

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE QUÍMICA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

Tese de Doutorado

**USO DA ESPECTROSCOPIA DE CORRELAÇÃO BIDIMENSIONAL
(2D) E CONSTRUÇÃO E AVALIAÇÃO DE UM
ESPECTROPOLARÍMETRO PARA A REGIÃO DO
INFRAVERMELHO PRÓXIMO (NIR)**

Claudete Fernandes Pereira

Orientador: Prof. Dr. Celio Pasquini

**Campinas/SP
2006**

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO
INSTITUTO DE QUÍMICA DA UNICAMP**

P414u Pereira, Claudete Fernandes.
 Uso da espectroscopia de correlação
 bidimensional (2D) e construção e avaliação de um
 espectropolarímetro para a região do infravermelho
 próximo (NIR) / Claudete Fernandes Pereira. --
 Campinas, SP: [s.n], 2006.

Orientador: Celio Pasquini.

Tese – Universidade Estadual de Campinas,
Instituto de Química.

1. Espectroscopia de correlação bidimensional.
2. Perturbação de concentração de fluxo. 3.
Rotação ótica. 4. Infravermelho próximo. I. Pasquini,
Celio. II. Universidade Estadual de Campinas.
Instituto de Química. III. Título.

Título em inglês: Use of two-dimensional correlation spectroscopy and construction and evaluation of a near-infrared spectropolarimeter

Palavras-chaves em inglês: Two-Dimensional correlation spectroscopy, Concentration perturbation in flow, Optical rotation, Near-infrared

Área de concentração: Química Analítica

Titulação: Doutor em Ciências

Banca examinadora: Celio Pasquini (orientador), Marco Flôres Ferrão, César Mello, Ronei Jesus Poppi, Maria Izabel Maretti Silveira Bueno, Adriana Vitorino Rossi, Márcia Miguel Castro Ferreira

Data de defesa: 17/04/2006

Aos meus pais **Graciano** (*in memoriam*) e
Eloisa, e ao meu amado esposo **Alfredo**.

AGRADECIMENTOS

A *Deus*.

Ao prof. Dr. **Celio Pasquini**, pela boa acolhida, amizade, orientação segura, ensinamentos e dedicação demonstrados durante a realização deste trabalho.

Ao prof. Dr. **Jarbas** pela ajuda e ensinamentos em todas as etapas do trabalho, além da importante amizade e excelente convívio ao longo desses anos.

Ao prof. Dr. **Ivo** pelos ensinamentos, amizade e dedicação.

A profa. Dra. **Aldaléa Lopes Brandes Marques** pela amizade e ajuda ao longo de toda a minha carreira acadêmica.

A grande amiga **Eliane** e seu esposo **Gilmar** pela agradável acolhida, atenção e aos inúmeros momentos agradáveis que compartilhamos nesses anos.

De forma muito especial aos amigos conquistados ainda em Brasília, **Fabiano** e **Gabriella**. Ao **Fabiano**, meus sinceros agradecimentos pela ajuda indispensável no desenvolvimento deste trabalho.

Ao **Alexandre** e **Emerson**, pela amizade, agradáveis gargalhadas e ajuda durante todos esses anos.

A amiga **Simone**, presente do projeto PROCAD e que mesmo à distância sempre me incentivou e ajudou.

Ao amigo **Rafael** pela amizade e ajuda incondicionais.

A amiga **Patrícia Donaire**, pela ajuda, excelente convivência e apoio demonstrados durante esses anos.

Aos amigos do GIA: **Heronides, Juliana, Lucas, Bitão, Fernandinho, Ney, Flávia, Kássio, Máira, Anderson, Silvia, Saulo, Karime, Pedro, Natália**.

Aos amigos, **Mário Kilner, Camila, Sabrina, Heitor e Fernanda Crivelari**.

A todos os **amigos** e ao prof. Dr. **Wilson Jardim** do LQA.

A todos os **alunos** e profs. Drs. **Mário, Teresa e Edivan** da UFPB, pela acolhida calorosa em João Pessoa, tornando meu trabalho e minha estada lá muito agradáveis.

De forma muito especial, ao funcionário da oficina de mecânica fina do Instituto de Química, **Mário**, pela construção de todas as peças indispensáveis para a realização deste trabalho.

A todos os professores do Instituto de Química que contribuíram de forma direta para a minha formação acadêmica, em especial, aos profs. Drs. **Ronei, Izabel Bueno, Adriana, Solange Cadore e Marco Zezzi**.

Aos funcionários da CPG, em especial a **Bell e Rodrigo**, pela atenção, paciência e ajuda sempre que foram requisitados.

A todos os técnicos dos laboratórios de ensino do Instituto de Química, sempre muito prestativos e atenciosos durante as minhas participações no Programa de Estágio Docência, em especial ao **Divino**.

Ao **CNPq** pela bolsa concedida.

À **CAPES** pelo auxílio para participação no programa PROCAD.

Ao **CTPETRO/FINEP** pelo financiamento do trabalho.

Enfim, a todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para realização desse trabalho.

CURRÍCULO VITAE

Formação Acadêmica/Titulação

- 2002 – 2006 Doutorado em Química.
Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, Campinas, Brasil
Título: Uso da espectroscopia de correlação bidimensional (2D) e construção e avaliação de um espectropolarímetro para a região do Infravermelho Próximo (NIR)
Orientador: Prof. Dr. Celio Pasquini
Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
- 2000 - 2002 Mestrado em Química.
Universidade de Brasília, UNB, Brasília, Brasil
Título: Comportamento voltamétrico do Se(IV) em eletrodos de ouro obtidos de CDs graváveis: aplicação em um sistema de análise química por injeção em fluxo (FIA), Ano de obtenção: 2002
Orientador: Prof Dr. Jurandir Rodrigues de Souza
Bolsista do(a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
- 1995 - 1999 Graduação em Química Licenciatura.
Universidade Federal do Maranhão, UFMA, Sao Luis, Brasil
Título: Caracterização espectrofotométrica do amarelo de alizarina R e do seu complexo com Cu(II) para fins analíticos
Orientador: Profa. Dra. Aldaléa Brandes Marques
Bolsista do(a): Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Maranhão
-

Artigos completos publicados em periódicos

1.
PEREIRA, C. F., PASQUINI, C.
Espectroscopia de Correlação Bidimensional: Fundamentos, Aplicações e Perspectivas. Química Nova. 29 (1), 143 – 148, 2006.
2.
PEREIRA, C. F., GONZAGA, F. B., GUARITA-SANTOS, A. J. M., SOUZA, J. R.
Determination of Se(IV) by anodic stripping voltammetry using gold electrodes made from recordable CDs. Talanta. , 2005 (*no prelo*).
3.
GONZAGA, F. B., PEREIRA, C. F., GUARITA-SANTOS, A. J. M., SOUZA, J. R.
Development of an automatic electrochemical System for differential pulse amperometry and its application for Se(IV) determination. Electroanalysis. 17(22): 2084-2089 , 2005.

4.

PEREIRA, C. F., MARQUES, A. L. B., MARQUES, E. P., FERNANDES, E. N.
Potencialidades analíticas do sistema Cu(II)-Amarelo de Alizarina R: Um novo procedimento espectroanalítico para determinação de Cu(II) no nível de micromolar e estudos de equilíbrios em solução. Revista Analytica. São Paulo/SP: , v.2, n.4, p.53 - 58, 2003.

Trabalhos resumidos publicados em anais de evento

19 trabalhos apresentados em reuniões anuais da Sociedade Brasileira de Química (SBQ), Associação Brasileira de Química (ABQ), Encontros Nacionais de Química Analítica (ENQA) e Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica (SIBEE).

Prêmios e Títulos

- 1999 Menção Honrosa de Melhor Aluna do Curso de Química Licenciatura, Universidade Federal do Maranhão
 - 1999 3º Lugar na XII jornada Brasileira de Iniciação Científica, Associação Brasileira de Química (ABQ)
 - 1998 2º Lugar na III Jornada Científica do III ENQUIMA (Encontro de Química do Maranhão), Universidade Federal do Maranhão
-

RESUMO

USO DA ESPECTROSCOPIA DE CORRELAÇÃO BIDIMENSIONAL (2D) E CONSTRUÇÃO E AVALIAÇÃO DE UM ESPECTROPOLARÍMETRO PARA A REGIÃO DO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (NIR)

A espectroscopia de correlação bidimensional (2D) foi utilizada neste trabalho como ferramenta de seleção de variáveis espectrais na região do infravermelho próximo (NIR) para a determinação dos seguintes parâmetros de qualidade de gasolinas: teor de etanol, MON e RON. Para tanto, foi sugerido um sistema de perturbação de concentração em fluxo. Tal sistema apresenta algumas vantagens em relação aos sistemas de perturbação em batelada: os experimentos são realizados em sistema fechado; uma maior velocidade na aplicação da perturbação é obtida, além de se trabalhar em micro-escala. Em outra etapa do trabalho, sugeriu-se a construção de um espectropolarímetro baseado em Filtro Óptico Acústico Sintonizável (AOTF) que opera na região do Infravermelho próximo (800 – 1600 nm). A medida de rotação óptica no instrumento proposto é feita utilizando-se a razão entre os dois feixes difratados pelo AOTF (espectro de rotação óptica), a qual é proporcional ao ângulo de rotação da luz polarizada imposto pela amostra. O instrumento foi empregado na obtenção de espectros de rotação óptica na região NIR de sacarose, glicose, frutose e cânfora. Esses espectros são proporcionais às concentrações das espécies estudadas e curvas analíticas com bons coeficientes de correlação foram obtidas.

ABSTRACT

USE OF TWO-DIMENSIONAL CORRELATION SPECTROSCOPY AND CONSTRUCTION AND EVALUATION OF A NEAR-INFRARED SPECTROPOLARIMETER

The two-dimensional correlation spectroscopy was used in this work as a tool for spectral variable selection in the near-infrared (NIR) region aiming the determination of the following quality parameters of gasoline: ethanol content, MON (Motor Octane Number) and RON (Research Octane Number). To achieve this objective, it was developed a flow system to automated the perturbation by concentration. This system presents some advantages in relation to batch systems employed to the same purpose: the experiments are accomplished in a closed system; a greater velocity in the application perturbation can be obtained and the experiments are made in micro-scale. In another part, this work presents the construction of a spectropolarimeter based on the acousto-optic tunable filter (AOTF), which works on the near-infrared region (800 – 1600 nm). The measure of optical rotation on the instrument is made using the ratio between two diffracted beams by the AOTF (optical rotation spectrum), which is proportional to the rotation angle of the polarized light imposed by the sample. The instrument was applied in the investigation of NIR optical rotation spectra of sucrose, glucose, fructose and camphor. These spectra are proportional to the concentration of species studied and analytical curves with good correlation coefficients were obtained.

ÍNDICE

	p.
LISTA DE FIGURAS	xxiii
LISTA DE TABELAS	xxxv
PARTE I	
I.1. INTRODUÇÃO	1
I.1.1. Histórico	2
I.1.2. Espectroscopia de Correlação Bidimensional (2D) Generalizada	6
I.1.2.1. Análise de correlação 2D	7
I.1.2.1.1. Espectro dinâmico	7
I.1.2.1.2. Função de correlação 2D	8
I.1.2.1.3. Cálculo do espectro de correlação 2D síncrono	9
I.1.2.1.4. Cálculo do espectro de correlação 2D assíncrono	10
I.1.2.1.5. Informações provenientes dos espectros de correlação 2D síncrono e assíncrono	10
I.1.3. Espectroscopia no Infravermelho Próximo (NIR)	11
I.1.3.1. Princípios da espectroscopia NIR	12
I.1.3.1.1. Oscilador harmônico	12
I.1.3.1.2. Oscilador Anarmônico	15
I.2. OBJETIVOS	17
I.3. PARTE EXPERIMENTAL	19
I.3.1. Instrumentação	19
I.3.1.1. Espectrofotômetro NIR	19
I.3.1.2. Perturbação de concentração para geração dos espectros de correlação 2D	19
I.3.1.2.1. Obtenção dos espectros de correlação 2D	22
I.3.2. Teor de etanol em gasolinas	22
I.3.3. Avaliação dos parâmetros MON e RON em gasolinas de Petroquímica	23
I.3.4. Tratamento Quimiométrico dos Dados	24

I.4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
I.4.1.	Sistema de Perturbação em Fluxo	25
I.4.2.	Robustez de Modelos de Calibração Multivariada para Previsão de Teor de Etanol em Gasolina	26
I.4.3.	Previsão de MON e RON em gasolinas de Petroquímica	35
I.5.	CONCLUSÃO	49
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51
	PARTE II	
II.1.	INTRODUÇÃO	57
II. 1.1.	Origem da Atividade Óptica	58
II. 1.2.	Técnicas Utilizadas para Medida de Substâncias Opticamente Ativas	60
II. 1.2.1.	Medidas Vibracionais de Substâncias Opticamente Ativas	64
II.2.	OBJETIVOS	71
II.3.	PARTE EXPERIMENTAL	73
II.3.1.	Montagem do Instrumento Proposto	73
II.3.1.1.	Polarizador	75
II.3.2.	Filtro Óptico Acústico Sintonizável (AOTF)	76
II.3.2.1.	Calibração do Comprimento de Onda	77
II. 3.3.	Reagentes e Soluções	77
II.4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	79
II.4.1.	Calibração do Comprimento de onda	79
II.4.2.	Características Gerais do Instrumento Construído	83
II.4.3.	Medidas de Rotação Óptica no Espectropolarímetro Construído	85
II.4.4.	Avaliação do Comportamento do Instrumento Construído para Medidas de Rotação Óptica	90
II.4.5.	Avaliação Preliminar de Medidas do Efeito Cotton na Região do Infravermelho Próximo	100
II.5.	CONCLUSÃO	105
II.6.	PERSPECTIVAS FUTURAS	107
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	108

