



**Universidade Federal de Uberlândia
Instituto de Química
Programa de Pós-Graduação em Química**

***ESTUDO FOTOQUÍMICO E FOTOFÍSICO DE
TETRAIDROCURCUMINÓIDES***

Leandro Gustavo da Silva

**Uberlândia
Julho/2008**



**Universidade Federal de Uberlândia
Instituto de Química
Programa de Pós-Graduação em Química**

***ESTUDO FOTOQUÍMICO E FOTOFÍSICO DE
TETRAIDROCURCUMINÓIDES***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Química.

Mestrando: Leandro Gustavo da Silva.

Orientador: Prof. Dr. Reinaldo Ruggiero.

Área de Concentração: Físico-Química.

Uberlândia

Julho/2008

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

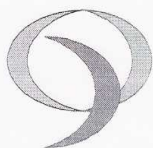
S586e Silva, Leandro Gustavo da, 1983-
Estudo fotoquímico e fotofísico de tetraidrocurcuminóides / Leandro
Gustavo da Silva. - 2008.
82 f. : il.

Orientador: Reinaldo Ruggiero.

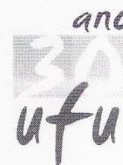
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Química.
Inclui bibliografia.

1. Fotoquímica - Teses. I. Ruggiero, Reinaldo. II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

CDU: 544.52



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
Instituto de Química
Programa de Pós Graduação em Química- MESTRADO
E-mail: epgquimica@ufu.br - Fone: 3239-4385



ALUNO(A): LEANDRO GUSTAVO DA SILVA

NÚMERO DE MATRÍCULA: 84709

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: QUÍMICA

PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA: NÍVEL MESTRADO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO:

“Estudo fotoquímico e fotofísico de tetrahidrocurcuminóides”

ORIENTADOR:

PROF. DR. REINALDO RUGGIERO

A Dissertação foi **APROVADA** em apresentação pública realizada no Anfiteatro do Bloco 1B, no Campus Santa Mônica, no dia 25 de julho de 2008, às 9:00 horas, tendo como Banca Examinadora:

NOME:

Prof. Dr. Reinaldo Ruggiero

(Instituto de Química / UFU)

Prof. Dr. Carlos Alberto de Oliveira

(Instituto de Química / UFU)

Prof. Dr. Divinomar Severino

(USP)

ASSINATURA:

Uberlândia, 25 de julho de 2008.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, pela benção da vida e por estar sempre me guiando, estando ao meu lado, me amparando nos momentos de dificuldade.

Ao Prof. Dr. Reinaldo Ruggiero pela orientação, atenção e pela confiança depositada em mim para a conclusão deste trabalho.

Aos meus colegas de laboratório: Fernando, Inácio, Douglas, Wender, Paolla e Patrícia.

Aos meus queridos amigos e quase irmãos: Adriano (Zé Firmino), Carla(bidú), Fabiana(Maria Cabelo), Alisson(qua-qua), Sandra, Dayana, Alessandra, Maikuzim, Ana Marcella(Ana Gazela), Leandra(tesourinha), Lucas(batatinha), Diego, Daniel (cabeção), Moacir(Chicken little), Rodrigo(3 beer), Wallans(Mallans), Geandre, Sabrina, Rosana, Elton, Danielzinho, Fabinho, Daiane, Fernanda, Luciene, Luciana (Pamonha) e Eduardo (me desculpem se esqueci algum nome, pois são muitos... mas fiquem agradecidos também) que juntos soubemos aproveitar cada segundo de nossas vidas. Tenho certeza que sempre estarão guardados em meu coração.

À UFU, CAPES, CNPq e FAPEMIG, pelo apoio financeiro.

E, finalmente, a todos aqueles que direta ou indiretamente me ajudaram, àqueles que acreditaram em minha capacidade e àqueles que não me deram crédito. Fica aqui a prova concreta do meu trabalho.

Um agradecimento especial.....

Aos meus pais José Antônio da Silva, Maria Madalena da Silva e ao meu querido irmão Daniel César da Silva a quem dedico este trabalho. Vocês que, de forma humilde me ensinaram a vencer, respeitar e a assumir compromissos com responsabilidade, sempre me apoiaram e estiveram ao meu lado acreditando em mim, e com palavras não consigo expressar todo o imenso carinho e amor que sinto por vocês. A todos os meus familiares, que mesmos distantes me deram força e torceram para que eu conquistasse os meus objetivos.

Muito obrigado! Amo vocês!

"Nossa recompensa se encontra no esforço e não no resultado. Um esforço total é uma vitória completa."

Gandhi.

TERMOS ADOTADOS

THC, tetraidrocurcuminóide;

ϵ_s , constante dielétrica;

n, índice de refração;

η , viscosidade;

c, velocidade da luz no vácuo;

h, constante de Planck;

N, número de Avogadro;

A_{nm}, coeficiente de Einstein para a emissão espontânea;

a, absortividade;

ϵ , absortividade molar (coeficiente de extinção molar);

f, força de oscilador;

IC, conversão interna;

ISC, cruzamento entre sistemas;

ST, conversão singlete-triplete. O mesmo que **ISC**;

RV, relaxação vibracional;

LE, do inglês “*locally excited*”: estado excitado. Ver estado de Franck-Condon;

ICT, do inglês “*intramolecular charge transfer*”: estado particular assumido por certas moléculas, caracterizado pela transferência de carga de um grupo particular ao restante da molécula;

TICT, do inglês “*twisted intramolecular charge transfer*”: um estado **ICT** caracterizado pela torção do grupo doador com relação ao restante da molécula. Esse efeito resulta no desacoplamento eletrônico entre as partes envolvidas, resultando em um considerável aumento do momento de dipolo da molécula;

τ_{exp} , tempo de vida experimental;

τ_f , tempo de vida de fluorescência;

$k_r^0 = k_e^0$, constante natural radiativa;

$\tau_r^0 = \tau_e^0$, tempo de vida natural radiativo;

k_f , constante de velocidade de fluorescência;

k_{nr} , constante de velocidade para os demais processos;

k_{IC} , constante de velocidade de conversão interna;

k_{ISC}, constante de velocidade de cruzamento entre sistemas;

Φ_F, rendimento quântico de fluorescência;

TCSPC, do inglês “time-correlated single photon counting”: técnica espectroscópica que permite estimar o tempo de vida de estados singlete excitados;

THF, tetrahidrofurano;

λ_{abs}, comprimento de onda de absorção;

λ_{em}, comprimento de onda de emissão;

λ, coeficiente de ajuste para uma combinação linear;

Δμ, diferença entre o momento de dipolo do estado excitado e o momento de dipolo do estado fundamental;

solvente prótico, que possui um átomo de hidrogênio hábil a formar uma ligação de hidrogênio. Geralmente álcoois e ácidos orgânicos;

solvente aprótico, que não possui um átomo de hidrogênio para formar ligação de hidrogênio.

TE, Transferência de energia (fenômeno espectroscópico que acontece na presença de duas espécies onde uma delas absorve a energia da outra espécie quando essa última encontra-se em uma forma excitada de energia);

IR, do inglês “infrared”, que é a região do espectro eletromagnético que tem início em, aproximadamente 780 nm e finaliza-se em torno de 300.000 nm;

DPPH, 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazil

HPLC, Cromatografia Líquida de Alta Performance;

IUPAC, International Union of Pure and Applied Chemistry;

GC, Cromatografia gasosa;

LC, Cromatografia líquida;

TLC, Cromatografia em capa delgada;

LSC, Cromatografia líquido-sólido;

LLC, Cromatografia líquido-líquido;

GLC, Cromatografia gás-líquido;

GSC, Cromatografia gás-sólido;

BPC, Cromatografia de fase ligada;

IEC, Cromatografia de intercâmbio iônico;

SEC, Cromatografia por exclusão de tamanho;

RPLC, Cromatografia de fase reversa;

NPLC, Cromatografia de fase normal;

CG/MS, Cromatografia gasosa/espectroscopia de massas;

CMC, carboximetilcelulose;

4PG, 4- Propilguaiaicol;

OQ, Orto-quinona;

EPA, eficiência do poder antirradical ($1/E_{c50}$);

QM, quinona metílica.

ÍNDICE

RESUMO.....	i
ABSTRACT	ii
OBJETIVO	iii
I-INTRODUÇÃO	1
I.1 - Curcumina	1
I.2 – Tetraidrocurcuminóides	2
I.2.1 - Potencial antioxidante de tetraidrocurcuminóides	3
I.3 – Pressupostos da fotoluminescência.	4
I.4 - Espectroscopia no UV - visível e UV próximo (UV-A).....	4
I.4.1 - A lei da absorção. A Lei de Bouguer-Lambert-Beer	5
I.5 – Diagrama de Jablonski e princípio de Franck-Condon.	8
I.6 - Efeito do solvente sobre os espectros de absorção e emissão.	12
I.6.1 – Efeito do solvente sobre o espectro de absorção.....	12
I.6.2- Compostos solvatocrômicos.	15
I.6.3- Efeito do Solvente sobre o espectro de Emissão.....	15
I.7 - Cinética dos processos fotofísicos	17
I.7.1 – Tempo de vida radiativo	17
I.7.2 – Medidas de tempo de vida	20
I.7.3 – Rendimento Quântico	22
I.7.3.1 – Rendimento Quântico de Fluorescência	22
I.7.3.2 – Rendimento Quântico de Fosforescência.....	24
I.8 – Medidas experimentais de rendimento quântico.	25
I.9- Aspectos gerais da cromatografia	27
I.8.1- Modalidades de cromatografia líquida	29
I.9.2- Esquema geral dos cromatógrafos líquidos	31
I.9.2.1- Separação na cromatografia líquida	32
I.9.2.3- Cromatografia em fase reversa	32
I.10- Cromatografia gasosa/ Espectroscopia de massas	34
II- PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	35
II.1- Síntese dos tetraidrocurcuminóides	35
II.2- Absorção UV dos THC's	35
II.3- Fluorescência	36

<i>II.4- Rendimento Quântico de Fluorescência.</i>	36
<i>II.5- Tempo de vida de decaimento de fluorescência</i>	36
<i>II.6- Fosforescência</i>	37
<i>II.7- Rendimento Quântico de fosforescência.</i>	37
<i>II.8- Estudo da fotodegradação dos THC's.</i>	37
II.8.1- Em solução.	37
II.8.2- Em filme.	38
<i>II.9- Rendimento quântico de desaparecimento.</i>	38
<i>II.10- Estudo dos fotoprodutos.</i>	39
<i>II.11- Enxerto de THC sobre fibras de bagaço de cana de açúcar previamente acetilada.</i>	40
<i>II.12- Fotólise das fibras</i>	40
III- RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
<i>III.1 Fotofísica dos THC's</i>	42
III.1.1 Absorção UV em solução alcoólica	42
III.1.2 Fluorescência e fosforescência dos THC's.	46
<i>III.2 Fotoquímica dos THC's</i>	51
III.2.1 Soluções Alcoólicas	51
III.2.2- Filmes de Carboximetilcelulose.	59
III.2.3- Fotoprodutos	61
<i>III.3- Enxerto de THC's nas fibras de bagaço de cana -de - açúcar.</i>	66
IV- CONCLUSÃO	70
V- SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.	71
VI- APÊNDICE.	72
<i>VI.I- Produção Bibliográfica referente à dissertação.</i>	72
VI.I.I- Artigos Publicados.	72
VI.I.II- Trabalhos apresentados em congressos.	72
VI.I.III- Outros trabalhos.	73
VII - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	76

ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1: Tautomerismo da curcumina em condições fisiológicas. Em condições neutras e ácidas predomina a forma bis-ceto(topo), entretanto a forma enólica é encontrada em pHs acima de 8.</i>	2
<i>Figura 2: Preparação de tetraidrocurcumina a partir da curcumina por hidrogenação com PtO_2.</i>	3
<i>Figura 3: Esquema dos processos radiativos em um sistema de dois níveis. Probabilidade de transição para a absorção (Blu), para a emissão espontânea (Aul) e para a emissão estimulada (Bul) [23,25].</i>	7
<i>Figura 4: Diagrama de Jablonski: Os processos fotofísicos são representados por (A) absorção de luz, (IC) conversão interna, (F) fluorescência (processo radiativo, com tempo da ordem de 10^{-9} s), (ISC) cruzamento entre sistemas e (P) fosforescência (processo radiativo, com tempo da ordem de 10^{-6} s)[26].</i>	10
<i>Figura 5: Curvas de Energia Potencial mostrando os níveis vibracionais em relação ao processo de absorção relacionado ao princípio de Franck-Condon[26].</i>	11
<i>Figura 6: - Diagrama de Jablonski para a emissão de fluorescência após relaxação do estado excitado no solvente[26].</i>	16
<i>Figura 7: - Efeito do solvente sobre a energia do estado excitado, incluindo interações específicas fluoróforo - solvente, efeitos gerais do solvente e formação do estado ICT[26].</i>	17
<i>Figura 8: Perfil de uma banda de absorção aproximada de uma função Lorentziana[26].</i>	19
<i>Figura 9: Diagrama de Jablonski apresentando a competição entre fluorescência e processos não-radiativos, na desativação do estado S1 [27].</i>	20
<i>Figura 10: Esquema de uma configuração para um HPLC.</i>	31
<i>Figura 11: Esquema de um cromatógrafo gasoso de coluna aberta /espectrômetro de massas[45].</i>	34
<i>Figura 12: Espectro de absorção dos tetraidrocurcuminóides:1, 2, 3 e 4 em solução de etanol em temperatura ambiente(25°C).</i>	42
<i>Figura 13: Espectro de absorção dos tetraidrocurcuminóides:2, 5, 6 e 7 em solução de etanol em temperatura ambiente (25°C).</i>	43
<i>Figura 14: Espectro de absorção dos tetraidrocurcuminóides:2, 8, 9 e 10 em solução de etanol em temperatura ambiente(25°C).</i>	44
<i>Figura 15: Espectro de absorção eletrônico do THC 2, acetilacetona(forma enólica), 4-n-propilguaiaicol e espectro de absorção calculado do THC 2(αacetilacetona) + 2α(propilguaiaicol)). Solvente, metanol; temperatura ambiente(25°C).</i>	45
<i>Figura 16: Emissão de fluorescência dos THC2, THC3, THC4 e THC9 em temperatura ambiente(25°C) em solução de etanol (concentração $\approx 10^{-5}$ mol L⁻¹, $f_{exc} = f_{em} = 2.5$ nm, $\lambda_{ex} = 280$ nm).</i>	46
<i>Figura 17: Fosforescência dos THC2, THC3, THC4 e THC9 em 77K em etanol vítreo(concentração $\approx 10^{-5}$ mol L⁻¹, $f_{exc} = f_{em} = 2.5$ nm, $\lambda_{ex} = 280$ nm)</i>	49
<i>Figura 18: Absorção (RT), emissão de fluorescência e fosforescência do THC2 em 77K em etanol vítreo(concentração $\approx 10^{-5}$ mol L⁻¹, $f_{exc} = f_{em} = 2.5$ nm, $\lambda_{ex} = 280$).</i>	51
<i>Figura 19: Espectro de absorção do THC 2, após irradiação com lâmpada de mercúrio de média pressão($\lambda \approx 254$ nm), em etanol (concentração $\approx 10^{-4}$ mol. L⁻¹, caminho ótico 1 cm, temperatura 25°C)</i>	52

<i>Figura 20: Espectro de absorção do THC 2, após irradiação com lâmpada de mercúrio de baixa pressão($\lambda > 300$ nm), em etanol (concentração $\approx 10^{-4}$ mol. L⁻¹, caminho ótico 1 cm, temperatura 25°C).</i>	53
<i>Figura 21: Curva do espectro da diferença de $t_{90}-t_0$ em $\lambda \approx 254$ nm para o THC2</i>	54
<i>Figura 22: Curva do espectro da diferença de $t_{90}-t_0$ em $\lambda > 300$ nm para o THC2.</i>	54
<i>Figura 23: Espectro de absorção do THC 5, após irradiação com lâmpada de mercúrio de baixa pressão($\lambda \approx 254$ nm), em etanol (concentração $\approx 10^{-4}$ mol. L⁻¹, caminho ótico 1 cm, temperatura 25°C).</i>	55
<i>Figura 24: Espectro de absorção do THC 9, após irradiação com lâmpada de mercúrio de baixa pressão($\lambda \approx 254$ nm), em etanol (concentração $\approx 10^{-4}$ mol. L⁻¹, caminho ótico 1 cm, temperatura 25°C).</i>	56
<i>Figura 25: Curva do espectro da diferença de $t_{90}-t_0$ em $\lambda > 300$ nm para o THC9.</i>	57
<i>Figura 26: Espectro de absorção do THC 2 incorporado em filme de carboximetilcelulose após irradiação com lâmpada de mercúrio de baixa pressão $\lambda \approx 254$ nm; concentração $\approx 2\%$ m/m; temperatura 25°C para diferentes tempos de irradiação.</i>	59
<i>Figura 27: Espectro de absorção do 4-n- Propilguaicol, após irradiação com lâmpada de mercúrio de baixa pressão($\lambda \approx 254$ nm; solução não aerada em metanol; concentração $\approx 10^{-4}$ mol. L⁻¹, caminho ótico 1 cm, temperatura 25°C).</i>	61
<i>Figura 28: Espectro da diferença $t_{60}-t_0$ para o 4-n- Propilguaicol.</i>	62
<i>Figura 29: Espectro eletrônico de absorção da 4- propil-orto-quinona(OQ) e quinona metílica em solução metanólica.</i>	63
<i>Figura 30: Fotoreatividade do 4-propilguaicol(PG) em solução alcoólica diluída não aerada quando irradiada com lâmpada de mercúrio de baixa pressão. Ela imita a fotoreatividade de tetraidrocurcuminóides.</i>	65
<i>Figura 31: Reflectância de fibras de bagaço sem modificação química, irradiadas até 16 horas em $\lambda > 300$nm.</i>	66
<i>Figura 32: Reflectância de fibras de bagaço acetiladas, irradiadas até 16 horas em $\lambda > 300$nm.</i>	67
<i>Figura 33: Reflectância da fibra de Bagaço enxertada com 0,3%THC 2, irradiadas até 16 horas em $\lambda > 300$nm.</i>	67
<i>Figura 34: Reflectância de fibras de bagaço enxertada com 0,3% de THC7, irradiadas até 16 horas em $\lambda > 300$nm.</i>	68

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Características típicas de absorção de alguns cromóforos[28,31].	13
Tabela 2: Característica de alguns padrões para medida de rendimento quântico de fluorescência[33].	27
Tabela 3: Características da cromatografia em fase normal(NPLC) e fase reversa(RPLC)[43].	33
Tabela 4: Fórmula estrutural e a abreviatura dos nomes dos THC's.	35
Tabela 5: Rendimento quântico dos THC's.	47
Tabela 6: Decaimento de fluorescência dos THC's.	48
Tabela 7: Rendimento quântico de fosforescência.	50
Tabela 8: Rendimento quântico de desaparecimento dos THC's e sua eficiência de poder antiradical (EPA) medida por reação dos THC's com o radical[22].	58
Tabela 9: Rendimento quântico de desaparecimento relativo dos THC's incorporados em filmes sólidos de carboximetilcelulose.	60

RESUMO

As propriedades fotoquímicas de 10 tetraidrocurcuminóides (THCs) foram estudadas. Eles exibem muito baixa fluorescência em solução de etanol à temperatura ambiente com rendimentos quânticos que variam entre 0,9 e 13×10^{-3} enquanto que os seus rendimentos quânticos de fosforescência em etanol vítreo (77K) estão entre 0,025 e 0,5. Seus rendimentos quânticos de desaparecimento medidos em solução de etanol, variam entre 5×10^{-4} e 10^{-2} , seguindo a mesma tendência que os seus poderes de eficiência antirradical energética (PEA), previamente medidos. A reatividade do THCs é reforçada se incluirmos um grupo fenol em meta ou para da ligação entre a cadeia e um fenol ou grupo metóxi como vizinho. A diferença dos espectros de absorção UV das soluções irradiadas, análises por HPLC e GC-MS realizadas para o 4-propilguaiacol (4PG), que exhibe comportamento similar ao tetraidrocurcuminóide 2 (THC2) indica a formação de quinonas metílicas e orto-quinona. A formação de um radical fenóxido por fotooxidação parece ser o primeiro passo da reação. Isto demonstra que o mecanismo geral de fotodegradação de fenóis encontrados para ligninas guaiacílicas aplica-se também a simples moléculas de origem natural, como os THCs. A irradiação da THCs em filmes de carboximetilcelulose segue as mesmas tendências que em solução, com a exceção de que quinonas metílicas e orto-quinonas não são detectadas, provavelmente porque elas reagem com a matriz celulósica. Os conhecimentos obtidos neste estudo provavelmente irão ajudar a promover a utilização dos tetraidrocurcuminóides em diversas aplicações onde é necessário desenvolver propriedades antioxidantes na presença de luz solar.

ABSTRACT

The photochemical properties of 10 tetrahydrocurcuminoids (THCs) have been studied for the first time. They display very low fluorescence in ethanol solution at room temperature with quantum yields between 0.9 and 13×10^{-3} whereas their phosphorescence quantum yields in ethanol glass at 77K are between 0.025 and 0.5. Their disappearance quantum yield measured in ethanol solution, between 5×10^{-4} and 10^{-2} , follows the same trend as their antiradical power efficiency (ARP) previously measured. The reactivity of THCs is enhanced if they include a phenol group in meta or para of the linking chain and a phenol or methoxy group as neighbor. UV absorption difference spectra of the irradiated solutions, HPLC and GC-MS analyses performed on 4-propylguaiacol (4PG), which displays similar behavior as tetrahydrocurcumin (THC 2) indicates the formation of quinone methides and *ortho*-quinone. The formation of a phenoxy radical by photooxidation appears to be the first reaction step. This demonstrates that the general photodegradation mechanism of phenols found for guaiacyl lignins applies also to simplest molecules of natural origin such as THCs. The irradiation of the THCs in carboxymethylcellulose films follows the same trends as the solution studies, except that the quinone methides and *ortho*-quinones are not detected, probably because they react with the cellulosic matrix. The knowledge obtained in this study probably will help to promote the use of tetrahydrocurcuminoids in various applications where it is necessary to develop antioxidant properties in presence of solar light.

OBJETIVO

O comportamento fotoquímico e fotofísico de tetraidrocurcuminóides nunca haviam sido descrito antes. Considerando seu uso como corante alimentício e na composição de cosméticos, o conhecimento da resposta dos THC's frente a luz UV parece ter grande interesse. Além disso, o estado de Minas Gerais é um dos principais produtores de tuméricos no Brasil, e o desenvolvimento de novas aplicações para este tipo de compostos é interessante. Neste trabalho, foi estudado a fluorescência, fosforescência e o comportamento fotoquímico de 10 tetraidrocurcuminóides. Sua reatividade em solução de etanol e filmes de carboximetilcelulose(CMC) foram comparadas com suas propriedades antioxidantes. Informações obtidas neste trabalho são importantes na utilização destes tetraidrocurcuminóides na composição de materiais lignocelulósicos e de filmes alimentícios.

I-INTRODUÇÃO

I.1 - *Curcumina*

O uso de condimentos como conservante de alimentos é de grande interesse para os consumidores, pois não apresentam risco à saúde, mesmo quando empregados em quantidades relativamente altas. Admite-se a perspectiva do uso de substâncias naturais presentes nos condimentos em substituição aos aditivos sintéticos utilizados no processamento dos alimentos com a finalidade de conservação. Conforme apontam alguns estudos, esses aditivos podem ser associados a doenças dos seres humanos. Cresce também o interesse por corantes naturais para a utilização na indústria de alimentos em substituição aos artificiais, em razão, principalmente, de estudos que apontam os efeitos tóxicos causados por corantes sintéticos[1].

Pela sua cor amarela, a cúrcuma tem atraído a atenção há muito tempo. O gênero *Curcuma*, pertence a família Zingiberaceae, é constituído por cerca de 70 espécies rizomatosas de plantas herbáceas distribuídas por vários países, inclusive, América do Sul[2]. A espécie *Curcuma longa* L. é a que possui maior importância comercial e utilização em alimentos[3].

A cúrcuma, também conhecida por açafrão da terra, de cultivo relativamente simples, vem despertando um interesse cada vez maior, pela possibilidade de sua utilização em substituição a corantes sintéticos, especificamente a tartrazina. Somado a isso, a cúrcuma apresenta também atividade antimicrobiana, fato de grande interesse na indústria de alimentos, em substituição aos conservantes sintéticos.

Os rizomas maduros dessa planta contêm amido, óleo essencial e pigmentos corantes, entre esses, a curcumina, de cor amarelo-laranja, empregada em alimentos[4].

Propriedades antioxidantes da cúrcuma foram investigadas[5-7]. O extrato alcoólico da cúrcuma inibiu o crescimento da maioria dos organismos em colocistites[8]. Os óleos essenciais apresentaram atividade bactericida[8] e fungistática[9]. O extrato alcoólico também inibe atividade antiprotzoária[10]. Em outras publicações, a cúrcuma, em várias apresentações, aparece associada a atividade antiparasítica[11], anti-HIV[12] e antitumoral[13].

A curcumina é uma bis- α,β -insaturada β -dicetona. Como tal, a curcumina existe em equilíbrio com sua forma enol tautomérica. A forma bis-ceto predomina em solução aquosa neutra e ácida[13]. Em pH 3-7, a curcumina age como um potente doador de prótons[14]. Isto porque, na sua forma ceto, a ligação entre a heptadienona e os dois metóxfenóis ativam fortemente o átomo de carbono, levando ao enfraquecimento das ligações C-H sobre este carbono devido a deslocalização dos elétrons não emparelhados sobre os oxigênios adjacentes (figura 1).

