritas diversas reações de fotosubstituição e fotoisomerização envolvendo complexos inorgânicos. É dada uma ênfase particular à fotoquímica e fotofísica do ião uranilo, UO₂²⁺, mostrando-se que este possui uma rica e muita variada fotoquímica; quando excitado, o ião uranilo é um forte oxidante (E°= +2,6V) denotando a sua reatividade claras analogias com a do estado tripleto da benzofenona. Exemplos dados destas reações encontram-se a abstração de átomo de hidrogénio, transferência eletrónica, de energia, etc.

Bibliografia

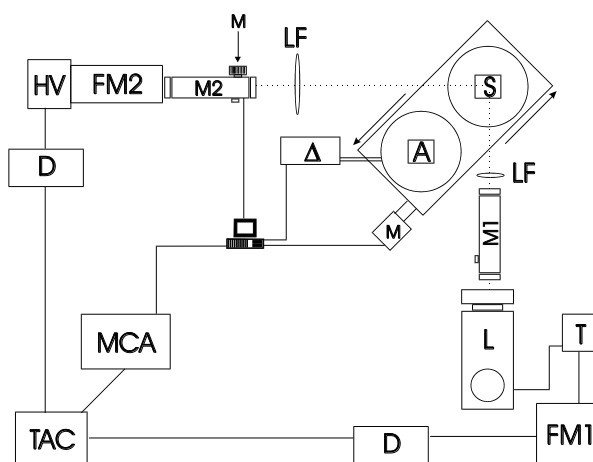
- P. Suppan, *Chemistry and Light*, Royal Society of Chemistry, 1993.
- C. E. Wayne e R. P. Wayne, *Photochemistry*, Oxford Chemistry Primers, N.Y., 1996.
- J. Calvert e J. N. Pitts, *Photochemistry*, John Wiley & Sons, Inc., 1966.
- Andrew Gilbert & Jim Baggot, *Essentials of Molecular Photochemistry*, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1991.

7. MÉTODOS E TÉCNICAS EXPERIMENTAIS EM FOTOQUÍMICA

Este capítulo serve de complemento a alguns dos conceitos já introduzidos e desenvolvidos nos capítulos 1 e 2, como a fluorescência, fosforescência, etc., onde foram previamente mencionados aspetos relacionados com as técnicas que aqui se voltam a referenciar com um maior detalhe. É dada uma especial ênfase às técnicas de fluorescência em estado dinâmico. São referenciados e descritos os métodos de medição de tempos de vida de fluorescência: método de pulso e método de modulação de fase. É detalhada a técnica de contagem de monofotão correlacionada temporalmente (do inglês *Time-Correlated Single Photon Counting*, TCSPC), dado ser aquela com a qual os alunos lidarão quando necessitarem de utilizar técnicas dinâmicas de fluorescência, descrevendo-se o princípio da técnica (que se baseia no facto da probabilidade de distribuição temporal da emissão de um único fotão

FOTOQUÍMICA

seguir a distribuição estatística de todos os fótons emitidos, i.e., a distribuição de probabilidade para a emissão de um único fóton fornece a distribuição de intensidade, ao longo do tempo, de todos os fótons emitidos). São descritos os fundamentos da técnica com base na descrição dos instrumentos existentes (um com resolução nos ns e outro nos ps) nos laboratórios de Fotoquímica do Departamento de Química da UC (ver figura em baixo para o caso do sistema de ns).



Configuração do aparelho de SPC existente no DQ da UC. Legenda: D- discriminador; L- lâmpada; T- tiratrão; TAC- Conversor tempo-amplitude; MCA- Analisador multicanal; FM- fotomultiplicador; HV- Alta tensão; M- motor; LF- lente de focagem; A- solução de amostra; S- solução dispersante (de glicogénio); M1 e M2- Monocromadores; Δ- Sistema de controle de temperatura.

É descrita a necessidade de desconvolução da curva de decaimento da amostra com a curva de decaimento da resposta instrumental.

É introduzida a técnica de fotólise de relâmpago por laser na deteção de estados transiente nomeadamente a formação de estados tripleto. Mostra-se como se obtém experimentalmente o tempo de decaimento da espécie, τ_T , o seu espectro de absorção tripleto-triplete e o k_{ox} (constante de supressão pelo oxigénio). Numa segunda fase, e por recurso a diferentes métodos, mostra-se como se obtém o rendimento quântico de formação do estado tripleto, ϕ_T .

É igualmente descrita a técnica de calorimetria fotoacústica (PAC) e a sua utilidade em fotoquímica particularmente para obtenção das energias ou rendimentos quânticos de estado tripleto ou da formação de singuleto de oxigénio.

Bibliografia

- Volkmar Brückner, Karl-Heinz Feller, Ulrich-Walter Grummt, *Applications of Time-Resolved Optical Spectroscopy. Studies in physical and theoretical chemistry*, Elsevier, Amsterdam, 1990.
- J. Seixas de Melo *The Chemical Educator* **10(1)**, 26-32 (2005).
- Braslavsky, S. E. e Heibel, G. E. *Chem. Rev.* **92**, 1381 (1992).
- Arnaut, L. G. e Caldwell, R. A. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* **65**, 15 (1992).
- O'Connor, D. V. e Phillips, D., *Time-Correlated Single Photon Counting*, Academic Press, London (1984).

8. FOTOBIOLOGIA

Este capítulo introduz o aluno a um ramo da fotoquímica que mais diretamente se associada com as designadas ciências da vida. É lembrada a noção de estado excitado como uma nova espécie com propriedades únicas e introduzida a noção de fotossensibilizador associada a uma capacidade da molécula de interatuar, no estado excitado, com alvos de origem biológica ou análogos. É dada a perspectiva histórica da fotossensibilização com os trabalhos de Oscar Raab que, no início do século passado, verificou que certos xantenos, como a eosina, promoviam a morte de protozoários e paramécias na presença de luz (algo que se não verificava na ausência desta); Raab verificou, igualmente, que somente luz de comprimentos de onda absorvidos pelo fotossensibilizador era efetiva, excluindo assim uma interferência direta da luz como agente fototerapêutico. Descrevem-se trabalhos posteriores, mas ainda nos primórdios da descoberta desta actividade, que referem o conhecimento genérico de que um outro xanteno, a Rosa de Bengala, e o Azul de Metileno, como tendo a capacidade de danificar microorganismos quando expostos a luz visível- em 1928 Barbieri, mostrou que as larvas de mosquito das espécies *Anopheles* e *Culex* podiam ser mortas por acção da luz, na presença de Rosa de Bengala e outros xantenos.

São definidos os parâmetros (espetrais e fotofísicos) que caracterizam um “bom” ou eficiente fotossensibilizador. É dada ênfase à perspectiva biológica, onde se mostra que um dos fatores essenciais para que o fotossensibilizador seja ativo, e que é independente dos seus parâmetros fotofísicos, é a “capacidade” da molécula estar, ainda no estado fundamental, próxima do alvo biológico: a biomolécula.

Mostra-se que outro importante parâmetro é o tempo de existência de uma espécie reativa: que quanto mais tempo vive maior é a probabilidade de encontro com um alvo biológico (biomolécula) com o qual irá reagir direta (ligação covalente) ou indiretamente, via reacções do tipo I e II (estas são diferenciadas posteriormente).

danos genéticos, enquanto que um fotossensibilizador lipossolúvel causará muito provavelmente danos ao nível da membrana celular. Mostra-se que o tempo de vida da espécie reativa é determinante na sua capacidade fotossensibilizadora. As distâncias médias que estas espécies intermediárias reativas percorrerão (ou se difundirão) em água, antes da sua inativação (quer por regressarem ao seu estado fundamental, quer por reação química com o solvente) determinarão em grande parte a sua reatividade. Estes valores são apresentados em tabela como forma ilustrativa do alcance e, portanto, o raio de ação possível para estas diversas espécies consoante o seu tempo de vida.

Raio de difusão de intermediários de tempo de vida curto em água.

Tempo de vida médio intermediário	Exemplo do	Raio de difusão
≈ 1 ns	A maioria dos estados singuleto excitados	≈ 1 nm, essencialmente imóvel
≈ 1 μs	oxigénio singuleto (≈ 5 μs)	≈ 33 nm, pequena difusão entre os organitos
≈ 1 ms	Estados excitados; livres	triplete radicais ≈ 1 μm, difusão intracelular limitada
> 1 s	Fotoprodutos reativos	> 33 μm, difunde para células vizinhas

São referenciados os aspetos relacionados mais especificamente com a espécie reactiva $^1\text{O}_2$. Mostra-se que a formação de $^1\text{O}_2$ através do estado S_1 de um fotossensibilizador requer que a diferença energética S_1-T_1 seja muito maior do que 7882 cm^{-1} (valor da energia do vibracional 0-0 do $^1\text{O}_2$). Para além disso e dado igualmente o facto dos estados singuleto possuírem tempos de vida curtos, a formação do $^1\text{O}_2$ é normalmente restringida à transferência de energia proveniente do estado tripleto. Mostra-se igualmente que o tempo de vida desta espécie reactiva, τ_A , parâmetro definidor da reatividade da espécie, é fortemente dependente do solvente/meio em que se encontra, variando por exemplo de 5 μs em água para 4 s em CCl_4 .

Recupera-se, sistematizando com mais detalhe, o caminho (e características) que um fotossensibilizador tem de seguir (possuir), dividindo-se em propriedades e modos de ação do mesmo.

Dentro das reações das espécies excitadas são então definidos os mecanismos de fotossensibilização: reacções fotodinâmicas do Tipo I e II

Mostra-se que os mecanismos pelos quais as reacções de fotossensibilização podem ocorrer são diversos. No entanto, e por uma questão de

sistematização (e simplificação), estes são subdivididos em três modos de ação distintos:

(I) Transferência de electrão ou de hidrogénio, formando-se produtos que reagem com $^1\text{O}_2$.

(II) Transferência de energia do sensibilizador para o oxigénio no estado fundamental ($^3\text{O}_2$) formando-se $^1\text{O}_2$.

(III) Ligação covalente do sensibilizador ao recetor.

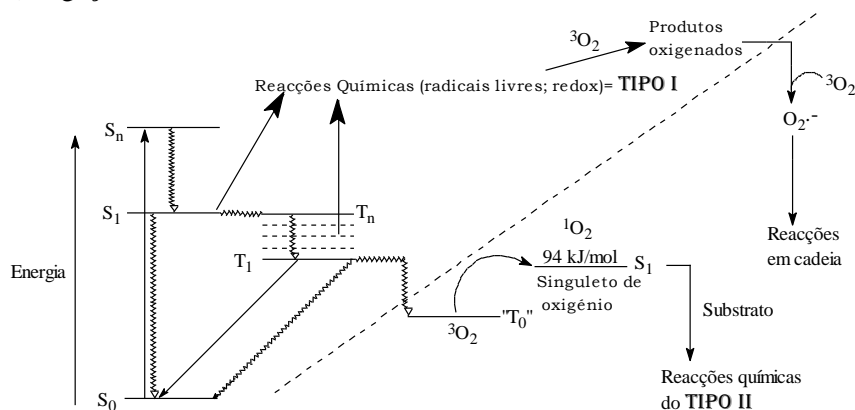


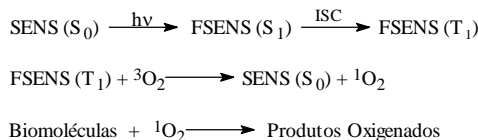
Ilustração dos mecanismos de fotossensibilização, através de um diagrama de Jablonski modificado, promovidos pelas reações do tipo I e II. Embora deva ser considerada artificial, a linha divisória (a tracejada) estabelece a fronteira delimitando estes dois tipos de fotossensibilização

Salienta-se que em ambos os tipos de ação fotodinâmica (I e II), o oxigénio é usado num determinado passo da reação (ver figura ilustrativa em baixo). Portanto, em condições anaeróbias, a ação fotodinâmica quer do tipo I quer do tipo II é inibida.

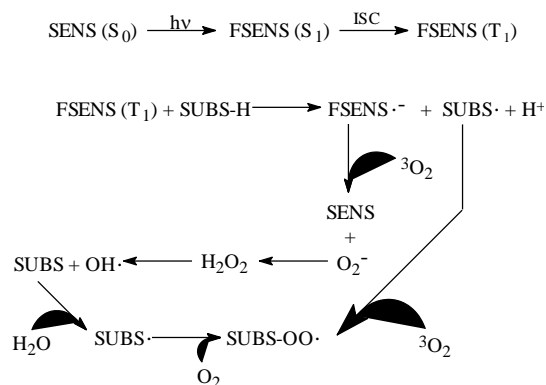
Detalha-se um pouco, com exemplos, os mecanismos associados às reações fotodinâmicas de tipo I e II. Mostra-se que nas reações do tipo I o sensibilizador interage diretamente com o substrato resultando, por exemplo, na transferência de um átomo de hidrogénio ou de um electrão. Os radicais advindos do sensibilizador reagem, na presença de oxigénio, de forma a regenerarem o mesmo enquanto que os radicais, produzidos a partir do substrato, iniciam, por exemplo, reações de radicais livres em cadeia. No segundo caso (reações do tipo II), estas envolvem interação direta do sensibilizador excitado com o oxigénio o qual após se ter dado a transferência de energia dá origem às espécies $^1\text{O}_2$ ou O_2^- . Estes processos são, mais uma vez, ilustrados através de esquemas comparativos do qual o que em baixo se apresenta constitui um exemplo.