LISTA DE FIGURAS

	p.
Figura I.1 – Esquema geral de obtenção de espectros de correlação 2D	7
Figura I.2 – Representação de mapa de contorno para: (a) Espectro de correlação 2D síncrono; (b) Espectro de correlação 2D assíncrono	11
Figura I.3 – Modelo dipolo vibracional para moléculas ativas no infravermelho	13
Figura I.4 – Variação de energia potencial em função da distância internuclear para: (A) oscilador harmônico, (B) oscilador anarmônico. d_e = distância de equilíbrio (U = mínimo)	15
Figura I.5 – Diagrama do sistema de fluxo para perturbação de concentração. S, amostra e R, solução de perturbação; P, bomba peristáltica Ismatec® (tubos de teflon); V_1 e V_2 , válvulas solenóides de três vias para comutação dos reagentes (desligadas); C, câmara de mistura com agitação magnética (volume = 1,6 mL); D, célula de detecção (caminho óptico ~5 mm); E, agitador magnético; F_1 e F_2 , fibras ópticas para transportar radiação para a célula e coletar a fração não absorvida que passa da célula para o espectrofotômetro NIR; W, descarte	20
Figura I.6 – Foto geral do sistema de perturbação de concentração em fluxo. (a) bomba peristáltica, (b) válvulas solenóides, (c) câmara de mistura dos reagentes, (d) célula de detecção, (e) espectrofotômetro NIR Brimrose	21
Figura I.7 – (a) Espectros NIR obtidos para misturas etanol + tolueno (4% - 96 v/v). (b) Previsão do teor de tolueno para perturbação de tolueno sobre etanol no sistema em fluxo proposto	25
Figura I.8 – Espectro NIR da gasolina C. (a) segundo sobretom de deformação axial C – H; (b) segundo sobretom do estiramento O – H; (c) primeiro sobretom de deformação axial C – H	26
Figura I.9 – Espectros NIR de gasolina C com perturbação de concentração de etanol. Faixa espectral: 850 – 1800 nm, caminho óptico = 5,0 mm	27

Figura I.10 – Mapas de contorno para espectros de gasolina C perturbados com etanol. (A) 1142 – 1158 nm; (B) 1176 – 1186 nm; (C) 1190 – 1210 nm; (D) 1454 – 1662 nm; (E) 1678 – 1690 nm. Picos positivos em vermelho, picos negativos em preto	28
Figura I.11 – (a) Gráfico de scores da primeira e segunda componentes principais da Análise de Componentes Principais (PCA) para amostras de gasolinas (teor de etanol = 10 – 30% v/v), (b) Gráfico de Loadings	30
Figura I.12 – Espectros de absorção da gasolina C, tolueno e etanol. Regiões de absorção dos grupos: (a) C–H de aromático; (b) e (c) metila e metileno, (d) metila/OH e metileno/OH, (e) O–H e (f) OH/C–H de aromático	32
Figura I.13 – (a) Gráfico de scores da primeira e segunda componente principal da Análise de Componentes Principais (PCA) para amostras de gasolinas não adulteradas (GN) e adulteradas (GT) com 10% de tolueno (teor de etanol = 10 – 30% v/v), (b) Gráfico de Loadings para PC1 e PC2	33
Figura I.14 – Gráfico de scores para a Análise de Componentes Principais (PCA) para amostras de gasolinas tipo A de petroquímica utilizadas para previsão de MON e RON	35
Figura I.15 – Espectros NIR da gasolina tipo A produzida pela BRASKEM S/A, medidos com sonda de transflectância com caminho óptico de 1 mm. Faixa de 850 a 1800 nm ($\Delta\lambda = 2$ nm) e média de 300 varreduras	36
Figura I.16 – Espectros de correlação 2D síncronos para perturbação de concentração de octano sobre gasolina tipo A (representação de mapa de contorno). (a) faixa espectral = 1100 – 1300 nm; (b) faixa espectral = 1300 – 1800 nm	37
Figura I.17 – Espectros de correlação 2D síncronos para perturbação de concentração de iso-octano sobre gasolina tipo A (representação de mapa de contorno). (a) faixa espectral = 1100 – 1300 nm; (b) faixa espectral = 1300 – 1800 nm	38
Figura I.18 – Espectros de correlação 2D síncronos para perturbação de concentração de tolueno sobre gasolina tipo A (representação de mapa de contorno). (a) faixa espectral = 1100 – 1300 nm; (b) faixa espectral = 1300 – 1800 nm	39

Figura I.19 – Variância total explicada com os modelos construídos para a previsão de MON utilizando todas as variáveis espectrais (■), espectroscopia de correlação 2D (●) e Loadings/Coefficientes de Regressão (▲)	42
Figura I.20 – Gráfico de coeficientes de regressão para as seis componentes principais sugeridas para explicar a maior variância dos dados espectrais para o parâmetro MON	43
Figura I.21 – Variáveis selecionadas com o APS para previsão de MON em gasolinas tipo A	44
Figura I.22 – Variância total explicada com os modelos construídos para previsão de RON utilizando todas as variáveis espectrais (■), espectroscopia de correlação 2D (●) e Loadings/Coefficientes de Regressão (▲)	45
Figura I.23 – Gráficos de coeficientes de regressão para as seis componentes principais sugeridas para explicar a maior variância dos dados espectrais para o parâmetro RON	46
Figura I.24 – Variáveis selecionadas com o APS para previsão de RON em gasolinas tipo A	47
Figura II.1 – Propagação da luz (a) não-polarizada, (b) plano-polarizada, (c) circularmente polarizada para a direita	59
Figura II.2 – Rotação da luz polarizada por um material quiral	60
Figura II.3 – Curvas ORD na região espectral UV/Vis. (a) substância que não apresenta absorção, (b) substância que apresenta absorção. (---) espectro de absorção, (—) curva ORD. $[\Phi]$ = rotação molar	62
Figura II.4 – Espectro hipotético de absorção normal e seu correspondente espectro CD	63
Figura II.5 – Esquema geral do espectropolarímetro proposto. (a) Lente colimadora de radiação, (b) modulador mecânico, (c) polarizador, (d) célula de medida, 10 cm, (e) AOTF, (f) e (g) detectores de InGaAs	73

Figura II.6 –	Fotos do espectropolarímetro construído. (a) Visão geral do instrumento: (1) modulador mecânico (frequência de 1 KHz), (2) gerador de rf, (3) controlador de potência da fonte de radiação, (4) amplificadores do tipo Lock-in. (b) Detalhe das partes principais do instrumento, (5) Fonte de radiação tungstênio-halógena, (6) lente colimadora de radiação, (7) polarizador, (8) célula de medida, (9) AOTF, (10) detectores InGaAs	74
Figura II.7 –	Transmitância e contraste em função do comprimento de onda do polarizador ColorPol® IR 1300 BC5 utilizado	75
Figura II.8 –	Filtro Óptico Acústico Sintonizável (AOTF)	77
Figura II.9 –	Espectros de absorção NIR do clorofórmio em função do comprimento de onda. Referência = CCl ₄ , (a) caminho óptico = 0,5 cm, faixa espectral: 800 – 1600 nm, (b) caminho óptico = 5,0 cm, faixa espectral: 850 – 1100 nm. Medida em espectrofotômetro NIR com transformada de Fourier da AMM Bomen Inc	79
Figura II.10 –	Espectros de absorção NIR em função da radiofrequência aplicada ao AOTF utilizado no instrumento construído. (a) clorofórmio puro e (b) sua solução (1:5) v/v em CCl ₄ . Referência = CCl ₄ , caminho óptico = 10 cm	80
Figura II.11 –	Curvas exponenciais geradas para calibração dos comprimentos de onda para os dois feixes difratados pelo AOTF. (a) Feixe de direita, (b) Feixe da esquerda	82
Figura II.12 –	Espectro de absorção para solução 1:5 (v/v) de clorofórmio em tetracloreto de carbono. Medida no espectropolarímetro construído. Caminho óptico = 10 cm, resolução espectral = 0,5 nm. (a) toda a faixa espectral (800 – 1600 nm), (b) detalhe para a região 1120 – 1240 nm	83
Figura II.13 –	Tela principal de acesso do programa desenvolvido em Visual Basic 5.0 para aquisição dos dados no instrumento construído	84
Figura II.14 –	(a) Comportamento do espectropolarímetro quando uma substância opticamente inativa (água) está presente na célula de medida. (b) Sinais semelhantes obtidos para os dois detectores sob essa condição. DD = Detector da direita, DE = Detector da esquerda	86

- Figura II.15** – (a) Comportamento do espectropolarímetro quando uma substância opticamente ativa (sacarose → rotação óptica em 589 nm = +66,5°) está presente na célula de medida. (b) Sinais diferentes obtidos para os dois detectores, intensidade do detector da direita (DD) maior que para o detector da esquerda (DE) 87
- Figura II.16** – (a) Comportamento do espectropolarímetro quando uma substância opticamente ativa (frutose) está presente na célula de medida. (b) Sinais diferentes obtidos para os dois detectores, intensidade do detector da esquerda (DE) maior que para o detector da direita (DD) 88
- Figura II.17** – Comportamento dos feixes difratados pelo AOTF. (a) Situação inicial dos feixes para $\cotg\theta = \cotg 45^\circ = 1$. (b) Situação dos feixes após passar através de uma substância dextrógira ($\cotg\theta = I_{DD}/I_{DE} > 1$). (c) Dependência do ângulo de rotação e sua cotangente 89
- Figura II.18** – Espectros de transmissão para água. Caminho óptico = 10 cm, DD = Detector feixe da direita, DE = detector feixe da esquerda. (a) sem correção, (b) com correção 91
- Figura II.19** – (a) Espectros de rotação óptica para soluções aquosas de sacarose (5 – 25% m/v); (b) Espectros de rotação óptica para soluções aquosas de sacarose utilizando-se água como referência. Caminho óptico = 10 cm, θ = ângulo de rotação em graus 92
- Figura II.20** – Curvas analíticas obtidas para rotação óptica da sacarose em diferentes comprimentos de onda. (a) Dados originais, $\theta_{840\text{ nm}}^\circ = 1,10 + 0,572x$, $\theta_{880\text{ nm}}^\circ = 0,495 + 0,533x$, $\theta_{1080\text{ nm}}^\circ = -0,279 + 0,358x$. (b) Dados após subtração do sinal da água, $\theta_{840\text{ nm}}^\circ = 0,553 + 0,572x$, $\theta_{880\text{ nm}}^\circ = 0,295 + 0,533x$, $\theta_{1080\text{ nm}}^\circ = -0,196 + 0,358x$ 94
- Figura II.21** – (a) Espectros de rotação óptica para soluções aquosas de glicose (5 – 25% m/v), referência: água; (b) Curvas analíticas obtidas para rotação óptica em diferentes comprimentos de onda. $\theta_{840\text{ nm}}^\circ = 0,457 + 0,441x$, $\theta_{880\text{ nm}}^\circ = 0,599 + 0,415x$, $\theta_{1080\text{ nm}}^\circ = 0,166 + 0,269x$ 95
- Figura II.22** – (a) Espectros de rotação óptica para soluções aquosas de frutose (5 – 25% m/v), referência: água; (b) Curvas analíticas obtidas para rotação óptica em diferentes comprimentos de onda. $\theta_{840\text{ nm}}^\circ = -0,439 - 0,741x$, $\theta_{880\text{ nm}}^\circ = -0,454 - 0,665x$, $\theta_{1080\text{ nm}}^\circ = -0,149 - 0,453x$ 96

- Figura II.23** – (a) Espectros de absorção obtidos em um instrumento comercial (Bomen) para soluções de frutose, glicose e sacarose. Referência = água, caminho óptico = 5 cm. (b) Espectros de reflectância para açúcares frutose, glicose e sacarose. Referência = spectralon 99% 98
- Figura II.24** – Espectros de transmissão para solução aquosa de sacarose 15% (m/v) com diferentes intensidades da fonte de radiação. (a) detector da direita. (b) Detector da esquerda. (c) Espectros de rotação óptica para as diferentes intensidades da fonte; I, obtidos com feixes gerados pela mesma intensidade e II, obtidos com feixes a duas intensidades (sistema de feixe único) 99
- Figura II.25** – Espectros de absorção para solução de (\pm) cânfora 30% (m/v) em CCl_4 na faixa espectral de 850 – 1600 nm. Medidas realizadas no espectropolarímetro construído (caminho óptico = 10 cm) e em um espectrofotômetro comercial NIR com transformada de Fourier da AMM Bomen Inc. (caminho óptico = 5,0 cm). Referência = CCl_4 101
- Figura II.26** – Espectros de rotação óptica da (\pm) cânfora na faixa espectral 1000 – 1300 nm. Referência: CCl_4 , célula de medida = 10 cm 102
- Figura II.27** – (a) Espectros de absorção da solução de clorofórmio (1/5 v/v) em CCl_4 nos dois detectores, DD, detector da direita, DE, detector da esquerda. Referência: CCl_4 . (b) Espectro de rotação óptica do clorofórmio para a solução descrita em (a) 103
- Figura II.28** – Espectros de rotação óptica para (+) cânfora utilizando (\pm) cânfora como referência. Em azul, espectro de absorção para (\pm) cânfora 104