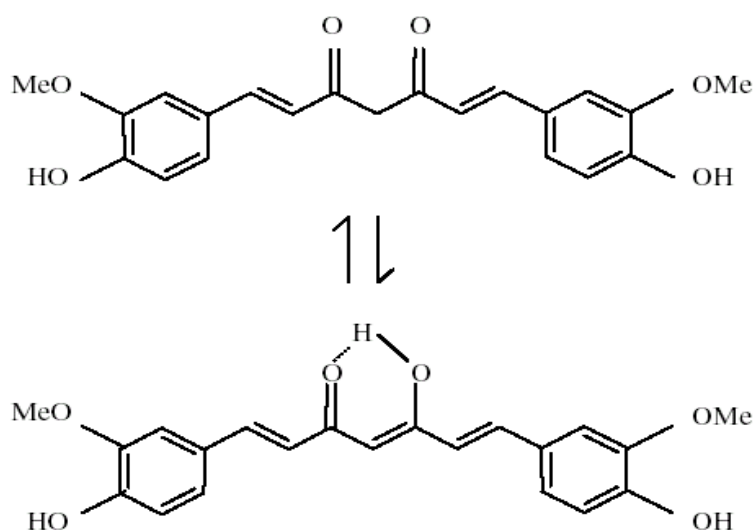


Figura 1: Tautomerismo da curcumina em condições fisiológicas. Em condições neutras e ácidas predomina a forma bis-ceto(topo), entretanto a forma enólica é encontrada em pHs acima de 8.

Em contraste, em pHs acima de 8 a forma enolato da cadeia de heptadiona predomina, e a curcumina age principalmente como um doador de elétrons, um mecanismo típico de atividade de captura de antioxidantes fenólicos[14]. A curcumina é praticamente insolúvel em água, mas dissolve em acetona, dimetilsulfóxido e etanol.

1.2 – Tetraidrocurcuminóides

Os tetraidrocurcuminóides(THCs), são produzidos a partir de curcuminóides por hidrogenação(figura 2), são livres de coloração que rendem a estes produtos sua utilização em alimentos livre de coloração e em aplicações cosméticas que atualmente empregam antioxidantes sintéticos[15]. Tetraidrocurcuminóides aparentam ser os maiores metabólitos

ativos quando curcuminóides são administrados intraperitonealmente em ratos[16]. Diferentes estudos reportam o efeito significativo de atividade antioxidante dos tetraidrocurcuminóides obtidos de tuméricos[17-19]. Eles também demonstram efeitos quimiopreventivos sobre carcinogênese em cólon de ratos[20].

Os tetraidrocurcuminóides são compostos polifenólicos com grupos funcionais parahidroxil e grupos funcionais ceto que participam em ações antioxidantes e quimiopreventivas[21].



Figura 2: Preparação de tetraidrocurcumina a partir da curcumina por hidrogenação com PtO_2 .

I.2.1 - Potencial antioxidante de tetraidrocurcuminóides

Muito recentemente[22] tem-se estudado a atividade antioxidante de uma série de curcuminóides e tetraidrocurcuminóides, que suportam vários grupos hidroxilas e metoxilas sobre suas subunidades benzênicas. Neste estudo são descrito a síntese e a determinação sistemática do efeito antioxidante e a capacidade de doação de hidrogênio utilizando o método do radical DPPH em metanol a 25°C. Os resultados indicaram que os tetraidrocurcuminóides foram em geral muito mais eficientes que seus análogos curcuminóides, se os mesmos possuísem simultaneamente um grupo fenol em posição meta ou para em relação à cadeia de ligação ou um grupo fenol ou metóxi como vizinho. O ganho de eficiência dos THCs em comparação aos curcuminóides não foi atribuído à presença do grupo beta dicetona na cadeia, como já havia sido proposto [19], mas sim à presença de hidrogênios benzílicos, os quais estão envolvidos no processo de oxidação destes compostos, e não nos curcuminóides.

1.3 – Pressupostos da fotoluminescência.

O comportamento fotofísico e fotoquímico de um composto ou classe de compostos nos permitem compreender e explorar várias de suas propriedades. Se por um lado o mapeamento das possíveis rotas de desativação de um certo estado excitado, através da compreensão da sua fotofísica, permite explorar melhor algumas características de interesse, a fotoquímica permite expandir os limites do conceito de reação química, tratando os fótons como reagentes fundamentais e levando à formação de produtos que não seriam obtidos por outros tipos de reação. Boa parte dos métodos analíticos para o estudo e entendimento das propriedades fotofísicas/fotoquímicas de um composto está baseada na interação da luz com a matéria [23].

O espectro eletrônico de absorção e o espectro de emissão de uma molécula nos fornecem informações importantes com respeito à estrutura, energia e a dinâmica dos processos a partir de níveis eletronicamente excitados. A partir do conhecimento dos processos de absorção e de emissão, um completo diagrama de estados pode ser deduzido. A partir de medidas de tempo de vida dos estados eletronicamente excitados S1 e T1 e suas correspondentes eficiências de emissão, a dinâmica dos inúmeros processos que resultam a partir desses estados, fotoquímicos e/ou fotofísicos, pode, então, ser compreendido.

As reações fotoquímicas necessitam da presença de luz, que compreende a radiação UV-Visível e radiação de maior energia [24]. Faz-se, necessário, dessa forma, a compreensão do espectro eletromagnético e como ele é diferenciado, de maneira a permitir a compreensão dos resultados obtidos [23].

1.4 - Espectroscopia no UV - visível e UV próximo (UV-A)

O espectro de absorção obtido experimentalmente consiste de sinais característicos exibidos em diferentes comprimentos de onda com diferentes intensidades, próprios da estrutura eletrônica de cada espécie [23,25].

I.4.1 - A lei da absorção. A Lei de Bouguer-Lambert-Beer

O estudo de transições eletrônicas em moléculas e átomos é feito principalmente através de absorciometria. Essas transições situam-se nas regiões visível e ultravioleta do espectro eletromagnético [23].

Com a utilização de um espectrofotômetro, é possível estimar propriedades espectroscópicas da matéria. O tratamento matemático que possibilita relacionar a medida experimental da intensidade de absorção e a propriedade a ser investigada é fornecido pela lei de Bouguer-Lambert-Beer [23,25] ou somente lei de Lambert-Beer como é mais conhecida.

O enunciado da lei de Lambert-Beer é: *Sucessivos incrementos no número de moléculas absorventes idênticas no caminho de um raio de luz monocromático absorvem frações iguais da energia radiante que as atravessa.*

Traduzindo o enunciado para uma linguagem matemática, temos:

$$\frac{dP}{dn} = -kP \quad \text{Equação 01}$$

onde, dP é a potência luminosa absorvida, dn é o incremento no número de moléculas absorventes; k é uma constante de proporcionalidade.

Integrando a equação 01 em seus limites, obtemos:

$$\int_{P_0}^P \frac{dP}{P} = -k \int_0^N dn, \text{ o que resulta em: } \ln \frac{P}{P_0} = -kN \quad \text{Equação 02}$$

onde, P e P_0 são, respectivamente, a potência luminosa na presença de um número limite de moléculas adsorventes e em uma situação de inexistência de moléculas adsorventes ($n = 0$), N é o número de moléculas absorvendo em $1,0 \text{ cm}^2$ de seção transversal. Para um feixe luminoso atravessando uma seção de área $s \text{ cm}^2$, obtemos uma nova equação:

$$\ln \frac{P}{P_0} = -kN.s \quad \text{Equação 03}$$

A quantidade $N.s$ é a medida de um número de partículas que estão efetivamente absorvendo a radiação. A relação mais utilizada em medidas de absorção de luz é o produto da concentração C e o caminho percorrido pela luz b . Pode-se escrever, então:

$$\ln \frac{P}{P_0} = K.c.b \quad \text{Equação 03-a}$$

Substituindo a constante k por a , que é uma constante que engloba o fator de conversão natural (ou neperiano), temos,

$$\log \frac{P}{P_0} = A = a.b.c \quad \text{Equação 04}$$

onde A é denominado absorvância. De uma forma alternativa, podemos escrever uma equação equivalente,

$$\log \left(\frac{I_0}{I} \right)_v = \log \left(\frac{100}{T(\%)} \right)_v \equiv A_v = \varepsilon_v - b.C \quad \text{Equação 05}$$

onde, I_0 é a intensidade da luz monocromática incidente na amostra; I é a intensidade de luz que emerge da amostra; C é a concentração da amostra, usualmente expressa em mol.dm^{-3} ; b , o caminho ótico percorrido pela luz, expresso em cm, e ε é o coeficiente de absortividade molar, dado em $\text{dm}^3.\text{mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$. Observa-se que o termo a na equação 04 e o termo ε , na equação 05 são propriedades intensivas da matéria e são conhecidas por absortividade. Particularmente usamos ε , cuja unidade é dada em $\text{dm}^3.\text{mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$, quando o composto em estudo possui sua massa molar conhecida. O que diferencia a utilização de um termo do outro é que a denota a propriedade de um material absorvente desconhecido e ε denota a propriedade de um material conhecido [23]. Uma vez que a potência P

transmitida pode variar entre os limites 0 e P_o , o logaritmo da razão apresentado na equação 04, na teoria, pode variar de zero a infinito.

No entanto, na prática, absorvâncias com magnitudes superiores a dois não possuem utilização freqüente, já que a correlação experimental direta entre absorvância e concentração tende a se perder.

O termo ϵ é função do número de onda $\nu(\text{cm}^{-1})$ ou do comprimento de onda λ (nm) [25]. A lei de Bouguer-Lambert-Beer indica que a absortividade é uma constante independente da concentração, caminho ótico e da intensidade da radiação incidente. A lei não insinua nenhum efeito da temperatura, comprimento de onda e efeito do solvente. Porém, para fins práticos, a temperatura possui um efeito secundário devido à expansão do volume da amostra.

O efeito do solvente é difícil de ser previsto de uma maneira geral. Em soluções concentradas do material de análise, observa-se, na prática, desvios da lei, podendo ser estes positivos ou negativos. De uma maneira geral, podemos dizer que esses desvios são causados por interações soluto-soluto ou soluto-solvente [25].

O cálculo das intensidades de absorção (ou emissão) é feito considerando-se as probabilidades de absorção (B_{lu}) e emissão (A_{ul}) entre os estados energéticos envolvidos na transição [24], como ilustrado na figura 3.

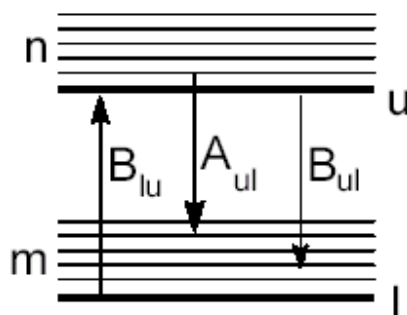


Figura 3: Esquema dos processos radiativos em um sistema de dois níveis. Probabilidade de transição para a absorção (B_{lu}), para a emissão espontânea (A_{ul}) e para a emissão estimulada (B_{ul}) [23,25].

Mulliken [23,25] relacionou a quantidade (B_{lu}) com uma medida de intensidade, à qual denominou força de oscilador,

$$f = \frac{2,303.m.c^2}{\pi.e^2.N.n} \int \epsilon_v - d\bar{v} \quad \text{Equação 06}$$

onde, e e m são, respectivamente, a carga e a massa do elétron, c é a velocidade da luz no vácuo, N é o número de Avogadro, n é o índice de refração do solvente e $\nu\epsilon$ é a absorptividade molar a um determinado número de onda. A integral da equação 06 é dada pela área sob a curva da transição eletrônica e vibracional.

Substituindo os termos na equação 06, obtemos a relação.

$$f = \frac{4,39.10^{-9}}{n} \int \epsilon_v - d\bar{v} \quad \text{Equação 07}$$

1.5 – Diagrama de Jablonski e princípio de Franck-Condon

A molécula excitada é energeticamente instável com relação ao estado fundamental. Se na molécula não houver rearranjo ou fragmentação (processo químico), ela buscará perder energia para retornar ao estado fundamental (processo físico). De fato, existe um número de diferentes possibilidades físicas para a desexcitação, onde alguns processos poderão ser favorecidos, dependendo do tipo de molécula e da natureza dos estados excitados envolvidos. Esses caminhos são percorridos muito rapidamente, sendo comumente classificados em três categorias principais:

Processos radiativos: Envolvem a desexcitação de um sistema molecular por emissão de radiação eletromagnética. Neste grupo, estão a Fluorescência (F) e a Fosforescência (P) [26].

Processos não-radiativos: A desexcitação se dá pela transferência dos elétrons do estado eletrônico excitado, para o estado eletrônico fundamental através dos níveis vibracionais. Neste grupo, estão os processos de conversão interna e de cruzamento entre sistemas.

Processos de supressão do estado excitado: Dentre esses processos, inserem-se a transferência de energia, a transferência de elétron e reações químicas envolvendo o estado excitado. O sistema aceptor denomina-se supressor.

Os processos radiativos são geralmente classificados como fenômenos de luminescência, que ocorrem a partir de estados eletronicamente excitados. A luminescência é formalmente dividida em duas categorias, a fluorescência e fosforescência, dependendo da natureza do estado excitado. Em estados excitados singlete, o elétron que foi excitado preserva a multiplicidade que tinha quando no estado fundamental. Assim, seu retorno ao estado fundamental tende a ocorrer rapidamente pela emissão de um fóton [26, 28]. Esse processo é chamado de fluorescência. A velocidade de fluorescência é tipicamente da ordem de 10^8s^{-1} , com tempo de vida da ordem de 1 a 10^2 ns [26].

Já a fosforescência é a emissão de luz a partir de estados triplete excitados, onde o elétron no estado excitado tem o mesmo spin do elétron remanescente no estado fundamental. Isto leva a transições com velocidades menores (10^3 a 10^0s^{-1}), com tempos de vida que podem variar de milissegundos a segundos[26].

É importante ressaltar que tanto a fluorescência quanto a fosforescência passam pelo estado S1, levando-se em conta que o povoamento de estado triplete ocorre pelo cruzamento entre sistemas a partir do estado S1. A razão disso está na desativação dos estados singlete superiores (S2, S3, S4,...) até S1 que ocorre por via não radiativa (conversão interna), com decaimento extremamente rápido[26, 28].

As transições não radiativas envolvem a conversão de um estado eletrônico para outro, sem emissão de radiação eletromagnética. Apesar de todas as transições que não geram emissão de luz serem não radiativas, incluindo a perda de energia por interações particulares com o solvente, o termo não radiativo é usado preferencialmente para indicar transições intramoleculares. Identificam-se dois processos para transições não-radiativas, de acordo com a multiplicidade do spin dos estados participantes:

- Conversão interna (CI), envolve a transferência de elétrons entre estados eletrônicos de mesma multiplicidade de spin;
- Cruzamento entre sistemas (ISC), envolve a transferência de elétrons entre estados de diferentes multiplicidades de spin.

Todos os processos acima citados são usualmente ilustrados pelo diagrama de Jablonski, sendo o ponto de partida para a discussão sobre absorção e emissão de luz [26, 28], mostrado na figura 4.

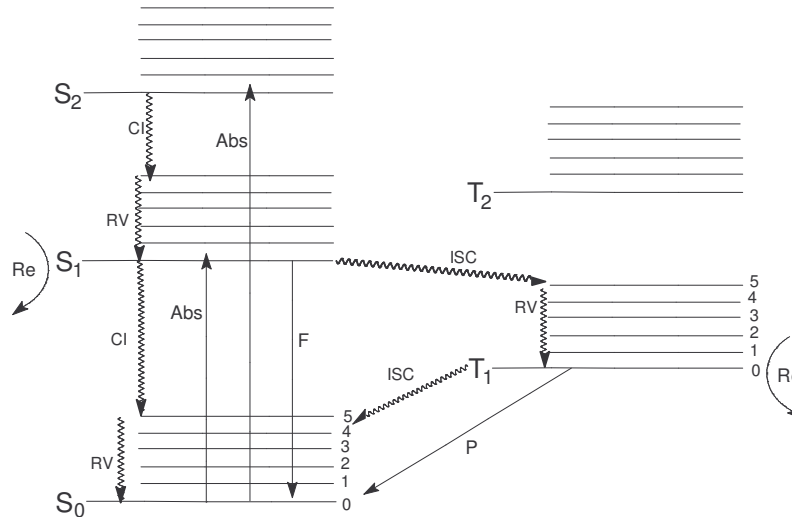


Figura 4: Diagrama de Jablonski: Os processos fotofísicos são representados por (Abs) absorção de luz, (CI) conversão interna, (F) fluorescência (processo radiativo, com tempo da ordem de 10^{-9} s), (ISC) cruzamento entre sistemas e (P) fosforescência (processo radiativo, com tempo da ordem de 10^{-6} s)[26].

Num diagrama de Jablonski típico, os estados eletrônicos singlete são descritos por S₀, S₁,...S_n respectivamente. Os subníveis denotados pelos números quânticos 0, 1, 2,..., representam os estados vibracionais, os quais são desativados por processos de relaxação vibracional(RV). As transições eletrônicas entre estados são indicadas por linhas verticais, ilustrando a natureza quase instantânea da absorção e emissão de radiação eletromagnética. A absorção ocorre em aproximadamente 10^{-15} s, tempo muito curto comparado ao movimento nuclear[28]. Assim, a transição vibrônica mais provável será aquela em que não estão envolvidas mudanças nas coordenadas nucleares.

Essa transição vibrônica é chamada de máximo de Franck-Condon(FC), e representa uma transição vertical de energia potencial. O máximo de FC corresponde a superposição máxima entre a função de onda vibracional do estado fundamental e a função de onda vibracional do estado excitado. O envelope de bandas vibracionais do sistema de bandas de absorção é chamado de envelope de FC e seus máximos correspondem ao máximo de FC, que se aproxima da posição da absorção vibrônica mais intensa. Se a última for a transição

0-0, como é o caso da absorção S0-S1 de muitos hidrocarbonetos aromáticos, isto significa que a configuração nuclear média do estado excitado é similar aquela do estado fundamental. A figura 5 mostra um diagrama que ilustra as observações acima, que reunidas representam o princípio de Franck-Condon[26].

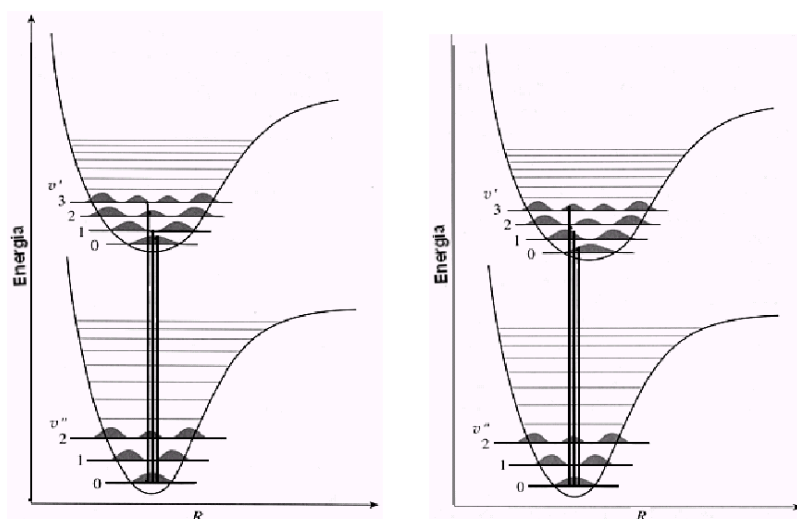


Figura 5: Curvas de Energia Potencial mostrando os níveis vibracionais em relação ao processo de absorção relacionado ao princípio de Franck-Condon[26].

Para uma molécula no estado excitado que apresenta geometria similar à do estado fundamental, a transição mais provável, partindo do estado 0,0 será aquela cuja integral de sobreposição envolva as funções correspondentes aos estados eletrônico-vibracionais 0,0 e 1,0. No caso de haver diferenças nas geometrias, a transição mais provável envolverá um estado vibracional $v' \neq 0$. A complexidade dos sistemas moleculares é revelada pelos dados espectroscópicos. A aproximação de Born-Oppenheimer nos mostra a possibilidade de representarmos aproximadamente uma função de onda molecular como sendo o produto das funções eletrônica, nuclear e de spin.

$$\Psi \cong \psi_{el} \cdot \chi \cdot S$$

Equação 08

onde, ψ_{el} é a função de onda de coordenada eletrônica, χ é a função que representa a coordenada nuclear e S é a função de spin.

Isso torna possível uma interpretação segura dos sistemas moleculares, inclusive de seus estados eletrônicos [26-29], ou seja, conhecendo-se a função Ψ relativa a um estado eletrônico, podemos relacionar as propriedades moleculares com a energia desse estado, e suas configurações eletrônica, nuclear e de spin.

I.6 - Efeito do solvente sobre os espectros de absorção e emissão

A natureza das interações soluto-solvente tende a produzir efeitos profundos sobre as características dos espectros eletrônicos. Esses efeitos podem ser sentidos, sobretudo sobre o formato e a posição das bandas de absorção ($S_0 \rightarrow S_1$) e emissão ($S_1 \rightarrow S_0$), assim como sobre a intensidade de absorção (probabilidade de transição). Essas mudanças são decorrentes das interações soluto-solvente, sobretudo se essas interações são polares, e dependem do momento de dipolo dos estados fundamental e excitado, e da natureza do estado excitado formado [26,31].

G. G. Stokes, em 1852, estudou esses efeitos. A diferença entre os números de onda relativos ao máximo de absorção e de emissão de um dado composto em um certo solvente é por isso denominada deslocamento de Stokes ($\Delta \bar{\nu} = \bar{\nu}_a - \bar{\nu}_e$). Esse parâmetro é uma medida do nível de relaxação sofrido pelos estados S_0 e S_1 de uma certa molécula, em função das interações sofridas com o solvente [26].

I.6.1 – Efeito do solvente sobre o espectro de absorção

Cromóforos são moléculas, átomos ou grupos de átomos associados a uma molécula que possuem características bem definidas de absorção da radiação eletromagnética [28]. A tabela a seguir lista os principais cromóforos e algumas de suas características.

Tabela 1: Características típicas de absorção de alguns cromóforos[28,31].

<i>Cromóforo</i>	$\lambda_{m\acute{a}x}(nm)$	$E_{m\acute{a}x}(dm^{-3}.mol^{-1}.cm^{-1})$	<i>Tipo de transição</i>
C-C	<180	1000	σ, σ^*
C-H	<180	1000	σ, σ^*
C=C	180	10000	π, π^*
C=C-C=C	220	20000	π, π^*
C=O	280	20	n, π^*
N=N	350	100	n, π^*
N=O	660	200	n, π^*
C=C-C=O	350	30	n, π^*
C=C-C=O	220	20000	π, π^*

Quando se obtém espectros de absorção de um cromóforo em solventes de diferentes polaridades, mudanças na posição, intensidade e forma das bandas de absorção podem ser encontradas. Essas mudanças são resultado de interações físicas intermoleculares soluto-solvente (tais como íon-dipolo, dipolo-dipolo, dipolo-dipolo induzido, ligação de hidrogênio, dentre outras), que tendem a alterar a diferença de energia entre o estado fundamental e o excitado [26-28,32].

A mudança observada no espectro de absorção de um cromóforo devido à polaridade do solvente é conhecida pelo termo solvatocromismo. Um deslocamento hipsocrômico corresponde a um deslocamento espectral em direção a comprimentos de onda de maior energia, no espectro UV-visível. Se esse efeito é acompanhado com um aumento na polaridade do solvente, é conhecido como solvatocromismo negativo. Já o deslocamento batocrômico (em direção a comprimentos de onda de menor energia) origina, neste caso, um solvatocromismo positivo. Esses efeitos são dependentes da natureza da transição eletrônica sofrida pelo cromóforo.

Se há a possibilidade de fortes interações polares logo no estado fundamental, deve-se esperar a ocorrência de deslocamento batocrômico da banda de absorção com o aumento da polaridade do solvente. Se o estado excitado é π, π^* , este, por possuir momento de dipolo superior ao do estado fundamental, sofrerá influência positiva de interações com solventes polares, acarretando em deslocamento batofluosolvatocrômico da banda de emissão.

Uma interpretação do deslocamento da banda $S_0 \rightarrow S_1$ em termos dos solventes deve levar em consideração: (a) a mudança sofrida no momento de dipolo quando da excitação eletrônica; (b) a diferença entre o momento de dipolo dos estados excitado e fundamental; (c) mudanças ocorridas no momento de dipolo do soluto no estado fundamental, induzida pelo solvente, e (d) o princípio de Franck-Condon [26-28,32]. De acordo com Bayliss e McRae [32a,32b], quatro casos limitantes podem ser distinguidos para as transições eletrônicas intermoleculares em solução:

- Solute apolar em solvente apolar: nesse caso, somente forças de dispersão contribuem para a solvatação do soluto. Essas forças dependem do índice de refração, da intensidade da transição, e do tamanho da molécula do soluto;
- Solute apolar em solvente polar: na ausência de um momento de dipolo do soluto, não há uma orientação significativa das moléculas do solvente ao redor das moléculas do soluto, sendo desse modo, novamente dependente do índice de refração do solvente;
- Solute polar em solvente apolar: as forças que contribuem para a solvatação são forças dipolo-dipolo induzido e forças de dispersão. Se o momento de dipolo do soluto aumenta durante a transição eletrônica, o estado excitado de Franck-Condon é mais solvatado pela polarização dipolo-solvente, favorecendo um deslocamento batocrômico. No caso do deslocamento hipsocrômico, o estado excitado de Franck-Condon é menos solvatado;
- Solute polar em solvente polar: uma vez que a solvatação do estado fundamental resulta das forças dipolo-dipolo, nesse caso existe uma gaiola orientada pelo solvente ao redor do soluto, resultando em uma rede de estabilização do estado fundamental das moléculas do soluto. Se o momento de dipolo do soluto aumenta durante a transição eletrônica, o estado excitado de Franck-Condon é formado em uma gaiola de solvente orientado pelos dipolos do solvente. A melhor estabilização do estado excitado em relação ao estado fundamental, com o aumento da polaridade do solvente, resultará em um deslocamento batocrômico. Se o momento dipolar diminui durante a transição eletrônica, o

estado excitado de Franck-Condon está em uma gaiola de solvente onde os dipolos orientados estão incorretamente dispostos para estabilizar de maneira eficiente o estado excitado.