FOTOQUÍMICA

TIPO II

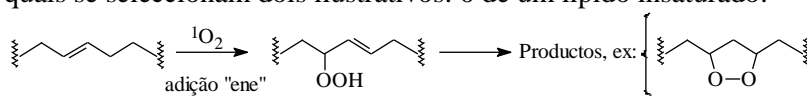


TIPO I



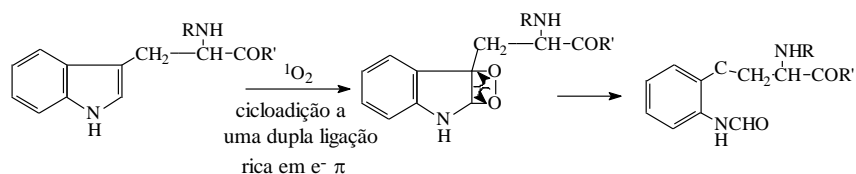
Modo de ação das reações fotodinâmicas do tipo I e II, de um fotossensibilizador (FSENS) com um alvo ou substrato biológico (SUBS)

São dados exemplos de reações promovidas por ambos os tipos de ação fotodinâmica para com alvos biológicos. Desde proteínas, hidratos de carbono, ácidos gordos, aminoácidos, esteróides, ácidos nucleicos, etc., mostrando-se que dentro de todos estes alvos (ou biomoléculas) o efeito de danificação se faz sentir essencialmente a dois níveis: membranar ou do DNA. São dados exemplos específicos de estruturas de vários alvos biológicos danificados por ação (com mecanismos) do singuleto de oxigénio, dos quais se seleccionam dois ilustrativos: o de um lípido insaturado.



43

e de um de aminoácido (triptofano)



FOTOQUÍMICA

São ainda dados exemplos de algumas moléculas de origem natural como o β -caroteno ($E_T=19600\text{ cm}^{-1}$, portanto energeticamente abaixo do $^1\text{O}_2$) e a vitamina E que constituem exemplos de moléculas que funcionam como supressores do $^1\text{O}_2$ e dos radicais ou hidroperóxidos por ele originados, funcionando assim como compostos naturais de ação regeneradora e preventiva.

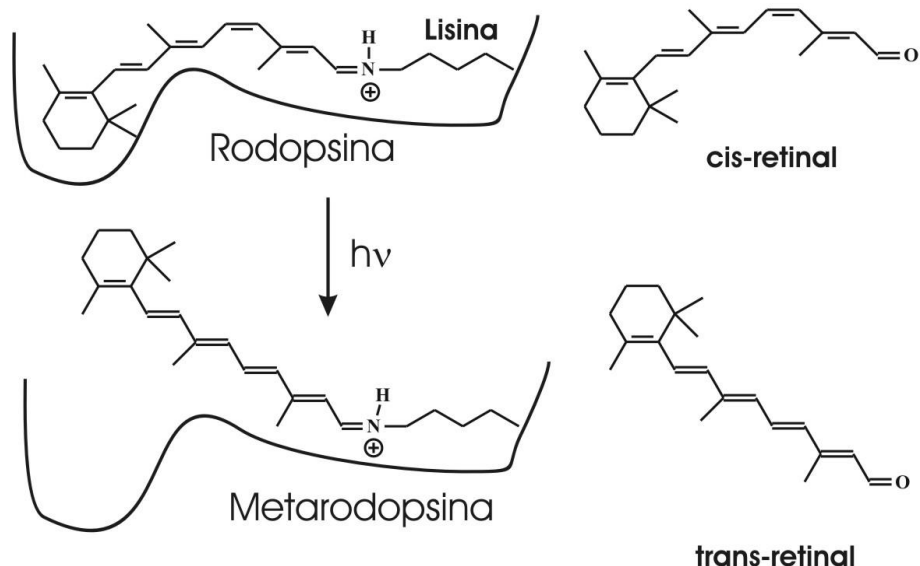
É descrita a terapia fotodinâmica como aproximação que se baseia no uso de fotossensibilizadores específicos (ativados por radiação de determinados comprimentos de onda). Mostra-se que o fotossensibilizador gera variadas formas ativas de oxigénio das quais a principal é o $^1\text{O}_2$. A formação desta espécie em membranas celulares, citoplasma e outros organelos celulares dá origem a reações de peroxidação que podem causar danificação celular e, conseqüentemente, a morte celular. Refere-se o uso da hematoporfirina, HMP, de seu nome comercial *Photofrin* ser uma das moléculas aprovadas (desde 1993) para uso na terapia fotodinâmica (PDT) do cancro. Desenvolve-se um pouco o tema mostrando-se que os fotossensibilizadores usados clinicamente na PDT têm a propriedade intrínseca de se acumularem seletivamente em células anormais ou hiper-proliferativas, de que são exemplo as dos tecidos cancerosos. Releva-se ser esta acumulação seletiva, bem como a capacidade de ativação pela luz que constitui a base da PDT.

É mencionada, com muitos e diversificados exemplos, a vertente dos pesticidas ecológicos, ou fotopesticidas, muito em voga no final dos anos 1980, início dos anos 1990.

É descrito, de forma sucinta, o processo da fotossíntese como um exemplo corrente de um processo fotoquímico. Descreve-se a reação global da fotossíntese envolvendo a combinação do dióxido de carbono com água para formar açúcares (sacarídeos ou polissacarídeos) e produção de O_2 .

O mecanismo da visão é abordado de um ponto de vista fotoquímico. Mostra-se que o mecanismo da visão nos seres humanos envolve um conjunto complexo de reações fotocromicas envolvendo a rodopsina (que consiste no conjunto da molécula *cis*-retinal com a proteína opsina), uma proteína existente na retina. O *cis*-retinal encontra-se ligado, covalentemente através do grupo amino duma lisina, à proteína opsina, uma proteína por sua vez ligada parede celular. Por absorção de um fóton a molécula de retinal muda da sua forma *cis* para a *trans*, ocorrendo esta conversão em alguns picosegundos. Depois de um complexo número de acontecimentos a reação reverte fazendo com que o *trans*-retinal readopte a conformação *cis* original, reassumindo a sua posição no invólucro da superfície da opsina; o fóton seguinte pode então reiniciar o processo. Este é o processo considerado como processo primário da sequência visual.

FOTOQUÍMICA



Bibliografia

- Spikes, J. D. em *The Primary Photo-Processes in Biology and Medicine. The Historical Development of Ideas on Applications of Photosensitized Reactions in the Health Sciences*. Ed. por Bensasson, R. V.; Giori, G.; Land, E. J.; Truscott, T. G.. Plenum Publishing Corporation, 1985.
- Spikes, J. D. em *The Science of Photobiology. Photosensitization*. Ed. por Smith, K. C.. Plenum Publishing Corporation, 1989.
- *Singlet Oxygen. Organic Chemistry*, Vol. 40. Ed. por Wasserman, H. H. e Murray, R. W., Academic Press, N. Y. (1979).
- Gorman, A. A. e Rodgers, M. A. J. em *Singlet Oxygen em Handbook of Organic Photochemistry* Ed. por Scaiano J., CRC, Boca Raton (1990).
- Seixas de Melo, J., *Moléculas com história foto(química)*, Química: Boletim da Sociedade Portuguesa de Química **100**, 39-43 (2006).
- *Light Activated Pesticides*. Ed. por Heitz, J. R. e Downum. ACS Symposium Series 339, Washington, D. C., 1987.
- *Pesticide Chemistry* Ed. por Matolcsy, Gy; Nádas, M. e Andriská, V. em *Studies in Environmental Science* vol. 32, Elsevier, Budapest (1988).

VI. Ensino Teórico-prático

Como se identificou anteriormente (ponto II.2), a disciplina tem habitualmente uma carga lectiva de três horas semanais onde se processa o ensino teórico da mesma. Porém, em todas as aulas são estabelecidos exemplos (de índole teórico-prática) sobre a matéria lecionada. No final do semestre é também normal que a última aula seja de revisão que habitualmente contempla uma forte componente teórico-prática. Embora não

expressamente apresentadas como componentes teórico-práticas, mas mais como de resolução de problemas exemplificativos, podemos dizer que durante o período letivo envolverá, no seu global, um investimento de cerca de 6 horas. Apresentam-se seguidamente alguns exemplos destes problemas, relacionados com os diferentes tópicos e capítulos da disciplina.

VI.1- Exercícios

Capítulos 1 e 2

- 1) Indique, justificando, a veracidade ou falsidade das seguintes afirmações.
 - a) Nas moléculas em que existe uma relação imagem/espelho entre o espectro de absorção e o de emissão tal relação refere-se à banda de absorção de menor energia.
 - b) O tempo de vida radiativo obtido a partir do espectro de absorção é sempre igual ao obtido através da análise do decaimento de fluorescência do composto.
 - c) Os tempos de vida de fluorescência situam-se na região dos 10^{-8} - 10^{-9} s enquanto que os de fosforescência nos 10^{-6} - 10 s.
 - d) O processo de conversão não-radiativa do estado tripleto de mais baixa energia para o estado fundamental pode ser definido como ϕ_{ISC} .
 - e) O processo de formação de estado tripleto a partir do singuleto excitado de mais baixa energia pode ser definido como ϕ_{ISC} .
 - f) Numa solução de pireno, a formação do excímero intermolecular deste composto, ocorre para valores de baixa concentração (10^{-6} M) enquanto que a inexistência de formação de excímero se verifica para concentrações da ordem dos 10^{-2} M.
 - g) A formação de excímeros intramoleculares ocorre para baixas concentrações de composto.
 - h) A alta reatividade da molécula de singuleto de oxigénio deve-se em parte à baixa energia necessária para que a transição $^3O_2 \rightarrow ^1O_2$ se efetue.
 - i) Coeficientes de extinção molar, ϵ , da ordem de 10^5 M⁻¹ cm⁻¹ dão origem a tempos de vida radiativos de ≈ 1 ns, enquanto que $\epsilon=10^4$ M⁻¹ cm⁻¹ dão origem a tempos de vida radiativos de ≈ 1 s.
 - j) O desdobraimento singuleto-triplete, $\Delta E_{S,T}$, estabelece que o tripleto se encontra energeticamente sempre abaixo do singuleto correspondente.
 - l) Em regra geral, quanto menor for $\Delta E_{S,T}$ menos eficiente é o processo de ISC ($S_1 \sim \sim \rightarrow T_n$).
 - m) Para luz completamente polarizada $I_{\perp}=0$ e, conseqüentemente, $P=r=1,0$.
 - n) Quando as componentes da luz emitida, paralela e perpendicularmente são iguais, $I_{\perp}=I_{\parallel}$, $P=r=0$.
 - n) De acordo com a classificação das moléculas de acordo com as suas propriedades espectrais e fotofísicas um composto do grupo IV difere de um

FOTOQUÍMICA

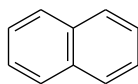
do grupo V, porque no primeiro caso o processo de ISC ($S_1 \sim \rightarrow T_n$) é mais eficiente do que no segundo caso.

o) De acordo com esta mesma classificação os compostos do grupo II e III não são fluorescentes.

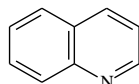
2) a) Qual dos compostos, butadieno ($E_T=60$ kcal/mol) ou cis-estilbeno ($E_T=63$ kcal/mol) se comportará como melhor supressor dos tripletos da benzofenona ($E_T=69$ kcal/mol)?

b) Com qual dos compostos, benzilo ($E_T=56$ kcal/mol, $T_1(\pi, \pi^*)$, $\phi_T=1$) ou naftaleno ($E_T=60$ kcal/mol, $T_1(\pi, \pi^*)$, $\phi_T=0.4$) espera ter um melhor efeito de sensibilização da fosforescência do biacetilo ($E_T=54$ kcal/mol)?

3) a) Em qual das seguintes moléculas, benzofenona ou benzeno, o efeito de acoplamento spin-orbital é mais eficiente? E se for entre o naftaleno e a quinolina?



Naftaleno



Quinolina

b) Quais dos seguintes compostos serão supressores eficientes dos estados tripleto da benzofenona:

I) butadieno-1,3 II) benzeno III) antraceno IV) 2-acetonaftona V) acetofenona.

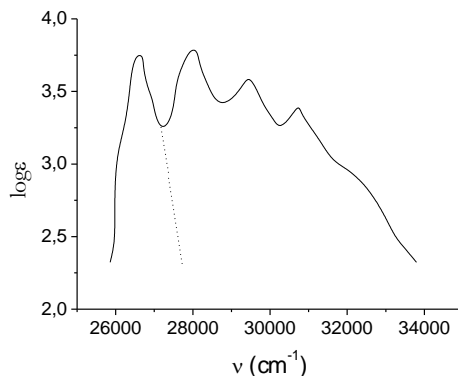
Dados:

Energias de estados tripleto e singuleto

Composto	E_T (kCal mol ⁻¹)	E_S (kCal mol ⁻¹)
Antraceno	42	
Acetofenona	75	
2-acetonaftona	59	
Benzeno	85	115
butadieno-1,3	60	
Quinolina	62	91
Naftaleno	61	
9,10-dibromoantraceno	42	74
Benzofenona	69	74
Biacetilo	56	62
Fluorenona	53	70

4) Na figura seguinte apresenta-se o espectro de absorção do antraceno em dioxano a 25 °C.