LISTA DE TABELAS

	p.
Tabela I.1 – Resultados dos erros de previsão (RMSEP) para o teor de etanol (%v/v) em gasolinas, empregando diferentes formas de seleção de regiões espectrais na região NIR e amostras externas aos modelos de calibração	29
Tabela I.2 – Valores calculados do teste F, com 95% de confiança, para os erros de previsão (RMSEP) para o teor de etanol (%v/v) em gasolinas, empregando diferentes formas de seleção de regiões espectrais na região NIR e amostras externas aos modelos de calibração	31
Tabela I.3 – Resultados dos erros de previsão (RMSEP) para o teor de etanol (%v/v) em gasolinas, empregando diferentes formas de seleção de regiões espectrais na região NIR. Modelos de calibração incluindo amostras de gasolinas não adulteradas e adulteradas com 10% de tolueno.	34
Tabela I.4 – Valores calculados do teste F, com 95% de confiança, para os erros de previsão (RMSEP) para o teor de etanol (%v/v) em gasolinas, empregando diferentes formas de seleção de regiões espectrais na região NIR e amostras externas aos modelos de calibração. Modelos incluindo amostras de gasolinas não adulteradas e adulteradas com 10% de tolueno	34
Tabela I.5 – Regiões espectrais selecionadas pela espectroscopia de correlação 2D para perturbações de concentração de octano, iso-octano e tolueno sobre gasolina tipo A	40
Tabela I.6 – Resultados dos erros médios de previsão (RMSEP), número de variáveis espectrais, componentes principais e coeficientes de correlação para o parâmetro MON em gasolinas da BRASKEM S/A, empregando diferentes formas de seleção de regiões espectrais (NIR) e amostras externas aos modelos de calibração	41
Tabela I.7 – Valores calculados do teste F, com 95% de confiança, para os erros de previsão (RMSEP) para o parâmetro MON em gasolinas da BRASKEM S/A, empregando diferentes formas de seleção de regiões espectrais (NIR) e amostras externas aos modelos de calibração	41

Tabela I.8 –	Resultados dos erros médios de previsão (RMSEP), número de variáveis espectrais, componentes principais e coeficientes de correlação para o parâmetro RON em gasolinas da BRASKEM S/A, empregando diferentes formas de seleção de regiões espectrais (NIR) e amostras externas aos modelos de calibração	45
Tabela I.9 –	Valores calculados do teste F, com 95% de confiança, para os erros de previsão (RMSEP) para o parâmetro RON em gasolinas da BRASKEM S/A, empregando diferentes formas de seleção de regiões espectrais (NIR) e amostras externas aos modelos de calibração	45
Tabela II.1 –	Bandas de absorção do clorofórmio na faixa espectral de 800 – 1600 nm e seus correspondentes valores de frequência em MHz	81

I.1. INTRODUÇÃO

A espectroscopia de correlação bidimensional é uma técnica que representa graficamente a intensidade da correlação espectral em função de duas variáveis espectrais independentes (i.e. frequência ou comprimento de onda). Ou seja, dois eixos ortogonais de variáveis espectrais independentes definem o plano espectral 2D e a intensidade da correlação espectral é representada ao longo do terceiro eixo. Através desses espectros 2D é possível obter: simplificação de espectros complexos que consistem de muitas bandas ou picos sobrepostos; melhor resolução espectral através da expansão dos picos sobre a segunda dimensão e identificação de várias interações inter e intramoleculares através da correlação seletiva dos picos [1].

A idéia de expandir picos espectrais através da segunda dimensão, a fim de melhorar a interpretação e atribuição das bandas de espectros complexos além da investigação de interações inter e intramoleculares, surgiu na espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) há mais de 30 anos atrás [1 – 2]. Atualmente esta idéia é amplamente utilizada em RMN e em outras diferentes técnicas espectroscópicas como: Infravermelho Médio (MIR), Infravermelho Próximo (NIR), Fluorescência e Espalhamento Raman. Entretanto, o conceito básico de obtenção de espectros 2D em RMN é diferente do utilizado nas demais técnicas espectroscópicas. O maior obstáculo em se adotar um procedimento experimental semelhante ao usado em RMN advém da diferença entre as velocidades de relaxação vibracional (*picosegundos*) encontradas nas demais técnicas espectroscópicas e as velocidades de relaxação de *spin* típicas (*microsegundos ou maiores*) encontradas em RMN [2].

Em RMN 2D, os dados são coletados em função do tempo t_2 (tempo de detecção) e antes de se obter o sinal de FID (*decaimento livre de indução*) o sistema é perturbado por um pulso por um período t_1 . A transformada de Fourier do FID em função de t_2 para um t_1 fixo fornece um espectro 1D. O processo é, então, repetido para vários valores de t_1 , fornecendo assim um espectro bidimensional em termos das duas variáveis ν_1 e ν_2 ou às vezes, dos parâmetros

de deslocamento químico δ_1 e δ_2 [3]. Nas outras técnicas espectroscópicas, ao contrário, espectros dinâmicos induzidos por perturbação externa (temperatura, pressão, concentração, campo elétrico, etc.) são coletados sucessivamente, e este conjunto de espectros é então manipulado matematicamente, utilizando um esquema de análise de correlação simples, a fim de gerar os espectros 2D [2,4].

Os objetivos principais dessas técnicas são também diferentes. Em RMN 2D procura-se elucidar a estrutura de espécies químicas diferentes, enquanto nas outras técnicas espectroscópicas, são feitas investigações sobre as mudanças estruturais decorrentes dos processos químicos induzidos pela perturbação externa.

O poder e versatilidade da análise de correlação 2D, que atualmente é aplicável a qualquer estudo espectroscópico, podem ser notados pelos diferentes trabalhos citados na literatura, incluindo as mais diferentes matrizes como: polímeros [5 –11], cristais líquidos [6, 12], moléculas biológicas (proteínas, enzimas, etc.) [13 – 22] e alimentos [23 – 26].

No presente trabalho, avaliou-se o uso da espectroscopia de correlação bidimensional (2D) para a seleção de regiões espectrais do Infravermelho Próximo (NIR) para a determinação dos seguintes parâmetros de qualidade de gasolinas: teor de etanol, MON e RON. Para tanto, foi proposto e utilizado um sistema de perturbação de concentração em fluxo.

I. 1.1. Histórico

O conceito básico da análise de correlação bidimensional surgiu na espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) e foi sugerido pelo físico Belga Jean Jeener em **1971** durante o *AMPERE Summer School* [27 - 28]. A idéia inicial da RMN 2D se desenvolveu a partir do estudo de Jeener sobre processos de relaxação spin em cristais líquidos. Ele propôs um experimento com dois pulsos de 90° no domínio do tempo (separados por um intervalo de tempo t_1) e aplicação da transformada de Fourier não somente no FID seguinte ao segundo pulso, mas também realizar uma segunda transformação de Fourier em relação a

variável tempo, t_1 . Tal procedimento deu origem a um espectro com duas dimensões de frequências diferentes [27 - 28].

Nos anos seguintes, o experimento original de Jeener passou a ser conhecido como **COSY** (**CO**rrelated **S**pectroscop**Y**), cujo espectro fornece correlações para núcleos semelhantes (p.ex. ^1H com ^1H). Em **1977**, a correlação 2D heteronuclear (**HETCOR** – **HET**eronuclear **COR**relation) dos deslocamentos químicos ^{13}C e ^1H foi proposta quase que simultaneamente pelos grupos de Ernst e Freeman (Universidade de Oxford) [29 - 30]. Esses mesmos grupos demonstraram até o final da década de **70**, o poder da RMN 2D em estudos de líquidos. Paralelamente, Alex Pines (Universidade da Califórnia) e John Waugh (MIT) realizavam diferentes experimentos RMN 2D com sólidos [28].

A utilização de uma segunda dimensão para melhorar a interpretação e atribuição das bandas de espectros complexos além da investigação de interações inter e intramoleculares ficou, até meados da década de **80**, limitada a RMN, sendo desprezada pelas demais técnicas espectroscópicas. Uma possível razão para isto pode ser a dificuldade aparente em se adotar, nas demais técnicas espectroscópicas, um procedimento experimental baseado na aplicação de pulsos múltiplos de radiofrequência (rf) empregados com sucesso em RMN. As técnicas espectroscópicas mais comuns como, IR, NIR, Fluorescência e Raman são governadas por fenômenos físicos que apresentam escalas de tempo muito diferentes das encontradas em RMN. As vibrações moleculares são muito mais rápidas (picosegundos) que os processos de relaxação spin (microsegundos ou mais) encontradas em RMN. Então, a utilização do esquema básico de RMN usando pulsos múltiplos de excitação só é possível com a utilização de pulsos ópticos ultra-rápidos, o que é inviável com os espectrômetros comerciais convencionais.

Para contornar essa dificuldade aparente de aplicação da análise correlação 2D às demais técnicas espectroscópicas, uma primeira proposta foi sugerida por Noda em **1986** [1]. Ele propôs a espectroscopia de correlação bidimensional no Infravermelho Médio (IR 2D). Entretanto, o procedimento

experimental desenvolvido por Noda para a espectroscopia IR 2D é um tanto diferente daquele empregado em RMN 2D. Ao contrário dos métodos de Transformada de Fourier dupla sobre os pulsos múltiplos de excitação empregados em RMN 2D, uma análise de correlação cruzada simples no domínio das frequências foi aplicada a sinais IR dinâmicos com variação senoidal, a fim de obter espectros de correlação IR 2D.

A técnica IR 2D foi originalmente empregada para analisar dados obtidos de estudos reo-ópticos de polímeros. Esses estudos foram planejados para investigar respostas no nível molecular de amostras que sofrem deformações contínuas e subsequentes relaxações. Uma tensão oscilante de amplitude pequena (i. e. perturbação mecânica) na faixa de frequência acústica foi aplicada a um filme polimérico fino, e as reorientações dinâmicas, resultantes das transições de momentos de dipolo associadas com os vários grupos químicos, foram monitoradas com luz IR polarizada [1, 4].

Uma vez verificada a eficiência da espectroscopia IR 2D na acentuação de características espectrais não observáveis facilmente nos espectros unidimensionais, a difusão desta técnica no meio científico foi rápida e, muitos exemplos de suas aplicações em estudos de polímeros/cristais líquidos [31 - 34] e moléculas biológicas [35] podem ser encontrados na literatura.

A proposta de correlação 2D citada acima apresenta uma limitação: as variações de intensidades espectrais dinâmicas em função do tempo, isto é, a forma de onda, deve ser uma senóide simples para emprego eficaz do esquema original de análise de dados. Por essa razão, em **1993**, Noda [4] apresentou um formalismo matemático para construção de espectros de correlação 2D aplicável de forma mais ampla e razoavelmente simples, que possibilita a manipulação de variações não lineares de sinais em função do tempo ou qualquer outra variável física. Tal desenvolvimento fez da análise de correlação 2D uma ferramenta espectroscópica universal disponível para um grande número de técnicas (Infravermelho próximo – NIR, Raman, Fluorescência, UV). Noda denominou essa nova técnica espectroscópica como Espectroscopia de correlação 2D

generalizada, cuja forma de obtenção dos dados encontra-se descrita no próximo item.

Ainda no início da década de **90**, Noda sugeriu a espectroscopia de correlação 2D heteroespectral, que como o próprio nome sugere, consiste na correlação de espectros obtidos em diferentes regiões espectrais [1, 4]. Tal correlação é um dos mais atrativos campos da espectroscopia de correlação 2D, pois através da mesma pode-se obter informações relevantes sobre o sistema em estudo. Por exemplo, a atribuição de bandas no NIR torna-se muito mais fácil quando as mesmas apresentam correlação com bandas da região MIR, cujas atribuições são bem estabelecidas.

Uma das primeiras aplicações da espectroscopia de correlação bidimensional generalizada foi em espectroscopia Raman em **1993**. EBIHARA *et al.* [36] interpretaram as mudanças de intensidade Raman após foto-excitação do radical aniônico benzil em dimetil sulfóxido (DMSO), na faixa de tempo de nanosegundos.

Em **1995**, a espectroscopia de correlação 2D foi aplicada pela primeira vez à região do infravermelho próximo (NIR). Este trabalho investigou variações espectrais dependentes da temperatura do álcool oleil (cis-9-octadecenol 1) [37]. Tal estudo foi de extrema importância porque revelou informações espectrais não acessíveis nos espectros unidimensionais. Por exemplo, a análise mostrou que a banda em 7090 cm^{-1} devido ao primeiro sobretom do modo de estiramento OH do álcool monomérico consiste de duas bandas que surgem do isomerismo rotacional do grupo OH livre. A partir desse estudo, vários outros empregando a técnica NIR 2D para analisar variações espectrais dependentes da temperatura de diferentes compostos como N-metil acetamida (NMA) [38] e Nylon 12 [39], foram propostos. No final da década de **90**, estudos avaliando variações espectrais dependentes da concentração de gordura e proteína no leite [24] e investigação sobre o processo de desnaturação da ovalbumina em soluções aquosas [40], foram relatados na literatura.