1.6.2- Compostos solvatocrômicos.

Para compostos fortemente solvatocrômicos, os deslocamentos de comprimento de onda induzidos pelo solvente não podem ser explicados apenas em termos de uma mudança no momento de dipolo permanente durante a transição eletrônica. Nesse ponto, deve-se levar em conta o chamado campo de reação, ou seja, o campo elétrico que surge entre um dipolo ideal não-polarizável e o *continuum* dielétrico homogêneo, polarizável, no qual o dipolo está imerso, o que vem afetar o momento dipolar do estado fundamental do soluto. Isto é, a interação das moléculas do soluto polar com o campo de reação induzido, devido ao momento de dipolo total das moléculas de solvente, causa uma alteração na estrutura eletrônica do cromóforo.

1.6.3- Efeito do Solvente sobre o espectro de Emissão.

A emissão de fluorescência ocorre em comprimentos de onda superiores àqueles onde ocorre a absorção. Essa perda de energia é devida a uma variedade de processos dinâmicos que ocorrem após a absorção de luz [28]. A figura a seguir, procura retratar alguns dos processos relacionados a essa perda de energia. Como visto anteriormente, um dos fatores fundamentais para essa perda de energia decorre da relaxação do estado excitado em função de sua solvatação.

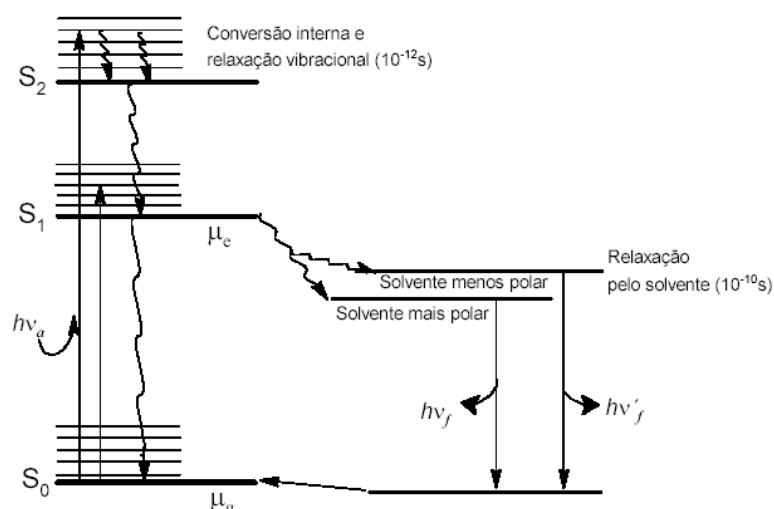


Figura 6: - Diagrama de Jablonski para a emissão de fluorescência após relaxação do estado excitado no solvente[26].

Uma espécie excitada no estado singlete encontra-se à temperatura ambiente usualmente em um estado vibracional do S_1 . O excesso de energia vibracional tende a ser rapidamente perdido para o solvente, o que ocorre, usualmente, de forma muito rápida (em torno de 10^{-10} s).

Além das interações coulômbicas, dipolo-dipolo, formação de ligações de hidrogênio soluto-solvente, em certas moléculas observa-se também a ocorrência de um estado de transferência de carga intramolecular (Figura 5) (ICT, do inglês, *Intramolecular Charge-Transfer*) ou um estado TICT “torcido” (do inglês, *Twisted Intramolecular Charge-Transfer*) [26,32]. Isto acontece, normalmente, em moléculas que contêm em sua estrutura, um grupo doador e um grupo aceptor de elétrons [26,32].

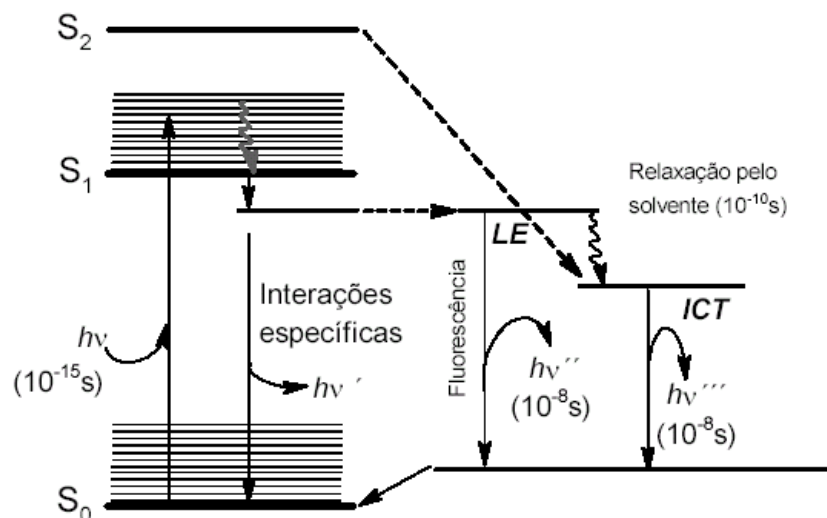


Figura 7: - Efeito do solvente sobre a energia do estado excitado, incluindo interações específicas fluoróforo - solvente, efeitos gerais do solvente e formação do estado ICT[26].

Nesses sistemas, após a excitação, pode haver um aumento na separação de cargas a nível intramolecular. Se o solvente é muito polar, então as espécies que apresentam ICT podem situar-se no estado de menor energia (Regra de Kasha). Em solventes não polares, as espécies sem separação de carga, encontram-se no estado chamado de Localmente Excitado (LE, do inglês, *Locally Excited*), que pode ser o estado de menor energia.

I.7 - Cinética dos processos fotofísicos

I.7.1 – Tempo de vida radiativo

Considerando-se os processos radiativos isoladamente, pode-se imaginar a situação onde a concentração de moléculas eletronicamente excitadas [M*] decai a zero com o tempo, devido à emissão espontânea da radiação, fato que pode ser representado pela equação 09:



onde hν' é uma energia menor comparada àquela absorvida pela molécula no estado fundamental. A emissão espontânea é um processo ao acaso, no mesmo sentido do

decaimento radiativo. Assim, a cinética do decaimento será de primeira ordem conforme a equação 10, cuja aplicação resulta na usual equação 11 [27],

$$\frac{d}{dt}[M^*] = k_f^0[M^*] \quad \text{Equação 10}$$

$$[M^*] = [M^*]_0 e^{-k_f^0 t} \quad \text{Equação 11}$$

A partir daí, pode-se aplicar outros conceitos cinéticos, dentre eles, o conceito de tempo de vida natural (τ_r^0) que é definido como o recíproco da constante de velocidade radiativa, conforme a equação 12.

$$\tau_r^0 = \frac{1}{k_r^0} \quad \text{Equação 12}$$

O índice r indica a natureza radiativa do processo. Esse índice será alterado para f ou p quando se referir especificamente aos processos de fluorescência e fosforescência, respectivamente.

A constante de velocidade para os processos de emissão espontânea tem um significado especial na teoria dos processos fotofísicos. Da teoria, podemos derivar uma relação entre o coeficiente de Einstein para emissão espontânea, A_{nm} , com n e m referindo-se respectivamente aos níveis superior e inferior da transição, e o coeficiente de absorção integrado, A [27],

$$k_r^0 = A_{nm} = 2,881 \cdot 10^{-9} \cdot \nu_{nm}^{-2} \cdot n^2 A \quad \text{Equação 13}$$

onde, ν_{nm} é o número de onda da transição, em cm^{-1} , n é o índice de refração do solvente. A possui unidades de $\text{dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$. Com base nesta expressão, a equação 14 nos fornece uma estimativa teórica para o tempo de vida radiativo.

$$\tau_r^0 = \frac{1}{A_{nm}} = \frac{3,1417 \cdot 10^8}{\nu^{-2} \cdot n^2 \cdot A}$$

Equação 14

Se assumirmos que a banda de absorção (S0→S1) se aproxima do perfil de uma curva Lorentziana, podemos aproximar A do valor $\pi \epsilon_{\text{máx}} \cdot \Gamma/2$, onde $\epsilon_{\text{máx}}$ é o coeficiente de absorvidade molar no máximo de absorção, e Γ é a largura da banda a $\epsilon_{\text{máx}}/2$.

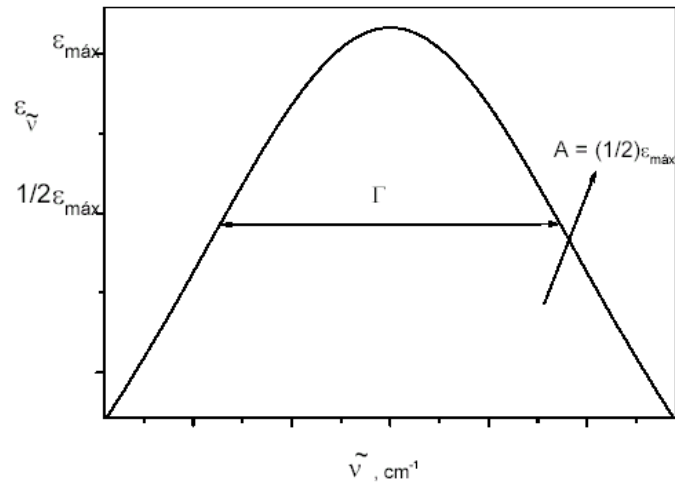


Figura 8: Perfil de uma banda de absorção aproximada de uma função Lorentziana[26].

Assim, o tempo de vida estimado a partir da banda de absorção pode ser descrito como,

$$\tau_r^0 \approx \frac{2,210 \cdot 10^8}{\nu^{-2} n^2 \epsilon_{\text{máx}} \cdot \Gamma}$$

Equação 15

O que sugere uma relação inversa entre o tempo de vida radiativo e ν . À medida em que outros níveis de energia, tais como S2 e S3 sejam considerados, a relação acima aumentará devido à proporcionalidade com o fator $(1/\nu^2)$. Desse modo, torna-se evidente que os processos radiativos a partir de S2 e S3 são praticamente inviáveis de ocorrer, o que justifica a predominância de desativação por meio de mecanismos não radiativos a partir desses estados até atingirem S1[27].

Quando a utilização de uma curva Lorentziana não é conveniente, faz-se necessário corrigir o termo A através da integração dos espectros de absorção de cada molécula, $\int \epsilon = A \nu d$ [27].

I.7.2 – Medidas de tempo de vida

Os caminhos que podem ser seguidos para desativar o estado eletronicamente excitado S_1 podem ser processos não-radiativos, como, conversão interna e cruzamento entre sistemas (gerando estados triplete populados), ou decair por fluorescência [26-28]. Cada processo é governado pela sua constante de velocidade, tal como exemplifica a figura 9.

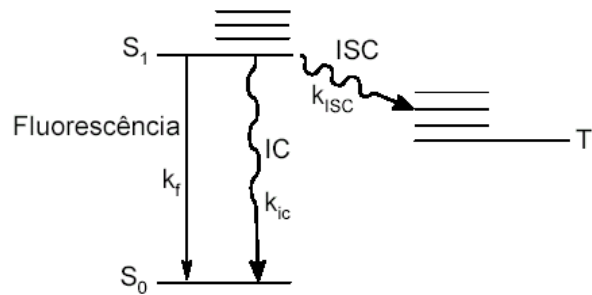


Figura 9: Diagrama de Jablonski apresentando a competição entre fluorescência e processos não-radiativos, na desativação do estado S_1 [27].

A velocidade para o decaimento de M^* é dada pela equação 16.

$$-\frac{d}{dt}[M^*] = k_f^0[M^*] + k_{ISC}[M^*] + k_{IC}[M^*] \quad \text{Equação 16}$$

onde, k_f^0 é a constante de fluorescência natural, k_{ISC} é a constante de velocidade para o cruzamento entre sistemas e k_{IC} é a constante de velocidade para o processo de conversão interna.

Mesmo que o decaimento não seja somente por um mecanismo radiativo, o processo de desativação ainda obedece a uma cinética de primeira ordem, já que a desativação depende só de M^* (partindo-se de um sistema totalmente livre de supressores). Assim,

$$[M^*] = [M^*]_0 e^{-k_f t}$$

$$\text{sendo } k_f = k_f^0 + k_{IC} + k_{ISC}$$

Equação 17

A constante k_f pode ser generalizada para incluir todos os possíveis caminhos pelos quais M^* pode decair. Então, $k_f = \sum k_i$. Dessa forma, o tempo de vida de uma espécie excitada pode ser descrito como,

$$\tau_{\text{exp}} = \frac{1}{k_{\text{exp}}} = \frac{1}{\sum k_i}$$

Equação 18

Sob essas circunstâncias, o tempo de vida radiativo será menor que o tempo de vida radiativo natural, τ_{r0} . A igualdade $\tau_{r0} = \tau_{\text{exp}}$ só existirá se o subscrito i do termo $\sum k_i$ for igual ao subscrito f , do termo k_f^0 .

Experimentalmente os processos radiativos são estudados geralmente pelo emprego de técnicas espectroscópicas resolvidas no tempo, também conhecidas como técnicas de tempo real, como "Flash Photolysis" (ou Fotólise Relâmpago) e "Time Correlated Single Photon Counting" (TCSPC). A primeira técnica citada foi introduzida na década de 1950, e utilizava originalmente uma lâmpada de 'flash' como fonte de excitação. No entanto, esse sistema acabava por limitar a técnica, já que a menor resolução temporal era superior ao tempo de decaimento da lâmpada (alguns microsegundos). Desse modo, apenas espécies excitadas com tempos de vida consideravelmente longos, como, por exemplo, alguns radicais livres em solução, podiam ser monitorados com segurança. Com o advento dos lasers operando com pulsos de duração extremamente curta, e cuja potência podia ser ajustada de modo a excitar uma população considerável de moléculas, os limites de tempo atingidos pela técnica diminuíram significativamente, possuindo, hoje, resolução

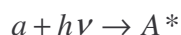
temporal na faixa dos picosegundos, embora sejam também possíveis resoluções temporais até de femtosegundos. Uma outra vantagem do emprego de lasers como fonte de excitação é a sua seletividade, o que não ocorre com o sistema clássico de Fotólise Relâmpago. É possível, com essa técnica, a obtenção de espectros de absorção de transientes. Um exemplo são os espectros de absorção triplete-triplete. A segunda técnica citada (T.C.S.P.C.) é uma técnica que emprega uma lâmpada pulsada operando a frequências consideráveis (kHz a MHz), para a excitação da amostra (porém, o emprego de lasers vem se tornando cada vez mais difundido). Diferentemente da Fotólise Relâmpago, nessa técnica uma quantidade elevada de pulsos é necessária para gerar um perfil de decaimento. A resolução temporal dessa técnica é da ordem de centenas de picosegundos. Através dessa técnica, medidas de tempos de vida de fluorescência de uma espécie podem ser feitas com elevada precisão [26,27].

Tendo em vista o conceito de tempo de vida, pode-se quantificar o quanto um sistema fluoresce e o quanto esse mesmo sistema decai por processos não-radiativos, quando uma espécie absorve um *quanta* de energia. Daí, surge a idéia de rendimento quântico de fluorescência.

I.7.3 – Rendimento Quântico

I.7.3.1 – Rendimento Quântico de Fluorescência

Para a obtenção de um produto B a partir de um reagente A, a conversão A→B é obtida com uma eficiência ou rendimento que pode atingir, em alguns casos, 100%. Em fotoquímica e fotofísica, a consideração de fótons como reagentes se faz necessária e é a partir dessa consideração que se pode definir rendimento quântico de fluorescência. Para o processo



pode-se definir o rendimento quântico de fluorescência como,

$$\Phi_F = \frac{N_f}{N_a}$$

Equação 19

onde, N_a é o número de fótons absorvidos, e N_f , o número de fótons emitidos por fluorescência. Essas quantidades equivalem-se às quantidades mensuráveis I_a , número de fótons absorvidos, e I_f , número de fótons emitidos,

$$\Phi_f = \frac{I_f}{I_a} \quad \text{Equação 20}$$

A partir da equação 20, pode-se expressar Φ_f a partir das taxas de variação da concentração com tempo [27],

$$\Phi_f = \frac{\frac{d[h\nu']}{dt}}{\frac{d[h\nu]}{dt}} \quad \text{Equação 21}$$

onde, $h\nu' < h\nu$, e representam respectivamente, o número de fótons emitidos e absorvidos.

A equação 21 pode ser reescrita como.

$$\Phi_f = \frac{d[n_e]}{d[n_a]} = \frac{k_f[M^*]}{k_{abs}[M][h\nu]} \quad \text{Equação 22}$$

A expressão acima não é muito prática uma vez que o número de moléculas eletronicamente excitadas não é fácil de ser determinado. No entanto, se, durante as medidas de fluorescência, a luz incidente sobre a amostra for contínua, o número de moléculas excitadas, M^* , torna-se constante. Com base nisso, aplicando-se o princípio do estado estacionário, $-d[M^*]/dt = 0$, tem-se,

$$-\frac{d[M^*]}{dt} = k_f[M^*] + \sum k_t[M^*] - k_{abs}[M][h\nu] \quad \text{Equação 23}$$

Daí,

$$[M^*] = \frac{k_{abs}[M][h\nu]}{k_f + \sum k_t} \quad \text{Equação 24}$$

Substituindo a equação 34 na equação 32, obtém-se,

$$\Phi_f = \frac{k_f}{k_f + \sum k_t} \quad \text{Equação 25}$$

O denominador da equação 25 exprime todas as constantes para todas as rotas previstas de desativação do estado S1. Desse modo, podemos dizer que:

$$\Phi_f = \frac{\tau_{exp}}{\tau_f} \quad \text{Equação 26}$$

I.7.3.2 – Rendimento Quântico de Fosforescência

O rendimento quântico de fosforescência pode ser equacionado nas mesmas bases matemáticas utilizadas na descrição acima. No entanto, deve-se lembrar que estados tripletes geralmente estão sendo envolvidos na desativação do estado excitado S1. Até mesmo quando os espectros de fluorescência e fosforescência são medidos a 77K, os rendimentos totais para emissão são geralmente menores que 1.00.

O rendimento quântico de fosforescência depende do produto dos coeficientes de velocidade para o cruzamento entre sistemas e para fosforescência a partir do estado triplete, dividido pelo produto das somas das constantes de velocidade para todos os caminhos de desexcitação de ambos estados, singlete e triplete [27].

$$\Phi_p = \frac{k_{ISC}}{\sum k_t} \cdot \frac{k_p^0}{\sum k_f} = \tau_f k_{ISC} \frac{\tau_p}{\tau_p^0} \quad \text{Equação 27}$$

onde, τ_p^0 e k_p^0 são, respectivamente, o tempo de vida e constante natural de fosforescência.

De forma a quantificar os processos radiativos e não-radiativos que ocorrem depois da absorção de luz, o tratamento matemático descrito anteriormente não é suficientemente capaz de fornecer com exatidão todos os parâmetros envolvidos. Uma das técnicas para reduzir uma das rotas de desativação a partir de S1 é realizar experimentos à uma temperatura de 77 K (N₂ líquido). Porém, a avaliação matemática dos resultados evidencia que mesmo a baixa temperatura o mecanismo não-radiativo ainda, em menor extensão, auxilia a desativação de S1 [27]. Com isso, temos,

$$\Phi_f + \Phi_p + \sum \Phi_{nr} = 1 \quad \text{Equação 28}$$

onde, Φ_{nr} representa todos os processo não-radiativos que desativam os estados excitados formados.

1.8 – Medidas experimentais de rendimento quântico

A medida das propriedades fluorescentes de uma molécula é um parâmetro crítico para a compreensão de sua fotofísica e fotoquímica [33]. A determinação do rendimento quântico de fluorescência, Φ_F , requer uma correção prévia do espectro da amostra desconhecida e de uma amostra conhecida. Um número considerável de fontes de erros nas medidas experimentais pode ser considerado antes de se determinar o verdadeiro rendimento quântico de fluorescência [33]. Algumas das fontes de erro que podem ser contornados estão listadas a seguir:

- Efeito de filtro interno (reabsorção);
- Efeito do comprimento de onda;
- Índice de refração do solvente;
- Polarização;
- Temperatura;
- Impurezas;
- Instabilidade fotoquímica;
- Espalhamento Raman.

Os métodos utilizados para a determinação de rendimentos se dividem em:

Métodos primários: Incluem o uso de soluções espalhadoras ou soluções para a calibração do sistema de detecção;

Métodos secundários: Incluem compostos cujas propriedades fluorescentes são bem conhecidas. Esse método é o mais utilizado devido à sua simplicidade. A relação matemática que permite relacionar as propriedades espectroscópicas do material desconhecido com o material conhecido (padrão) está apresentada na equação a seguir,

$$\Phi_a = \Phi_P \left(\frac{A_P F_a n_a^2}{A_a F_P n_P^2} \right) \quad \text{Equação 29}$$

onde, A representa a absorvância, F é a área integrada sob a curva de emissão do composto e n é o índice de refração do solvente no qual a amostra está contida. Os subscritos a e p referem-se, respectivamente, a amostra desconhecida e ao padrão utilizado.

A condição necessária para a utilização do método secundário é que o espectro de emissão da amostra esteja compreendido na mesma faixa do espectro do padrão [33]. Outra condição é que as amostras e o padrão estejam com um valor de absorvância em torno de 0,100 para que se evitem problemas de efeito filtro interno.

A tabela a seguir, apresenta alguns compostos recomendados para medidas de rendimento quântico de fluorescência utilizando o método secundário.

Tabela 2: Característica de alguns padrões para medida de rendimento quântico de fluorescência[33].

<i>Região</i>	<i>Composto</i>	<i>Solvente</i>	Φ_F
270-300 nm	Benzeno	Ciclohexano	0.05 ± 0.02
300-380 nm	Triptofano	Água(pH=7.2)	0.14 ± 0.02
300-400 nm	Naftaleno	Ciclohexano	0.23 ± 0.02
315-480 nm	2- aminopiridina	0.1 N de H ₂ SO ₄	0.60 ± 0.05
360-480 nm	Antraceno	Etanol	0.27 ± 0.03
400-500 nm	9, 10-difenilantraceno	Ciclohexano	0.90 ± 0.02
400-600 nm	Bissulfato de quinina	1 N de H ₂ SO ₄	0.546
600-650 nm	Rodamina	Etanol	1.00 ± 0.02
600-650 nm	Violeta de cresila	Metanol	0.54 ± 0.03

1.9- Aspectos gerais da cromatografia

A Cromatografia Líquida de Alta Performance (HPLC) tem sido difundida crescentemente desde o início da década de 1970, representando hoje uma das ferramentas mais empregadas no laboratório analítico moderno, seja dedicado à investigação básica ou aplicada, industrial, biológica ou bromatológica[34].

Segunda a definição da IUPAC[35], a cromatografia é um método, usado primariamente para a separação dos componentes de uma amostra, no qual os componentes se distribuem em duas fases, uma das quais é estacionária, enquanto a outra é móvel. A fase estacionária pode ser um sólido, um líquido retido sobre um sólido ou um gel, assim como estar estendida como uma capa ou distribuída como uma película. A fase móvel pode ser líquida ou gasosa. Junta-se a essa definição o surgimento de equipamentos que trabalham com fluídos supercríticos, o que traz uma reflexão sobre a definição dada por Guiddings, de que a cromatografia é um método de migração em zonas[36].

Modalidades da cromatografia

A classificação do trabalho cromatográfico pode ser realizada com base nos seguintes parâmetros[37]:

-A natureza da fase móvel

Se a fase móvel é um gás, a modalidade se denomina cromatografia gasosa(GC) e, se for um líquido, cromatografia líquida(LC). A este último pertencem a cromatografia em capa delgada(TLC), a cromatografia líquida em coluna aberta e a cromatografia líquida de alta performance (HPLC). Apesar das diferenças entre essas modalidades, os princípios que governam a separação são os mesmos.

A cromatografia gasosa (GC) é utilizada para separar mesclas que contenham compostos orgânicos voláteis. Uma diferença fundamental entre HPLC e GC encontra-se no tipo de detectores que diferenciem a amostra da fase móvel (um gás inerte). Isto não é tão simples em HPLC, já que a fase móvel não é inerte, além do que sua massa é sensivelmente superior. Por esse motivo, qualquer dispositivo que meça uma propriedade física do soluto – condutividade térmica, ionização em chama, captura de elétrons-é apropriado como detector de GC, porém resulta de difícil aplicação em HPLC, onde são aplicados dispositivos que diferenciam o soluto em solução da fase móvel, sendo os mais difundidos os detectores UV, seguidos pelos de fluorescência, índice de refração e eletroquímico.