FOTOQUÍMICA



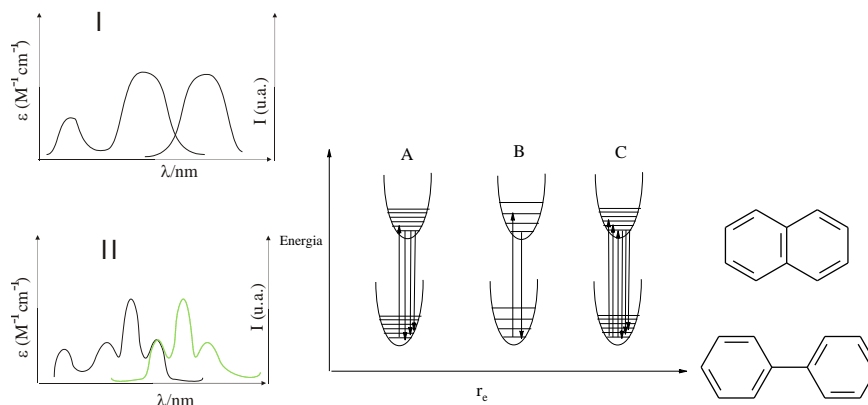
- Qual a energia do estado 0-0?
- A partir do espectro de absorção, calcule o tempo de vida radiativo do antraceno.
- Diga se a transição $S_0 \rightarrow S_1$ é permitida ou proibida.
- O espectro é permitido ou proibido de Franck-Condon?
- Esboce as curvas de potencial do estado fundamental e do primeiro estado excitado do antraceno. Justifique.

Dados:

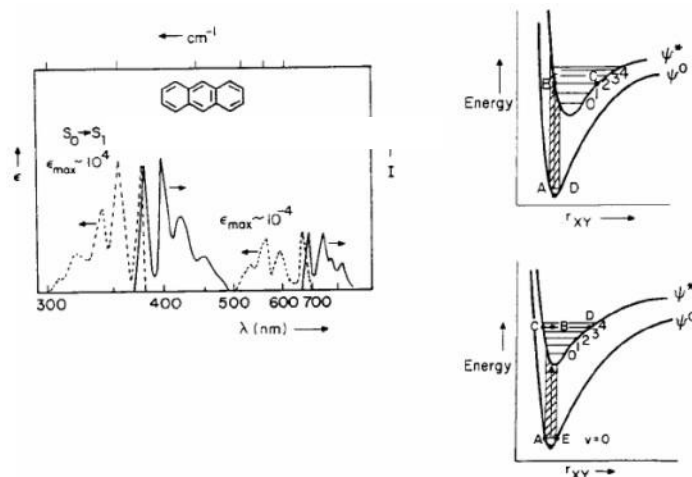
$$\tau_F^o = \frac{1}{10^4 \cdot \epsilon_{\max}} \quad k_F^t = \frac{1}{\tau_F^o} = 3 \times 10^{-9} \cdot \bar{\nu}_0^2 \cdot \epsilon_{\max} \cdot \Delta \bar{\nu}_{1/2}$$

5) O naftaleno e o bifenilo são moléculas estruturalmente semelhantes, mas no estado excitado possuem características e propriedades muito diferentes. Na figura seguinte apresentam-se, esquematicamente, os espectros de absorção e de emissão referentes aos compostos e por intermédio de osciladores harmónicos, três situações que podem ocorrer após uma transição eletrónica.

- Identifique os espectros de absorção e de emissão do bifenilo e do naftaleno (I ou II) e as curvas de potencial (A, B, C). Justifique.
- Designe os espectros de absorção I e II de acordo com as suas formas, por proibidos ou permitidos de Franck-Condon.
- Qual dos dois espectros apresenta uma relação imagem/imagem no espelho? Justifique.

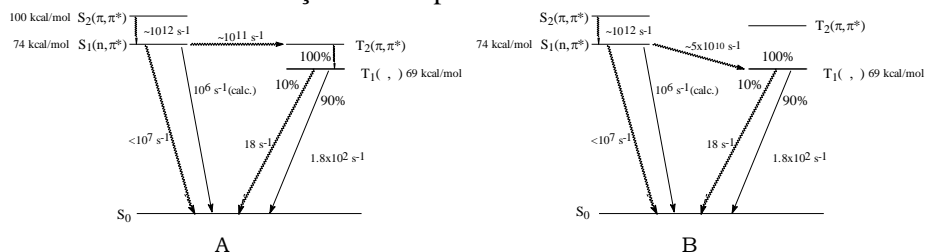


6) A figura seguinte representa os espectros de absorção e de luminescência do antraceno em etanol.

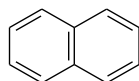


- Efetue a atribuição das linhas (—) e (----) aos espectros do composto. Identifique cada uma das bandas quanto ao processo absorção singuleto-singuleto, singuleto-triplete (bem como da natureza da transição se proibida se permitida), emissão de fluorescência e de fosforescência, etc.
- Calcule as forças do oscilador para as bandas de absorção apresentadas. Que tipo de transições/estados lhe parecem estar envolvidos?
- Determine o valor de τ_F^0 a partir do espectro de absorção. Sabendo que τ_F (experimentalmente obtido) é igual a 5.1 ns que $\phi_F = 0.27$, que comentário lhe merece?
- Os espectros de absorção são permitidos ou proibidos de Franck-Condon?
- Qual a curva de potencial (à esquerda da figura) que descreve correctamente o espectro de absorção do antraceno?

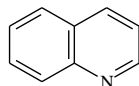
7) Os dois diagramas de Jablonski (simplificados) abaixo apresentados foram atribuídos à descrição do comportamento fotofísico da benzofenona.



- Qual é a origem do estado T_1 ?
- Qual dos diagramas lhe parece ser o mais correto?
- Qual das seguintes moléculas, benzofenona ou benzeno, possui um maior efeito do acoplamento spin-orbital? E se for entre o naftaleno e a quinolina?



Naftaleno

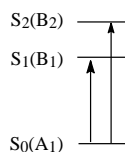


Quinolina

- Quais dos seguintes compostos serão supressores eficientes dos estados tripleto da benzofenona:
 I) butadieno-1,3 II) benzeno III) antraceno IV) 2-acetonaftona
 V) acetofenona

Capítulo 3

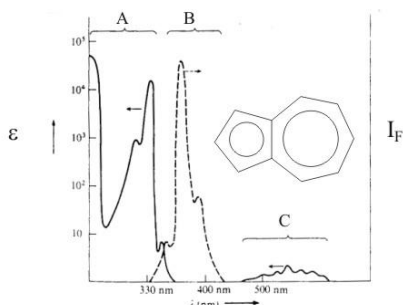
- Considere a forma cis do butadieno-1,3
 - Diga quais os elementos de simetria da molécula. Qual o grupo de simetria do cis-butadieno-1,3? E do trans-butadieno-1,3?
 - Considere agora que o cis-butadieno-1,3 tem o seguinte diagrama de estados eletrônicos singuleto:



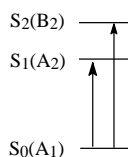
Determine qual(ais) a(s) transição(ões) eletrônica(s) é (são) permitida(s) por simetria.

Nota: consulte as tabelas de grupo pontual de simetria.

- A figura seguinte representa os espectros de absorção e de emissão do azuleno.

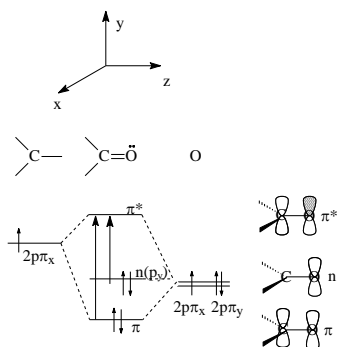


- Identifique e caracterize as bandas de absorção e de emissão do composto.
- Explique o que entende por regra de Kasha/Vavilov e diga porque razão o azuleno representa uma exceção a esta regra.
- Observe agora atentamente a molécula do azuleno. Determine e enumere os elementos de simetria da molécula. Classifique-a quanto ao grupo pontual de simetria.
- Considere agora o seguinte diagrama de estados electrónicos singuleto para o azuleno



Preveja a intensidade das duas bandas usando as regras de seleção. Comente de acordo com o espectro de absorção do azuleno.

- Considere a molécula do formaldeído, cujo diagrama de orbitais moleculares simplificado se representa na figura.

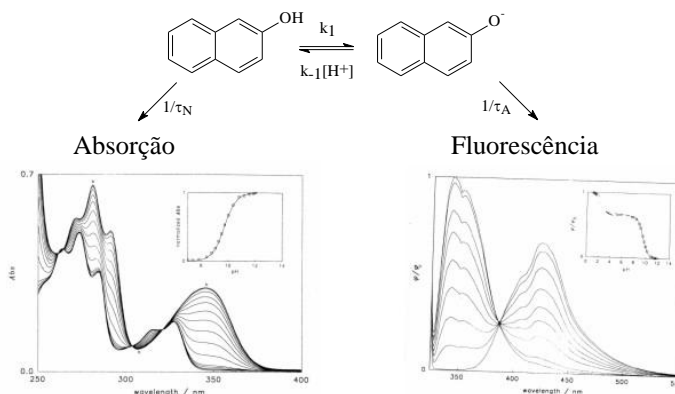


- Determine e enumere os elementos de simetria da molécula. Classifique-a quanto ao grupo pontual de simetria.
- Verifica-se que experimentalmente o formaldeído possui duas transições: uma com um $\lambda_{\text{máx}}=156$ nm e outra com um $\lambda_{\text{máx}}=295$ nm. Identifique-as.
- Identifique as representações irredutíveis associadas às O.M. n , π e π^* . (nota: considere que a simetria das O.M. é a mesma das O.A. componentes)

d) Preveja a intensidade das duas bandas usando as regras de seleção. Comente.

Capítulo 4

1) A figura seguinte apresenta os espectros de absorção e fluorescência do β -naftol.



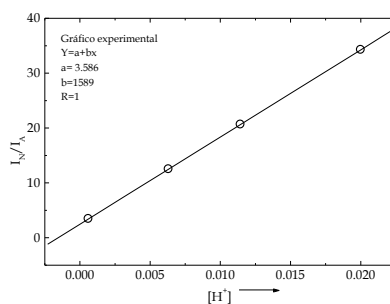
a) Identifique as bandas existentes nos espectros de absorção e emissão, com as respectivas formas.

b) Sabendo que $pK_a = 9,5$, obtenha o pK_a^* .

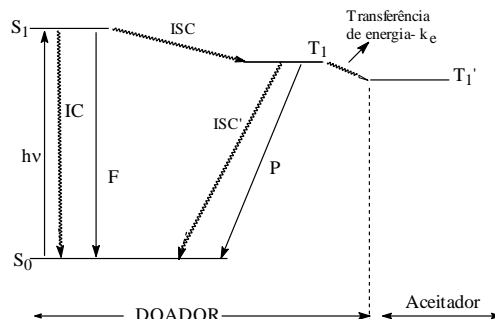
c) Considerando a hipótese do estado estacionário, deduza as relações que lhe permitam calcular as constantes de velocidade dos processos de desprotonação e protonação do β -naftol.

d) Dado o seguinte gráfico experimental e os dados abaixo indicados, determine k_1 e k_{-1} . Dados: $\tau_N = 7,2$ ns, $\tau_A = 9,4$ ns, $\frac{k_F^N}{k_F^A} = 2,4$; Nota: recorde que

$$\phi_N / \phi_A \cong I_N / I_A$$



2) Considere um processo intermolecular de transferência de energia tripleto-tripeto descrito sumariamente pelo seguinte diagrama de Jablonski:



- Identifique cada um dos processos e dê-lhe uma ordem de grandeza temporal.
- Obtenha as expressões de velocidade para os diversos processos mostrados na figura.
- Obtenha a representação de Stern-Volmer para o processo global.
- Suponha que T_1 desativa exclusivamente através dos processos de emissão de fosforescência. Enuncie a expressão do tempo de vida de T_1 .
- Enuncie de novo a expressão do tempo de vida de T_1 se adicionalmente este for desativado através da transferência de energia tripleto-tripletto. Combine as duas expressões e obtenha um processo experimental de cálculo de k_e (constante de transferência eletrônica).

3) A equação de Stern-Volmer pode ser apresentada na seguinte forma:

$$\frac{\phi_0}{\phi} = \frac{I_0}{I} = 1 + K_{SV}[Q]$$

- Efetue a dedução desta expressão para um situação de supressão de uma molécula M^* por um supressor Q .
- No caso de existir supressão estática, a equação toma a seguinte forma:

$$\frac{I_0}{I} = 1 + (K_{SV} + K_S)[Q] + K_{SV}K_S[Q]^2$$

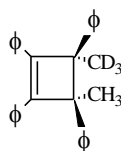
Explique em que consiste este fenómeno e como se pode identificar uma situação de ausência ou presença de supressão estática co-existindo com dinâmica.