O ano de **1995** foi marcado pela primeira aplicação do método de correlação 2D na espectroscopia de fluorescência (FCS 2D). Tal procedimento foi proposto por Roselli *et al.* para investigar os dois sítios ligantes de Yb^{3+} na proteína ***transferrina*** usando uma série de espectros de emissão coletados em vários comprimentos de onda de excitação (perturbação por excitação de comprimento de onda) [41].

Nos últimos anos, a espectroscopia de correlação 2D tem se tornado cada vez mais popular, e diferentes métodos de perturbação, correlação e tratamentos matemáticos dos espectros de correlação 2D têm sido sugerido na literatura [42 – 45].

O formalismo matemático para construção de espectros de correlação 2D que tornou popular a aplicação da espectroscopia de correlação bidimensional estendendo-a as demais técnicas espectroscópicas é apresentado a seguir.

I.1.2. Espectroscopia de Correlação Bidimensional (2D) Generalizada

A Figura I.1 mostra o esquema básico de um experimento de espectroscopia de correlação 2D baseado em uma perturbação externa. Tal perturbação pode ser aplicada na forma de pulsos ou até de forma estática, variando-se uma propriedade como a pressão, concentração ou temperatura do sistema a valores pré-determinados [1].

A perturbação afeta o sistema (amostra) de forma governada pelo mecanismo de interação do estímulo macroscópico com as respostas a nível microscópico ou molecular dos constituintes do sistema. A resposta do sistema à perturbação aplicada, freqüentemente, manifesta-se como variações no espectro óptico (mudanças de intensidade, deslocamento e alteração nas formas das bandas) [1, 4]. O tipo de informação contida no espectro dinâmico depende do tipo de perturbação e do monitoramento (técnica espectroscópica: p.ex. IR, NIR Raman ou Fluorescência) empregado.

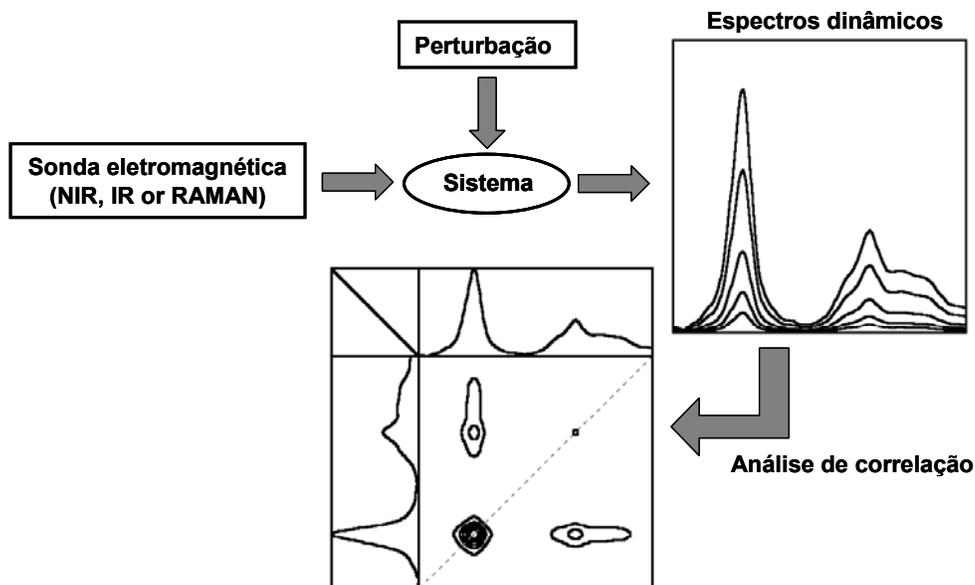


Figura I.1 - Esquema geral de obtenção de espectros de correlação 2D.

I.1.2.1. Análise de correlação 2D

No experimento 2D descrito anteriormente, uma alteração na intensidade espectral $y(\nu, t)$ é observada durante o intervalo de uma variável t entre T_{\min} e T_{\max} . A variável t é tomada na maioria das vezes como sendo o tempo, mas ela pode assumir o valor de outra grandeza física como a pressão, temperatura ou concentração. A variável espectral ν pode ser o deslocamento Raman, o comprimento de onda ou número de onda para a espectroscopia NIR e IR, respectivamente, ou o ângulo de difração de raios-X.

Os espectros de correlação bidimensional (2D) são então gerados a partir das flutuações dinâmicas induzidas pela perturbação externa, calculando-se primeiro os espectros dinâmicos como descrito a seguir.

I.1.2.1.1. Espectro dinâmico

O espectro dinâmico $\tilde{y}(\nu, t)$ de uma amostra afetada pela perturbação é definido como:

$$\tilde{y}(v, t) = \begin{cases} y(v, t) - \bar{y}(v), & \text{para } T_{\min} \leq t \leq T_{\max} \\ 0, & \text{para qualquer outra situação} \end{cases} \quad (1.1)$$

onde $\bar{y}(v)$ é o espectro de referência da amostra ou sistema. O espectro de referência, por sua vez, pode ser obtido de diversas formas. Normalmente esta referência é assumida como o espectro estacionário ou médio definido por:

$$\bar{y}(v) = \frac{1}{T_{\max} - T_{\min}} \int_{T_{\min}}^{T_{\max}} y(v, t) dt \quad (1.2)$$

O espectro de referência pode também ser selecionado como o espectro observado em algum ponto de referência como antes do início da perturbação ($t \rightarrow -\infty$), após seu efeito ter se extinguido ($t \rightarrow +\infty$) ou a um intervalo de tempo fixo após a sua aplicação ao sistema. O espectro de referência pode ainda ser assumido como sendo igual a zero. Nesse caso, o espectro dinâmico se iguala a variação da intensidade espectral observada sob efeito da perturbação.

I.1.2.1.2. Função de correlação 2D

A correlação 2D nada mais é que uma comparação de variações de intensidade espectrais observadas em duas variáveis espectrais diferentes sob um intervalo de observação finito entre T_{\min} e T_{\max} . Portanto, o espectro de correlação pode ser escrito como:

$$X(v_1, v_2) = \frac{1}{\pi(T_{\max} - T_{\min})} \int_0^{\infty} \tilde{Y}_1(\omega) \cdot \tilde{Y}_2^*(\omega) d\omega \quad (1.3)$$

onde:

- 1) $X(v_1, v_2) \rightarrow$ intensidade de correlação 2D;
- 2) $\tilde{Y}_1(\omega)$ e $\tilde{Y}_2^*(\omega)$ são as transformadas de Fourier para as variações dinâmicas de intensidades espectrais observadas em v_1 e v_2 , respectivamente [2, 4].

A função $X(v_1, v_2)$ é tratada convencionalmente como uma função complexa

$$X(v_1, v_2) = \Phi(v_1, v_2) + i\Psi(v_1, v_2) \quad (1.4)$$

compreendendo dois componentes ortogonais conhecidos como intensidades de correlação síncrona e assíncrona, respectivamente. A correlação 2D síncrona $\Phi(v_1, v_2)$ representa as similaridades entre as duas variações espectrais medidas em variáveis espectrais diferentes quando o valor de t é alterado. A correlação 2D assíncrona $\Psi(v_1, v_2)$ pode ser considerada como a não-similaridade das variações espectrais.

I.1.2.1.3. Cálculo do espectro de correlação 2D síncrono

A computação numérica do espectro 2D pode ser implementada com algoritmos que permitem uma simplificação e otimização dos cálculos e do tempo de computação [2]. Para um grupo de m espectros dinâmicos coletados durante o intervalo entre T_{\min} e T_{\max} , ao longo da variável t a intervalos iguais, $\Delta t = (T_{\max} - T_{\min})/(m-1)$, a intensidade de correlação 2D síncrona, usando a

notação matricial: $\begin{vmatrix} \tilde{y}(v, t_1) \\ \vdots \\ \tilde{y}(v, t_m) \end{vmatrix}$, é dada pela expressão:

$$\Phi(v_1, v_2) = \frac{1}{m-1} \sum_{j=1}^m \tilde{y}_j(v_1) \tilde{y}_j(v_2) \quad (1.5)$$

onde $\tilde{y}_j(v_i)$ é a intensidade espectral no ponto da variável física t_j , ou seja:

$$\tilde{y}_j(v_i) = \tilde{y}(v_i, t_j) \quad i = 1, 2. \quad (1.6)$$

Para um conjunto de dados consistindo de espectros que não estão igualmente espaçados sobre t , um procedimento numérico simples, como interpolação ou ajuste de curva, pode convertê-los em um conjunto de dados igualmente espaçados [4].

I.1.2.1.4. Cálculo do espectro de correlação 2D assíncrono

A computação da intensidade de correlação 2D assíncrona é mais complicada existindo diferentes caminhos para estimá-la. Entre esses, provavelmente o mais simples e eficiente método computacional disponível para a estimativa do espectro de correlação 2D assíncrono é:

$$\Psi(v_1, v_2) = \frac{1}{m-1} \sum_{j=1}^m \tilde{y}_j(v_1) \cdot \sum_{k=1}^m N_{jk} \cdot \tilde{y}_k(v_2) \quad (1.7)$$

onde N_{jk} corresponde aos elementos da j_{th} linha e k_{th} coluna da matriz de transformação discreta de Hilbert-Noda [2], os quais são dados por:

$$N_{jk} = \begin{cases} 0 \text{ (zero)} & \text{se } j = k \\ 1 / \pi (k - j) & \text{em qualquer outra situação} \end{cases} \quad (1.8)$$

I.1.2.1.5. Informações provenientes dos espectros de correlação 2D síncrono e assíncrono

O espectro de correlação 2D síncrono (Figura 1.2a) representa mudanças de intensidade espectrais simultâneas ou coincidentes, e constitui-se de: *auto-picos* (presentes na linha diagonal), cuja intensidade reflete as regiões do espectro que alteram sua intensidade sob efeito da perturbação externa e *picos cruzados* (localizados fora da diagonal) que informam sobre as mudanças de intensidade espectral entre duas variáveis espectrais diferentes v_1 e v_2 .

Em um espectro 2D síncrono, picos cruzados negativos indicam que as mudanças de intensidade observadas em duas coordenadas espectrais ocorrem em direção oposta, isto é, uma aumenta enquanto a outra diminui. Um

pico cruzado positivo, por outro lado, indica que as mudanças de intensidade estão na mesma direção [1 - 2].

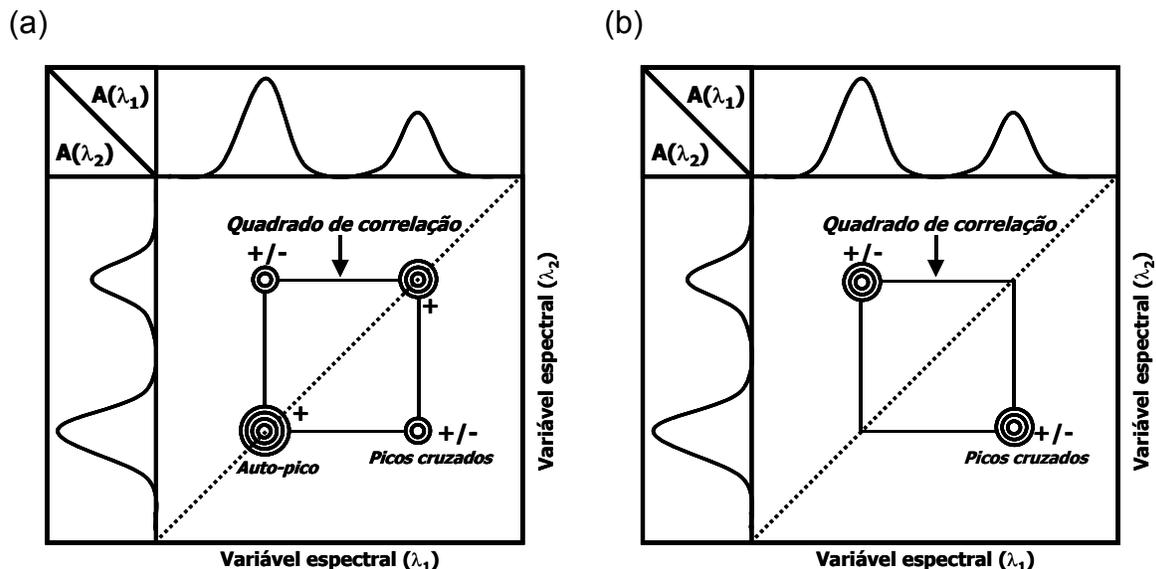


Figura I.2 – Representação de mapa de contorno para: (a) Espectro de correlação 2D síncrono; (b) Espectro de correlação 2D assíncrono.

O espectro de correlação 2D assíncrono (Figura I.2b) informa sobre as respostas espectrais que ocorrem fora de fase com o pulso de perturbação. Essa informação se manifesta na forma de picos que sempre são registrados fora da diagonal do espaço bidimensional. O sinal de um pico assíncrono revela a ordem temporal na qual as intensidades espectrais observadas para as variáveis v_1 e v_2 ocorrem em relação à perturbação. Por exemplo, o sinal será positivo se a alteração de intensidade espectral em v_1 ocorrer predominantemente antes da alteração da intensidade espectral em v_2 , considerando-se a ordem seqüencial da variável externa t [1 - 2].