Outra diferença entre GC e HPLC se refere a influência da fase móvel na separação. Em GC a fase móvel é apenas um condutor do soluto e praticamente não influi na separação, pois o tipo de gás é selecionado em função do tipo de detector a ser utilizado. Ao contrário, na HPLC a fase móvel é o parâmetro fundamental que governa a separação. Em consequência, na GC são necessárias muitas colunas para abranger a faixa de separações possíveis, enquanto que na HPLC é possível separar numa única coluna substâncias polares, iônicas, ionizáveis e não polares simplesmente modificando a composição da fase móvel.

-A natureza da fase estacionária

Se a fase estacionária é um sólido e a fase móvel é um líquido, a cromatografia é denominada líquido-sólido (LSC). Analogamente, existirão as cromatografias líquido-líquido (LLC), gás-líquido(GLC) e gás-sólido(GS).

-O fenômeno que ocorre dentro da coluna

Dessa forma, a cromatografia pode ser classificada nas modalidades de: (a) afinidade, dividindo-se em fase normal, fase ligada e de intercâmbio iônico; (b) tamanho molecular, dividindo-se em GPC e GFC. Nas modalidades de afinidade, o material analisado interage direta ou indiretamente, através do solvente, com a fase estacionária, enquanto que nas separações por tamanho molecular isso não existe(pelo menos, teoricamente).

-A quantidade de amostra aplicada

Se a modalidade escolhida de cromatografia não destrói a amostra-TLC, HPLC ou coluna aberta – é possível recuperar o material analisado de sua matriz à saída da coluna. Aumentando a quantidade de amostra é possível obter desde microgramas até kilogramas de uma substância pura em uma só corrida.

I.8.1- Modalidades de cromatografia líquida

Dado que no presente trabalho foi utilizada uma modalidade de cromatografia líquida são apresentadas resumidamente suas formas representativas[38]:

-Cromatografia líquido-sólido(LSC)

Conhecida como cromatografia de adsorção. Esse método emprega uma fase estacionária polar, tipicamente sílica-gel, com uma fase móvel não polar, por exemplo hexano, geralmente acompanhados de algum aditivo que provê seletividade ao sistema.

-Cromatografia líquido-líquido

Conhecida como cromatografia de partição. Nesta modalidade, as moléculas do soluto são distribuídas entre dois líquidos, sendo que um é a fase móvel e o outro é a fase estacionária, que se encontra homogeneamente dispersa sobre um suporte sólido, finamente dividido.

-Cromatografia de fase ligada(BPC)

Em função das dificuldades de fixação da fase estacionária ao suporte na LLC, preparou-se uma forma de unir a fase estacionária ao suporte, tornando-a durável através de ligações covalentes. Assim, grande parte das separações cromatográficas modernas são efetuadas sobre materiais empregados na construção das colunas, numa atuação altamente hidrofóbica ou hidrofílica, com uma ampla faixa de polaridade e seletividade.

-Cromatografia de intercâmbio iônico(IEC)

Neste caso são utilizados recheios de colunas nos quais a partícula é um polímero ou sílica-gel, unidos a grupos funcionais aniônicos ou catiônicos. A seleção desses grupos funcionais permite escolher entre trocadores fortes e fracos.

-Cromatografia por exclusão de tamanho(SEC)

Esta modalidade emprega materiais de porosidade controlada, que funcionam como filtro ou peneira, classificando as moléculas da amostra segundo a ordem decrescente de tamanho molecular, onde as moléculas maiores são as primeiras a eluir, seguidas pelas menores. Com a disponibilidade de padrões adequados, é possível avaliar a massa molecular de um composto desconhecido.

I.9.2- Esquema geral dos cromatógrafos líquidos

A cromatografia líquida é em essência, como todos os métodos cromatográficos, um método de separação. Assim, o lugar onde se processa a separação - a coluna- pode ser considerado o coração do sistema, ao redor do qual é montado um equipamento de maior ou menor complexidade. Na figura 10 está uma possível configuração, constituído pelas seguintes partes[39]:

- Um reservatório de solvente que alimenta o sistema com a fase móvel;
- Um sistema que permite a introdução da amostra: o injetor;
- Um sistema para forçar a passagem da amostra e da fase móvel através da coluna: a bomba;
- Um sistema de monitoramento da solução que emerge da coluna: o detector. O sinal do detector é analógico quando registrado por um registrador gráfico ou integrador, ou, digitalizado, para que possa ser interpretado por um computador.

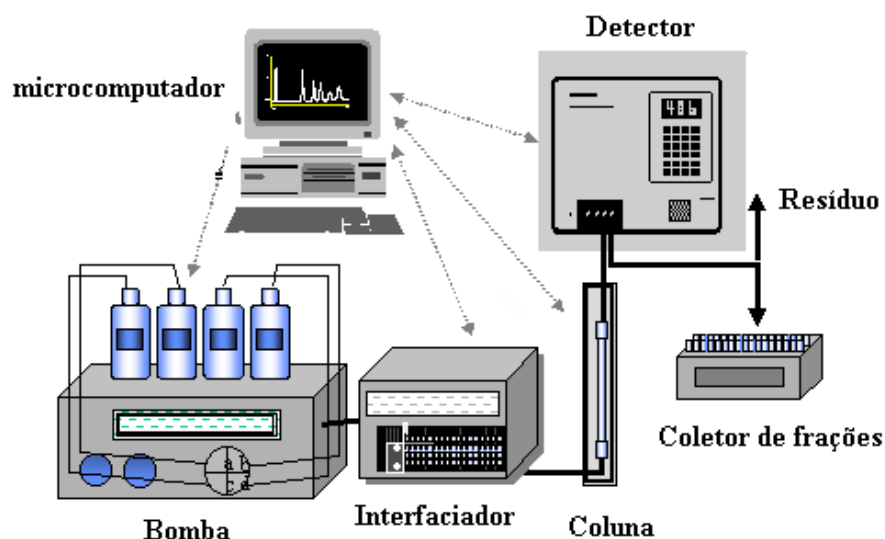


Figura 10: Esquema de uma configuração para um HPLC.

Como resultado da análise cromatográfica, são obtidos dois produtos:

- Um gráfico denominado cromatograma, que relaciona a concentração do soluto em função do tempo de eluição;

- Um eluido (ou eluato), o fluido proveniente da coluna que coletado de forma sequencial ou escalonado contém a fase móvel e, idealmente, os componentes das amostras separados.

I.9.2.1- Separação na cromatografia líquida

Quando a amostra e a fase móvel são forçados a atravessar a fase estacionária, entram em jogo distintos tipos de interação entre estes componentes: interações hidrofóbicas, ligações de hidrogênio, interações dipolares e eletrostáticas são as responsáveis pela maior ou menor afinidade pela fase móvel ou pela fase estacionária. Assim, o componente mais afim da fase estacionária é retido por mais tempo na coluna e demora a eluir (sair da coluna) e o mais afim da fase móvel elui antes[40].

I.9.2.2- Solventes utilizados em cromatografia líquida

A fase móvel em HPLC cumpre um papel fundamental, pois poderá modificar por conta própria a seletividade das separações em fase normal, sendo ao mesmo tempo o motor das separações com uma mesma coluna, apenas variando a composição da fase móvel[41].

Uma importante consideração é o conjunto dos solventes adequados para trabalhar em HPLC, que deve cumprir alguns requisitos, entre os quais, alto poder solubilizante das amostras, baixa reatividade, compatibilidade com o detector utilizado, adequado ponto de ebulição, baixa viscosidade, segurança e alto grau de pureza[42].

A fase móvel fase reversa – utilizada no presente trabalho – está constituída por metanol. O metanol é o mais utilizado, devido ao seu maior poder de dissolução de sais e reativos de emparelhamento iônico, sendo comparativamente menos tóxico e de fácil purificação industrial, o que diminui os custos de operação[43].

I.9.2.3- Cromatografia em fase reversa

O notável aumento de qualidade do material de recheio das colunas e o avanço da instrumentação levaram ao rápido crescimento da modalidade HPLC, proporcionando resultados com resolução, reprodutibilidade e rapidez. Na técnica da fase ligada (BPC), a partícula de sílica-gel é modificada quimicamente para comportar grupos funcionais ativos

como octadecilsilano(ODS ou C 18), octilsilano(C 8), fenil, ciano(CN), amino, diol, entre outros[43].

Em cromatografia de fase reversa(RPLC), a fase estacionária é apolar e a fase móvel polar. As principais diferenças em relação à de fase normal(NPLC) estão relacionadas na tabela 11.

As vantagens em RPLC podem ser resumidas por [44]: (a) compostos não-iônicos, iônicos e ionizáveis podem ser separados na mesma coluna, com a mesma fase móvel; (b) a força de atração superfície não-polar/soluto é fraca; (c) a adsorção irreversível, freqüente em sílica gel, raramente ocorre; (d) a fase móvel predominante é água, muito disponível e econômica (e) o modificador orgânico predominante, o metanol, é acessível em qualidade e preços; (f) a ordem de eluição pode ser predita, em função da hidrofobicidade do material analisado; (g) em pouco tempo é possível reequilibrar o sistema, após a mudança da fase móvel.

Tabela 3: Características da cromatografia em fase normal(NPLC) e fase reversa(RPLC)[43].

<i>Característica</i>	<i>Fase Normal(NPLC)</i>	<i>Fase Reversa(RPLC)</i>
Polaridade do recheio	Alta	Baixa
Polaridade do solvente	Baixa	Alta
Ordem de eluição	Primeiro menos polar	Primeiro o mais polar
Incremento da polaridade do solvente	Reduz os tempos de retenção	Aumenta os tempos de retenção

A cromatografia em fase reversa (RPLC) vem descartando não somente a de fase normal(NPLC)- ainda que talvez nunca possa substituí-la completamente- mas também ocupando terrenos de intercâmbio iônico(IEC), com emprego progressivo na análise de macromoléculas, anteriormente tratadas apenas com técnicas de filtração molecular, intercâmbio iônico e eletroforese.

I.10- Cromatografia gasosa/ Espectroscopia de massas

A cromatografia gasosa/espectroscopia de massas (GC/MS) é uma das mais poderosas ferramentas para as análises de misturas de compostos orgânicos ao alcance dos químicos. Na figura 11 temos um esquema de um cromatógrafo gasoso acoplado a um espectrômetro de massas.

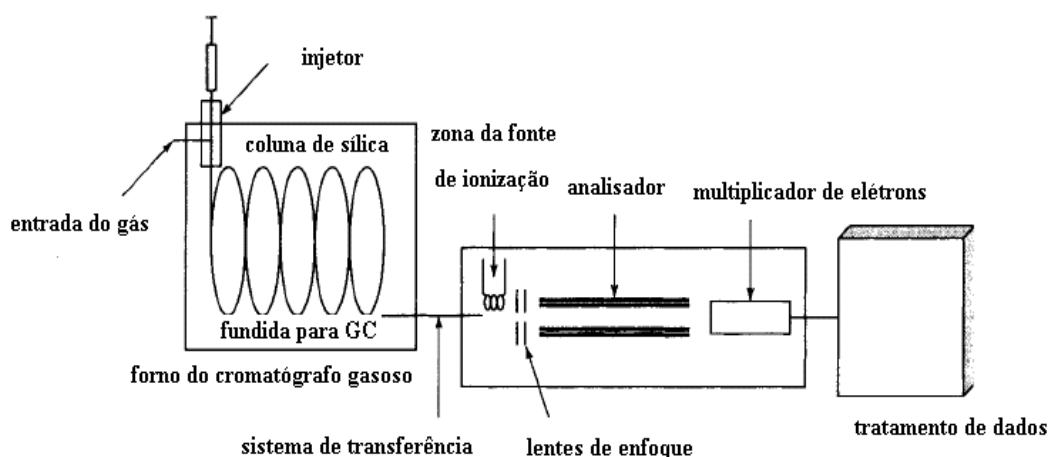


Figura 11: Esquema de um cromatógrafo gasoso de coluna aberta /espectrômetro de massas[45].

O instrumento de cromatografia gasosa/ espectrometria de massas tem sido muito utilizado para a identificação de certos componentes que estão presentes em sistemas naturais e biológicos. Estes procedimentos, por exemplo, tem permitido caracterizar os componentes responsáveis pelo odor e sabor dos alimentos, identificar contaminantes da água, ajudar em diagnósticos médicos baseados em componentes dos alimentos e estudos sobre metabólitos de fármacos[45]

II- PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

II.1- Síntese dos tetraidrocurcuminóides

Os 10 tetraidrocurcuminóides foram gentilmente cedidos pelo Prof. Dr. Alain Castellan da Universidade de Bordeaux-França, dentro do projeto CAPES/COFECUB (Projeto 422/03).

A fórmula estrutural e a abreviatura dos nomes dos THCs estão representadas abaixo:

Tabela 4: Fórmula estrutural e a abreviatura dos nomes dos THCs.

Tetraidrocurcuminóides						
Compostos	R1	R2	R3	R4	R5	R6
THC1	H	H	H	H	H	H
THC2	OH	OMe	H	OH	OMe	H
THC3	OMe	OH	H	OMe	OH	H
THC4	OMe	H	H	OMe	H	H
THC5	OMe	OMe	H	OMe	OMe	H
THC6	OMe	OMe	OMe	OMe	OMe	OMe
THC7	OH	OMe	OMe	OH	OMe	OMe
THC8	OH	H	H	OH	H	H
THC9	OH	OH	H	OH	OH	H
THC10	OH	H	H	OH	OMe	H

II.2- Absorção UV dos THCs

Uma solução de cada THC 1-10 (concentração $\approx 1 \times 10^{-5} \text{M}$) foi preparada e os espectros de absorção UV foram feitos em um espectrômetro Shimadzu 2501 PC.

II.3- Fluorescência

A fluorescência dos THC's 1-10 foram medidas em temperatura ambiente (25°C) em solução de etanol (concentração $\sim 10^{-5}$ mol L⁻¹) em um aparelho Hitachi F4500 e um SPEX fluorímetro Fluorolog ; o comprimento de excitação foi em 280 nm e a fenda sobre a excitação e emissão transmitida foi fixada em 2,5nm. Os espectros de emissão foram corrigidos pela resposta instrumental.

II.4- Rendimento Quântico de Fluorescência

O rendimento quântico de fluorescência dos THC's em etanol foram determinados em referência ao 9,10-difenilantraceno em cicloexano com apropriadas correções pela diferença do índice de refração de ambos os solventes[46]. A absorbância das soluções foi ajustada próxima a 0,1 para impedir a re - absorção da luz emitida. Nestas condições, a fração de luz absorvida é muito próxima da absorbância. As áreas sob as curvas de fluorescência foram calculadas usando um software do próprio fluorímetro. Os espectros de emissão do solvente foram corrigidos pela contribuição de emissão Raman. As soluções foram aeradas por borbulhamento com gás Argônio antes das medidas.

II.5- Tempo de vida de decaimento de fluorescência

Os tempos de vida de decaimento de fluorescência foram medidos por um equipamento como descrito na literatura[47,48]. O decaimento de fluorescência ($\lambda_{em}=320nm$) foi analisado usando o programa DECAN, gentilmente cedido pelo Pr. F. C. De Schryver (Universidade de Leuven, Bélgica), e ajustado pela equação:

$$I_F = I_F^0 [A_1 \exp(t / \tau_1) + A_2 \exp(t / \tau_2)]$$

A qualidade do ajuste foi estimada pela inspeção dos resíduos e pelos valores de χ^2 (entre 1.02 e 1.1) e teste de Durbin-Watson (entre 1.85 e 1.95)[49].

II.6- Fosforescência

A fosforescência dos THC's 1-10 (concentração $\sim 10^{-5}$ mol L⁻¹) foram feitas a 77K em etanol vítreo. As medidas de fosforescência foram feitas usando um acessório do fluorímetro Hitachi F4500 incluindo Dewar de quartzo apropriado e tubo de quartzo de 5mm de diâmetro interno. As soluções foram congeladas lentamente em nitrogênio líquido até que a solução atingisse forma vítrea. As soluções usadas para fluorescência também foram empregadas para a fosforescência, portanto os valores de absorbância que foram utilizados para calcular o rendimento quântico de fluorescência também foram usados para o cálculo do rendimento quântico de fosforescência.

II.7- Rendimento Quântico de fosforescência

Para o cálculo do rendimento quântico de fosforescência, o modo fluorescência foi selecionado para obter o espectro total, como será mostrado para o THC 2 na figura 18. Somente a área sob a parte fosforescente do espectro foi utilizada e determinada no modo fosforescência do espectrofotômetro, e o naftaleno foi usado como padrão[50,51].

II.8- Estudo da fotodegradação dos THC's

II.8.1- Em solução

A fotodegradação dos THC's em solução de etanol foi monitorada por espectroscopia de absorção UV em diferentes tempos. As soluções foram irradiadas em cubetas de quartzo de 10 mm. As irradiações foram executadas para todos os THC's usando emissão em 254nm, obtida por uma lâmpada de mercúrio de baixa pressão (Vilbert-Lourmay T-8C para detecção TLC), ou no caso do THC 2 em solução etanólica que foi irradiada com luz em comprimentos de onda maiores do que 300nm obtida por uma

montagem que incluem duas lâmpadas de mercúrio de média pressão(400W), um resfriador que mantém a temperatura por volta de 30°C, em volta da cela que contém a amostra o qual é feito de Pirex (vidro) que elimina comprimentos de onda abaixo de 300nm. A cela de quartzo fica a 6 cm da lâmpada de mercúrio de baixa pressão.

II.8.2- Em filme

Os filmes de carboximetilcelulose (CMC) foram preparados pela mistura de 5mg de THC dissolvidos em tetrahidrofurano(4mL), com 15g de solução de CMC(1.5g) em água(75mL). Após sonicação (30s), a solução de CMC foi colocada em uma placa cilíndrica de 6.5cm de diâmetro interno e colocado em uma cabine aerada por 48h em temperatura ambiente(25°C). Os filmes transparentes obtidos foram facilmente removidos da placa. A espessura dos filmes foi avaliada com um microscópio Carl-Zeiss e o valor encontrado foi de $36\pm 3\mu\text{m}$. Os filmes foram recortados em pedaços retangulares (4 cm x 2 cm) e colocados em um dispositivo construído em papelão coberto com fita adesiva preta, com um orifício aberto de 3cm x 1.5 cm que corresponde a superfície irradiada e a área de absorbância medida. Os filmes foram irradiados somente pela lâmpada de mercúrio de baixa pressão.

II.9- Rendimento quântico de desaparecimento

Para a medida do rendimento quântico de desaparecimento dos THC's em solução de etanol (concentração próximo a $10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) antes e após a irradiação foi determinada usando o coeficiente máximo de extinção na banda em 280nm em solução alcoólica[21]. O fluxo de fóton foi estimado medindo, nas mesmas condições, o desaparecimento de uma solução de antraceno em etanol ($10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) desaerada por borbulhamento com Argônio.

A taxa de conversão foi limitada em 10%, em relação aos THCs, que foi transformado em taxa de fotodimerização dividindo-se por 2. Para a fotodimerização do antraceno uma intensidade de 3.9×10^{15} fotons $\text{cm}^{-2} \text{s}^{-1}$ foi obtida usando um valor de $\phi_{\text{dim}} = 10^{-2}$ a $10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ [51,52]; isto corresponde a alta intensidade de campo considerado por Charlyon et al [52].

II.10- Estudo dos fotoprodutos

Foi utilizado como modelo de fotodegradação dos THCs o 4- Propilguaiacol(4PG), obtido por hidrogenação do eugenol [21], em solução não aerada de metanol ($\approx 4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) que foi irradiado em cubeta de quartzo por uma lâmpada de mercúrio de baixa pressão por 45 minutos. A solução foi concentrada a 25°C sob vácuo e analisada por CG-MS ou HPLC. A análise por CG-MS foi feita com um espectrômetro de massa Finnigan Trace interfaceado com um aparato Ultra gás Finnigan trace (temperatura de transferência contínua, 250°C) equipado com um injetor PTV (modo separado) usando Hélio como gás carreador. Foi utilizada uma coluna de sílica fundida RTX-5MS, 15m, ϕ 0.25mm i.d., filme de espessura de 0.25 μm . A temperatura do forno foi programada para 40°C (tempo de 1 minuto) até 320°C com uma taxa de 15°C min^{-1} ; esta temperatura foi mantida por 15 minutos. A energia do feixe de elétrons foi fixada em 70eV. Na análise por HPLC usou-se: uma bomba tipo SP 1000, um injetor AS3000 e um detector UV AS2000e uma coluna de fase reversa tipo Lychrospher 100 A° RP18 e 5 μ (250 mm x 4.6mm) usando uma mistura de metanol/água (2/8 v/v) como eluente. Como prováveis fotoprodutos, a orto-quinona(OQ) foi preparada de acordo com a referência [54] e a quinona metílica Z/E(QMPG) foi preparada por oxidação pelo Ag_2O do 4 PG em diclorometano em

temperatura de 25°C[55] seguida por rápida filtração utilizando sílica gel e evaporação da mistura da reação. Um composto puro de quinona metílica(QM) foi preparado seguindo o procedimento descrito por Brunow et al.[56] começando do correspondente álcool benzílico.

II.11- Enxerto de THC sobre fibras de bagaço de cana de açúcar previamente acetiladas

Afim de avaliar o uso de THC's como possível agente protetor no processo de fotodegradação de materiais lignocelulósicos (fibras de bagaço de cana-de-açúcar), foi feito um experimento onde 3,00 g de fibras de bagaço de cana de açúcar previamente acetiladas (fibra não branqueada com grau de acetilação de aproximadamente 26%) foram colocadas em agitação por 2 horas com solução de HCl 0,25mol.L⁻¹, depois foram filtradas e lavadas até pH neutro. Misturou-se 3,00 g de fibra acetiladas e acidificadas com uma solução preparada com 0,010g de THC 7 dissolvidos em 10 mL de etanol e completado a 50,00 mL com água destilada. A mistura ficou sob agitação 3 horas, e depois foi deixada em repouso por 1 hora. As fibras recolhidas e lavadas após filtração foram secas a 50°C por 12 horas. O filtrado foi recolhido e usado para medida da quantidade de THC incorporado sobre a fibra.

II.12- Fotólise das fibras

As fibras previamente acetiladas e enxertadas com os THC's foram submetidas à irradiação de luz de comprimento de onda acima de 300nm, em um reator que foi construído com duas paredes concêntricas de vidro borosilicato, em um espaçamento entre paredes de ~ 2,0 mm, o que evita sobreposição das fibras. O tamanho médio das fibras foi de aproximadamente 1,0 cm de comprimento. Uma campânula do mesmo vidro foi colocada por cima cobrindo o reator, para circulação de água e refrigeração do reator. O reator foi colocado sobre um prato giratório para irradiação homogênea das fibras.

As fibras naturais e as modificadas quimicamente(acetiladas, acetiladas e enxertadas com o THC 2 e 7) foram irradiadas por até 16 horas, sendo que, durante este período, amostras foram sendo separadas e pulverizadas em um almofariz para futuras análises.

As fibras foram analisadas por espectroscopia no estado sólido em um Espectrofotômetro UV-VIS Recording Spectrophotometer, Model UV-2501 PC-Shimadzu equipado com esfera de integração modelo ISR-240A para medidas de reflectância.

III- RESULTADOS E DISCUSSÃO

III.1 Fotofísica dos THCs

III.1.1 Absorção UV em solução alcoólica

Todos os tetraidrocurcuminóides estudados em solução de etanol mostraram uma faixa de absorção centrada em 280nm que se estende até 330 nm. A parte acima de 300 nm é a região mais importante da absorção dos tetraidrocurcuminóides relacionada a sua fotoestabilidade contra a irradiação da luz solar.

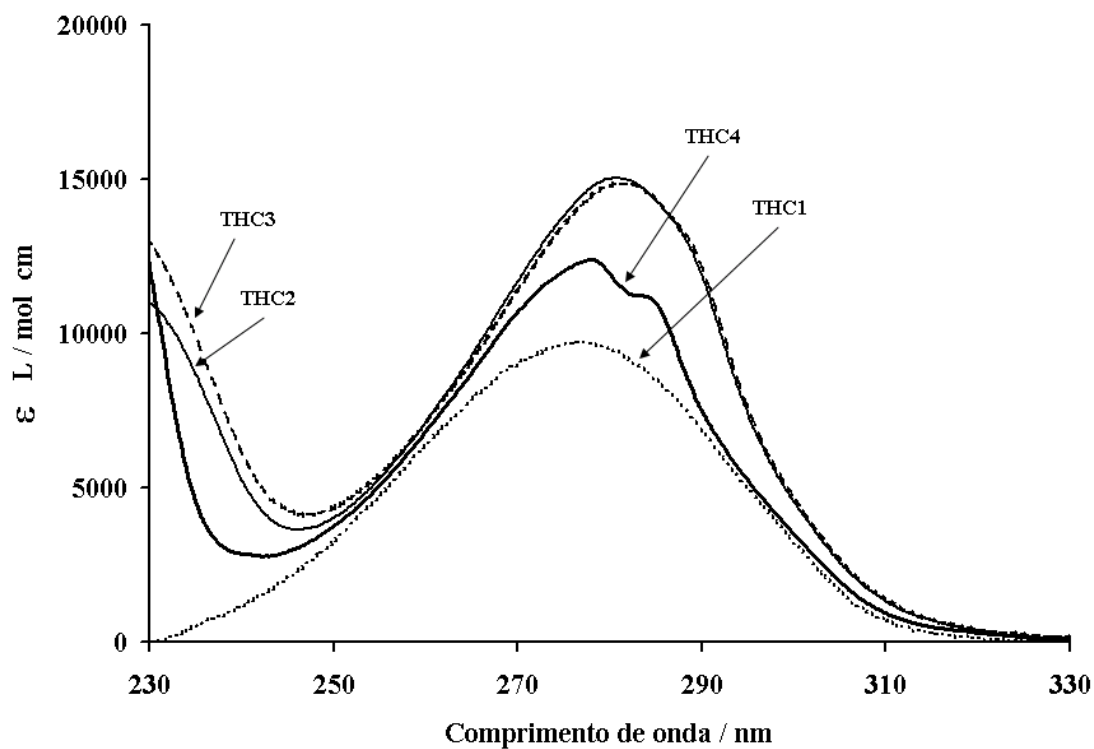


Figura 12: Espectro de absorção dos tetraidrocurcuminóides: 1, 2, 3 e 4 em solução de etanol em temperatura ambiente (25°C).