Capítulos 5 e 6

- Diga quais os produtos prováveis, resultantes de irradiação, nos seguintes sistemas. Apresente equações.
 - CH_2N_2 em $C_6H_{11}OH$
 - $Ph_2C=O$ em $(CH_3)(C_2H_5)CHOH$
 - $(CH_3)_3COOC(CH_3)_3$

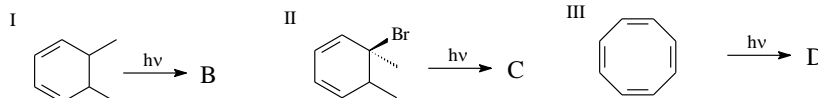
FOTOQUÍMICA

2) Depois de 51 dias a 124 °C o composto **A** deu origem a $2,6 \times 10^6$ aberturas conrotatórias e nenhuma disrotatória. Indique a estrutura obtida e explique o porquê dessa exclusividade.



A

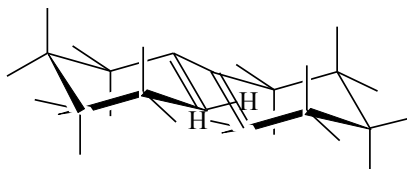
b) Preveja os produtos maioritários (**B**, **C** e **D**) das seguintes reacções (I, II e III):



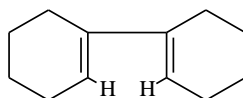
3) Quais são os produtos prováveis resultantes da irradiação dos seguintes sistemas? Apresente equações.

- $\text{CH}_3(\text{CO})(\text{CH}_2)_7\text{CH}_3$
- CH_2N_2 na presença de $\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$
- UO_2^{2+} em $(\text{CH}_3)_3\text{CCH}_2\text{OH}$
- $[\text{Co}(\text{NH}_3)_5\text{N}_3]^{2-}$ em água.

4) Qual o produto da electrociclização fotoquímica da seguinte molécula?



III



Capítulo 8

1) Os mecanismos de fotossensibilização para com um alvo biológico podem ser genericamente descritos por três mecanismos.

- Diga de quais se tratam.
- Dê exemplos de acção fotodinâmica em alvos biológicos, indicando reacções e fotoprodutos em moléculas alvo tipo.
- As clorofilas a e b, as xantófilas e os carotenóides encontram-se entre os principais constituintes das folhas das plantas, sendo geralmente

FOTOQUÍMICA

considerados como fotossensibilizadores (FSENS) naturais. Tendo em conta que a clorofila (a e b) é um FSENS, existente em todas as plantas verdes, e actua por um mecanismo de acção fotodinâmica do tipo II, procure explicar o porquê de as estruturas fundamentais das plantas (membranas, DNA, etc) não serem danificadas pela acção fotodinâmica das clorofilas.

Dados: $E(^1\text{O}_2)=94 \text{ kJ/mol}=1240 \text{ nm}= 8065,5 \text{ cm}^{-1}=1 \text{ eV}$; $E_T(\beta\text{-caroteno})=6270 \text{ cm}^{-1}$

2) As clorofilas a e b, as xantófilas e os carotenos encontram-se entre os principais constituintes das folhas das plantas, sendo geralmente considerados como fotossensibilizadores (FSENS) naturais.

a) A clorofila (a e b) é uma molécula determinante no processo da fotossíntese. A intensidade de fluorescência da clorofila é praticamente nula em solução de hidrocarbonetos (sem água); resíduos de água ou solventes hidroxílicos promovem o aparecimento de fluorescência, com uma intensidade apreciável. Racionalize estes factos, para as duas situações, em termos de diagrama de energias/estados.

b) Diferencie os tipos de ação fotossensibilizadora que conhece dando exemplos de moléculas e apresentando mecanismos.

c) Tendo em conta que a clorofila (a e b) é um FSENS, existente em todas as plantas verdes, e atua por um mecanismo de ação fotodinâmica do tipo II, procure explicar o porquê das estruturas fundamentais das plantas (membranas, DNA, etc) não serem danificadas pela ação fotodinâmica das clorofilas.

VI.2- Projetos (temas de desenvolvimento propostos para trabalhos monográficos)

Quando a avaliação inclui a elaboração de projetos, seguir-se-ão, e até ao fim do semestre letivo, num total de duas semanas e cuja discussão final é efetuada em duas aulas, uma série de temas a levar a cabo recorrendo aos conhecimentos adquiridos. Os itens em baixo enunciados constituem apenas alguns dos possíveis exemplos. Os alunos são também livres de apresentar outros tópicos, desde que devidamente enquadrados no programa da disciplina.

1. Reações de transferência electrónica

2. Fotoquímica supramolecular

3. Aplicações de técnicas luminescentes no estudo de sistemas agregados (determinação de n^os de agregação, sondas intrínsecas e extrínsecas no estudo de sistemas coloidais -ex: polímeros- etc.)

4. Regras de Woodward-Hoffman.
5. Correlações empíricas da polaridade do solvente: o parâmetro $E_T(30)$
6. A controvérsia dos estados TICT vs ICT
7. Fotocromismo
8. Fotopolimerização e fotolitografia.
9. Sistemas fotoquímicos de conversão de energia solar
10. Fotocatálise
11. Polímeros conjugados luminescentes
12. Fotoquímica atmosférica
13. Fotosensibilizadores da segunda e terceira geração
14. Interseções cónicas em fotoquímica
15. “Single molecule fluorescence”
16. Sensores fluorescentes
17. Sistemas fotovoltaicos.
18. Transferência de energia (Förster vs. Dexter)
19. Transferência de eletrão (modelos e teorias)
20. Reações de transferência de próton no estado excitado

VII. Ensino prático

O ensino prático incluído na disciplina permite um contato de maior proximidade com noções, equações e metodologias lecionadas nas aulas teóricas, mas que pela sua complexidade por vezes não são apreendidas de imediato. Um exemplo é o da equação de Stricker-Berg, introduzido desde logo no (final do) trabalho 1.

Trabalho 1- Obtenção de espectros de fluorescência e de tempos de vida de fluorescência. Determinação do rendimento quântico.

Objetivo: ter o primeiro contacto com um fluorímetro e com um equipamento de medição de tempos de vida de fluorescência. Determinará igualmente um rendimento quântico de fluorescência.

Introdução

A obtenção do espectro de fluorescência de um composto é realizada com um fluorímetro e designa-se por espectro ou fluorescência no estado estacionário. Em termos temporais mede-se o decaimento e designamos a fluorescência observada como de estado dinâmico.

Como teve oportunidade de aprender, o fenómeno da fluorescência é extremamente rápido podendo ocorrer em alguns ps (mesmo fs) até algumas

centenas de ns. Duma forma geral a maioria dos compostos aromáticos emite com tempos de vida de alguns nanosegundos.

Após absorção de luz que pode ocorrer para qualquer estado excitado S_n , e relaxação vibracional até ao estado S_1 , ocorre a partir deste o processo de emissão radiativa (fluorescência) que compete com o processo não radiativo de conversão interna, para o estado fundamental S_0 . Dado ser uma transição entre dois estados da mesma multiplicidade é permitida por spin, e o seu tempo de vida varia entre 10^{-7} - 10^{-15} s.

Procedimento

No trabalho deverá ter acesso a dois ou três compostos fluorescentes. Deverá iniciar o seu estudo preparando soluções com densidades óticas ao c.d.o. de excitação (que pode ou não coincidir com o máximo) entre 0.1 e 0.2. Estas devem ser preparadas em balões de 5 mL e depois transferidas para a cuvete.

Sugestões de compostos:

- Antraceno, pireno e sulfato de quinino

No caso dos dois primeiros compostos deverá efetuar as soluções em ciclohexano. O sulfato de quinino deverá ser dissolvido numa solução aquosa de H_2SO_4 (0.5 M).

Coloque a cuvete no fluorímetro e trace os espectros de emissão e de excitação de fluorescência.

Proceda ao desarejamento destas mesmas soluções (por borbulhamento com Ar ou N_2) e meça o seu tempo de vida. Deverá fazê-lo com o auxílio do seu professor. A obtenção do decaimento analisado deverá ser efectuada igualmente com o seu professor.

Para determinar rendimentos quânticos de fluorescência $\phi_F(cp)$, é necessário escolher um composto de referência que possua um valor de $\phi_F(ref)$ conhecido, e que absorva em zonas espectrais idênticas às do composto em estudo. Deverá usar um dos seguintes que lhe seja fornecido: bisulfato de quinino, 9,10-difenilantraceno ou α -tertienilo.

Obtenção do ϕ_F

O procedimento consiste na obtenção de duas soluções (composto em estudo e referência) com densidades óticas para o comprimento de onda de excitação idênticas. Na equação em baixo, $D.O.^{cp}$ refere-se à densidade ótica do composto e $D.O.^{ref}$ refere-se à da referência. De seguida traçam-se os espectros de emissão de fluorescência do composto e da sua referência (com as mesmas condições).

Para o cálculo do rendimento quântico de fluorescência deverá fazer uso da equação seguinte:

$$\phi_F(cp) = \frac{\int I(\lambda)^{cp} d\lambda}{\int I(\lambda)^{ref} d\lambda} \times \frac{D.O.^{ref}}{D.O.^{cp}} \times \frac{n^2(cp)}{n^2(ref)} \times \frac{f_d(cp)}{f_d(ref)} \times \phi_F(ref)$$

onde $\int I(\lambda)^{cp} d\lambda$ é o valor da área do espectro de emissão de fluorescência do composto em estudo e $\int I(\lambda)^{ref} d\lambda$ da referência; $n(cp)$ e $n(ref)$ referem-se aos índices de refração dos solventes nos quais estão dissolvidos, respetivamente, o composto e a referência. Estes valores encontram-se disponíveis na literatura.

A expressão para o cálculo de $\phi_F(cp)$ inclui igualmente um fator corretivo designado de fator de desarejamento. Este pode ser excluído se a experiência for efetuada com soluções desarejadas. No entanto, como tal não é tão prático, a utilização deste fator corretivo é mais usual. A determinação implica a obtenção de $f_d(cp)$, fator de desarejamento para o composto e $f_d(ref)$ para a referência; estas duas parcelas são obtidas através dos valores das áreas dos espectros de emissão de fluorescência (obtidos na ausência e presença de oxigénio) tanto para o composto como para a referência:

$$f_d(cp) = \frac{\left(\int I(\lambda)^{cp} d\lambda\right)_{s/O_2}}{\left(\int I(\lambda)^{cp} d\lambda\right)_{c/O_2}} \text{ e } f_d(ref) = \frac{\left(\int I(\lambda)^{ref} d\lambda\right)_{s/O_2}}{\left(\int I(\lambda)^{ref} d\lambda\right)_{c/O_2}}$$

Em termos práticos é aconselhável obter, com a mesma solução e dentro da mesma cuvete, a área para as soluções sem oxigénio e só depois na presença de oxigénio. Com tal procedimento evitam-se alterações nas concentrações das soluções pelo desarejamento com azoto (existe sempre alguma evaporação do solvente particularmente se o desarejamento não for lento).

Efetue o desarejamento por borbulhamento de Ar ou N₂ durante cerca de 10 minutos.

Questões

Represente os espectros de absorção e emissão (incluindo o de excitação de fluorescência) dos compostos. Comente.

Obtenha os valores de ϕ_F e τ_F e compare com os valores da literatura e comente.

Obtenha as energias do estado singuleto excitado para cada um dos compostos.

Obtenha o valor da constante radiativa, com base na equação de Strickler-Berg

$$k_R^{SB} = (2.88 \times 10^{-9}) n^2 \langle \bar{\nu}_F^{-3} \rangle_{AV^{-1}} \int \frac{\varepsilon(\bar{\nu})}{\bar{\nu}} d\bar{\nu}$$

onde

$$\langle \bar{\nu}_F^{-3} \rangle_{AV^{-1}} = \frac{\int I(\bar{\nu}_F) d\bar{\nu}_F}{\int \bar{\nu}_F^{-3} I(\bar{\nu}_F) d\bar{\nu}_F}$$

e onde fará uso da primeira banda de absorção integrada e da banda de fluorescência. Utilize um programa como o *Origin* ou *Excel* e decomponha o espectro por ajuste de uma banda de tipo gaussiano.

Compare os valores obtidos com os da literatura.

Obtenha os valores de k_F e k_{NR} . Comente sobre qual dos processos predomina em cada caso e aponte uma explicação.

Bibliografia

Strickler, S. J.; Berg, R. A. *J. Chem. Phys.* **1962**, 37, 814.

N. Turro, *Modern Molecular Photochemistry*. 1991, Sausalito, California: University Science Books.

J. N. Demas, *Excited State Lifetime Measurements*. 1983, London: Academic Press, Inc.

S. Murov, I. Chermichael, G. L. Hug, *Handbook of Photochemistry*. 2nd ed. 1993, New York: M. Dekker Inc.

Trabalho 2- Observação da Fosforescência de hidrocarbonetos aromáticos

Objetivo: caracterizar a emissão de fosforescência de um sistema. Pretende-se que trace os espectros de fosforescência (emissão e excitação) e que obtenha o seu tempo de vida.

Introdução

Como teve oportunidade de aprender, o fenômeno de fosforescência é associado à emissão do estado tripleto excitado (T_1) de um composto. O processo radiativo de emissão de fosforescência, $T_1 \rightarrow S_0$, é um processo em que ocorrem transições entre estados de multiplicidade diferente, sendo portanto transições proibidas por spin. Dadas as suas características particulares, como sejam tempos de vida longos (tempos de decaimento, τ_{Ph} ,

variando entre $10\text{-}10^{-6}$ s para a maioria das moléculas fosforescentes), a fosforescência não é normalmente observada à temperatura ambiente. Para observar a fosforescência de um sistema é frequentemente necessário obter o espectro em matrizes rígidas (normalmente a baixas temperaturas) onde processos como sejam os de supressão pelo oxigénio, ou outras impurezas, se encontram minimizados.