I.1.3. Espectroscopia no Infravermelho Próximo (NIR)

A região do Infravermelho Próximo (NIR) abrange a faixa espectral de $12.800 - 4.000 \text{ cm}^{-1}$ (780 - 2500 nm) que compreende bandas de absorção correspondentes a sobretons e combinações das vibrações fundamentais, predominantemente de ligações C - H, O - H e N - H. Dentre as vantagens apresentadas por essa técnica, pode-se destacar: simplicidade no preparo das

amostras, natureza não-invasiva e não-destrutiva com alta penetração da radiação na amostra, além dos instrumentos serem mais simples e robustos (quando comparados aqueles da região do Infravermelho Médio – MID), permitindo a monitoração em linha de processos de produção [46 – 49]. A principal desvantagem dessa técnica é sua menor sensibilidade, visto que as bandas de absorção nessa região são menos intensas. Entretanto, essa característica torna possível a análise de amostras com espessuras significativamente superiores aquelas analisadas na região do Infravermelho Médio.

I.1.3.1 Princípios da espectroscopia NIR

A maioria das moléculas, a temperatura ambiente, encontra-se em seus níveis fundamentais de energia. Nessas moléculas, existe um deslocamento dos átomos ou grupos de átomos cuja frequência é definida pela força das ligações existentes entre eles e pela massa de cada desses átomos ou grupos de átomos. As amplitudes dessas vibrações são de poucos nanômetros e serão aumentadas se alguma energia, por exemplo, de um fóton de um dado comprimento de onda (λ), for transferida para a molécula [48 – 49]. A energia (E_p) desse fóton pode ser dada por:

$$E_p = h\nu = \frac{hc}{\lambda} \quad (I.9)$$

onde:

h é a constante de Planck;

c é a velocidade da luz.

I.1.3.1.1 Oscilador harmônico

A absorção de radiação eletromagnética na região do infravermelho (médio e próximo) causa vibrações nas ligações moleculares de maneira similar a um oscilador diatômico (Figura I.3) [47]. Nesse caso, uma molécula diatômica pode ser vista como constituindo de duas massas esféricas (m_1 e m_2) conectadas

por uma mola com uma dada constante de força (k). A energia desse sistema é dada pela Lei de Hooke:

$$E = \frac{h}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}} \quad (1.10)$$

onde μ é a massa reduzida:

$$\mu = \frac{m_1 m_2}{m_1 + m_2} \quad (1.11)$$

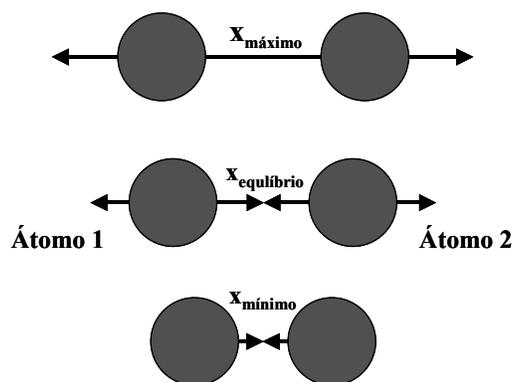


Figura I.3 – Modelo dipolo vibracional para moléculas ativas no infravermelho.

O modelo mais simples para descrever a vibração molecular é a do oscilador harmônico ideal, cuja energia potencial (V) em função do deslocamento dos átomos (x), é dada por:

$$V = \frac{1}{2} kx^2 \quad (1.12)$$

O comportamento da energia potencial, em função do deslocamento dos átomos para posição de equilíbrio (energia mínima), é mostrado na Figura I.4. Apesar de ser útil para o entendimento da energia vibracional, esse modelo, falha para sistemas microscópicos (moléculas). Segundo esse modelo, os sistemas moleculares só podem assumir níveis de energia discretos (E_v) definidos por mecanismos quânticos pela equação:

$$E_{\nu} = \left(\nu + \frac{1}{2} \right) h\nu \quad (1.13)$$

onde ν é o número quântico vibracional, E_{ν} é a energia associada com a ν^{th} nível quântico e ν é a frequência vibracional fundamental. No modelo clássico esta frequência é definida por:

$$\nu = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}} \quad (1.14)$$

Outra restrição do modelo quântico harmônico é que as transições só podem ocorrer entre níveis adjacentes, $\Delta\nu = \pm 1$, de modo que para esse modelo, a diferença de energia entre dois níveis adjacentes é sempre a mesma (Figura 1.4A). Ou seja, todas as transições possuem a mesma frequência que aquela da transição fundamental.

Dois observações experimentais evidenciam que as moléculas não se comportam como osciladores harmônicos ideais: (1) as transições entre níveis de maior energia não tem a mesma frequência que aquela da banda fundamental (isto porque os níveis de energia vibracional não são igualmente espaçados); (2) transições entre níveis não adjacentes são permitidas. Dessa forma, o modelo que explica melhor o comportamento vibracional das moléculas ativas no infravermelho é o do oscilador anarmônico, descrito no próximo item.

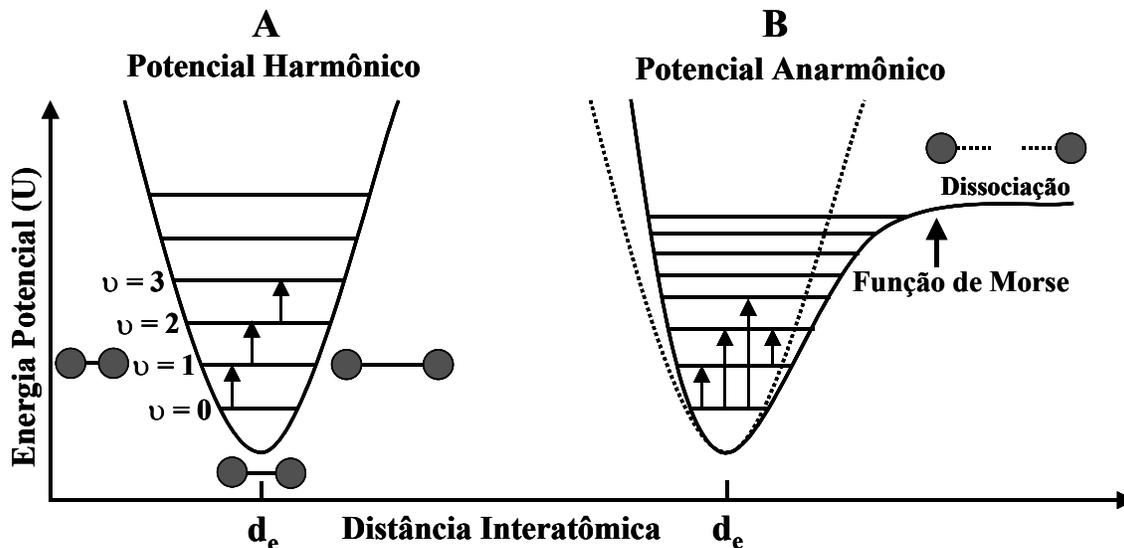


Figura 1.4 – Variação de energia potencial em função da distância internuclear para: (A) oscilador harmônico, (B) oscilador anarmônico. d_e = distância de equilíbrio (U = mínimo)

I.1.3.1.2 Oscilador Anarmônico

O oscilador anarmônico é uma forma mais realista de representar o comportamento das moléculas ativas no infravermelho próximo (Figura 1.4B). Apesar de ainda tratar a molécula como duas esferas ligadas por uma mola, esse modelo considera alguns comportamentos não ideais do oscilador: (1) a repulsão entre núcleos atômicos; (2) comportamento variável da força de ligação quando os átomos movem-se um em relação ao outro [48 – 49].

A expressão de energia potencial para este modelo, inclui termos cúbicos e maiores:

$$V = \frac{1}{2}kx^2 + k'x^3 \dots \text{onde } k' \ll k \tag{I.15}$$

A função de Morse é a equação empírica mais utilizada para descrever a energia potencial da molécula:

$$V = D_e(1 - e^{-\beta x})^2 \tag{I.16}$$

onde D_e é energia de dissociação espectral, β é a uma constante e x o deslocamento dos átomos. Aplicando os mecanismos quânticos à equação de Morse, os níveis vibracionais são então descritos pela equação:

$$E = h\nu\left(\nu + \frac{1}{2}\right) - x_m h\nu\left(\nu + \frac{1}{2}\right)^2 \quad (1.17)$$

na qual x_m é a constante de anarmonicidade da vibração, cujo valor está entre 0,005 e 0,05.

Esse modelo do oscilador anarmônico, apesar de ainda apresentar restrições sobre os possíveis estados de energia das moléculas, prevê a ocorrência de transição com $\Delta\nu \geq 2$ e a existência de bandas de combinação. Esses dois tipos de bandas são as predominantes na região do infravermelho próximo. Além dessas, outras bandas devido a dois outros fenômenos podem ser observados na região NIR, são eles: ressonância de Fermi e ressonância de Darling – Dennison [48 – 49], os quais podem conduzir à complexidade dos espectros NIR na região de combinação de ligações C – H.

A ressonância de Fermi acontece quando dois níveis vibracionais possuem a mesma simetria e apresentam energias semelhantes, resultando assim no desdobramento em duas bandas de absorção, uma com energia maior e outra com energia menor que a esperada. Já a ressonância de Darling – Dennison pode promover, por exemplo, a interação entre dois níveis de sobretom de maior energia de uma molécula e uma banda de combinação, sendo de relativa intensidade para ligações contendo átomos de hidrogênio.

I.2. OBJETIVOS

- ✓ Desenvolver e aplicar um sistema de perturbação de concentração em fluxo para geração de espectros de correlação 2D;
- ✓ Utilizar a espectroscopia de correlação bidimensional na seleção de variáveis e/ou regiões espectrais, no Infravermelho Próximo, a serem utilizadas na determinação multivariada de parâmetros de interesse ao controle de qualidade de gasolinas;
- ✓ Comparar a performance de modelos de calibração multivariada construídos utilizando-se as ferramentas quimiométricas existentes e a espectroscopia de correlação bidimensional.

I.3. PARTE EXPERIMENTAL

I.3.1. Instrumentação

I.3.1.1. Espectrofotômetro NIR

Os espectros na região do Infravermelho Próximo foram obtidos utilizando-se um espectrômetro Brimrose modelo Luminar 2000 que opera na faixa espectral de 850 a 1800 nm. Esse instrumento utiliza um Filtro Óptico Acústico Sintonizável (AOTF) como monocromador e um detector de Arseneto de Gálio e Índio (InGaAs). Cada espectro medido nesse instrumento, contendo 475 pontos igualmente espaçados em comprimento de onda ($\Delta\lambda = 2,0$ nm), é registrado em cerca de 0,08 s.

As medidas espectrais foram realizadas utilizando-se duas diferentes sondas de transfectância. A primeira delas, constitui-se de um par de fibras ópticas, com 200 μm de diâmetro e 1,0 m de comprimento. Uma dessas fibras é responsável pela condução da luz monocromática selecionada pelo AOTF até a célula de detecção e a outra, pelo transporte da fração não absorvida da luz até o detector do instrumento. O caminho óptico utilizado nessa sonda é determinado pelo diâmetro do tubo de vidro (~ 5 mm) utilizado na célula de detecção (sistema em fluxo descrito no próximo item). A segunda sonda, possui caminho óptico total de 1 mm e uma área circular de 0,5 cm^2 .

Para todas as medidas, utilizou-se tetracloreto de carbono (CCl_4) como referência.

I.3.1.2. Perturbação de concentração para geração dos espectros de correlação 2D

O diagrama do sistema de fluxo utilizado para efetuar a perturbação de concentração é mostrado na Figura I.5. Nesse sistema, primeiro, a câmara de mistura é preenchida com a amostra e a aquisição dos espectros começa de forma sincronizada com o acionamento das duas válvulas solenóides. Esse

acionamento gera um gradiente de concentração de R sobre a amostra S. A foto geral do sistema é mostrada na Figura I.6.

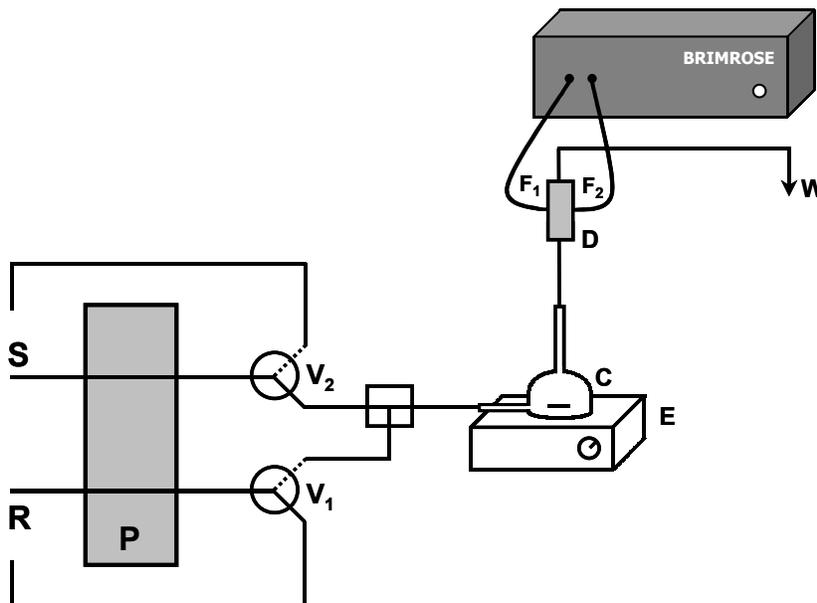


Figura I.5. Diagrama do sistema de fluxo para perturbação de concentração. S, amostra e R, solução de perturbação; P, bomba peristáltica Ismatec[®] (tubos de teflon); V₁ e V₂, válvulas solenóides de três vias para comutação dos reagentes (desligadas); C, câmara de mistura com agitação magnética (volume = 1,6 mL); D, célula de detecção (caminho óptico ~5 mm); E, agitador magnético; F₁ e F₂, fibras ópticas para transportar radiação para a célula e coletar a fração não absorvida que passa da célula para o espectrofotômetro NIR; W, descarte.