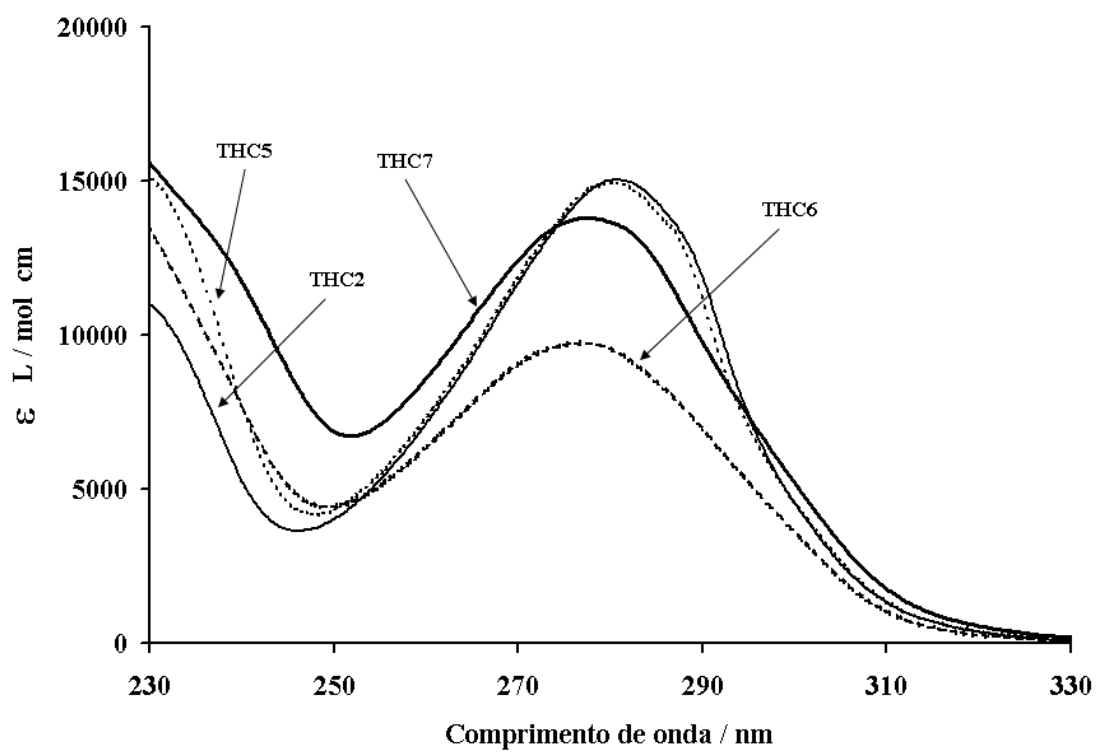


Figura 13: Espectro de absorção dos tetraidrocurcuminóides: 2, 5, 6 e 7 em solução de etanol em temperatura ambiente (25°C).

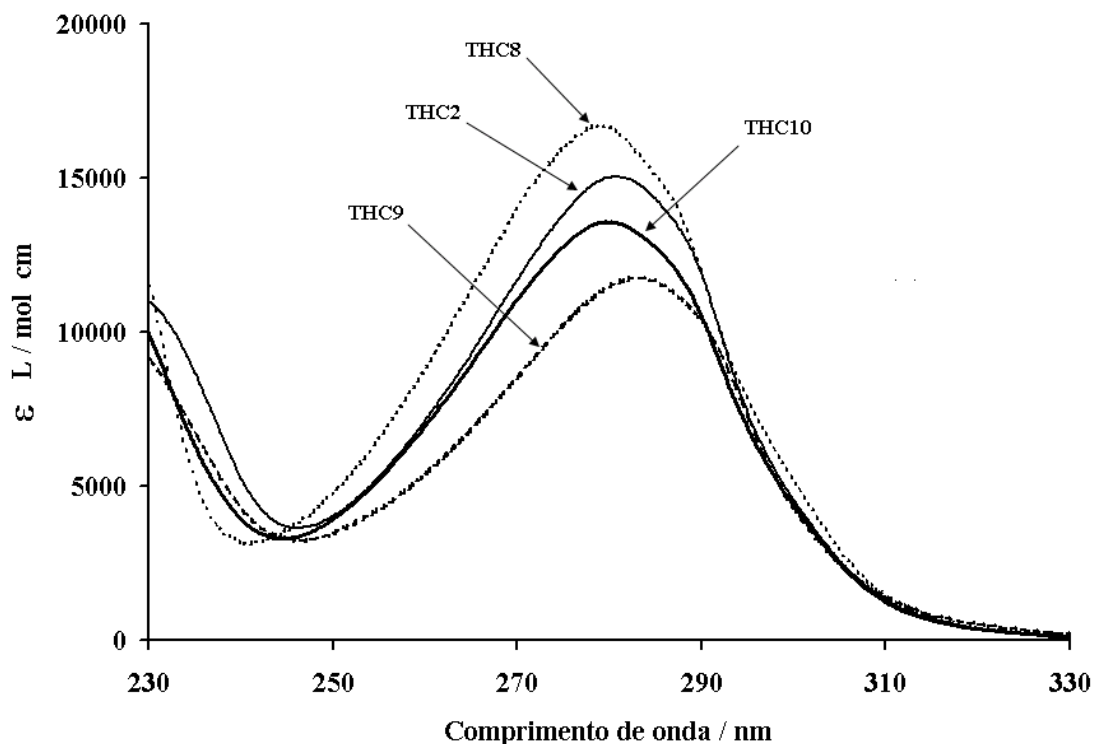


Figura 14: Espectro de absorção dos tetraidrocurcuminóides: 2, 8, 9 e 10 em solução de etanol em temperatura ambiente (25°C).

A absorção eletrônica molecular pode ser atribuída à composição entre as duas subunidades: o anel benzênico polisubstituído e o cromóforo da enona que liga os dois anéis benzênicos. Isto é exemplificado na figura 15 para o THC 2. Neste espectro teórico constituído pela soma do espectro do acetilacetona (em sua forma enólica) e duas vezes a absorção do 4-n-propilguaiacol é muito similar ao espectro de absorção experimental, exceto o valor do coeficiente de extinção no qual é três vezes maior para o primeiro. Algumas interações com o solvente da solução entre os dois anéis, assim como foi observado para outros bicromóforos [57], deve explicar esta discrepância.

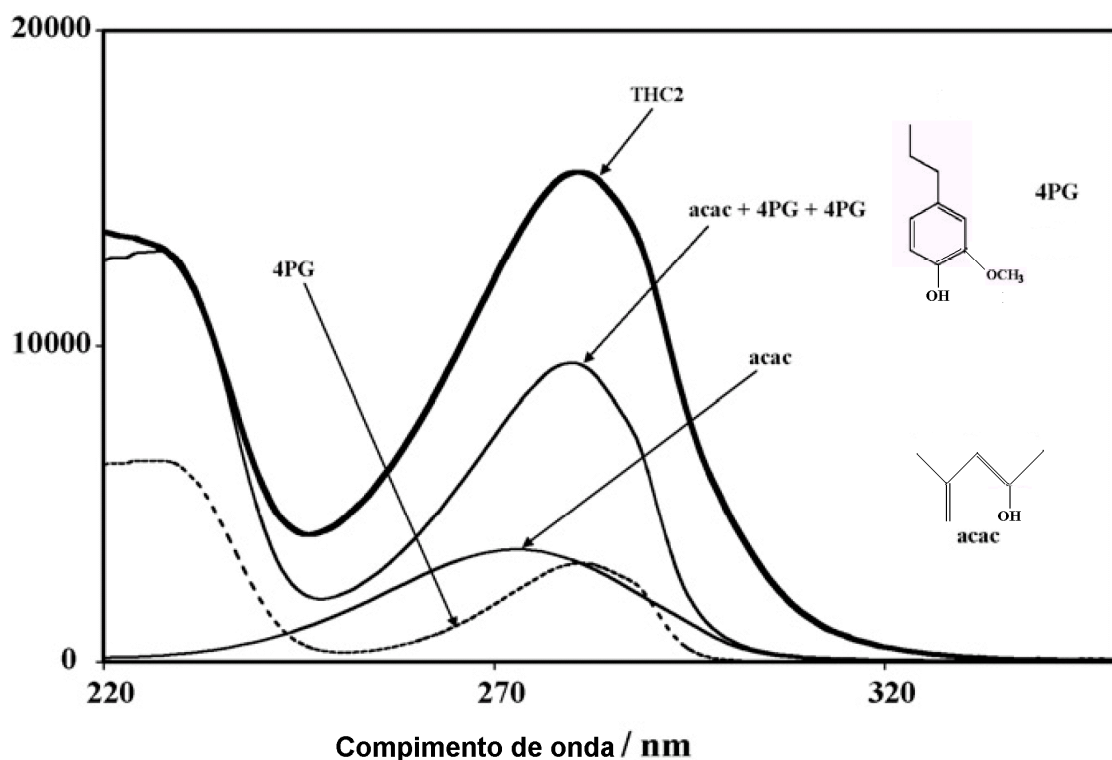


Figura 15: Espectro de absorção eletrônico do THC 2, acetilacetona(forma enólica), 4-n-propilguaicol e espectro de absorção calculado do THC 2(ϵ (acetilacetona) + 2 ϵ (propilguaicol)). Solvente, metanol; temperatura ambiente(25°C).

A enona apresenta uma banda de absorção de simetria proibida n,π^* próximo a 310nm de muito baixa intensidade, e uma banda de absorção característica de transição π,π^* em aproximadamente 280nm[58]. A parte benzênica mostra uma clássica banda de transferência de carga próximo a 280 nm, onde fortes grupos doadores de elétrons estão incluídos no anel[59]. Em metanol, um solvente polar prótico, a banda de absorção n,π^* da enona sofre um deslocamento hipsocrômico(mais baixo comprimento de onda) visto que a banda de transferência do cromóforo do benzeno é deslocado para comprimentos de onda maiores[60]. Por estas razões, parece que o baixo estado energético dos tetraidrocurcuminóides origina-se da parte benzênica da molécula.

III.1.2 Fluorescência e fosforescência dos THCs

A fluorescência dos THCs 1-10 foram medidas em temperatura ambiente em solução de etanol(concentração $\sim 10^{-5}$ mol L⁻¹). A emissão foi muito baixa e os espectros dos compostos que fluoresceram com maior intensidade estão reportados na figura 16:

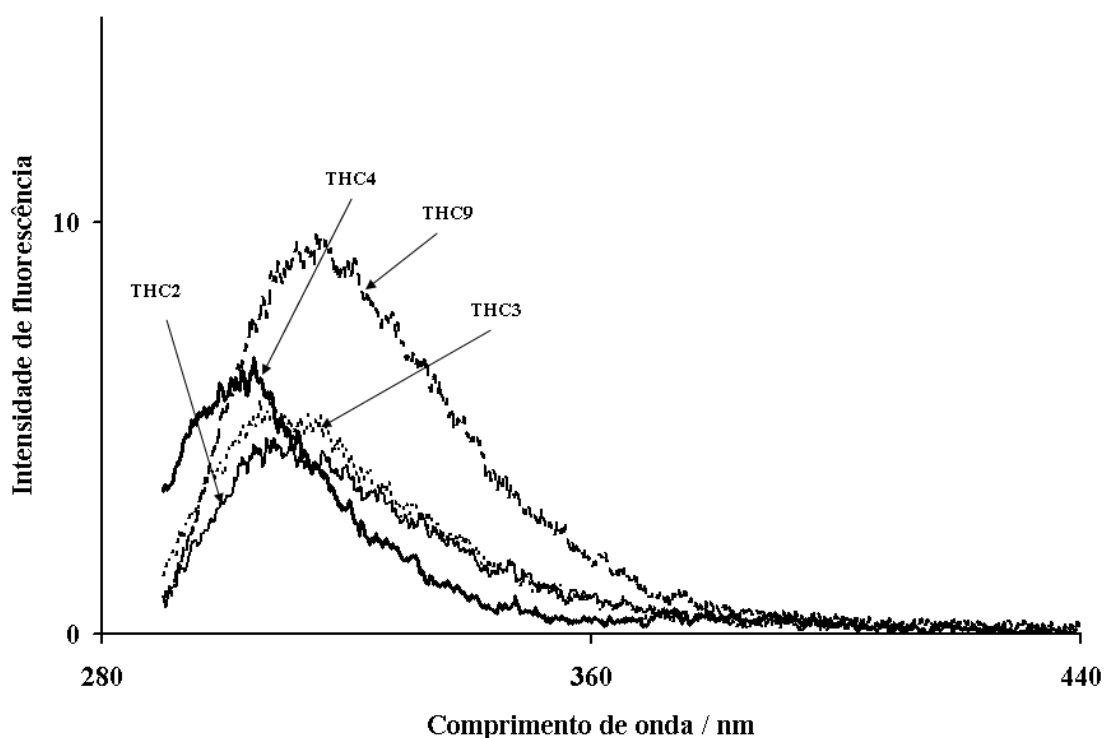


Figura 16: Emissão de fluorescência dos THC2, THC3, THC4 e THC9 em temperatura ambiente(25°C) em solução de etanol (concentração $\approx 10^{-5}$ mol L⁻¹, $f_{exc} = f_{em} = 2.5$ nm, $\lambda_{ex} = 280$ nm).

O rendimento quântico de fluorescência dos THCs, em temperatura ambiente em solução de etanol($\sim 10^{-5}$ mol L⁻¹), foram estimados usando como referência o 9,10-difenilantraceno[46] e os valores estão reportados na tabela 5:

Tabela 5: Rendimento quântico dos THCs.

Composto	Rendimento quântico de fluorescência (Φ_F) ^a
THC1	0.0008
THC2	0.0059
THC3	0.0055
THC4	0.0050
THC5	0.0029
THC6	0.0020
THC7	0.0026
THC8	0.0014
THC9	0.0098
THC10	0.0032

^a temperatura ambiente (25°C), solvente: etanol, concentração $\approx 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, referência: 9,10- difenilantraceno [47], $\pm 15\%$.

Todos os tetraidrocurcuminóides mostraram baixa emissão de fluorescência com rendimento quântico de aproximadamente 5×10^{-3} ; uma ordem de magnitude menor do que derivados de benzeno[47]. Isto indica uma forte desativação do estado singlete por processos não radiativos e talvez por exciplex não fluorescente favorecido por uma transferência de carga de elétron entre a parte enólica como aceptora e a unidade benzênica como doadora. Esta hipótese é reforçada pelo decaimento da fluorescência:

Tabela 6: Decaimento de fluorescência dos THC's.

Compostos ^a	<i>Parâmetros de decaimento de fluorescência^b</i>			
	A ₁	τ ₁ (ns) ^c	A ₂	τ ₂ (ns) ^c
THC 1	0,33	2,6	0,67	18,8
THC 2	0,54	1,8	0,46	5,5
THC 3	0,74	1,9	0,26	7,7
THC 4	0,43	1,1	0,57	7,3
THC 5	0,83	1,4	0,17	7,1
THC 6	0,87	0,9	0,13	8,0
THC 7	0,93	0,3	0,07	7,4
THC 8	0,54	2,4	0,46	8,6
THC 9	0,78	1,5	0,22	4,0
THC 10	0,65	1,2	0,35	6,0

^aTemperatura ambiente (25°C); solvente etanol; concentração $\approx 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$.

^bO decaimento foi fitado pela equação $I_F = I_F^0 [A_1 \exp(t / \tau_1) + A_2 \exp(t / \tau_2)]$ [49].

^c $\pm 10\%$.

Os decaimentos de fluorescência se enquadram em uma função biexponencial com uma componente menor próximo de 2 ns e um outro mais longo próximo de 7 ns. O decaimento do tolueno fica entre 33 ns e 36 ns. Isto mostra que a fluorescência dos THC's, para ambos os anéis benzênicos originam-se da forte interação enólica, no primeiro caso e que é menos intensa, no segundo. Quando grupos doadores de elétrons estão presentes nos THC's, estas interações tornam-se mais fortes e os tempos de vida diminuem: $\tau_1 = 2.6$ ns para o THC 1 contra um valor menor que 1 para THC 6 e THC 7 na qual incluem três grupos doadores em cada unidade de benzeno; $\tau_2 = 18.8$ ns para o THC 1 contra um valor menor do que 9.6 ns para os outros THC's. É provável que haja uma mistura entre a

configuração $n\pi^*$ e $\pi\pi^*$ em um baixo estado singlete com predominância de característica $\pi\pi^*$.

Os espectros de fosforescência foram feitos em solução etanol vítreo (77K) proporcionam estimativas do rendimento quântico de fosforescência (ϕ_p) comparados com o naftaleno nas mesmas condições[48]. Os valores de ϕ_p e dos tempos de vida são dados na tabela 7. Os espectros de emissão de fosforescência de maior intensidade dos THCs(2, 3, 4 e 8) são demonstrados na figura 17:

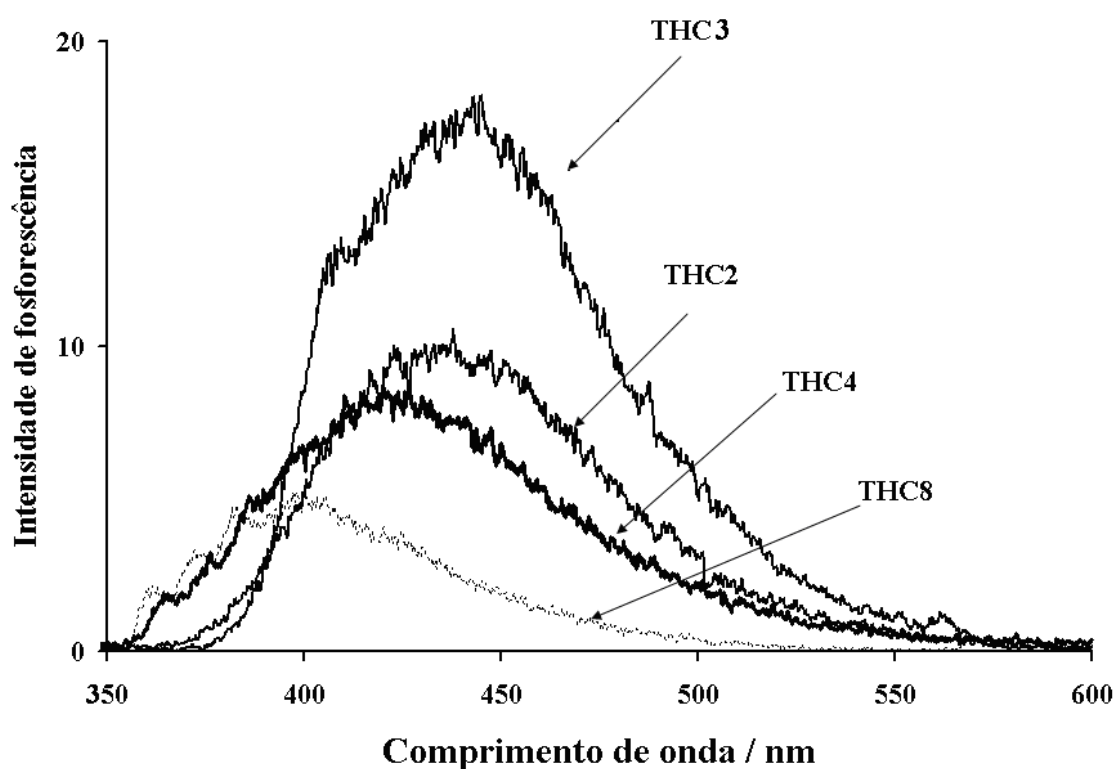


Figura 17: Fosforescência dos THC2, THC3, THC4 e THC9 em 77K em etanol vítreo (concentração $\approx 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, $f_{exc} = f_{em} = 2.5 \text{ nm}$, $\lambda_{ex} = 280 \text{ nm}$)

Tabela 7: Rendimento quântico de fosforescência.

Composto	Rendimento Quântico de fosforescência 77K (Φ_P) ^a	Tempo de vida de fosforescência 77K (τ_P) ms ^b
THC1	0.026	
THC2	0.26	340
THC3	0.50	400
THC4	0.23	240
THC5	0.058	-
THC6	0.099	-
THC7	0.049	-
THC8	0.10	< 20
THC9	0.041	-
THC10	0.037	-

^a 77K, solvente: etanol, concentração $\approx 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, referência: naftaleno [49], $\pm 10\%$.

^b $\pm 10\%$.

Os compostos 4 e 8 apresentam uma emissão de fosforescência deslocado para o azul em comparação ao 2 e 3. Isto está de acordo com a presença do grupo metóxi doador de elétron nos dois últimos compostos, baixando a energia do primeiro estado triplete, especialmente para o THC2, na qual deve ser essencialmente de característica $\pi\pi^*$. A presença de alguma estrutura vibrônica nos outros três tetraidrocurcuminóides confirma a existência de alguma mistura entre as configurações $\pi\pi^*$ e $n\pi^*$ num baixo estado triplete, devido a um insuficiente efeito doador de elétrons dos substituintes. Não há uma simples correlação entre ϕ_P e a estrutura dos THCs: todavia o tetraidrocurcuminóide e o tetrahydroisocurcumina THC2 e THC3, respectivamente, apresentam os mais altos valores, comparados aos encontrados para o benzeno[61]. Os tempos de vida de fosforescência medidos para os THCs são duas vezes menores do que o do benzeno[48]: a presença de grupos doadores de elétrons afeta fortemente o processo de desativação energético do estado triplete dos anéis benzênicos.

O resumo da absorção(RT) e emissão(77K) do THC 2 é apresentado na figura a seguir. A natureza não estruturada das bandas deve originar-se de um rápido processo de dissociação ácido-base dos grupos fenólicos no estado excitado, uma vez que a acidez torna-se importante no estado excitado[62].

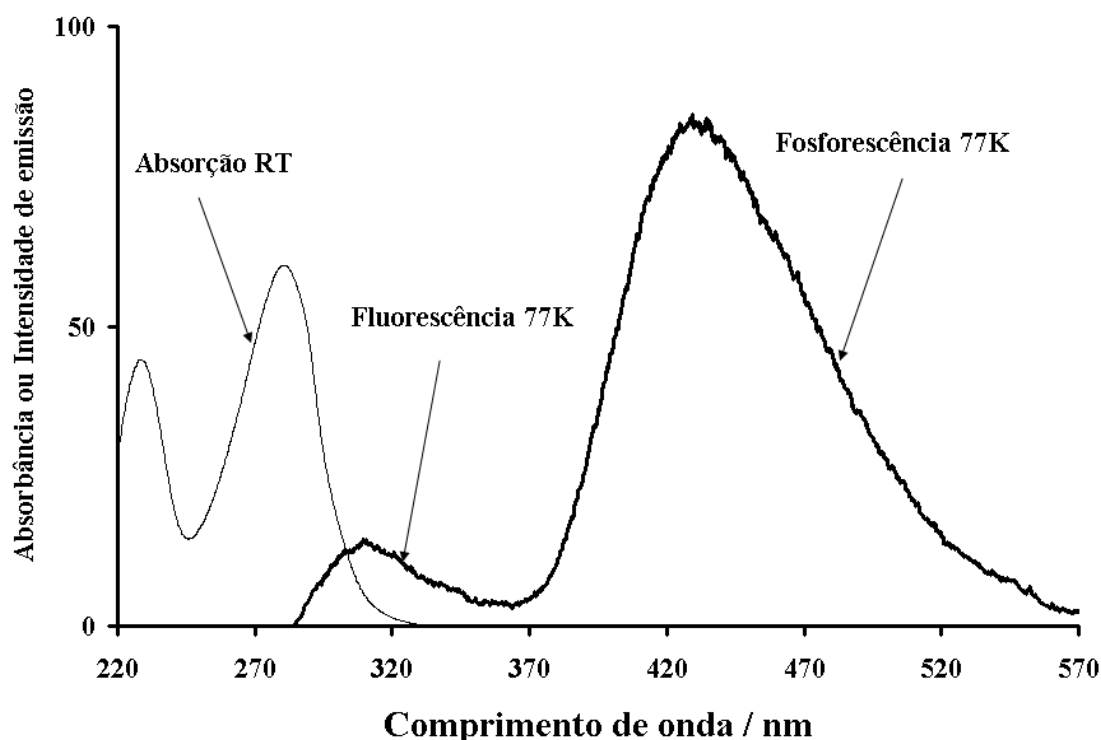


Figura 18: Absorção (RT), emissão de fluorescência e fosforescência do THC2 em 77K em etanol vítreo(concentração $\approx 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, $f_{exc} = f_{em} = 2.5 \text{ nm}$, $\lambda_{ex} = 280$).