Procedimento Experimental

Prepare soluções de naftaleno e fenantreno em metilciclohexano ou numa mistura de etanol:metanol 1:1. Prepare estas soluções de modo a ter valores de densidade óptica entre 0.1 e 0.2.

Irá ter contacto com um fosforímetro e o seu modo de funcionamento. Este consiste numa lâmpada pulsada que excita a molécula em intervalos de tempo determinados. Para além da necessidade de selecionar o comprimento de onda de excitação e o intervalo onde deverá obter o seu espectro, terá associado outros parâmetros como sejam o atraso na recolha do sinal após o disparo, a janela temporal onde irá trabalhar, etc., que deverá inteirar-se com o seu instrutor qual o significado.

Para efetuar a sua experiência irá ter à sua disposição um “Dewar” e um tubo (tipo de NMR ou EPR) de quartzo, bem como azoto líquido. Transfira com uma pipeta de Pasteur um pouco da solução para o tubo de quartzo até perfazer ca. de 1/3 do volume do mesmo. Encha o “Dewar” com N_2 líquido e mergulhe rapidamente o tubo neste. Coloque-o no porta-amostras e trace o espectro com as condições que o seu professor lhe indicar.

Obtenha igualmente o espetro de excitação do seu composto. De seguida mude para a opção de obtenção de decaimentos e obtenha o decaimento do seu composto. Deverá definir a escala temporal onde pretende obter este decaimento de forma a conter todo o decaimento. Exporte os ficheiros e abra-os com um programa como o *Origin*. Obtenha o τ_{ph} .

Nota: os compostos que irá estudar possuem espetros e valores de τ_{ph} bem estabelecidos, pelo que deverá tê-los presentes aquando da realização do trabalho. Consulte a literatura!

Repita o procedimento com o seu outro composto (fenantreno).

Questões

No relatório do seu trabalho deverá apresentar os espetros obtidos bem como os valores de τ_{ph} que obteve. Em ambas as situações deverá comparar com os dados da literatura e comentar.

Com base nos espetros obtidos determine a energia do estado tripleto para os compostos estudados.

Bibliografía

B. Valeur, *Fluorescent Probes for Evaluation of Local Physical and Structural Parameters*, in *Molecular Luminescence Spectroscopy. Methods and Applications: Part 3*, S.G. Schulman, Editor. 1993, Wiley-Interscience: New York

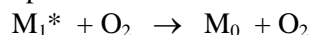
R. S. Becker, *Theory and Interpretation of Fluorescence and Phosphorescence*. 1969, New York: Wiley-Interscience.

Trabalho 3- Efeito da viscosidade na constante de supressão

Objetivo: medir constantes de velocidade de supressão de luminescência e observar o efeito do solvente nas mesmas.

Introdução

O oxigénio molecular é um dos mais efetivos supressores dos estados electrónicos excitados. O mecanismo associado depende da natureza do sistema, mas genericamente envolve a transferência eletrónica da espécie excitada para o oxigénio molecular. Este processo pode ser reversível e pode ser genericamente descrito por:



Noutras situações onde o estado eletrónico excitado de uma dada espécie é suprimido pelo O_2 , o resultado pode consistir na formação do estado excitado do O_2 (O_2^*). Este processo constitui um exemplo de transferência de energia eletrónica e, no caso do O_2 , o estado excitado produzido é um singuleto (possui todos os eletrões emparelhados). Relembre-se que o estado fundamental do O_2 possui 2 eletrões desemparelhados sendo consequentemente um estado tripleto. A importância desta diferença nas multiplicidades de spin tem que ver com o facto do estado excitado singuleto do O_2 ser relativamente longo (depende criticamente do solvente podendo variar de algumas unidades até às centenas de microsegundos) o que permite que sofra reações oxidativas com certos substratos, o que não aconteceria com o estado fundamental do O_2 .

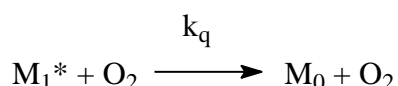
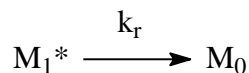
Nesta experiência irá observar a supressão do estado excitado do ruténio bipiridil [$Ru(bpy)_3^{2+}$] por acção do O_2 em dois solventes, etanol e glicerol. O $Ru(bpy)_3^{2+}$ é um complexo inorgânico que, na maioria dos solventes, possui um estado excitado relativamente longo (algumas centenas de nanosegundos). Este tempo de vida longo significa que o seu estado excitado de mais baixa energia, M_1^* , tem maiores possibilidades de sofrer uma colisão com outra molécula em solução (como seja o O_2) que assim suprime esse estado excitado.

No trabalho que realizará, irá medir o decaimento de luminescência do $Ru(bpy)_3^{2+}$ em etanol na presença de O_2 (em equilíbrio com o ar), saturado em O_2 e na ausência de O_2 . Para além destas efetuará o estudo do decaimento do $Ru(bpy)_3^{2+}$ em solução de glicerol (um solvente muito mais viscoso que o etanol).

Cinética do estado excitado

Podemos simplificar e considerar a relaxação do $Ru(bpy)_3^{2+}$ como apenas envolvendo dois processos independentes. Um de primeira ordem (associado ao retorno ao estado fundamental com constante de velocidade k_r) e um

outro (de segunda ordem com k_q) envolvendo M_1^* e um supressor (que aqui será o O_2), de acordo com



Para este mecanismo a equação diferencial que traduz o desaparecimento de M_1^* é dada por:

$$-\frac{d[M_1^*]}{dt} = k_r[M_1^*] + k_q[M_1^*][O_2] = k_{obs}[M_1^*] \quad (1)$$

onde k_r é a constante de velocidade intrínseca para o decaimento de M_1^* e $k_{obs}=k_r+k_q[O_2]$. Uma vez que a $[O_2]$ pode ser considerada constante (isto porque $[O_2] \gg [M_1^*]$), temos que $k_q[O_2]$ é uma constante de pseudo-primeira ordem. A integração da anterior equação conduz à seguinte lei exponencial que traduz o decaimento do $Ru(bpy)_3^{2+}$:

$$[M_1^*](t) = [M_1^*]_0 e^{-k_{obs}t} \quad (2)$$

O termo $[M_1^*]_0$ traduz a concentração de M_1^* a $t=0$.

Em condições onde uma colisão entre dois reagentes é suficiente para promover uma reação, no caso presente a supressão de M_1^* por O_2 , a constante k_q pode ser associada com a constante de velocidade controlada por difusão, k_{dif} , que é dada por:

$$k_{dif} \approx \frac{8RT}{3000\eta} \quad (M^{-1}s^{-1}) \quad (3)$$

onde η é a viscosidade do solvente, T a temperatura e R a constante dos gases perfeitos. Se utilizarmos unidades cgs, i.e., $R= 8.314 \times 10^7 \text{ erg mol}^{-1}\text{K}^{-1}$ e η expresso em poise. É de notar que, de acordo com esta equação, k_{dif} é independente do supressor apenas dependendo da propriedade macroscópica viscosidade e da temperatura T. É bastante razoável considerar que a frequência de encontro entre duas espécies seja inversamente proporcional ao inverso da viscosidade, ou dito de outra forma, directamente proporcional à fluidez do solvente. Uma das importantes suposições, resultante da equação anterior, é a de que no caso do processo de supressão não existe uma barreira energética intrínseca que tenha de ser vencida. Existe, no entanto, uma espécie de barreira difusional que precisa de ser suplantada quando dois reagentes inicialmente separados migram ou difundem um ao

encontro do outro. Esta barreira difusional encontra-se relacionada com a energia de ativação do solvente ou da ‘corrente viscosa’ que é necessária ultrapassar. No caso em que uma das duas espécies é de muito maior dimensão do que a outra, a equação 3 tende a subestimar o valor da constante de difusão.

Procedimento Experimental

Prepare duas soluções de $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ com uma concentração aproximada de 10^{-5} M em etanol e glicerol. Para pesar talvez seja melhor começar com soluções de 10^{-2} M. No caso do glicerol, e dada a elevada viscosidade do solvente, é aconselhável aquecer um pouco do solvente a ~ 60 °C. Depois de dissolver o sal de $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ (normalmente existe em forma de sal: $\text{Ru}(\text{bpy})_3\text{Cl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) no solvente aquecido adicione lentamente o resto do solvente até ao menisco.

Obtenha os decaimentos das duas soluções em:

- 1) sem desarejamento
- 2) desareje (gentilmente) as soluções com Ar ou N_2 durante 5-10 min.
- 3) com estas mesmas soluções borbulhe com O_2 (terá de se deslocar à oficina do vidro).

Questões

Faça o ajuste dos decaimentos (se fizer no equipamento de fotólise de relâmpago pode efectuar o ajuste diretamente com as opções do programa) de acordo com uma lei monoexponencial e obtenha o tempo de decaimento em cada situação. O tempo que obtiver será igual ao recíproco de k_{obs} .

Embora as concentrações de oxigénio dissolvido em diferentes solventes se encontram publicadas (para solventes em equilíbrio com o ar e saturados em O_2), pode utilizando a lei de Henry e baseando-se na solubilidade do O_2 puro a 1 atm, estimar a $[\text{O}_2]$ na solução de etanol saturada em ar a 1 atm. Depois obtenha uma estimativa do valor de k_q fazendo a representação gráfica de k_{obs} em função de $[\text{O}_2]$ que incluirá 3 pontos.

Com base na viscosidade do etanol e da temperatura em que decorreram as suas experiências, calcule k_{dif} e compare-o com o valor de k_q obtido.

Uma vez que, de acordo com o modelo cinético proposto, temos dois caminhos para a desativação do estado excitado M_1^* (dados pelas constantes k_r e k_q), a eficiência do processo de supressão, ϕ_q , é dada pela razão entre a constante de supressão e a constante de decaimento total (observada):

$$\phi_q = \frac{k_q[\text{O}_2]}{k_{\text{obs}}}$$

Apesar de poder ter obtido o valor do tempo de decaimento em glicerol deverá também efectuar o seguinte procedimento.

FOTOQUÍMICA

Obtenha o valor de ϕ_q para o $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ em etanol. Estime agora o valor de ϕ_q para o $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ em glicerol assumindo que k_r tem o mesmo valor do que em etanol e que para este solvente $k_q = k_{\text{dif}}$. Estime o valor do tempo de vida do $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ em glicerol desarejado.

Bibliografia

- Murov, S.; Chermichael, I.; Hug, G. L. "Handbook of Photochemistry", M. Dekker Inc., New York, N. Y., 1993.
- B. A. DeGraff e D. A. Horner, *J. Chem. Ed.* **73**, 179 (1996).
- N. Turro, *Modern Molecular Photochemistry*. 1991, Sausalito, California: University Science Books.

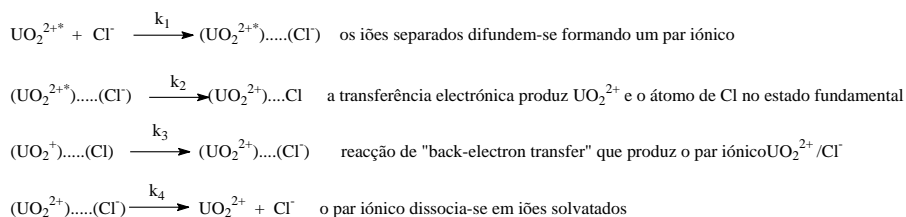
Trabalho 4- Seguimento da cinética de transferência eletrônica-supressão da luminescência do UO_2^{2+} pelo ião Cl^-

Objetivo: determinação de constantes de supressão de acordo com a equação de Stern-Volmer

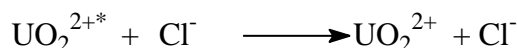
Introdução

Irá seguir o decaimento de luminescência do ião uranilo (UO_2^{2+}) com excitação a 337 nm (ou um comprimento de onda próximo) e diferentes concentrações do supressor Cl^- .

Um mecanismo para este processo envolve a formação de um complexo entre o ião uranilo excitado e o ião cloreto com a oxidação subsequente do ião cloreto, i.e., transferência de electrão do Cl^- para o UO_2^{2+} . Este processo é observado pelo desaparecimento do ião uranilo (produzindo o estado fundamental do UO_2^{2+}) e é seguido pela reação de recombinação eletrónica (“back-electron transfer”). O mecanismo pode ser ilustrado da seguinte forma



Das quais resulta a reação global:



O processo no seu global resulta da supressão da energia de excitação do ião UO_2^{2+} pelo ião Cl^- .

A reação determinante no processo de supressão é a segunda reação, que extingue o ião uranilo através da oxidação do ião cloreto.

Existe a necessidade de realizar estes estudos num meio com H_3PO_4 1M, dado que a complexação do ião uranilo pelos iões fosfato “prende” os primeiros diminuindo a eficiência do processo de supressão do ião UO_2^{2+*} pelas moléculas de água. O tempo de vida do UO_2^{2+*} é, em água não tamponizada, muito mais curto do que em água 1M H_3PO_4 . Uma vez que o ião uranilo é um agente oxidante muito forte, pode produzir produtos de reação que diminuam o seu tempo de vida; desta forma, as soluções de UO_2^{2+} devem ser preparadas imediatamente antes de cada utilização.