Para estimar o intervalo de variação de concentração igualmente espaçado desse gradiente de concentração, um modelo de calibração multivariada foi construído utilizando-se nove misturas binárias (etanol + tolueno), cujas concentrações variaram de 4% a 96% v/v ($\Delta = 12\%$ v/v, exceto para as misturas 1 e 9) para cada reagente. O conhecimento desse intervalo de concentração (igualmente espaçado) é importante para a utilização do programa de cálculo dos espectros de correlação 2D.



Figura I.6. Foto geral do sistema de perturbação de concentração em fluxo. (a) bomba peristáltica, (b) válvulas solenóides, (c) câmara de mistura dos reagentes, (d) célula de detecção, (e) espectrofotômetro NIR Brimrose.

Esse sistema de perturbação de concentração em fluxo, proposto para geração de espectros de correlação 2D, foi testado na seleção de regiões espectrais para utilização em modelos de calibração multivariada para previsão de teor de etanol, MON (Método Motor) e RON (Método Pesquisa) em gasolinas. Esses dois métodos definem a octanagem da gasolina que é sua característica antidetonante, isto é, sua compressibilidade, que indica se a combustão da mistura ar/combustível não está ocorrendo antes do ponto, o que prejudica o rendimento do motor.

O método MON avalia a resistência à detonação da gasolina na situação em que o motor está em plena carga e em alta rotação. Já o método RON, avalia a resistência à detonação da gasolina na situação em que o motor está carregado e em baixa rotação [50]. A octanagem é, portanto, uma das mais importantes propriedades da gasolina.

I.3.1.2.1. Obtenção dos espectros de correlação 2D

No presente trabalho, apenas espectros de correlação 2D síncronos foram utilizados, uma vez que, em todos os estudos realizados, estava-se interessado apenas nas variações espectrais originadas através das perturbações externas aplicadas às amostras investigadas.

Os cálculos dos espectros 2D síncronos das amostras submetidas à perturbação de concentração foram realizados no software 2D POCHA - *for Windows* (disponível na Internet) [51]. Todos os espectros obtidos por meio da perturbação externa foram pré-processados com correção de linha base (offset). Tal procedimento é indicado já que, qualquer variação sistemática nos espectros dinâmicos irá gerar autopicos nos espectros de correlação 2D síncrono, sendo que essas variações na linha base não estão relacionadas com a(s) espécie(s) de interesse.

I.3.2. Teor de etanol em gasolinas

O teor de etanol em gasolinas foi investigado entre 10 e 38% (v/v). Para tanto, preparou-se um conjunto de 36 amostras, adicionadas de etanol, a partir de uma amostra de gasolina do tipo A (gasolina que não possui etanol em sua formulação).

As medidas espectrais na região NIR foram realizadas utilizando-se uma sonda de transfectância com caminho óptico total de 1,0 mm e uma área circular de 0,5 cm². Os espectros de absorção foram medidos como média de 100 varreduras e para a construção dos modelos de calibração multivariada, utilizou-se a primeira derivada dos mesmos.

Para avaliar a robustez dos modelos multivariados construídos para a previsão do teor de etanol, foram preparadas amostras de gasolina adulteradas com 10% de tolueno, 10% de hexano e 10% de iso-octano (cinco amostras de cada, com concentração de etanol dentro da faixa investigada).

Numa segunda etapa do trabalho, foram preparadas 36 amostras de gasolinas adulteradas com 10% de tolueno com teor de etanol entre 10 – 38% (v/v). Esse conjunto de amostras foi combinado àquelas 36 amostras de gasolinas não adulteradas, e então, utilizado na construção dos modelos de calibração multivariada. Tal procedimento teve como objetivo demonstrar o ajuste dos modelos à variação global das amostras utilizadas na etapa de calibração.

I.3.3. Avaliação dos parâmetros MON e RON em gasolinas de Petroquímica

Para o presente estudo foram utilizadas 293 amostras de gasolinas sintéticas tipo A da fábrica BRASKEM S/A localizada no pólo petroquímico de Camaçari (BA). Os espectros no Infravermelho Próximo (NIR) dessas amostras foram registrados como média de 300 varreduras, utilizando-se a sonda de transfectância com caminho óptico de 1,0 mm.

Para a construção dos modelos de calibração multivariada para previsão de MON e RON nas gasolinas, os espectros medidos foram tratados com as seguintes transformações matemáticas: primeiro, os valores de transmitância foram convertidos em valores de absorbância e, então, a primeira derivada dos espectros foi calculada para correção das variações na linha-base dos espectros.

As propriedades MON (Método Motor) e RON (Método Pesquisa) foram medidas pela BRASKEM utilizando-se os métodos de referência ASTM D2700 e ASTM D2699, respectivamente.

Para a seleção de regiões espectrais por meio da espectroscopia de correlação 2D, realizou-se perturbação de concentração (Figura I.5) de octano, iso-octano e tolueno sobre a gasolina A. Tais compostos foram selecionados levando-se em consideração que no método padrão para determinação de MON e RON utiliza-se o iso-octano e n-heptano para calibração do motor. Além disso, essas propriedades são influenciadas pelos teores relativos de hidrocarbonetos lineares, ramificados e aromáticos presentes na gasolina.

I.3.4. Tratamento Quimiométrico dos Dados

Para modelar os parâmetros de qualidade de gasolinas: teor de etanol, MON e RON, utilizou-se a ferramenta quimiométrica PLS (*Regressão por Mínimos Quadrados Parciais*). Para tanto, utilizou-se o Software Unscrambler[®], versão 9.2 (CAMO Process AS).

Para a seleção de variáveis espectrais por meio do Algoritmo das Projeções Sucessivas (APS) [52], utilizou-se o Software Matlab, versão 6.1. A construção dos modelos multivariados para esse algoritmo é feita utilizando-se a ferramenta quimiométrica MLR (*Regressão Linear Múltipla*).

Em todos os modelos construídos o método de pré-processamento utilizado consistiu em centrar os dados na média e para validação dos modelos PLS (*Regressão por Mínimos Quadrados Parciais*) utilizou-se o método de validação cruzada total. Já para os modelos MLR com seleção de variáveis espectrais com o APS, a validação interna do modelo foi feita utilizando-se um conjunto de amostras externas a etapa de calibração (um terço do total de amostras).

I.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

I.4.1. Sistema de Perturbação em Fluxo

A Figura I.7a mostra os espectros obtidos para as nove misturas de etanol e tolueno de 4 a 96% (v/v) para cada reagente. Esses espectros mostram variações espectrais nas regiões de primeiro e segundo sobretons dos modos de estiramento C – H, 1600 – 1800 nm e 1100 – 1300 nm, respectivamente. Além disso, observa-se uma grande variação espectral na região de 1400 a 1600 nm, a qual é atribuída a sobreposição das vibrações de estiramento dos grupos metileno/OH [47]. Esse conjunto de espectros foi utilizado na construção de um modelo de calibração multivariada (PLS) para estimar o intervalo de variação de concentração igualmente espaçado desse gradiente de concentração obtido no sistema de perturbação de concentração em fluxo proposto.

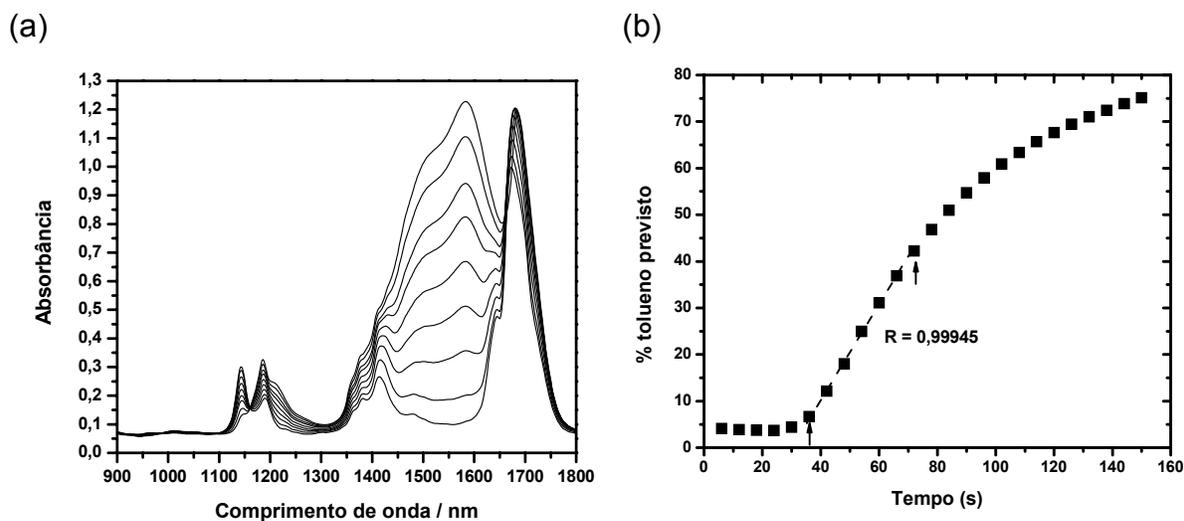


Figura I.7 – (a) Espectros NIR obtidos para misturas etanol + tolueno (4 – 96% v/v). (b) Previsão do teor de tolueno para perturbação de tolueno sobre etanol no sistema em fluxo proposto.

Um bom coeficiente de correlação (0,998) e um baixo erro médio de previsão – RMSEP (1,41% v/v) foram obtidos para toda a faixa de concentração de etanol estudada (4 a 96% v/v). Esses resultados mostram uma boa capacidade de previsão do modelo construído e indica que o mesmo pode ser utilizado para

estimar o intervalo de variação igualmente espaçado do gradiente de concentração obtido com o sistema em fluxo proposto (Figura I.7b).

I.4.2. Robustez de Modelos de Calibração Multivariada para Previsão de Teor de Etanol em Gasolina

A gasolina, como se sabe, possui em sua constituição inúmeras famílias de hidrocarbonetos gerando assim espectros NIR com várias bandas devido aos inúmeros modos vibracionais decorrentes dos átomos e suas ligações presentes em seus diferentes compostos (Figura I.8). No Brasil, a gasolina que é comercializada possui álcool etílico anidro em sua formulação (gasolina tipo C). Tal composto é empregado para aumentar a octanagem do combustível e seu teor é controlado pela ANP (Agência Nacional de Petróleo). Alterações no teor de álcool definido pela ANP podem ocasionar problemas de mau funcionamento do motor do veículo e constitui uma fraude.

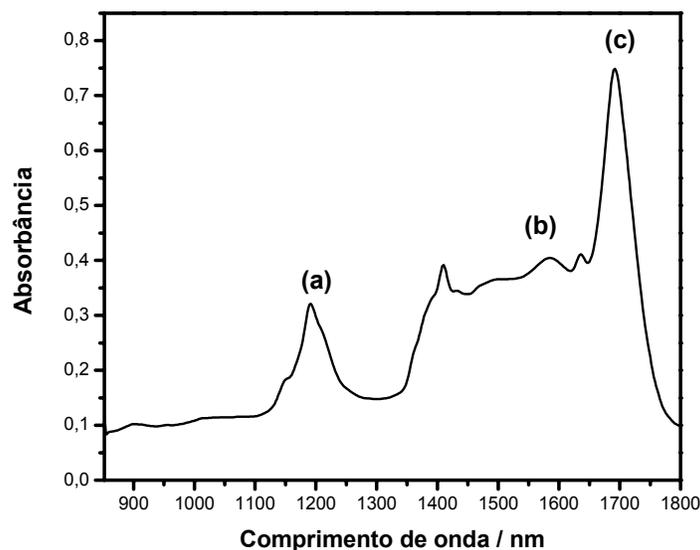


Figura I.8 – Espectro NIR da gasolina C. (a) segundo sobretom de deformação axial C – H; (b) segundo sobretom do estiramento O – H; (c) primeiro sobretom de deformação axial C – H.

Considerando a importância da determinação do teor de etanol em gasolinas, utilizou-se a espectroscopia de correlação 2D para a seleção de regiões espectrais mais informativas sobre esse constituinte majoritário da gasolina

comercializada no Brasil. O principal objetivo desse estudo foi avaliar se a espectroscopia de correlação 2D poderia amplificar a informação associada a esse composto, melhorando a performance dos modelos multivariados, tornando-os mais robustos.

O sistema de perturbação de concentração em fluxo (Figura I.5) foi utilizado para avaliar variações espectrais decorrentes do etanol na gasolina do tipo C. O conjunto de espectros obtidos por meio dessa perturbação é mostrado na Figura I.9, onde se pode verificar que há uma intensificação das bandas entre 1400 e 1600 nm. Essas bandas de absorção são atribuídas ao primeiro sobretom das bandas de combinação das ligações C – H (1350 – 1530 nm) e primeiro sobretom dos modos de estiramento da ligação O – H do álcool (1530 – 1600 nm).