III.2 Fotoquímica dos THCs

III.2.1 Soluções Alcoólicas

Os 10 THC's foram irradiados em solução de etanol(concentração próxima a $10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) com uma lâmpada de baixa pressão de mercúrio, na qual emite principalmente em 254nm eliminando comprimentos de onda acima de 300 nm que simula a luz do dia. Este procedimento foi previamente feito com a lignina [63], onde a irradiação em 254 nm

forneceu resultados similares aqueles irradiando com comprimentos de onda filtrados por um vidro, eliminando componentes UV curtos ($\lambda < 300\text{nm}$). A mesma observação foi feita para os THC's indicando que não há reatividade em estados excitados superiores[64]; a dissipação de energia da luz por conversão interna nos mais baixos estados eletrônicos excitados das moléculas ocorre antes do processo de degradação fotoquímica começar. A figura 19 e 20 mostram os espectros de absorção UV dos THC's em solução de etanol após irradiação por 0, 15, 30, 60, 90 minutos usando ambas as lâmpadas de baixa e média pressão de mercúrio, irradiando em $\lambda = 254\text{nm}$ e $\lambda > 300\text{nm}$, respectivamente.

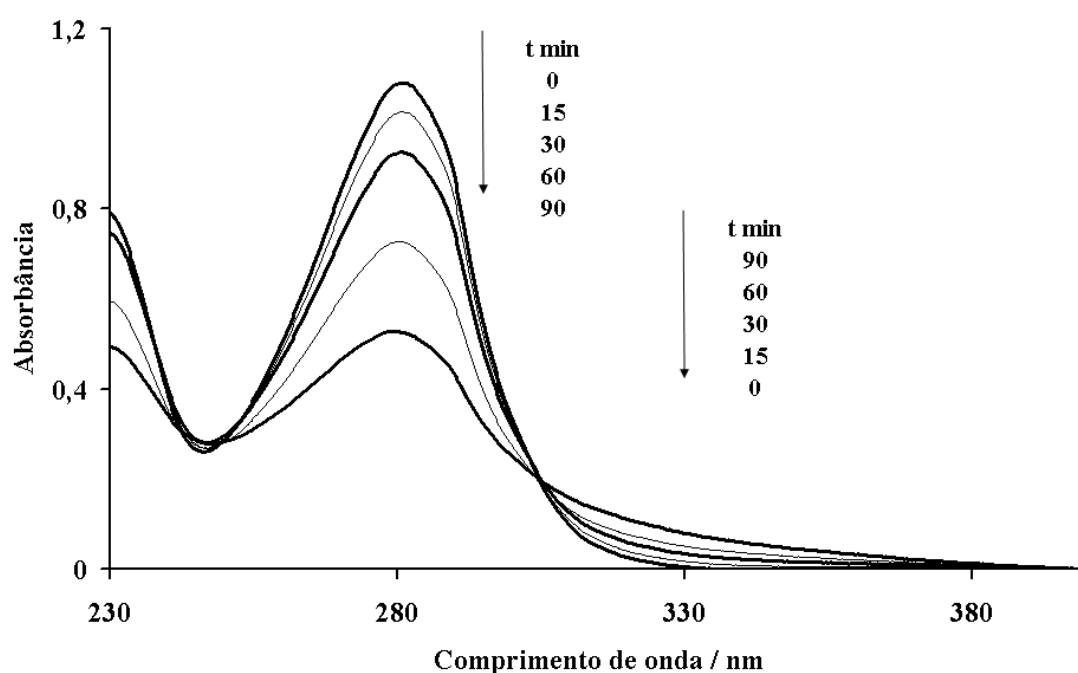


Figura 19: Espectro de absorção do THC 2, após irradiação com lâmpada de mercúrio de média pressão ($\lambda \approx 254\text{ nm}$), em etanol (concentração $\approx 10^{-4}\text{ mol. L}^{-1}$, caminho ótico 1 cm, temperatura 25°C)

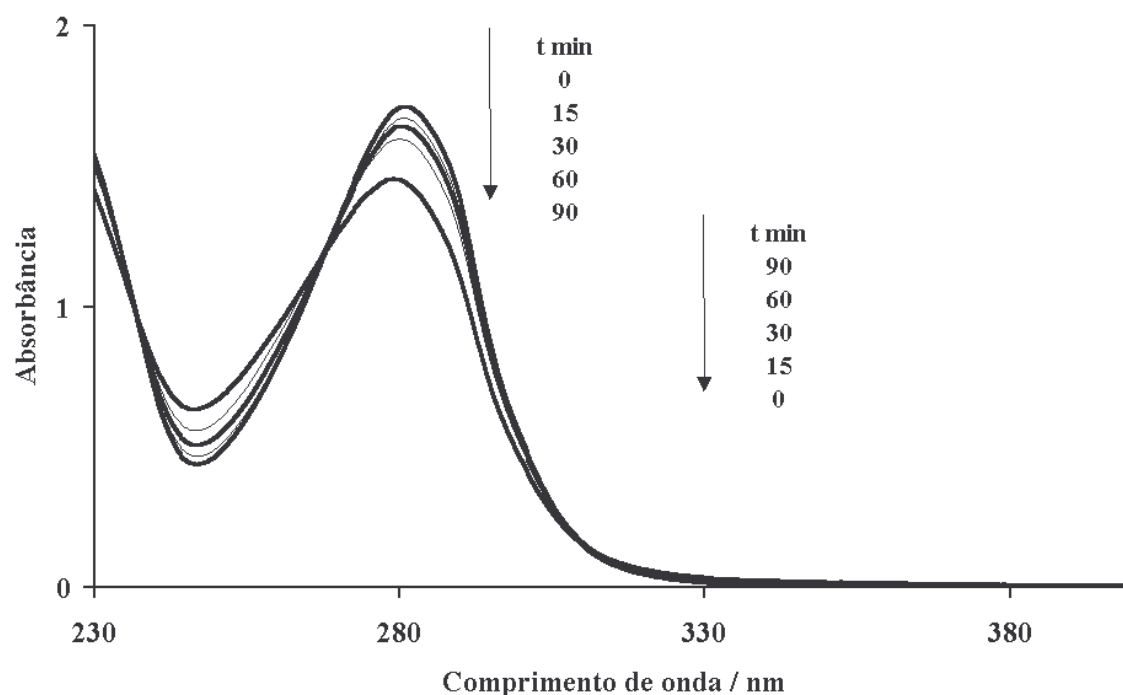


Figura 20: Espectro de absorção do THC 2, após irradiação com lâmpada de mercúrio de baixa pressão ($\lambda > 300 \text{ nm}$), em etanol (concentração $\approx 10^{-4} \text{ mol. L}^{-1}$, caminho ótico 1 cm, temperatura 25°C).

Irradiando com lâmpada de mercúrio de baixa pressão, observou-se um decréscimo da banda situada em 280 nm e a aparição de uma banda centrada em 320 nm (figura 21). O mesmo tipo de observação foi feita quando a lâmpada de mercúrio de média pressão foi utilizada, exceto a banda centrada em 320nm que é muito menos intensa. É provável que os fotoprodutos dos THC's absorvam entre 300 e 380nm, como exemplificado pelas curvas da diferença nas figuras 21 e 22, para a solução do THC 2 fotolisada com lâmpada de mercúrio de baixa e média pressão, respectivamente. A fotoquímica aparenta ser mais clara com a lâmpada de mercúrio de baixa pressão, por causa do ponto isobéstico próximo a 305nm que é observado; o que reforça a idéia da transformação do THC 2 em um composto tendo absorção máxima em 320nm.

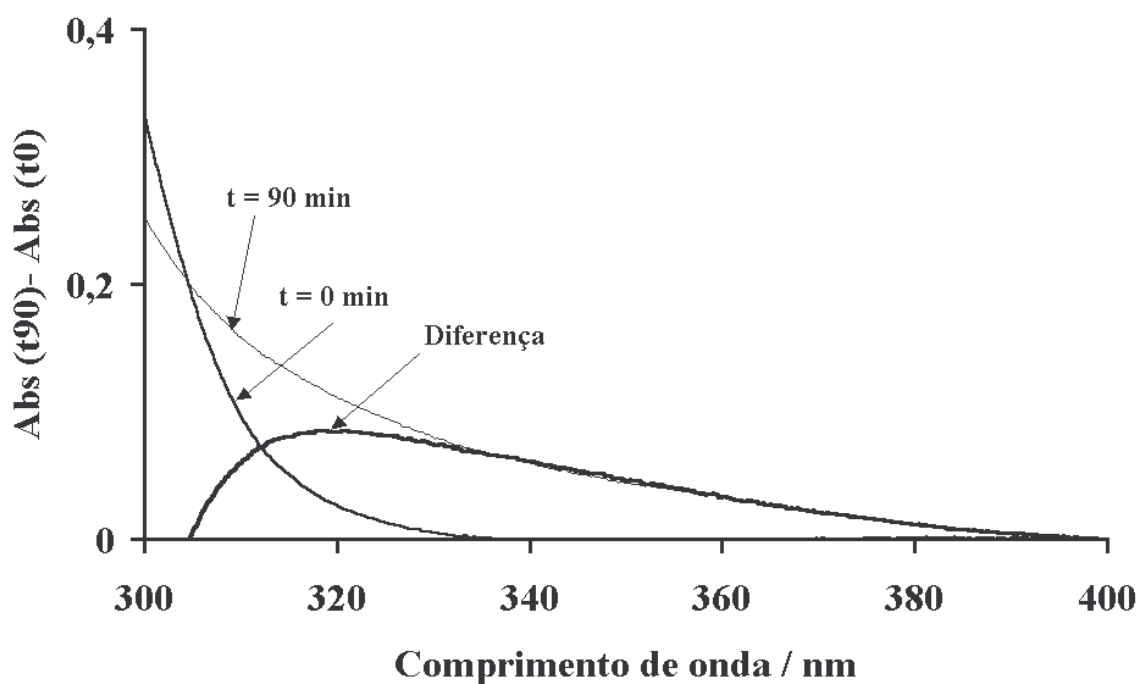


Figura 21: Curva do espectro da diferença de $t_{90}-t_0$ em $\lambda \approx 254$ nm para o THC2 .

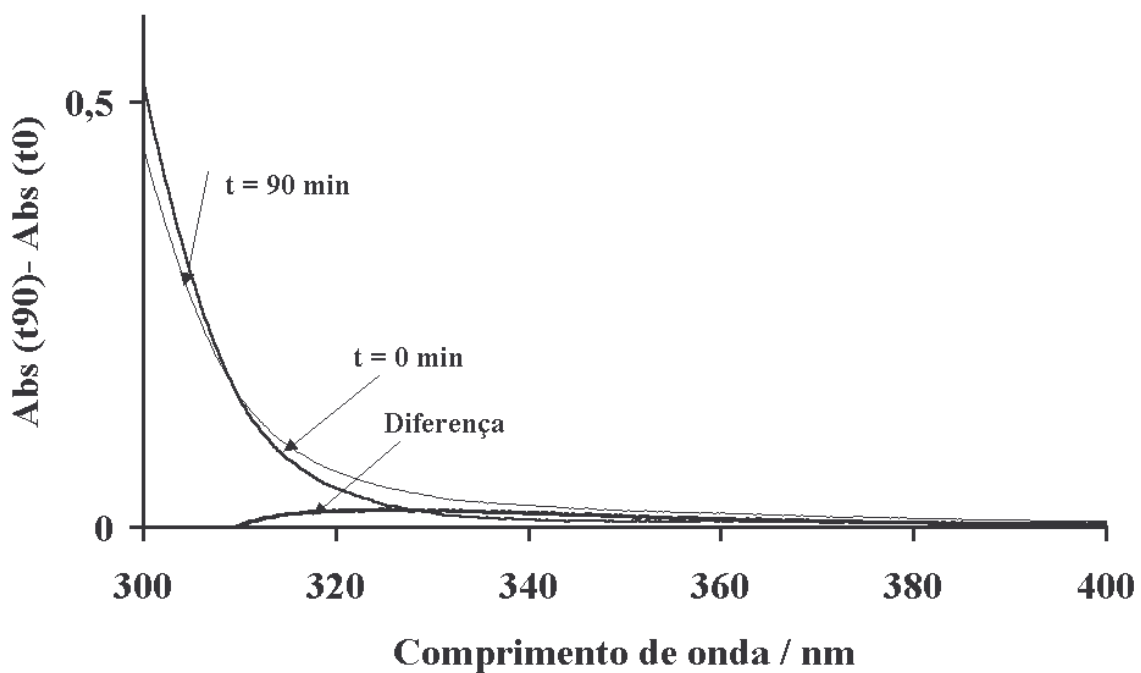


Figura 22: Curva do espectro da diferença de $t_{90}-t_0$ em $\lambda > 300$ nm para o THC2.

O comportamento fotoquímico dos outros THCs foram também monitorados por espectroscopia de absorção UV. Os THCs fenólicos, tais como o THC 3, THC 7-10,

mostram comportamento similar ao THC 2 com a diminuição da banda centrada em 280nm com consecutiva aparição de uma banda centrada em 320nm e um ponto isosbestico próximo a 305nm. Os THCs não fenólicos apresentam muito mais baixa reatividade, comparativamente. Como exemplo, as figuras 23 e 24 mostram os espectros eletrônicos dos THC 5 e 9 após diferentes tempos de irradiação.

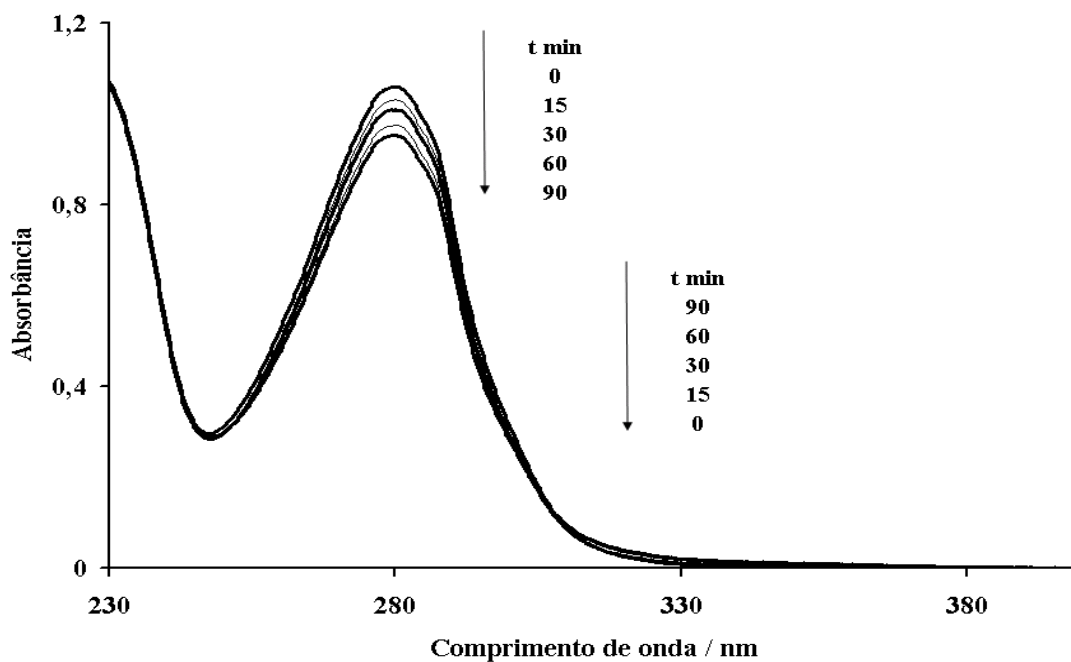


Figura 23: Espectro de absorção do THC 5, após irradiação com lâmpada de mercúrio de baixa pressão ($\lambda \approx 254$ nm), em etanol (concentração $\approx 10^{-4}$ mol. L^{-1} , caminho ótico 1 cm, temperatura 25°C).

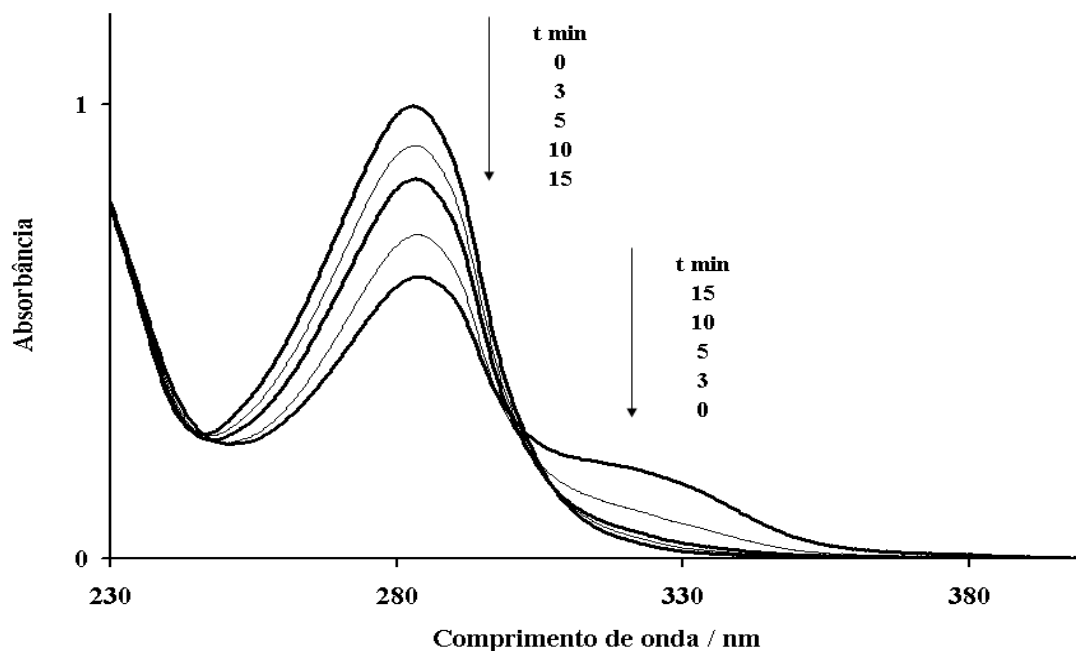


Figura 24: Espectro de absorção do THC 9, após irradiação com lâmpada de mercúrio de baixa pressão ($\lambda \approx 254$ nm), em etanol (concentração $\approx 10^{-4}$ mol. L^{-1} , caminho ótico 1 cm, temperatura 25°C).

A figura 25 mostra o gráfico da diferença entre a absorção da amostra THC 9 sem irradiação e após 90 minutos irradiada, quando comparado ao THC 2 mostrado na figura 21, indica que o mesmo tipo de fotoprodutos é formado originados das unidades guaiacil e catecol. A possibilidade mais provável é que deve ocorrer alguma formação de orto-quinonas formadas pela desmetoxilação do THC 2 ou pela clássica oxidação do catecol para o THC 9, como já foi observado na fotoquímica dos compostos de modelos de lignina[65]. No entanto, como será visto mais tarde, a formação de quinona metílicas é também uma outra rota possível para a etapa de transformação do radical fenóxido. A baixa reatividade dos THC's aponta para o favorecimento da fotoreatividade do fenol.

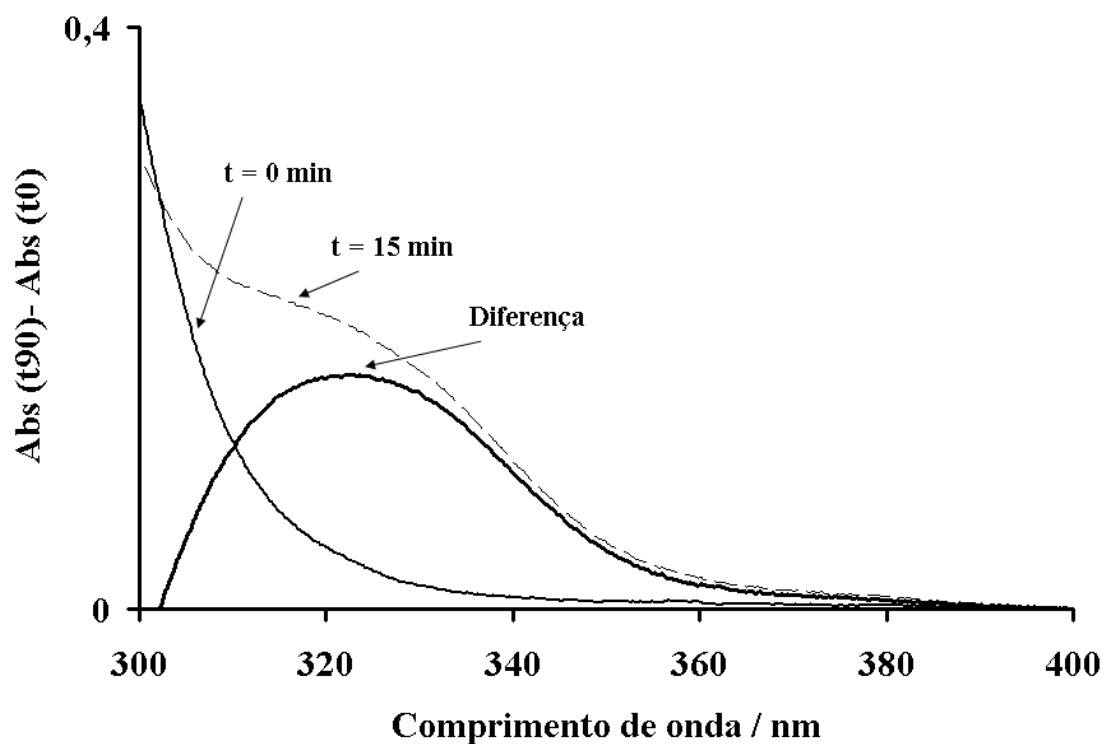


Figura 25: Curva do espectro da diferença de $t_{90}-t_0$ em $\lambda > 300 \text{ nm}$ para o THC9.

O rendimento quântico de desaparecimento dos THCs (tabela 8) também foi medido, eles foram comparados com a eficiência do poder antiradical (EPA) dos mesmos. Este parâmetro é uma medida de transferência de seu hidrogênio ao radical DPPH para formar como fotoprodutos primários, um radical fenóxido[21].

Tabela 8: Rendimento quântico de desaparecimento dos THCs e sua eficiência de poder antiradical (EPA) medida por reação dos THCs com o radical[22].

Compostos	Rendimento quântico de desaparecimento (Φ_R)	Eficiência do poder antiradical (EPA) [22]	EPA relativo
THC1	0.47×10^{-3}	$< 0.6^a$	
THC2	1.34×10^{-3}	9.1	1.9
THC3	1.21×10^{-3}	5.3	1.1
THC4	0.23×10^{-3}	$< 0.6^a$	-
THC5	0.26×10^{-3}	$< 0.6^a$	-
THC6	0.28×10^{-3}	$< 0.6^a$	-
THC7	2.56×10^{-3}	11.0	2.3
THC8	0.44×10^{-3}	$< 0.6^a$	-
THC9	9.44×10^{-3}	15.9	3.3
THC10	1.0×10^{-3}	4.8	1

^a Valor estimado por comparação do EPA do THC 2 usando o EC_{50} e EC_{10} , respectivamente [22].

A ordem de fotoreatividade e da EPA expressa em unidades relativas na tabela 8, é a mesma: THC 9>THC 7>THC 2>THC 3>THC 10. Isto não é surpresa, pois a formação do radical fenóxido é o primeiro passo da reação em ambos os mecanismos, de fotooxidação e de transferência do hidrogênio ao DPPH. É reconhecido que a redução do poder antioxidante das moléculas é aumentado quando os compostos estão em seus estados eletrônicos excitados.

Alguma reatividade de tetraidrocurcuminóides não fenólicos(THC 1, 4, 5, e 6) é observada. Para estas moléculas a presença do grupo carbonila na cadeia entre os dois anéis benzênicos induz a uma clivagem da cadeia em α do grupo funcional carbonila (reação de Norrish tipo 1). Esta reação provavelmente ocorre em derivados fenólicos, mas isso não é o mais importante neste caso.

III.2.2- Filmes de Carboximetilcelulose

Os THC's fenólicos mais reativos foram incorporados em uma matriz de carboximetilcelulose(CMC) em concentração próximo a 2%(massa THC/massa de CMC). Os filmes transparentes (espessura: $36\pm 3\mu\text{m}$) foram irradiados nas mesmas condições feita com as soluções de etanol, e os espectros eletrônicos de absorção UV foram obtidos. Foi observado que para o THC 9, que inclui grupos catecol, houve reação com a matriz na formação da solução, e os filmes obtidos não apresentavam transparência. Foram estudados também a molécula de THC 5, que é a molécula de THC 2 orto-metilada, e o THC 3. Um exemplo da fotoreatividade dos THC's em matriz de CMC é mostrado na figura 26 para o THC 2. Os rendimentos quânticos de reatividade relativo dos THC's nos filmes, dados por $(\text{Abs}_{t=0} - \text{Abs}_{t=3600\text{s}}) \times 10^5 / (\text{Abs}_{t=0} \times 3600)$, são mostrados na tabela 9.