Parte experimental

O instrumento que irá utilizar terá de permitir uma resolução temporal de algumas centenas de nanosegundos (preferencialmente dezenas). No grupo de fotoquímica existem 3 possíveis equipamentos para efetuar estes estudos: um TC-SPC com resolução de 150 ps; um equipamento de fotólise de relâmpago com resolução em algumas dezenas de nanosegundos e um “setup” com lâmpada pulsada para medição de emissões de longa duração (alguns microsegundos) acoplado ao fluorímetro. Deverá combinar com o seu professor qual o equipamento a utilizar. Deverá igualmente desarejar as suas soluções. Para tal existem cuvetes especiais. Como irá efetuar adições de solução ácida (HCl) aconselha-se a utilização numa célula com um tubo e rolha esmerilado no topo.

Segurança

Se tiver de trabalhar com um laser para além de não dever colocar nenhuma parte do corpo em frente do feixe, lembre-se também que este emite radiação UV pelo que deve evitar olhar para o feixe. Esta experiência exige muito pequenas quantidades de um sal de urânio que possui alguma radioatividade. A utilização e exposição a este composto no contexto do presente trabalho não oferece qualquer riscos. No entanto, use com precaução particularmente ao pipetar. Depois coloque a solução usada dentro de um recipiente apropriado.

Procedimento

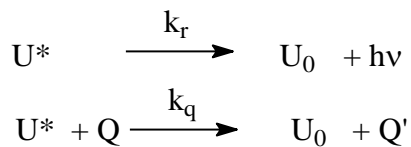
Prepare soluções mãe em 2 balões de 25 mL com 4mM de $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 6 mM de HCl respectivamente e em ambos preencha com uma solução aquosa de 1M em H_3PO_4 . Seguidamente prepare soluções em balões de 5 mL que sejam 2mM UO_2^{2+} e 0, 20, 50, 100 e 200 μM em Cl^- . Pode em alternativa adicionar a um volume determinado (normalmente 3 mL) da solução de 4mM de $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ numa célula, microquantidades de uma solução mais concentrada de HCl.

Comece por obter o decaimento da solução de 4mM de $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ na ausência de Cl^- . Depois vá obtendo os diferentes decaimentos por adição da solução de HCl. Deverá ter colher com um cdo de emissão próximo de 510 nm.

Análise dos dados

O que se pretende obter são os tempos de decaimento do urânio em função da adição de supressor. Assim à medida que estiver a efetuar as experiências deverá contar com uma diminuição gradual do tempo de vida associado.

O processo de supressão é bimolecular e portanto deverá ser do tipo



em que a primeira equação traduz a emissão do urânio na ausência de supressor e a segunda na presença deste. Assim, o desaparecimento de U^* vem dado pela seguinte equação :

$$-\frac{d[U^*]}{dt} = k_r[U^*] + k_q[U^*][Q]$$

Uma vez que a concentração de supressor é muito maior do que a do estado excitado U^* , ($[Q] \gg [U^*]$), $[Q]$ é independente do tempo e o processo de supressão bimolecular pode ser considerado de 1ª ordem. Assim, a equação anterior vem agora simplificada:

$$\frac{d[U^*]}{dt} = -k_{obs}[U^*]$$

onde $k_{obs} = k_r + k_q[Q]$.

Se a luz que gera o estado excitado é de muita curta duração a integração da equação anterior conduz a

$$[U^*] = [U^*]_0 e^{-k_{obs}t}$$

onde $[U^*]_0$ é a concentração de U gerada imediatamente a seguir à excitação enquanto o tempo de vida τ_{obs} é definido como $1/k_{obs}$. Assim temos que

$$\frac{1}{\tau_{obs}} = k_r + k_q[Q]$$

que é conhecida como equação (dinâmica) de Stern-Volmer.

Com base nos seus decaimentos efetue um ajuste à lei exponencial acima mencionada. Se utilizar o TCSPC deverá utilizar o processo de desconvolução. Em caso de utilização de um dos outros equipamentos, utilize um programa como o "Origin" que lhe permite igualmente ter associados critérios de ajuste. Depois obtenha os tempos de decaimento e faça a representação de Stern-Volmer.

Obtenha a constante de supressão (k_q) e comente o valor obtido.

Bibliografia

N. Turro, *Modern Molecular Photochemistry*. 1991, Sausalito, California: University Science Books.

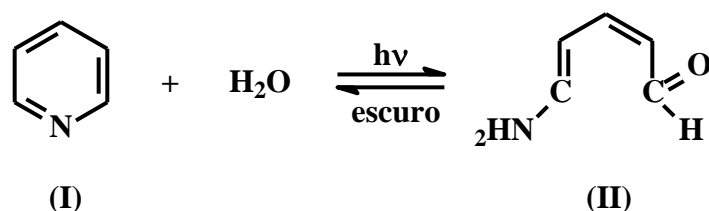
S. Murov, I. Chermichael, G. L. Hug, *Handbook of Photochemistry*. 2nd ed. 1993, New York: M. Dekker Inc.

Trabalho 5- Determinação da velocidade e rendimento de uma reação fotoquímica

Objetivo: observar espectroscopicamente a formação do produto de fotohidratação da piridina e estudar a cinética da reação. Determinará igualmente o rendimento da fotoreação.

Introdução

A reação de hidratação da piridina em meio aquoso (a $\text{pH} \approx 8$) por ação da luz pode ser descrita genericamente pelo seguinte esquema:



No entanto, o fotoproduto (II) desta reação (quando à temperatura ambiente e no escuro) reverte lentamente para o reagente piridina. Esta reação pode ser seguida espectroscopicamente, através da obtenção do espectro de absorção da solução aquosa de piridina em função do tempo de irradiação. À medida que a reação decorre observa-se, gradualmente, o desaparecimento da banda de absorção característica da piridina [com máximo a 250 nm ($\pi\text{-}\pi^*$)] e o aparecimento de uma nova banda, deslocada para menores energias (com máximo de absorção a 362 nm), atribuída à transição característica do aldeído enamínico ($n\text{-}\pi^*$) do fotoproduto II.

Da representação da intensidade de absorção em função do tempo de irradiação é possível obter, para uma dada concentração inicial de piridina, a constante de velocidade (k) da reação fotoquímica.

A velocidade da reação, v , em função da intensidade de luz, I_a , e da concentração dos reagentes pode ser determinada pela eq. 1,

$$v = k I_a^\alpha [\text{pyr}]^\beta [\text{H}_2\text{O}]^\gamma \quad (1)$$

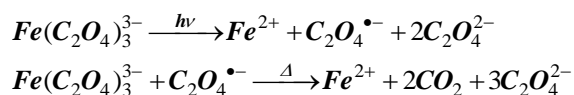
onde α , β e γ se referem às ordens de reação parciais associadas a respetivamente, intensidade de luz e aos reagentes piridina e água. Do estudo da velocidade de reação em função da intensidade da luz incidente e da concentração de piridina e H_2O observou-se que $\beta = 0$ (i.e., a velocidade de reação é independente da concentração de piridina) e $\alpha = \gamma = 1$.

Conhecendo a velocidade de reação e a intensidade de luz absorvida (I_a) podemos obter o rendimento da reação de fotohidratação utilizando a eq. 2.

$$\phi = \frac{V}{I_a} \quad (2)$$

A intensidade de luz absorvida pela solução (I_a) pode ser obtida por actinometria, utilizando como actinómetro o ferroxalato de potássio (um dos mais usados actinómetros para a região de irradiação UV-Vis, 220-550 nm).

A irradiação com luz UV-Vis da solução de ferroxalato de potássio dá origem à sua decomposição, que pode ser descrita pelas reações seguintes,



O número de moles de Fe^{2+} produzidas durante o intervalo de tempo de irradiação pode ser obtido espectroscopicamente pela complexação do Fe^{2+} livre com 1,10-fenantrolina, que dá origem a um complexo corado, $Fe(Phen)_3^{2+}$ (apresenta um máximo de absorção a ≈ 510 nm). O número de moles de Fe^{2+} formado no volume irradiado pode ser obtido pela eq.3,

$$\text{moles } Fe^{2+} = \frac{V_1 \times \Delta A(510nm)}{10^3 \times l \times \epsilon(510nm)} \quad (3)$$

onde V_1 corresponde ao volume final da solução após a complexação com a fenantrolina (em mL); l o percurso óptico da célula onde foi irradiada a solução; $\Delta A(510 \text{ nm})$ é a diferença de absorvância a 510 nm entre os espectros da solução irradiada [complexo $Fe(Phen)_3^{2+}$] e antes de efetuar a irradiação; $\epsilon(510 \text{ nm})$ corresponde ao coeficiente de extinção molar do complexo $Fe(Phen)_3^{2+}$, $\epsilon=11100 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

A intensidade de luz absorvida (I_a) pela solução de ferroxalato de potássio após a irradiação pode ser obtida pela eq. 4,

$$I_a = \frac{\text{moles } Fe^{2+}}{\Phi_{254nm}^{Fe^{2+}} \times t} \quad (4)$$

onde $\Phi_{254nm}^{Fe^{2+}}$ corresponde ao rendimento de formação de Fe^{2+} (para irradiação a 254 nm, $\Phi_{254nm}^{Fe^{2+}} = 1.25$) e t ao tempo de irradiação da solução.

Procedimento experimental

Prepare uma solução aquosa de piridina de aproximadamente $1.24 \times 10^{-3} \text{ M}$. Por adição de umas gotas de solução de NaOH (5 M) coloque o valor de pH

FOTOQUÍMICA

da solução anterior a um a valor de ≈ 8 . De seguida coloque 3 mL da solução aquosa de piridina numa cuvete e registe o espectro de absorção. Coloque a cuvete no reator fotoquímico ($\lambda_{\text{exc}} \approx 254 \text{ nm}$) disponibilizado no laboratório e registe os espectros de absorção da solução em função do tempo de irradiação. Repita novamente a reação usando no entanto outra fonte de irradiação disponível (lâmpada do fluorímetro).

Determine a intensidade de luz absorvida pela solução utilizando como actinómetro o ferroxalato de potássio:

Prepare a solução de ferroxalato de potássio (0.012M) dissolvendo 6 g de $\text{Fe}_2(\text{C}_2\text{O}_4)_3$ em 1 L de H_2SO_4 , 0.05 M.

A solução de fenantrolina a 0.1% tamponizada deve ser preparada dissolvendo 225g de $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ e 1g de fenantrolina num litro de H_2SO_4 , 0.05 M.

Nota: Tanto a solução de ferroxalato de potássio como a de fenantrolina devem ser mantidas no escuro.

Retire 3 mL de solução de ferroxalato de potássio e coloque na cuvete fornecida. Trace o espectro de absorção antes de iniciar a irradiação.

Coloque a solução no reactor fotoquímico e irradie durante 10 minutos. Após irradiar adicione 0.5 mL da solução de fenantrolina e com agitação espere algum tempo até ocorrer a formação do complexo corado $\text{Fe}(\text{Phen})_3^{2+}$ (a solução deve ser mantida no escuro). Trace o espectro de absorção da solução contendo o complexo $\text{Fe}(\text{Phen})_3^{2+}$.

Questões

Para os dois reatores fotoquímicos utilizados:

represente os espectros de absorção da solução de piridina em função do tempo de irradiação.

Da representação da intensidade de absorção do fotoproduto (II), a 362 nm, em função do tempo de irradiação obtenha o valor da constante de velocidade da reação.

Obtenha os valores da velocidade e rendimento da reação fotoquímica e comente os valores obtidos nos dois reatores fotoquímicos.

Bibliografia

S. Murov, I. Charmichael, G. L. Hug, *Handbook of Photochemistry*. 2nd ed. 1993, New York: M. Dekker Inc.

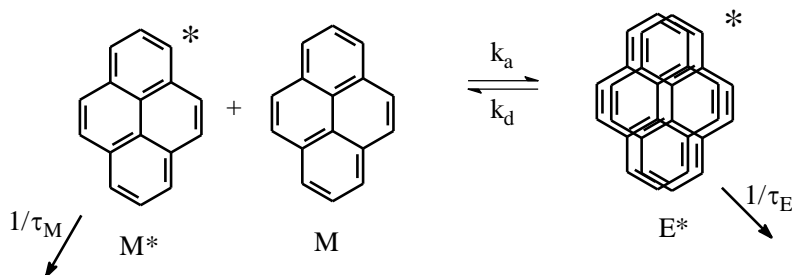
J.C. Andre, M. Niclaude, J. Jousot-dubien, X. Deglise *J. Chem. Ed.* **54**, 387 (1977).

Trabalho 6- Determinação da Entalpia e Energia de Ativação da Formação de Excímero no pireno

Objetivo: estudar o efeito da temperatura na reação de formação de excímero com obtenção da energia de ativação de formação do excímero e da sua entalpia de ligação.

Introdução

A formação de excímero do pireno é um processo dinâmico resultante de um encontro entre um monómero no estado excitado (M^*) e um monómero no estado fundamental (M) com formação de um dímero excitado, o excímero (E^*). O esquema cinético associado a este processo encontra-se ilustrado no Esquema 6.1. Nele a constante de velocidade de formação de excímero (k_a) pode ser dependente da concentração de monómero, caso o processo seja intermolecular ($k_a[M]$), ou independente, caso o processo seja intramolecular. O excímero formado pode-se dissociar nas espécies M^* e M , com uma constante de velocidade k_d ou regressar ao estado fundamental com uma constante de decaimento k_E , originando dois monómeros no estado fundamental. Adicionalmente, neste esquema cinético, o monómero no estado excitado também pode desativar-se diretamente para o estado fundamental com uma constante de velocidade k_M .