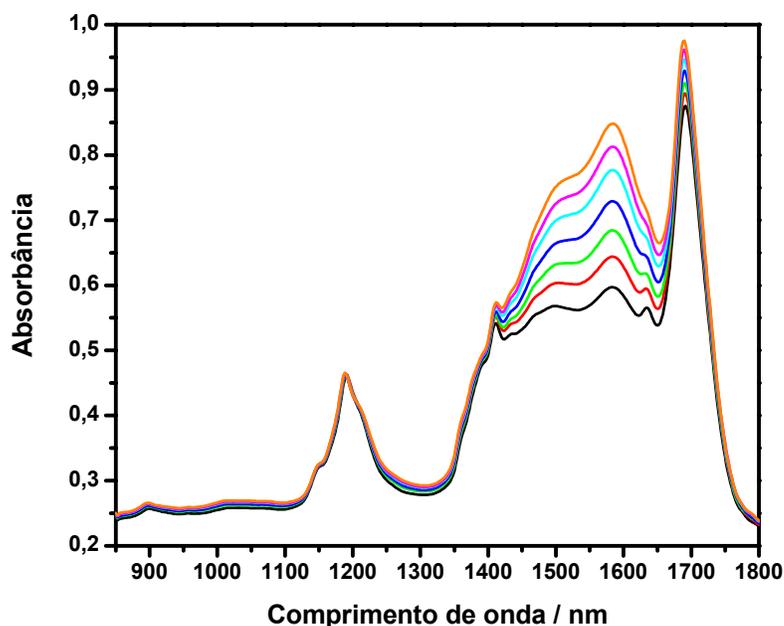


Figura I.9 – Espectros NIR de gasolina C com perturbação de concentração de etanol. Faixa espectral: 850 – 1800 nm, caminho óptico = 5,0 mm.

Esse conjunto de espectros, obtidos por meio da perturbação de concentração em fluxo, foi então submetido aos cálculos de correlação 2D síncronos, e os resultados obtidos são mostrados na Figura I.10. Pode-se observar que para a faixa espectral 1100 – 1250 nm, região de segundo sobretom dos modos de estiramento das ligações C–H, três autopicos são formados

indicando que essas regiões são influenciadas pela concentração de etanol na gasolina. Tais variações são bastante sutis nos espectros originais.

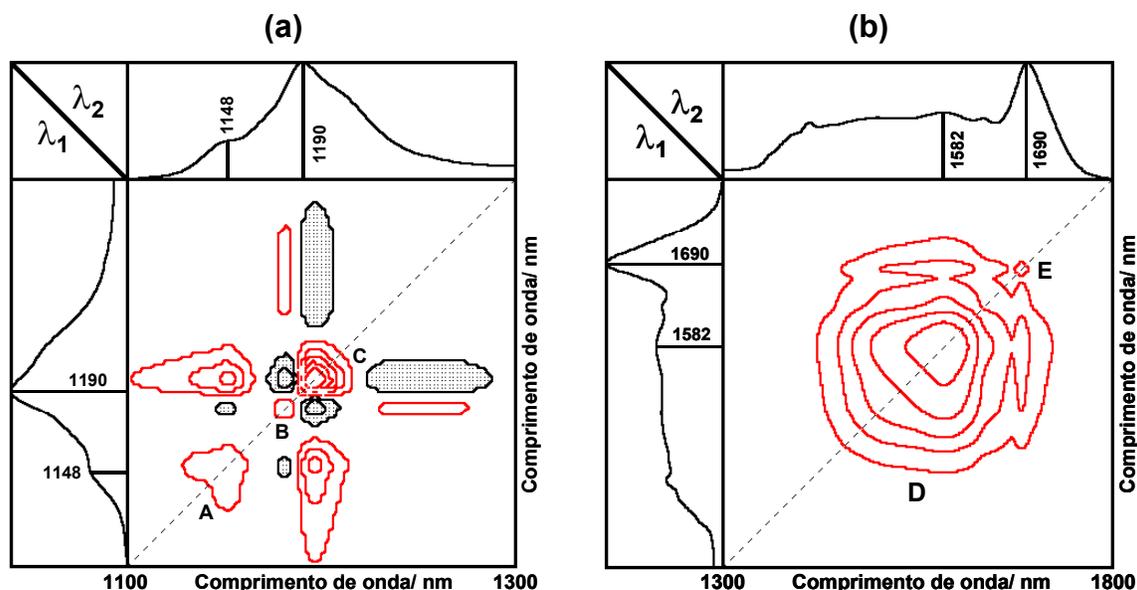


Figura I.10 – Mapas de contorno para espectros de gasolina C perturbados com etanol. (A) 1142 – 1158 nm; (B) 1176 – 1186 nm; (C) 1190 – 1210 nm; (D) 1454 – 1662 nm; (E) 1678 – 1690 nm. Picos positivos em vermelho, picos negativos em preto.

Para a faixa espectral entre 1300 e 1800 nm, um autopico dominante é observado entre 1454 e 1662 nm. Essa região é bastante acentuada, pois tem origem no primeiro sobretom das bandas de combinação das ligações C – H e primeiro sobretom dos modos de estiramento da ligação O – H do álcool, as quais são facilmente observadas nos espectros originais. Um autopico fraco entre 1678 e 1690 nm pode também ser observado no mapa de contorno 2D, o qual tem origem no deslocamento da banda do primeiro sobretom dos modos de estiramento das ligações C – H.

Todos os autopicos obtidos para perturbação de concentração de etanol sobre gasolina C foram utilizados na construção de um modelo de calibração multivariada (PLS), uma vez que, esses representam as regiões espectrais que variam em função da perturbação aplicada ao sistema (Tabela I.1). Para fins de comparação, foram construídos modelos de calibração multivariada

(PLS) utilizando todas as variáveis espectrais e as variáveis mais influentes (com base nos gráficos de loadings e coeficientes de regressão), e um modelo MLR com as variáveis selecionadas utilizando o Algoritmo das Projeções Sucessivas – APS (Tabela I.1).

Tabela I.1 – Resultados dos erros de previsão (RMSEP) para o teor de etanol (%v/v) em gasolinas, empregando diferentes formas de seleção de regiões espectrais na região NIR e amostras externas aos modelos de calibração.

Amostras	PLS – 2D^a	PLS – t^b	PLS – L/CR^c	MLR^d
Não adulteradas	0,653	0,651	0,654	0,701
10% tolueno	4,53	6,99	7,58	3,61
10% hexano	1,09	0,945	0,921	1,56
10% iso-octano	0,744	0,686	0,498	2,35
Nº de variáveis espectrais	131	476	271	4
Nº de componentes principais	1	1	1	-

^aespectroscopia 2D, ^btodas as variáveis espectrais; ^ccom base nos loadings e coeficientes de regressão; e ^dAlgoritmo das Projeções Sucessivas.

O gráfico de scores obtido para os espectros derivativos das gasolinas utilizados nos modelos de calibração, mostra que apenas uma componente principal é suficiente para explicar a maior parte da variância desses dados espectrais (Figura I.11a). O gráfico de “loadings” (pesos de cada variável espectral) para a primeira componente principal (Figura I.11b) mostra, de forma semelhante ao resultado obtido com a espectroscopia de correlação 2D, que as regiões de segundo sobretudo dos modos de estiramento das ligações C–H e primeiro sobretudo das bandas de combinação das ligações C – H, além do primeiro sobretudo dos modos de estiramento da ligação O – H do álcool, são as mais importantes na determinação do teor de etanol em gasolinas.

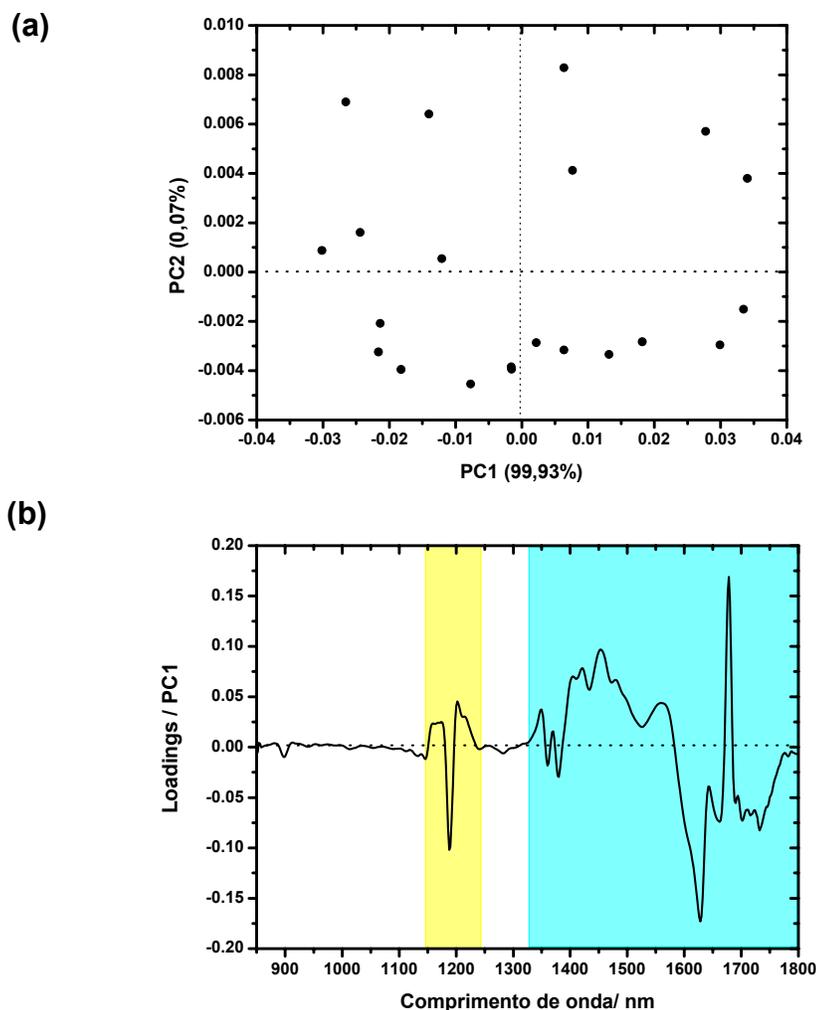


Figura I.11 – (a) Gráfico de scores da primeira e segunda componentes principais da Análise de Componentes Principais (PCA) para amostras de gasolinas (teor de etanol = 10 – 30% v/v), (b) Gráfico de Loadings.

Os valores de erros médios de previsão (RMSEP) obtidos por meio dos diferentes modelos de calibração para as amostras de gasolina não adulteradas estão (Tabela I.1) dentro da faixa de erro aceitável para teor de etanol em gasolinas ($\pm 1\%$ v/v). Pode-se verificar por meio dos RMSEP obtidos, que a seleção de regiões espectrais utilizando a espectroscopia de correlação 2D não melhora a previsão do teor de etanol em gasolinas, apresentando valores de previsão semelhantes aos modelos construídos utilizando todas as variáveis espectrais e as variáveis selecionadas com base nos loadings e coeficientes de regressão. De forma análoga, quando comparada ao Algoritmo das Projeções

Sucessivas (APS), que é uma ferramenta desenvolvida para a seleção de variáveis espectrais, a espectroscopia de correlação 2D mostra também desempenho bastante semelhante. Essa semelhança entre os valores de RMSEP obtida para todos os modelos construídos foi confirmada através do teste F (teste de Fisher) realizado (Tabela I.2) [53].

Tabela I.2 – Valores calculados do teste F, com 95% de confiança, para os erros de previsão (RMSEP) para o teor de etanol (%v/v) em gasolinas, empregando diferentes formas de seleção de regiões espectrais na região NIR e amostras externas aos modelos de calibração.

Amostras	F teórico	PLS – 2D ^a	PLS – t ^b	PLS – L/CR ^c	MLR ^d
Não adulteradas	3,79	1,01	1,00	1,01	1,16
10% tolueno	6,39	1,58	3,75	4,41	1,00
10% hexano	6,39	1,40	1,05	1,00	2,87
10% iso-octano	6,39	2,23	1,89	1,00	22,3

^aespectroscopia 2D; ^btodas as variáveis espectrais; ^ccom base nos loadings e coeficientes de regressão e ^dAlgoritmo das Projeções Sucessivas.

A robustez dos modelos construídos foi testada utilizando-se amostras de gasolinas adulteradas com 10% de tolueno, 10% de hexano e 10% de iso-octano. Para essas amostras, verificou-se que os modelos tiveram sua capacidade de previsão diminuída, principalmente para as amostras adulteradas com 10% de tolueno (Tabela I.1). Essa influência do tolueno sobre a determinação de etanol em gasolinas pode ser proveniente da grande sobreposição de bandas devido às vibrações das ligações C – H de aromático e O – H do álcool, que ocorre na região entre 1400 – 1800 nm (Figura I.12). Tal região, como visto, é a mais influente nessa determinação.