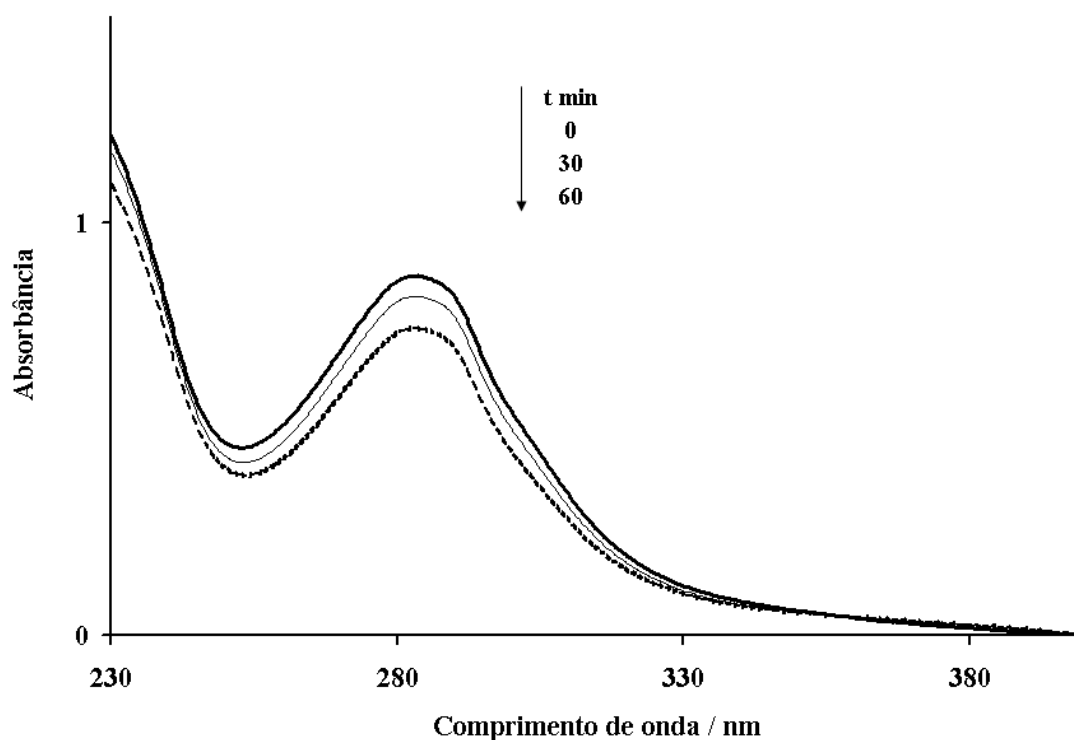


Figura 26: Espectro de absorção do THC 2 incorporado em filme de carboximetilcelulose após irradiação com lâmpada de mercúrio de baixa pressão $\lambda \approx 254 \text{ nm}$; concentração $\approx 2\% \text{ m/m}$; temperatura 25°C para diferentes tempos de irradiação.

Tabela 9: Rendimento quântico de desaparecimento relativo dos THC's incorporados em filmes sólidos de carboximetilcelulose.

Compostos	Rendimento quântico de desaparecimento relativo em filmes de CMC.	Rendimento quântico de desaparecimento relativo solução de etanol ^a
THC2	4.06	4.69
THC3	2.67	4.23
THC5	0.91	0.91
THC7	5.03	8.96
THC8	1.64	1.54
THC10	3.23	3.5

^a : Normalizado sobre o valor do THC5.

Na matriz de CMC, os compostos são menos reativos do que em solução de etanol como pode ser visto nas figuras 19 e 26 para o THC 2, na qual as irradiações foram conduzidas em intensidade de luz similares com absorbância próxima nos dois processos. A difusão e o tempo de vida dos intermediários reativos são diferentes no estado sólido e em solução; isto deve afetar suas reatividades. Como observado em solução, alguma fotoreatividade permanece para o estado sólido no THC 5, na qual é representativo de tetraidrocurcuminóides não fenólicos. Para estas moléculas, novamente a presença da carbonila na cadeia entre os dois anéis benzênicos, provavelmente induz a uma reação de Norrish do tipo1. Comparando os valores da tabela 9 para o THC 3 e 7 que são tetraisocurcuminóides, nota-se que os valores são mais baixos no estado sólido do que na solução de etanol, entretanto os outros THC's apresentam valores comparativos. A posição meta do fenol no THC 3 e o impedimento estérico ao redor do THC 7 aparentam ser fatores importantes no estado sólido. A ausência do crescimento da banda centrada em 320nm, quando os THC's 2,3 e 7 são irradiados em filmes de CMC, é outra diferença interessante comparando o processo em solução de etanol. Esta banda indica a formação de espécies quinonóides tais como *orto*- quinonas e/ou quinona metílicas. A reatividade de estruturas quinonóides com matriz celulósica que já fora descrita anteriormente [65] deve explicar esta observação.

III.2.3- Fotoprodutos

Os THC's mostram dois centros fenólicos reativos, sendo suas reatividades bastante complexas. Para tentar identificar os fotoprodutos foi feito um estudo comparativo de 4-n-propilguaicol(4PG) em solução de metanol, solvente com ponto de ebulição menor do que o etanol, sendo portanto muito mais fácil evaporar sem alterar os fotoprodutos instáveis.

A figura 27 mostra o espectro de absorção UV do 4PG em metanol após irradiação por 0, 15, 30, 45 e 60 minutos usando lâmpada de mercúrio de baixa pressão. A figura mostra uma diminuição da banda situada em 280nm e a aparição de uma nova banda centrada em 310nm. A principal diferença entre o THC2 e o 4PG é o aumento que ocorre na banda centrada em 254nm quando o 4PG é irradiado. A curva da diferença ($Abs(t_{60}) - Abs(t_0)$) mostrada na figura 28 confirma a similaridade do comportamento fotoquímico do 4PG e THC 2.

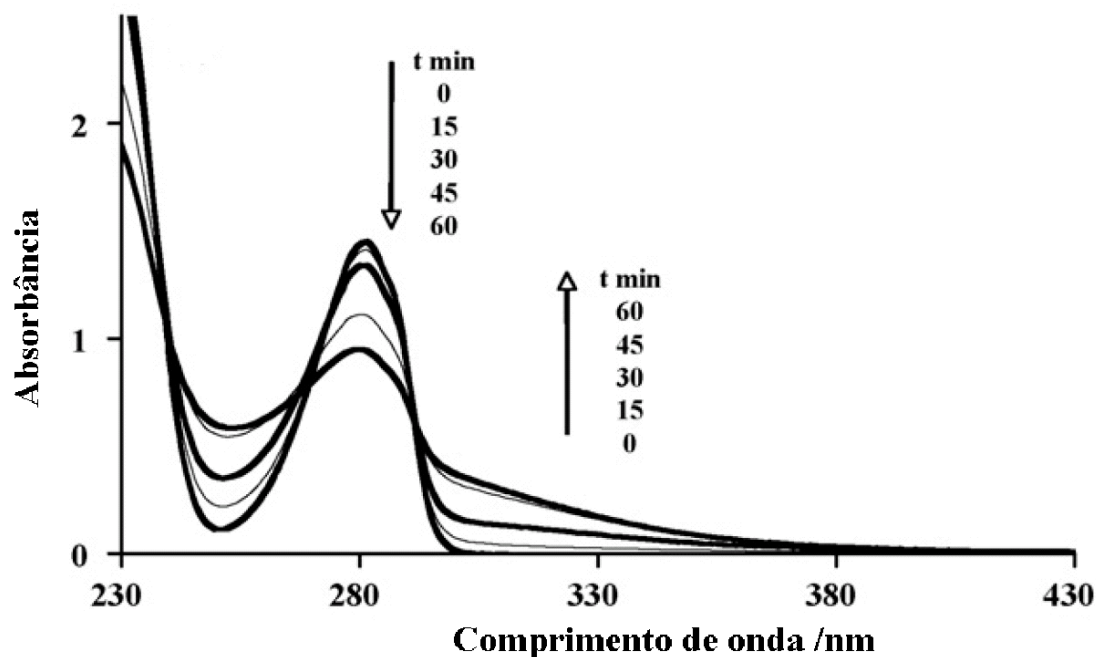


Figura 27: Espectro de absorção do 4-n- Poropilguaicol, após irradiação com lâmpada de mercúrio de baixa pressão($\lambda \approx 254$ nm; solução não aerada em metanol; concentração $\approx 10^{-4}$ mol. L^{-1} , caminho ótico 1 cm, temperatura 25°C).

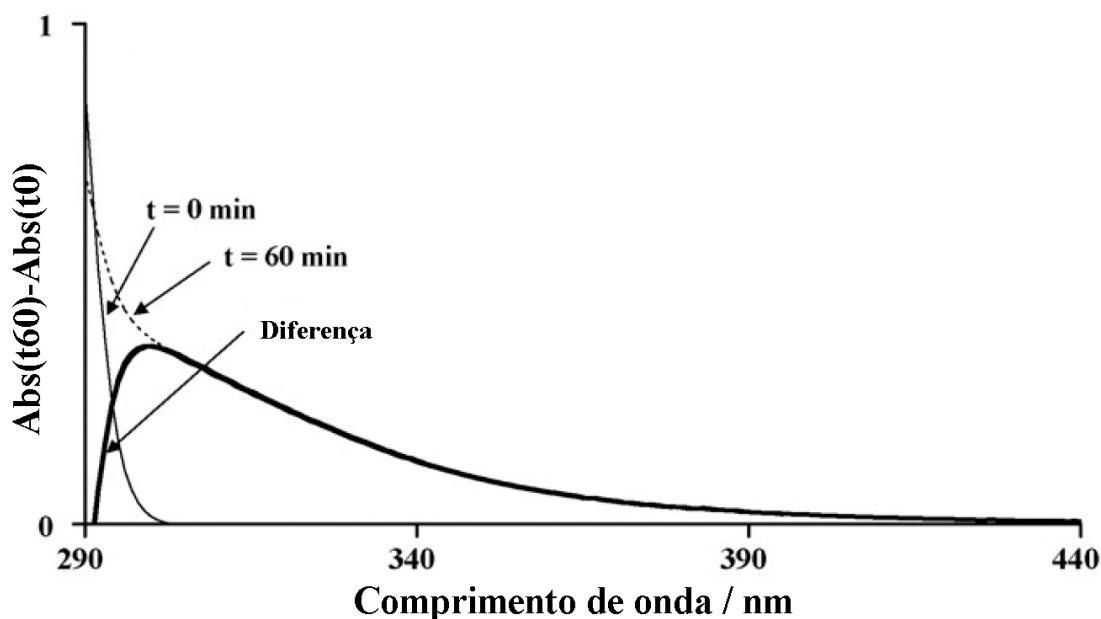


Figura 28: Espectro da diferença $t_{60}-t_0$ para o 4-n- Propilguaiacol.

O rendimento quântico de desaparecimento do 4PG em solução não aerada de metanol foi estimado sendo igual a 0.013, uma ordem de magnitude mais alta quando comparado com o THC 2. A influência da presença do oxigênio sobre a reatividade do 4PG em solução de metanol(concentração $\approx 4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) foi estimado pelo borbulhamento de argônio ou oxigênio por 20 minutos sendo a solução irradiada por 30 minutos. A taxa de conversão relativa do 4PG foi de 0.34/1/1.44 para as amostras borbulhada com argônio, aerada e borbulhada com O_2 , respectivamente. Para o THC2 em solução de etanol na mesma concentração nos mesmos 30 minutos de irradiação a relação foi de 0.31/1/1.06. Estes resultados indicam que a fotooxidação do fenol ocorre para ambos, THC2 e 4PG. Os fotoprodutos primários são radicais fenóxidos geralmente formados pela transferência de um elétron do fenol ou íon fenolato com o oxigênio ou outro oxidante, para gerar um cátion radical, seguido por sua desprotonação[66]. Tais mecanismos estão envolvidos na oxidação de ligninas e de materiais lignocelulósicos[67] onde os radicais fenóxidos são a chave central das reações fotoquímicas posteriores. O radical fenóxido pode evoluir e gerar orto-quinonas por desmetoxilação ou sofrer ‘desmutação’ para gerar o isômero cetônico do 4PG e a correspondente quinona metflica, QMPG. O espectro de

absorção eletrônica da orto-quinona OQ, obtida por oxidação do 4PG com periodato de sódio[54], e da quinona metílica QM, preparada por deidrobrominação do 4-brometilguaiaicol, são apresentados na figura 29.

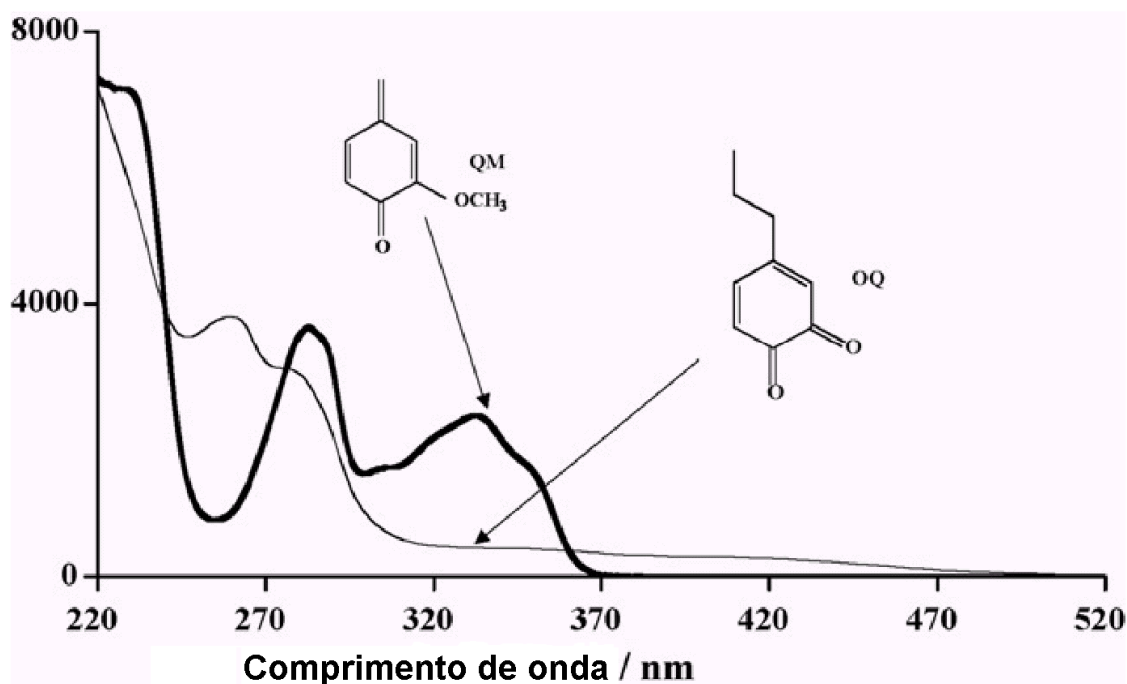


Figura 29: Espectro eletrônico de absorção da 4- propil-orto-quinona(OQ) e quinona metílica em solução metanólica.

Comparando as figuras 27 e 29, vê-se que a fotoirradiação do 4PG em solução não aerada de metanol forneceu estruturas metílicas de quinona(QMPG) com alguma orto-quinona(OQ). A fotogeração de quinonas metílicas[68] e orto-quinonas[69] de fenóis já tem sido observada. Mostra também que foram fotobranqueados [70,71]; isso explica o efeito observado no comprimento de onda quando lâmpada de mercúrio de média pressão é usada.

A análise de HPLC em coluna de sílica de fase reversa C18 da solução irradiada (10^{-4} mol L⁻¹, lâmpada de mercúrio de baixa pressão) após concentração no metanol a 20°C sob vácuo, mostra a presença de dois isômeros do QMPG, mas não permite a detecção de OQ na qual apresenta o mesmo tempo de retenção do 4PG. Análises por cromatografia gasosa (GC-MS) mostram a presença de dois picos próximos com o mesmo espectro de massa, um devido ao composto inicial 4PG, e o outro deve ser o isômero cetônico do

4PG(KPG). Não foi possível identificar o hidroperóxido formado pela adição de oxigênio no carbono1 seguido pela abstração do hidrogênio sobre o 4PG, o que já havia sido observado na fotoquímica de outros fenóis[72,73]. A figura 30 sumariza a fotoreatividade do 4PG. O comportamento fotoquímico do 4PG fornece alguma indicação sobre a fotoreatividade de tetraidrocurcuminóides.

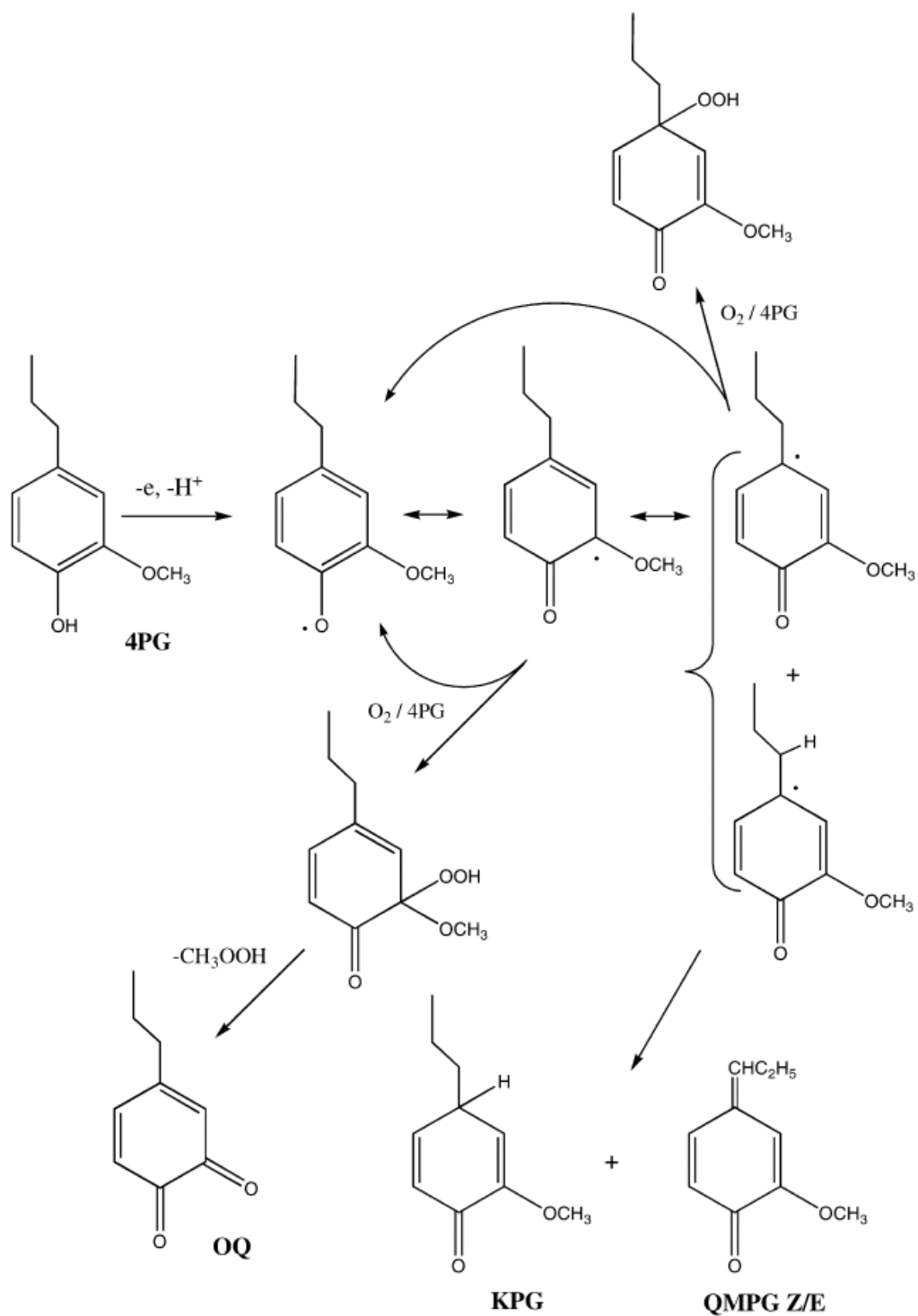


Figura 30: Fotoreatividade do 4-propilguaicol(PG) em solução alcoólica diluída não aerada quando irradiada com lâmpada de mercúrio de baixa pressão. Ela imita a fotoreatividade de tetraidrocurcuminóides.

III.3- Enxerto de THC's nas fibras de bagaço de cana-de-açúcar.

Nas figuras a seguir estão representados os resultados com relação ao efeito do enxerto de THC's sobre fibras de bagaço de cana-de-açúcar:

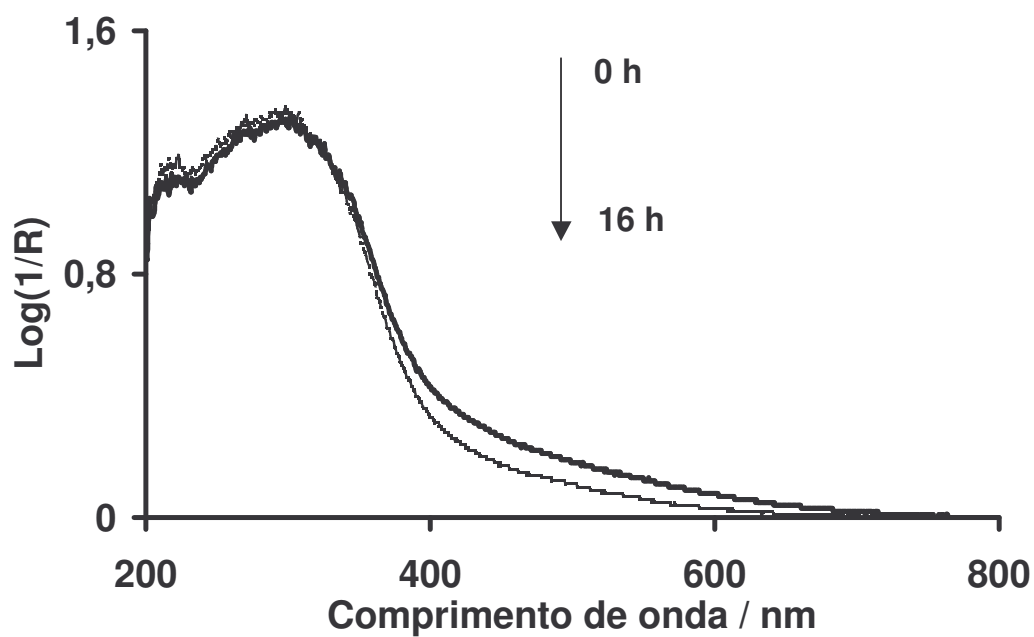


Figura 31: Reflectância de fibras de bagaço sem modificação química, irradiadas até 16 horas em $\lambda > 300\text{nm}$.

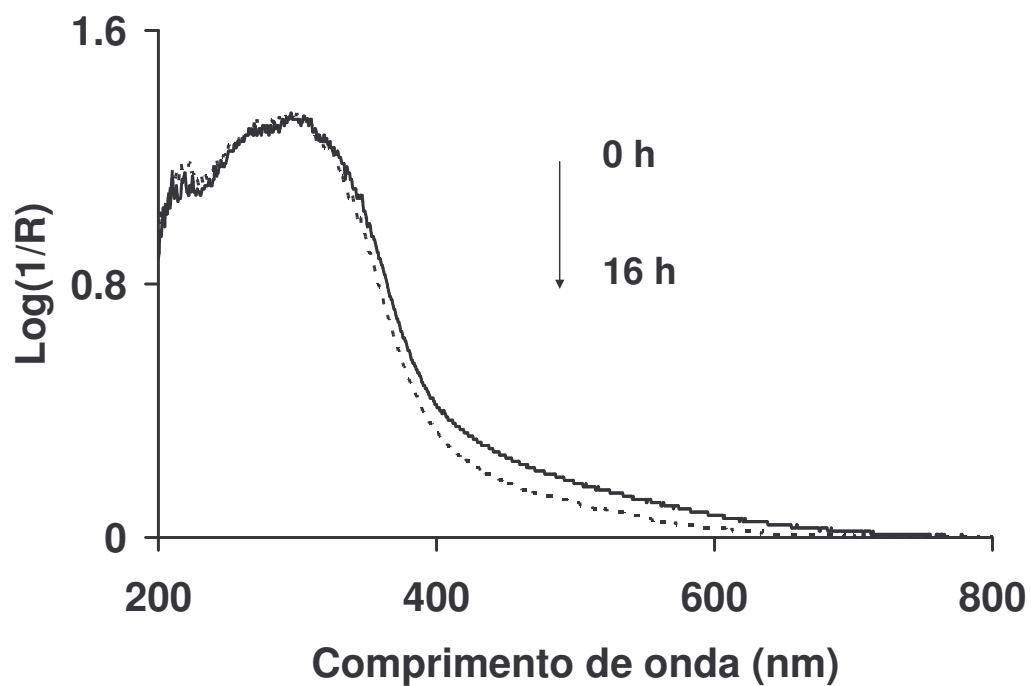


Figura 32: Reflectância de fibras de bagaço acetiladas, irradiadas até 16 horas em $\lambda > 300\text{nm}$.