Esquema 6.1

A variação da fluorescência fotoestacionária com a temperatura (aproximação do estado estacionário) pode ser racionalizada através da

representação de Stevens-Ban $\left(\ln \frac{I_E}{I_M} \text{ vs. } 1/T \right)$, ver Figura 6.1. Nestas

representações gráficas a razão entre as intensidades de emissão do excímero e do monómero (I_E/I_M) com a temperatura apresenta uma forma característica de tipo parabólico. Com base no esquema cinético de Birks (esquema 6.1), a razão I_E/I_M é dada pela seguinte equação:

$$\frac{I_E}{I_M} = \frac{k_F^E}{k_F^M} \cdot \frac{k_a}{k_d + k_E} \quad (1)$$

onde k_F^E e k_F^M são as constantes de velocidade radiativa do monómero e do excímero, as quais expressam a eficiência de fluorescência do monómero e do excímero, respetivamente ($\frac{\phi_E}{\tau_E}$ e $\frac{\phi_M}{\tau_M}$ onde ϕ_E e ϕ_M são os rendimentos quânticos de fluorescência do excímero e do monómero).

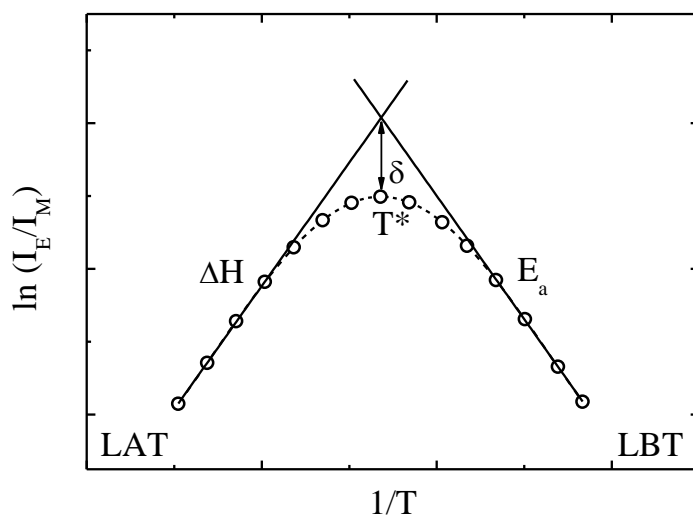


Figura 6.1: Esquema da curva de Arrhenius. Nele encontram-se representados os limites das baixas (LBT) e altas temperaturas (LAT), a temperatura de transição entre os dois regimes (T), a entalpia (ΔH), a energia de activação de formação de excímero (E_a) e o parâmetro δ (ver texto).

De uma forma geral quando se aumenta a temperatura a constante de velocidade de dissociação do excímero, k_d , aumenta mais rapidamente que k_E e na situação limite em que $k_d \gg k_E$ (Limite das Altas Temperaturas, LAT), a equação 1 simplifica-se, dando origem a:

$$\frac{I_E}{I_M} = \frac{k_F^E}{k_F^M} \cdot \frac{k_a}{k_d} \quad (2)$$

Tal significa que dentro deste limite, a razão k_a/k_d reflecte a constante de equilíbrio para a reacção de formação de excímero. Se considerarmos a

situação do Limite das Baixas Temperaturas (LBT), verifica-se o oposto, i.e., $k_d \ll k_E$, e a simplificação da equação 1 origina a equação 3

$$\frac{I_E}{I_M} = \frac{k_F^E}{k_F^M} \cdot \tau_E \cdot k_a \quad (3)$$

A representação de Arrhenius resultante do $\ln(I_E/I_M)$ vs. o inverso da temperatura absoluta ($1/T$), Figura 6.1, origina duas retas, cujos declives definem, no LBT, a energia de ativação da formação de excímero (E_a) (equação 4):

$$\frac{d \ln \left(\frac{I_E}{I_M} \right)}{d \left(\frac{1}{T} \right)} = - \frac{E_a}{R} \quad (4)$$

e, no LAT, a entalpia de formação (ΔH), ou energia de ligação, do excímero vem dada pela equação 5:

$$\frac{d \ln \left(\frac{I_E}{I_M} \right)}{d \left(\frac{1}{T} \right)} = - \frac{(E_a - E_d)}{R} \quad (5)$$

Na Figura 6.1 encontra-se igualmente representado o parâmetro δ . Este resulta da diferença entre o $\ln(I_E/I_M)$ correspondente à temperatura de transição na parábola e à intercepção dos dois limites de temperaturas. Na temperatura em que os dois regimes se intersectam, tem-se que $k_d = k_E$, e como tal $\delta = \ln 2$, significa que todo o excímero formado tem origem dinâmica, o que se verifica na formação de excímero intermolecular do pireno que irá estudar.

Procedimento experimental

Prepare uma solução de pireno (5×10^{-3} M) em metilciclohexano. Transfira a solução para uma célula com dispositivo especialmente concebida para lhe permitir efetuar um desarejamento eficiente da solução.

Trace os espetros de emissão no intervalo de temperatura de -10° a 100° C (faça intervalos de temperatura de $5-10^\circ$ C com um λ_{exc} na banda proibida do pireno (~entre 370 e 380 nm); utilize “slits” de 0.5 ou 1 mm. Entre cada temperatura aguarde que esta estabilize durante ~5-10 min). Assegure-se que observa a banda do monómero (com um máximo a ~375 nm) e do excímero (com um máximo a ~480 nm).

À medida que vai obtendo os espetros represente o logaritmo da razão das intensidades destas bandas em função do inverso da temperatura (em K).

FOTOQUÍMICA

Verifique se necessita de obter mais valores por forma a obter uma curva idêntica à da Figura 6.1, i.e., bem definida.

Questões.

Com base nas representações de Stevens-Ban obtenha ΔH e E_a .
Comente os valores obtidos.

Bibliografia

- Birks, J. B. "*Photophysics of Aromatic Molecules*". Wiley Interscience, Londres, 1970.
- J.B. Birks, "*Organic Molecular Photophysics*", Vol. I e II, John Wiley & Sons, Inc., 1973.

Trabalho 7- Determinação da concentração micelar crítica de um surfatante aniónico pelo método fluorimétrico

Objetivo: determinar a CMC de um surfatante por utilização de sondas fluorescentes.

Introdução

É conhecido que os hidrocarbonetos (caráter hidrofóbico) são insolúveis em água (hidrofílico). Uma via para contornar esta incompatibilidade é a de ter uma molécula que possua caráter hidrofóbico e hidrofílico. Este tipo de moléculas são conhecidas como anfifílicas e um exemplo simples é o de um ácido carboxílico de cadeia longa, RCO_2H , que quando dissolvido em água a pH suficientemente alto existe na sua forma ionizada, RCO_2^- . Estas moléculas podem funcionar como detergentes ou surfatantes pois podem mudar dramaticamente as propriedades da água, incluindo a sua capacidade de solubilizar compostos insolúveis nesta.

Neste trabalho far-se-á uso do surfatante aniónico dodecilo sulfato de sódio (SDS), $\text{NaOSO}_3\text{C}_{12}\text{H}_{25}$. Quanto uma quantidade suficiente de SDS é dissolvida em água, certas propriedades da solução são significativamente alteradas, nomeadamente a tensão superficial (que decresce) e a solubilidade de hidrocarbonetos (que aumenta). No entanto, estas propriedades (da água) não se alteram até que seja atingida uma dada concentração (mínima) de SDS. Esta concentração é designada de concentração micelar crítica (CMC). Sabe-se, por intermédio de diferentes técnicas (NMR, “light scattering”, etc), que abaixo da CMC o surfatante se encontra essencialmente como uma espécie unimérica solvatada, enquanto que acima da CMC estes unímeros, sofrem um processo de auto-associação formando estruturas designadas de micelas. É de salientar que a CMC não tem um valor muito preciso, antes depende do método utilizado para a determinar. O método fluorimétrico é talvez um dos mais sensíveis. O método que irá utilizar consiste no seguimento da razão I_1/I_3 (modos vibrónicos) do pireno. Esta razão entre o modo vibrónico I_3 , correspondente à transição $S_1 (v=0) \rightarrow S_0 (v=2) (0,2)$, e o modo vibrónico I_1 (correspondente à transição $S_1 (v=0) \rightarrow S_0 (v=0) (0,0)$), I_1/I_3 , permite o estabelecimento duma escala de polaridade (designada de escala de polaridade-py), tendo valores bastante diferente em meios polares (como a água) e apolares (interior de uma micela).

Procedimento Experimental

Irá preparar diversas soluções. Tenha em atenção que o valor de CMC para o SDS é de cerca de 8 mmol/l (8×10^{-3} M). Deverá portanto ter um conjunto de soluções cujas concentrações se encontrem abaixo e acima deste valor. Sugere-se por exemplo a preparação de um solução 0.04 M num balão de 25 mL que depois diluirá em 7 (mínimo) balões de 5 mL.

FOTOQUÍMICA

Note: faça bem as contas!

Uma segunda solução de pireno deverá ser preparada com cerca de 10^{-5} - 10^{-6} M em dioxano ou etanol. Aqui poderá ter de preparar uma solução mais concentrada (que lhe permita pesar uma quantidade com rigor) e depois diluir. Para saber qual a concentração final nas soluções com SDS, i.e., o volume que terá de pipetar da solução de pireno para as soluções com SDS faça o seguinte teste: num balão de 5 mL com dioxano microinjete diferentes volumes de solução mãe de pireno e veja aquele que possui uma absorvância de 0.1-0.2 a cerca de 315 nm. Este será o volume que deverá utilizar para para adicionar nas soluções de SDS.

Após preparar as diferentes soluções obtenha os espectros de absorção (janela entre os 200-400 nm) e os de emissão (300-600 nm).

Se tiver tempo pode tentar efetuar o mesmo trabalho com sondas derivadas do pireno (ácido-1-pirenocarboxílico e sódio sulfonato de pireno).

Tratamento de resultados

Com base nos espectros de emissão represente a razão I_1/I_3 em função da concentração de SDS. Com base na primeira derivada do gráfico (ou ponto de inflexão) obtenha o valor de CMC.

Compare com os dados da literatura.

Bibliografia

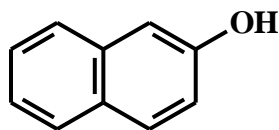
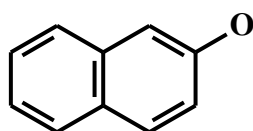
- D. Anghel and N. Ciocan, *Colloid & Polymer Sci.* **1976**, 254, 114.
K. Kalyanasundaram, J. K. Thomas, *J. Phys. Chem.*, **1977**, 81, 2176
D. S. Karpovich, G. J. Blanchard, *J. Phys. Chem.*, **1995**, 99, 3951
F. M. Winnik, *Fluorescence studies of cellulose ethers - Synthesis, characterization, and spectroscopic properties of labeled polymers*, in *Hydrophilic Polymers*. 1996.

Trabalho 8- Determinação de constantes de acidez (pK_a^*) no estado excitado

Objetivo: obter as constantes de acidez no estado fundamental e excitado de um composto (β -naftol ou outro).

Introdução

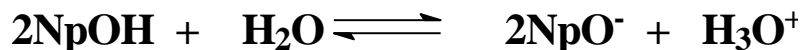
O β -naftol é uma molécula derivada do hidrocarboneto aromático (Ar) naftaleno, por substituição de um hidrogénio por um grupo $-OH$. Este grupo doador de electrão ao anel aromático induz um aumento do valor do coeficiente de extinção molar (ϵ) e um desvio para o vermelho do espectro de absorção do β -naftol relativamente ao naftaleno. Os eletrões (ditos) não-ligantes do oxigénio não mudam a natureza da transição (π, π^*) pois encontram-se envolvidos no sistema aromático. De facto Kasha e Rawls para diferenciarem este tipo de orbitais n introduziram o termo orbital l . Os espectros de absorção e emissão destes compostos (normalmente fenóis e aminas aromáticas) são dependentes do pH.

 **β -naftol (2NpOH)****forma neutra** **β -naftol (2NpO⁻)****forma aniónica**

O β -naftol é uma molécula modelo (e já muitas vezes abordada nas aulas teóricas) neste tipo de estudos; um chamado “clássico”.

Neste trabalho irá obter alguns valores espectroscópicos das formas neutra e aniónica de um dado composto no estado fundamental e excitado, que lhe permitirão obter o valor de pK_a^* . Poderá ter necessidade de obter (se não conseguir da literatura) igualmente o valor de pK_a .

Em solução aquosa o 2NpOH comporta-se como um ácido fraco, dando origem à sua base conjugada, não naftóxi, 2NpO⁻, o que por vezes implica associar o β -naftol a uma forma ácida. No entanto, dado o carácter neutro e as diferentes implicações que em fotoquímica pode ter a associação a uma espécie catiónica, é preferível manter a designação de espécie neutra.



A obtenção do valor de pK_a^* e sua comparação com o valor de pK_a permite tirar informação sobre como a mudança de estado excitado conduz a uma

profunda variação na distribuição da densidade eletrónica, em particular no átomo de oxigénio.

Em termos práticos a metodologia de obtenção do valor de pK_a^* pode ser ilustrada pela Figura 7.1 onde as energias de cada estado eletrónico (S_0 e S_1) da forma neutra e do anião do β -naftol estão identificadas. Cada anião (em S_0 e S_1) encontra-se energeticamente mais acima do que a respetiva forma neutra por um valor de energia ΔH (S_0) e ΔH (S_1), que são as entalpias de desprotonação. Tanto a forma neutra como o respetivo anião excitados possuem energias definidas respetivamente por E_{2NpOH} e E_{2NpO^-} .

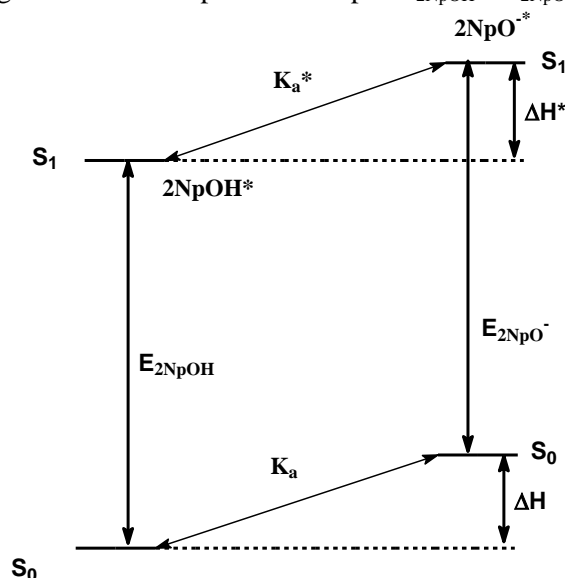


Figura 7.1 – Ciclo de Förster (situação ideal). $2NpOH$, $2NpOH^*$, $2NpO^-$ e $2NpO^{*-}$ representam respectivamente os estados fundamental e excitado da forma Neutra (ácida) e da sua base conjugada. E_{2NpOH} e E_{2NpO^-} são respetivamente as energias espectroscópicas das transições $2NpOH \leftrightarrow 2NpOH^*$ e $2NpO^- \leftrightarrow 2NpO^{*-}$ e ΔH e ΔH^* as entalpias de protonação nos estados fundamental e excitado.

Podemos descrever a energia livre de Gibbs, associada ao processo de desprotonação de $2NpOH$, em termos das entalpias e entropias de desprotonação e das constantes de equilíbrio (K_a e K_a^*):

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S = -RT \ln K_a \quad (1)$$

e

$$\Delta G^* = \Delta H^* - T\Delta S^* = -RT \ln K_a^* \quad (2)$$

associadas respetivamente aos estados S_0 e S_1 . Se fizermos a aproximação de que as entropias de dissociação de $2NpOH$ e de $2NpOH^*$ são idênticas, então temos:

$$\Delta H - \Delta H^* = -RT \ln \left(\frac{K_a^*}{K_a} \right) \quad (3)$$

o que conduz, observando a Figura 7.1, a que:

$$\Delta H + N_A E_{2NpO^-} - \Delta H^* = N_A E_{2NpOH} \quad (4)$$

onde $E=h\nu$ e o número de Avogadro (N_A) foi incluído para que cada energia seja dada em termos de moles.

Se agora combinarmos as equações (3) e (4) e, rearranjando, obtemos:

$$\ln \left(\frac{K_a^*}{K_a} \right) = \frac{N_A h (\nu_{2NpO^-} - \nu_{2NpOH})}{RT} \quad (5)$$

Desta forma a obtenção da diferença de energia entre os estados S_0 e S_1 para o $2NpOH$ e seu anião permite a obtenção do valor de K_a^* se conhecermos K_a . Tal análise (baseada em valores termodinâmicos e espetroscópicos) foi pioneiramente introduzida por Theodor Förster em 1949-50, sendo mais correntemente conhecido como Ciclo de Förster. A anterior eq. 5 pode ser rescrita de uma forma mais ilustrativa e prática:

$$pK_a^* = pK_a - \frac{N_A hc (\nu_{2NpO^-} - \nu_{2NpOH})}{2.303RT} \quad (6)$$

Neste caso temos a expressão com números de onda (em cm^{-1}) e o valor de 2.303 é necessário para a conversão de ln em log_{10} .

O problema (e a grande indefinição associada) a esta determinação está na correta obtenção da diferença $\nu_{2NpO^-} - \nu_{2NpOH}$. Existem várias aproximações para obter este valor que representa o valor da diferença de energia entre os estados S_0 e S_1 , no ciclo de Förster, ν_{0-0} . No entanto, o valor de ν_{0-0} não é, para a maioria dos compostos, de fácil determinação. No caso do antraceno (e naftaleno embora neste caso dada a natureza proibida de $S_0 \rightarrow S_1$ a banda tenha de ser ampliada para se observar a

sobreposição) a 0-0 em absorção e emissão coincidem pois as curvas de energia potencial dos seus estados são muito idênticas. No entanto, tal não acontece na maioria das moléculas incluindo o caso presente do β -naftol. Tal valor pode ser estimado pela observação dos espectros (normalizados) de absorção e emissão das duas espécies. O ponto de interseção das duas espécies pode ser obtido de forma aproximada como sendo a diferença de energia entre S_0 e S_1 .

Procedimento Experimental

- 1- Pode obter o pK_a com base na curva de titulação espectrofotométrica. Prepare uma solução com absorvância de 0.2-0.3 e efetue ajustes de pH molhando uma pipeta de Pasteur em soluções de HCl (0.01M) e NaOH (0.01M).
- 2- Trace o espectro de emissão de uma das soluções a pH ácido (terá de ser bastante ácido de preferência próximo de pH=1 ou mesmo 0).
- 3- Trace o espectro de emissão do anião (a pH básico).

Obtenha mais do que um espectro.

Depois de normalizar os espectros obtenha o pK_a^* com base no valor de pK_a e da equação 6 tendo em conta que nesta última os valores de v_{2NpO^-} e v_{2NpOH} são os valores das interseções dos espectros normalizados para as formas aniônica e neutra obtidos em escalas de número de onda (cm^{-1}).

Podem ser-lhe sugeridas outras moléculas para fazer este mesmo estudo.

Questões

Obtenha os valores de pK_a e pK_a^* e compare com os valores da literatura. O que pode concluir dos valores relativos de pK_a e pK_a^* ? E da magnitude das entalpias de desprotonação?

Bibliografia

- Kelly, R. N. e Schulman, S. G. em “*Molecular Luminescence Spectroscopy. Methods and Applications: Part 2*”. Cap. 6. “*Proton Transfer Kinetics of Electronically Excited Acids and Bases*”. Ed. por Schulman, S. G. Wiley-Interscience, John Wiley & Sons, N. Y., 1988.
- Suppan, P. “*Chemistry and Light*”. Royal Society of Chemistry, Cambridge, 1994.
- Laws, W. R. e Brand, L. J. *Phys. Chem.* **83**, 795 (1979).

VIII. Avaliação

A avaliação desta disciplina tem sido diferenciada de ano para ano. No entanto, tem sempre duas componentes, sendo que uma delas consta de uma prova escrita. No ano letivo de 2011/2012 (o presente) terá uma componente de avaliação escrita (vulgo exame ou frequência) e uma avaliação resultante dos relatórios elaborados nas aulas práticas. A primeira componente tem um peso de $\frac{3}{4}$ e a segunda $\frac{1}{4}$ da avaliação.

Em anos anteriores as duas componentes consistiram num exame final, contendo questões sobre os capítulos constantes do programa e um trabalho, ou projeto de desenvolvimento escrito com possibilidade de componente laboratorial.

IX. A introdução da fotoquímica no mestrado em química medicinal

A fotobiologia, só por si constitui um capítulo suficientemente apelativo para ser integrado e desenvolvido no âmbito do interesse desta área (fotoquímica) para a química medicinal. No entanto, devido às especificidades que esta abraça resolvemos detalhar com um capítulo dedicado, que inclui exemplos concretos de reações e metodologias (ou formas de observar os sistemas) fotoquímicas que são de extrema utilidade para o futuro químico medicinal. Para além de que este deverá ter, preferencialmente, uma visão holística da química, e a fotoquímica é sem dúvida uma das áreas de maior relevo na mesma.

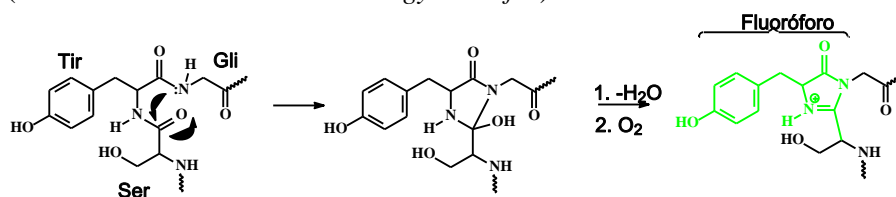
Um exemplo dos mais interessantes tem que ver com a utilização de reações fotoquímicas para a libertação controlada espacial e temporalmente de moléculas com atividade biológica, o que vulgarmente se refere como o 'caging' (inativação da molécula biológica por derivação com um grupo protetor fotolábil) e 'uncaging' (libertação da molécula biológica por clivagem com luz da ligação fotolábil).

Por exemplo o controlo da expressão genética, com uma alta resolução espacial e temporal, no desenvolvimento do peixe Zebra (Zebrafish), pode ser conseguido utilizando um agente de 'caging' (gaiola) que possa reagir facilmente com o mRNA *in vitro* e posteriormente removido, com uma quantidade mínima de fotoiluminação (por forma a prevenir a danificação excessiva dos tecidos embrionários), *in vivo*. Tal foi feito com o grupo 6-bromo-7-hidroxicumarina-4-il-metil (Bhc), que se liga a cerca de 30 locais nos grupo fosfato por 1 kb de sequência de RNA. Este complexo Bhc-gaiola

FOTOQUÍMICA

com o mRNA sofre fotólise ('uncaging') quando exposto a luz de 350-365 nm.

Um outro exemplo que se introduz é o da Proteína de Fluorescência Verde ou **GFP**, abreviação do inglês "*Green Fluorescent Protein*", descoberta em 1960 por Osamu Shimomura que a isolou e determinou qual é a parte desta que é responsável pela emissão de fluorescência. A *Aequorea victoria*, uma medusa que vive nas águas profundas do oceano pacífico, produz bioluminescência verde a partir de pequenos fotoorgãos localizados na sua camada periférica. A fonte desta cor é a GFP, uma proteína de 238 aminoácidos (*aa*) que contém no seu interior um cromóforo que produz uma intensa fluorescência verde. O cromóforo é formado a partir de partes consecutivas de um tripéptido constituído pelos *aa* serina, tirosina e glicina (Ser-Tir-Gli). Mais notável é o facto da conversão destes *aa* num fluoróforo ocorrer espontaneamente, sem necessidade de enzimas, apenas necessitando da presença de oxigénio. Esta estrutura, muito peculiar, absorve a 397 nm e emite a 509 nm. Um notável desvio de Stokes! Mostra-se que a estrutura da proteína no seu todo é duma notável elegância, consistindo numa robusta estrutura cilíndrica formada por folhas- β , que por sua vez encapsula por completo o cromóforo prevenindo desta forma a possível supressão, da sua fluorescência, por fatores exteriores. Mostra-se que a fotoquímica da GFP é ainda mais notável e rica. De facto, a medusa que contém a GFP brilha em águas profundas onde não chega a luz solar. Questiona-se então de onde advém a fonte de excitação da GFP. A resposta encontra-se numa proteína quimiluminescente (luminescência induzida por reação química) designada de *aequorin*, que emite luz azul induzindo uma mudança estrutural na proteína. Esta luz azul é então absorvida pela GFP que por sua vez emite a luz verde. Um exemplo de eficiente transferência de energia não-radiativa (FRET -*Förster Resonance Energy Transfer*).



Mostra-se que é a partir de 1987 que se inicia o processo de descoberta do enorme potencial que, como molécula-sonda, se encontrava por detrás desta proteína, iniciando a revolução que a GFP desde então produziu e que culminou com a atribuição do Prémio Nobel da Química a Osamu Shimomura, Martin Chalfie e Roger Y. Tsien pela "discovery and development of the green fluorescent protein, GFP". A sua ideia pioneira resultava do facto da GFP poder ser usada para obter informação de quando

FOTOQUÍMICA

uma proteína estava a ser fabricada numa célula. De facto, para os biólogos a GFP adquire uma extraordinária importância pois pode ser utilizada para marcar fluorescentemente um variado número de proteínas formadas em seres-vivos. Um simples anexar do gene da GFP ao gene da proteína em estudo conduz a que quando for expressa esta proteína virá marcada com um brilhante marcador verde, podendo desta forma seguir-se a proteína. Pode por exemplo saber-se se a proteína se encontra associada à membrana celular, se é transferida para uma outra célula, etc.

Bibliografia

Photo-mediated gene activation using caged RNA/DNA in zebrafish embryos, H. Ando, T. Furuta, R. Y. Tsien e H. Okamoto *Nature Genetics* **28**, 317 (2001).

Crystal Structure of the Aequorea victoria Green Fluorescent Protein, M. Ormo, A. B. Cubitt, K. Kallio, L. A. Gross, R. Y. Tsien e S. J. Remington, *Science* **273**, 1392 (1996)