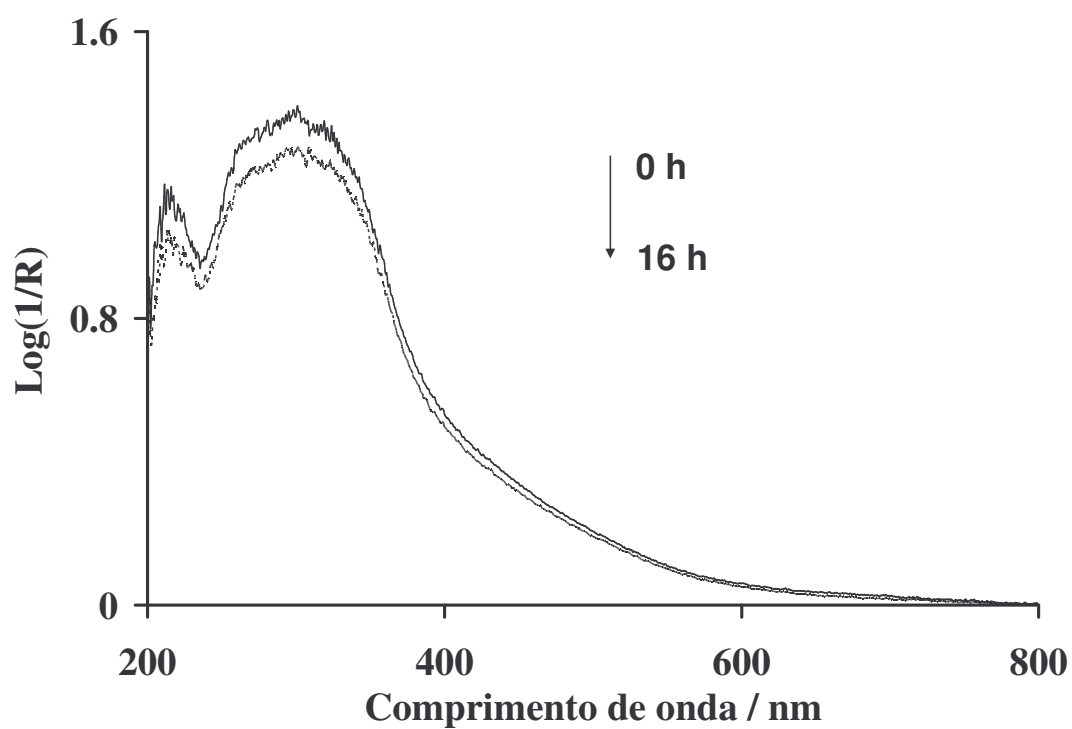


Figura 33: Reflectância da fibra de Bagaço enxertada com 0,3%THC 2, irradiadas até 16 horas em $\lambda > 300\text{nm}$.

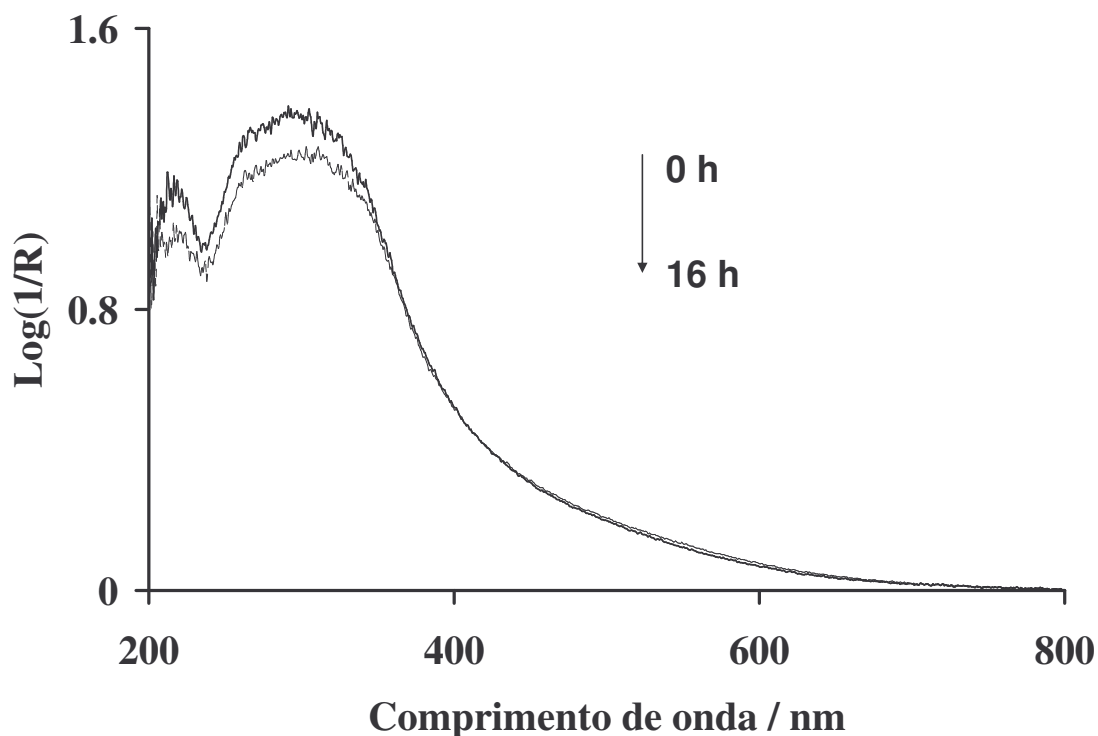


Figura 34: Reflectância de fibras de bagaço enxertada com 0,3% de THC7, irradiadas até 16 horas em $\lambda > 300\text{nm}$.

Os resultados podem ser avaliados dividindo os espectros em duas regiões, uma abaixo de 350 nm e outra acima desse valor.

Apesar de a irradiação ter sido feita em comprimentos de onda maiores que 300 nm pode se verificar que a maior estabilidade das fibras fica por conta da fibra somente acetilada (figura 32). No caso da fibra natural (sem modificação química-figura 31) ocorre um aumento na pseudo-absorbância em comprimentos de onda menores que 350 nm. Para as fibras enxertadas com os THC's após acetilação e tratamento ácido(figuras 33 e 34) ocorre um decréscimo maior na pseudo absorbância destas fibras, nessa região.

A fotoestabilidade de fibras acetiladas pré-branqueadas foi mostrada em trabalhos anteriores [74]. Neste caso ocorre um forte acréscimo na pseudo-absorbância na região com comprimentos de onda menores que 350 nm, esse efeito é atribuído ao mecanismo de isomerização (E/Z) envolvendo a dupla ligação do ácido cinâmico, que resta exposto

devido ao processo de branqueamento das fibras competindo com o material acetilado reduzindo outras rotas de degradação.

Para as fibras não branqueadas acetiladas, o acréscimo da pseudo-absorbância nessa região ocorre, mas bem menos devido à baixa exposição do ácido cinâmico.

Para as fibras incorporadas com os THC's, o efeito é contrário nessa região do espectro. Neste caso, o processo provavelmente é devido à despolimerização dos acetatos e/ou do THC incorporado exposto superficialmente.

Acima de 350 nm, no entanto, a faixa de irradiação da luz solar, a estabilidade das fibras é notável. A degradação observada nas fibras sem modificação e mesmo na acetilada não ocorre nas fibras enxertadas com 0,3% de THC 2 e THC 7. Outros estudos estão em andamento para verificação dos possíveis mecanismos envolvidos nesses processos.

IV- CONCLUSÃO

As propriedades fotoquímicas e fotofísicas de 10 tetraidrocurcuminóides os quais foram introduzidos vários grupos hidroxilas e metóxi foram estudadas. Os THC_s mostraram muito baixa fluorescência em solução de etanol em temperatura ambiente (25°C) com um rendimento quântico de fluorescência entre 0,9 e 13×10^{-3} . Sua emissão de fosforescência em etanol vítreo a 77K foi mais intensa com rendimento quântico entre 0,025 e 0,5. Estes resultados dependem do balanço entre a natureza dos estados $\pi\pi^*$ e $n\pi^*$ do estado singlete e triplete excitados dos THC_s. O comportamento fotoquímico encontrado dos THC_s correspondem às suas propriedades antioxidantes. Seus rendimentos quânticos de desaparecimento em solução estiveram entre 5×10^{-4} e 10^{-2} , seguindo a mesma tendência da eficiência do poder antiradical (EPA). Em geral os THC_s são muito mais reativos, se eles incluem um grupo fenol em meta ou para da ligação na cadeia e um fenol ou grupo metóxi como vizinho. A absorção UV é característica dos derivados fenólicos. Comparando os fotoprodutos do 4PG com os do THC 2 escolhido como modelo fenólico simplificado, indicou a formação de QM e orto-quinonas em menor quantidade, obtidas por desmetoxilação. A reatividade residual dos THC_s não fenólicos é provavelmente devido a clivagem de Norrish tipo I da cadeia dos bicromóforos. A irradiação dos THC_s em filmes de carboximetilcelulose segue as mesmas conclusões feitas no estudo em solução, exceto que quinonas metílicas e orto quinonas não foram detectadas, provavelmente porque elas são fotobranqueadas em matriz celulósica. O conhecimento obtido neste estudo pode ajudar a um melhor entendimento do mecanismo complexo de fotodegradação de polímeros naturais como a lignina e também prover um melhor entendimento para promover o uso dos THC_s em várias aplicações onde é necessário desenvolver propriedades antioxidantes, mesmo na presença de luz solar.

V- SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.

De modo a complementar as informações constantes neste trabalho, seria desejável avaliar:

- a) Avaliação do potencial antioxidante dos tetraidrocurcuminóides frente a espécies reativas de oxigênio fotoinduzida por ftalocianinas lipossomais usando como modelos celulares eritrócitos de carneiro.
- b) Uso de THCs no preparo de filmes alimentícios com propriedades antioxidantes e antimicrobiano.

VI- APÊNDICE.

VI.I- Produção Bibliográfica referente à dissertação.

VI.I.I- Artigos Publicados.

Castellan, A., Ruggiero, R., Da Silva, L.G., Portes, E., Grelier, S., Gardrat, C., Photophysics and Photochemistry of tetrahydrocurcuminoids. J. Photochem. Photobiol. A: Chem. 2007, 190, 110-120.

VI.I.II- Trabalhos apresentados em congressos.

Reinaldo Ruggiero, Leandro G. da Silva, Inácio Ramos Leite, Fernando Rosa Gomes, Douglas Martins, Wender Santana Carvalho, Guimes Rodrigues Filho, Carla da Silva Meireles, Alain Castellan. *Spectroscopic and thermal study of acetylated sugarcane bagasse fibers* In: POLYCHAR 15, 2007, Búzios. **Anais do POLYCHAR 15.** , 2007. v.v.1.

Inácio Ramos Leite, Leandro G. da Silva, Reinaldo Ruggiero. *Efeito do branqueamento na fotodegradação de fibras acetiladas de bagaço de cana-de-açúcar acetiladas* In: XX ENCONTRO REGIONAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA-MG, 2006, São João Del-Rei. **Anais do XX ENCONTRO REGIONAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA-MG.** , 2006. v.v.1.

Reinaldo Ruggiero, Antonio Eduardo da Hora Machado, Leandro G. da Silva, Renata Faria de Souza, Cristiano Soares de Souza, Inácio Ramos Leite, Fernando Rosa Gomes. *Estudo espectroscópico da fotoproteção de fibras de bagaço de cana* In: XIX ENCONTRO REGIONAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA-MG, 2005, OURO PRETO. **Anais do XIX ENCONTRO REGIONAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA-MG.** , 2005. v.v.1.

Reinaldo Ruggiero, Leandro G. da Silva, Willam Horeau, Christian Gardrat, Antonio Eduardo da Hora Machado. *Fotoproteção de fibras de bagaço de cana-de-açúcar por modificação química* In: XVIII Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química, 2004, Lavras. **Anais do XIII Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química.** , 2004. v.1.

VI.I.III- Outros trabalhos.

Fernando Rosa Gomes, Reinaldo Ruggiero, Leandro G. da Silva. *Espectroscopia de compósitos lignina-celulose dopados com Nd^{3+}* In: XXI ENCONTRO REGIONAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA-MG, 2007, Uberlândia. **Anais do XXI ENCONTRO REGIONAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA-MG.** , 2007. v.v.1.

Leandro G. da Silva, Reinaldo Ruggiero, Inácio Ramos Leite, Wender Santana Carvalho, Fernando Rosa Gomes, Carla da Silva Meireles, Bianca M. Cerutti, Elizabete Frollini. *Estudo espectroscópico de ligninas quimicamente modificadas* In: XXI ENCONTRO REGIONAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA-MG, 2007, Uberlândia. **Anais do XXI ENCONTRO REGIONAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA-MG.** , 2007. v.v.1.

Fernando Rosa Gomes, Reinaldo Ruggiero, Leandro G. da Silva. *Fluorometria de compósitos lignocelulósicos dopados com íons Nd^{3+}* In: XXI ENCONTRO REGIONAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA-MG, 2007, Uberlândia. **Anais do XXI ENCONTRO REGIONAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA-MG.** , 2007. v.v.1.

Ruggiero, R., Souza, C.S., Frollini, E., Gomes, F.R., Cerqueira, D.A., Rodrigues Filho, G., Leite, I.R., Leandro G. da Silva. *Estudo de lignina modificada de bagaço e dopada com neodímio, por calorimetria diferencial de varredura(DSC)*. In: 29ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química (SBQ), 2006, Águas de Lindóia. **ANAIS DA 29ª RASBQ**, 2006. . v.v.1.

Reinaldo Ruggiero, Alain Castellan, Alexandre Marletta, Leandro G. da Silva, Inácio Ramos Leite, Fernando Rosa Gomes, Cristiano Soares de Souza. *Funcionalização de lignina de bagaço com íons de terras raras* In: XIX ENCONTRO REGIONAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA-MG, 2005, Ouro Preto. **Anais do XIX ENCONTRO REGIONAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA-MG**, 2005. v.v.1.

Fernando Rosa Gomes, Reinaldo Ruggiero, Leandro G. da Silva, Inácio Ramos Leite, Wender Santana Carvalho, C. Borges. *Composites of lignins-cellulose with metals* In: COMAT 2007, 2007, Rio de Janeiro. **Anais do COMAT 2007.** , 2007. v.v.1.

Leandra Cardoso Toledo, Leandro G. da Silva, Guimes Rodrigues Filho, Daniel Alves Cerqueira, Rosana M.N. de Assunção, Carla da Silva Meireles. *Incorporation of doxycycline in membranes of cellulose acetate(from sugarcane bagasse) produced with PEG 600 as additive*. In: COMAT 2007, 2007, Rio de Janeiro. **Anais do COMAT 2007.** , 2007. v.v.1.

Leandro G. da Silva, Reinaldo Ruggiero, Fernando Rosa Gomes, Inácio Ramos Leite, Wender Santana Carvalho. *Synthesis, Characterization and photochemist study of chemically modified lignins* In: COMAT 2007, 2007, Rio de Janeiro. **Anais do COMAT 2007.** , 2007. v.v.1.

Reinaldo Ruggiero, Fernando Rosa Gomes, Inácio Ramos Leite, Leandro G. da Silva, Cristiano Soares de Souza, Wender Santana Carvalho, Douglas Martins. *Modificação química de fibras de bagaço de cana-de-açúcar com objetivo de adsorção de fosfato na purificação de água* In: I EQTAP- IV MOQUI- III JOQUI, 2006, Uberlândia. **Anais do I EQTAP- IV MOQUI- III JOQUI.** , 2006. v.v.1.

VII - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1]- R. J. Safford, B. F. J. Goodwin, *International Archives of Allergy and Applied Immunology*, Basel, v. 77, n. 3, p. 331-336, **1985**.
- [2]- Mathai, C. K., *Qualitas Plantarum Plant Foods For Human Nutrition*, The Hague, v. 28, n. 3, p. 219-225, **1979**.
- [3]- Govindarajan, V. S., *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, Cleveland, v. 12, n. 3, p. 199-301, **1980**.
- [4]- Parry, J. W., *Spices: morphology, histology, Chemistry*, New York: Chemical, v. 2, p. 74-78, **1969**.
- [5]- Srinivas, L., Shalini, V. K., Shylaja, M., *Archive Biochemistry Biophysic*, Mysore, v. 292, n. 2, p. 617-627, **1992**.
- [6]- Osawa, T., *Bioscience Biotech. Biochemical*, [S.l.], v. 59, p. 1609-1612, **1995**.
- [7]- Semwal, A. D., Sharma, G. K., Arya, S. S., *Journal of Food Science and Technology*, Mysore, v. 34, n. 1, p. 67-69, **1997**.
- [8]- Lutomski, J., Kedzia, B., Debska, W., *Planta Medica*, Stuttgart, v. 26, n. 1, p. 9, **1974**.
- [9]- Sawada, T., *Shoyakugaku Zasshi*, Kyoto, v. 25, n. 1, p. 11, **1971**.
- [10]- Araújo, C. A. C., *Memórias Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 93, p. 306, Suplemento 2, **1998**.
- [11]- Araújo, C. A. C., *Memórias Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 94, p. 791-794, **1999**.

- [12]- Mazumber, A., *Biochemical Pharmacology*, New York, v. 49, p. 1165-1170, **1995**.
- [13]- Huang, M. T., *Cancer Research*, Baltimore, [S.l.], v. 48, p. 5941-5946, **1998**.
- [14]- Wang, Y.J., Pan, M.H., A.L. Cheng et al, *J Pharm Biomed Anal.*, 15, 1867–1876, **1997**.
- [15]- Jovanovic, S.V., Steenken, S., Boone, C.W. et al, *J Am Chem Soc*, 121, 9677–9681, **1999**.
- [16]- Majeed, M., Badmaev, V., Shimakumar, U., Rajendran, R., Curcuminoids: Antioxidant Phytonutrients, *Nutriscience Publishers Inc.*, Piscataway, **1990**.
- [17]- Pan, M.H., Huang, T.M., Lin, J.K., *Drug Metab. Dispos.*, 27 , 486–494, **1999**.
- [18]- Osawa, T., Sugiyama, Y., Inayoshi, M., Kawakishi, S., *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 59, 1609–1612, **1995**.
- [19]- Sugiyama, Y., Kawakishi, S., Osawa, T., *Biochem. Pharmacol.*, 52 , 519–525. **1996**.
- [20]- Nakamura, Y., Ohto, Y., Murakami, A., Osawa, T., Ohigashi, H., *Jpn. J. Cancer Res.*, 89 361–370, **1998**.
- [21]- www.tetrahydrocurcuminoids.com acessado em 09/01/2008.
- [22]- Portes, E., Gardrat, C., Castellan, A., *Tetrahedron.*, 63, 9092-9099, **2007**.
- [23] – Ewing, G. W., In: *Instrumental Methods of Chemical Analysis*, 3rd ed., McGraw-Hill, Japão, **1969**.

[24] – Chang, R., In: *Physical Chemistry for Chemical and Biological Sciences*; University Science Books, Califórnia, USA, **2000**.

[25] – Perkampus, H. H., In: *UV-Vis Spectroscopy and Its Applications*; Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany, **1992**.

[26] – Lakowicz, J. R., In: *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, 2^a ed., Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, **1999**.

[27] - Gilbert A., J. Baggott, In: *Essentials of Molecular Photochemistry*, Blackwell Scientific Publications, Oxford, **1991**.

[28] – Turro, N. J., In: *Modern Molecular Photochemistry*, University Science Books, USA, **1991**.

[29] - Teixeira Dias, J. J. C., In: *Espectroscopia Molecular*, Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, **1986**.

[30] – Reichardt, C., , In: *Solvents and Solvents Effects in Organic Chemistry*, 2^o ed., Weinhein, Cambridge, **1988**.

[31] – Silverstein, R. M., Bassler, G. C., Morrill, T. C., , In: *Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos*, 3^o ed., Guanabara Dois, Rio de Janeiro **1979**.

[32] – (a) Bayliss, N. S., *J. Phys. Chem.*, **18**, 202, **1950**; (b) McPae, E. G. J., *Phys. Chem.*, **61**, 562, **1956**; (c) Kosower, E.M.,; *J. Am. Chem. Soc.*, **80**, 3253, **1958**; (d) Kosower, E.M., In: *An Introduction to Physical Organic Chemistry*, John Wiley & Sons, New York, , pp. 293-382, **1968**.

[33] – Eaton, D., *Pure Appl. Chem.*, **60**(7), 1107, **1988**.

- [34]- Quattrocchi, O.A., De Andrizzi, S.A., Laba, R.F., *Introduction a la HPLC*, Artes Gráficas Farro, Laboratórios Gador/Farmerit, Buenos Aires, 1992.
- [35]- IUPAC; *Recomendations on Nomenclature for Chromatography, Advances & Perspectives*, Academic Press, New York, **1988**.
- [36]- Unger, K., *Packings and Stationary Phases Chromatographic Techniques*, Decker, New York, **1988**.
- [37]- Snyder, L., Glajch, J., *Practical HPLC Method Development*, John Wiley & Sons, New York, **1988**.
- [38]- Hórvath, C., *High Performance Liquid Chromatograph, Advances & Perspectives*, Academic Press, New York, **1988**.
- [39]- Dolan, J.; Snyder, L.; *Troubleshooting HPLC Systems*, Humana Press, Clifton, **1989**.
- [40]- Ettre, S., *J. Chromatogr.*, 29, 220, **1981**.
- [41]- Snyder, L., Kirkland, J., *Introduction to Modern Liquid Chromatography*, John Wiley & Sons, New York, **1979**.
- [42]- Glajch, J., Kirkland, J., Squire, K., *J. Chromatogr.*, , 37, 199, **1980**.
- [43]- Berendsen, G., De Galan, L., *J. Chromatogr.*, 21, 196, **1987**.
- [44]- Quattrocchi, O., Pomies, D., Capasso, A., SAFYBI, , 29, 2754, **1989**.
- [45]- Skoog D.A., Holler F.J., Nieman. T.A.; *Principios de Análisis Instrumental*, 5ª ed., , p. 576, 778-780, **2001**.

- [46]- Hamal, S., Hirayama, F., *J. Phys. Chem.* 87 , 83–89, **1983**.
- [47]- Castellan, A., Desvergne, J.P., Lesclaux, R., Soullignac, J.C., *Chem. Phys. Lett.* 106 117–123, **1984**.
- [48]- Desvergne, J.P., Bitit, N., Castellan, A., Webb, M., Bouas-Laurent, H., *J. Chem. Soc., Perkin Trans., II* ,1885–1894, **1988**.
- [49]- O'Connor, D.V., Phillips, D., *Time-Correlated Single Photon Counting*, Academic Press, London, **1984**.
- [50]- Birks, J.B., *Photophysics of Aromatic Molecules*, Wiley Interscience, New York, , p. 126, **1970**.
- [51]- Aagren, H., Minaev, B.F., Knuts, S., *J. Phys. Chem.*, 98, 3943–3949, **1994**.
- [52]- Charlton, J.L., Dabestani, R., Saltiel, J., *J. Am. Chem. Soc.*, 105, 3473–3476, **1983**.
- [53]- Castellan, A., *C. R. Acad. Sci.*, 281C, 221–224, **1975**.
- [54]- Trindade, W.G., Hoareau, W., Razera, I.A.T., Ruggiero, R., Frollini, E., Castellan, A., *Macromol. Mater. Eng.*, 289, 728–736, **2004**.
- [55]- Schevchenko, S.M., Anushkinskii, A.G., Gindin, V.A., Zarubin, M.Ya., Zh., *Org. Khim.*, 26, 1069–1075, **1990**.
- [56]- Brunow, G., Sipilä, J., Mäkelä, T., *Holzforschung.*, 43, 55–59, **1989**.
- [57]- Castellan, A., Desvergne, J.P., Bideau, J.P., Bravic, G., Courseille, C., *Mol. Cryst. Liq. Cryst.*, 93, , 103–112, **1983**.

- [58]- Silverstein, R.M., Bassler, G.C., Morill, T.C., *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, J. Wiley and Sons, New York, **1991**.
- [59]- Castellan, A., Michl, J., *J. Am. Chem. Soc.*, 100, 6824–6827, **1978**.
- [60]- Reichardt, Angew, C., *Chem. Int.*, Ed. 18, 98–110, **1979**.
- [61]- Turro, N.J., *Modern Molecular Photochemistry*, University Science Books, Sausalito, CA, USA, **1991**.
- [62]- B. Valeur, *Molecular Fluorescence: Principle and Applications*, Wiley- VCH, New York, **2001**.
- [63]- Ruggiero, R., Machado, A.E.H., Gardrat, C., Hoareau, W., Grelier, S., Siegmund, B., Castellan, A., *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, 173, 150–155, **2005**.
- [64]- Castellan, A., Kolc, J., Michl, J., *J. Am. Chem. Soc.*, 100, 6687–6692, **1978**.
- [65]- Castellan, A., Nourmamode, A., Jaeger, C., Forsskahl, I., in: Heitner, C., Scaiano, J.C. (Eds.), *Photochemistry of Lignocellulosic Materials*, ACS Symposium Series, vol. 531, , pp. 60–76, **1993**.
- [66]- Joschek, H.I., Miller, S.I., *J. Am. Chem. Soc.*, 88, 3273–3281, **1966**.
- [67]- Castellan, A., Colombo, N., Nourmamode, A., Zhu, J.H., Lachenal, D., Davidson, R.S., Dunn, L., *J. Wood Chem. Technol.*, 10, 461–493, **1990**.
- [68]- Schevchenko, S.M., Semenov, S.G., Anushkinskii, A.G., Pranovich, A.V., Evstigneev, E.I., *Zh. Org. Khim.*, 26, 1839–1848, **1990**.
- [69]- Diao, L., Yang, C., Wan, P., *J. Am. Chem. Soc.*, 117, 5369–5370, **1995**.

[70]- Argyropoulos, D.S., Heitner, C., Schmidt, J.A., *Res. Chem. Intermed.*, 21, 263–274, **1995**.

[71]- Dolenc, J., Sket, B., Strlic, M., *Tetrahedron Lett.*, 43, 5669–5671, **2002**.

[72]- Matsuura, T., Yoshimura, N., Nishinaga, A., Saito, I., *Tetrahedron Lett.*, 21, 1669–1671, **1969**.

[73]- Prein, M., Maurer, M., Peters, E.M., Peters, K., Von Schnering, H.G., Adam, W., *Chem. Eur. J.*, 1, 89–94, **1995**.

[74]- Ruggiero, R., Machado, A.E.H., Hoareou, W., Gadrat, C., Nourmamode, A., Grelier, S., Castellan, A., *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 17, 4, 763-770, **2006**.