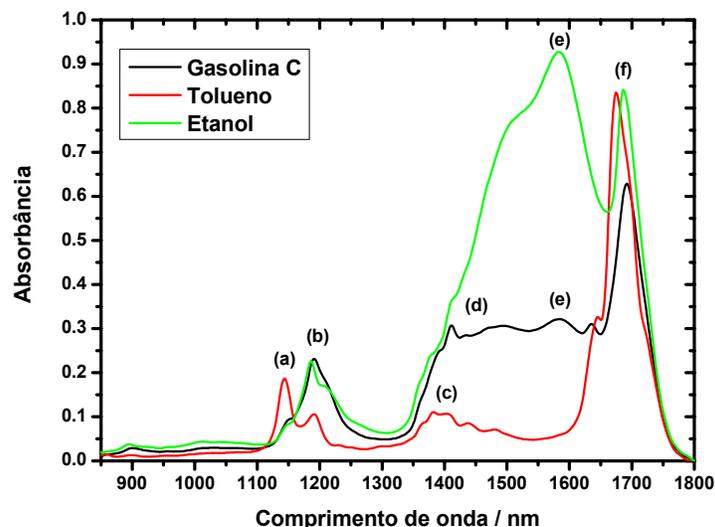


Figura I.12 – Espectros de absorção da gasolina C, tolueno e etanol. Regiões de absorção dos grupos: (a) C–H de aromático; (b) e (c) metila e metileno, (d) metila/OH e metileno/OH, (e) O–H e (f) OH/C–H de aromático.

Uma vez verificada a influência da alteração de matriz sobre a determinação do teor de etanol em gasolinas, construiu-se então, modelos de calibração multivariada onde amostras adulteradas com 10% de tolueno foram também incluídas na etapa de calibração.

A Análise de Componentes Principais (PCA) para esse novo conjunto de calibração (Figura I.13a) mostra que a inclusão de amostras adulteradas com 10% de tolueno conduz a uma maior variância dos dados e duas componentes principais são necessárias para explicação desses dados. Pode-se observar ainda a clara separação entre os dois grupos de amostras de gasolinas (amostras não adulteradas e amostras adulteradas com 10% de tolueno).

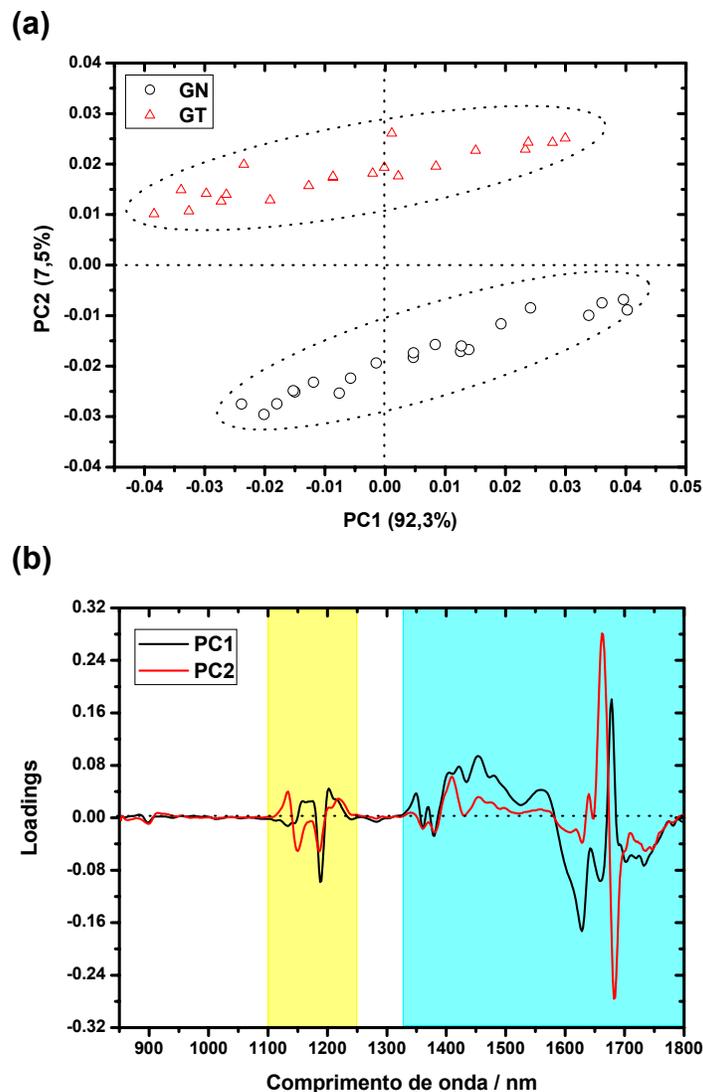


Figura I.13 – (a) Gráfico de scores da primeira e segunda componente principal da Análise de Componentes Principais (PCA) para amostras de gasolinas não adulteradas (GN) e adulteradas (GT) com 10% de tolueno (teor de etanol = 10 – 30% v/v), (b) Gráfico de Loadings para PC1 e PC2.

O gráfico de Loadings para esse conjunto de amostras (Figura I.13b) mostra que a primeira componente principal é a principal responsável por explicar às bandas decorrentes das vibrações do O – H do álcool, e a segunda componente principal foi requerida para explicar as variações espectrais decorrentes dos grupos C – H de aromáticos.

A inclusão de amostras de gasolinas adulteradas com 10% de tolueno na etapa de calibração dos modelos melhorou a capacidade de previsão do teor

de etanol para amostras adulteradas externas à etapa de calibração (Tabela I.3). Apesar disso, verificou-se que a capacidade de previsão dessas amostras ainda é inferior as obtidas para as amostras não adulteradas (Tabela I.1). De forma geral, os modelos construídos (Tabela I.3) são estatisticamente semelhantes (Tabela I.4), sendo o modelo MLR/APS mais susceptível ao efeito de matriz, o que pode ser verificado através do maior valor de RMSEP obtido. Tal modelo é estatisticamente diferente dos demais (Tabela I.4).

Tabela I.3 - Resultados dos erros de previsão (RMSEP) para o teor de etanol (%v/v) em gasolinas, empregando diferentes formas de seleção de regiões espectrais na região NIR. Modelos de calibração incluindo amostras de gasolinas não adulteradas e adulteradas com 10% de tolueno.

Amostras	PLS – 2D ^a	PLS – t ^b	PLS – L/CR ^c	MLR ^d
10% tolueno	1,61	0,808	1,04	2,97
Nº de variáveis espectrais	131	476	310	9
Nº de componentes principais	2	2	2	-

^aespectroscopia 2D; ^btodas as variáveis espectrais; ^ccom base nos loadings e coeficientes de regressão e ^dAlgoritmo das Projeções Sucessivas.

Os resultados obtidos com esses modelos de calibração (Tabela I.3), indicam que a robustez de modelos de calibração multivariada é significativamente afetada pela alteração de matriz, a qual, pode ser advinda não somente de adulterações, mas também das diferentes origens do petróleo a partir do qual a gasolina é obtida. Portanto, o conjunto de amostras de calibração deve contemplar a maior variação possível de composição das amostras, para garantir maior robustez aos modelos multivariados construídos.

Tabela I.4 – Valores calculados do teste F, com 95% de confiança, para os erros de previsão (RMSEP) para o teor de etanol (%v/v) em gasolinas, empregando diferentes formas de seleção de regiões espectrais na região NIR e amostras externas aos modelos de calibração. Modelos incluindo amostras de gasolinas não adulteradas e adulteradas com 10% de tolueno.

Amostras	F teórico	PLS – 2D ^a	PLS – t ^b	PLS – L/CR ^c	MLR ^d
10% tolueno	6,39	3,97	1,00	1,66	13,5

^aespectroscopia 2D; ^btodas as variáveis espectrais; ^ccom base nos loadings e coeficientes de regressão e ^dAlgoritmo das Projeções Sucessivas.

I.4.3. Previsão de MON e RON em gasolinas de Petroquímica

No presente trabalho, os parâmetros MON e RON foram avaliados utilizando-se um conjunto de 293 amostras de gasolinas do tipo A, as quais apresentam significativa variação de composição conforme descrito na Análise de Componentes Principais (PCA) mostrada na Figura I.14.

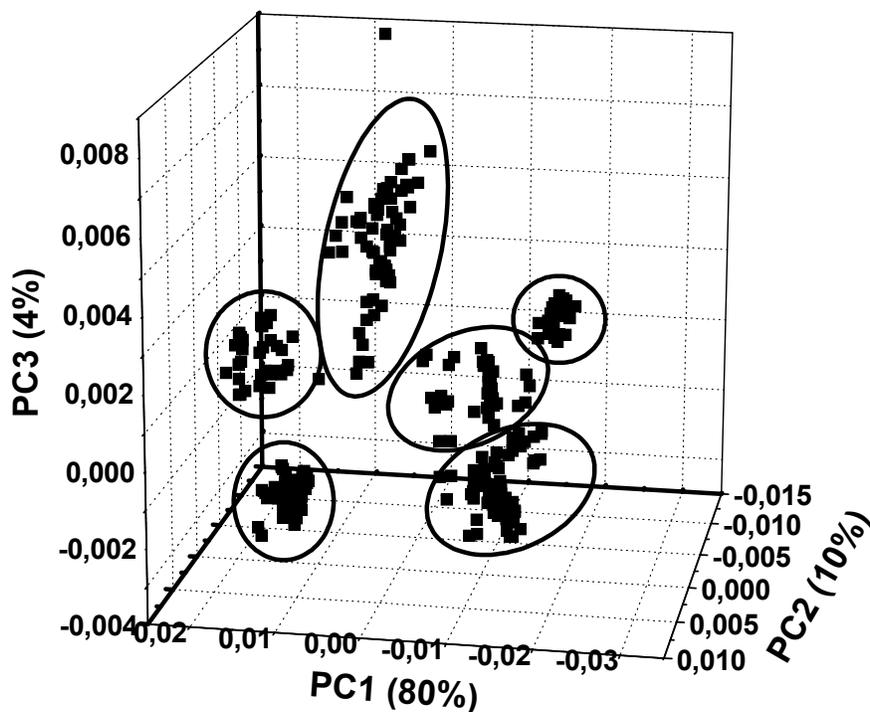


Figura I.14 – Gráfico de scores para a Análise de Componentes Principais (PCA) para amostras de gasolinas tipo A de petroquímica utilizadas para previsão de MON e RON.

A Figura I.15 apresenta os espectros de absorvância NIR para cinco diferentes amostras de gasolinas na faixa espectral de 850 a 1800 nm. Nos comprimentos de onda próximos de 1144 e 1674 nm surgem as bandas decorrentes do segundo e primeiro sobretom do estiramento C – H de aromáticos, respectivamente. Em 1190 nm ocorre o segundo sobretom de C – H de metileno e em 1395 nm combinação das vibrações de estiramento C – H de metileno [54].

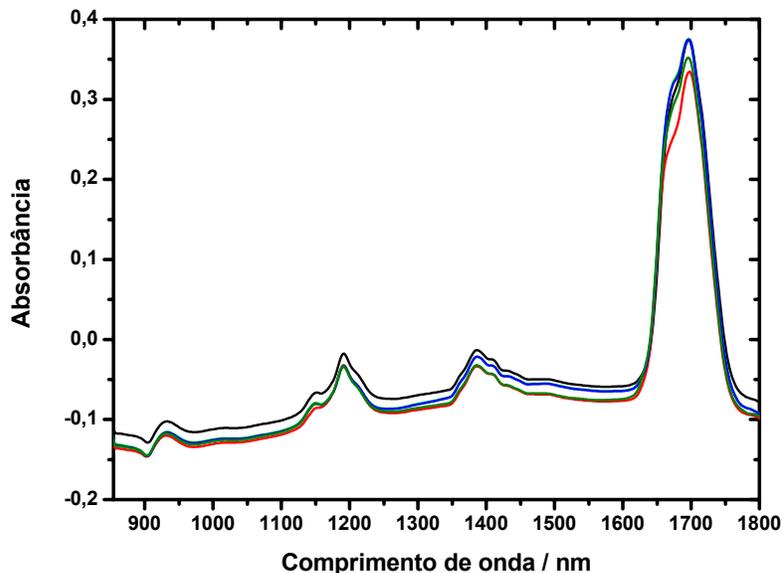


Figura I.15 - Espectros NIR da gasolina tipo A produzida pela BRASKEM S/A, medidos com sonda de transfectância com caminho óptico de 1 mm. Faixa de 850 a 1800 nm ($\Delta\lambda = 2$ nm) e média de 300 varreduras.

A espectroscopia de correlação 2D foi utilizada nesse trabalho a fim de selecionar regiões espectrais informativas a respeito de espécies que influenciam os parâmetros MON e RON em gasolinas. Os mapas de contorno, obtidos para as três perturbações de concentração (octano, iso-octano e tolueno) sobre gasolina A, são mostrados nas Figuras I.16, I.17 e I.18.

A perturbação de concentração do hidrocarboneto linear, octano (menor octanagem), sobre a gasolina do tipo A (Figura I.16a), gerou um autopicco de relativa intensidade na faixa espectral de 1200 – 1226 nm, região de absorção que é atribuída aos grupos metileno. Além desse, picos cruzados negativos nas coordenadas espectrais (1144 e 1214 nm) são observados. Esses picos cruzados negativos indicam o aumento da banda atribuída aos grupos metileno (1200 - 1226 nm), em decorrência do aumento da concentração de octano, e diminuição da banda em 1144 nm, que é atribuída a ligação C – H de aromáticos presentes na gasolina.

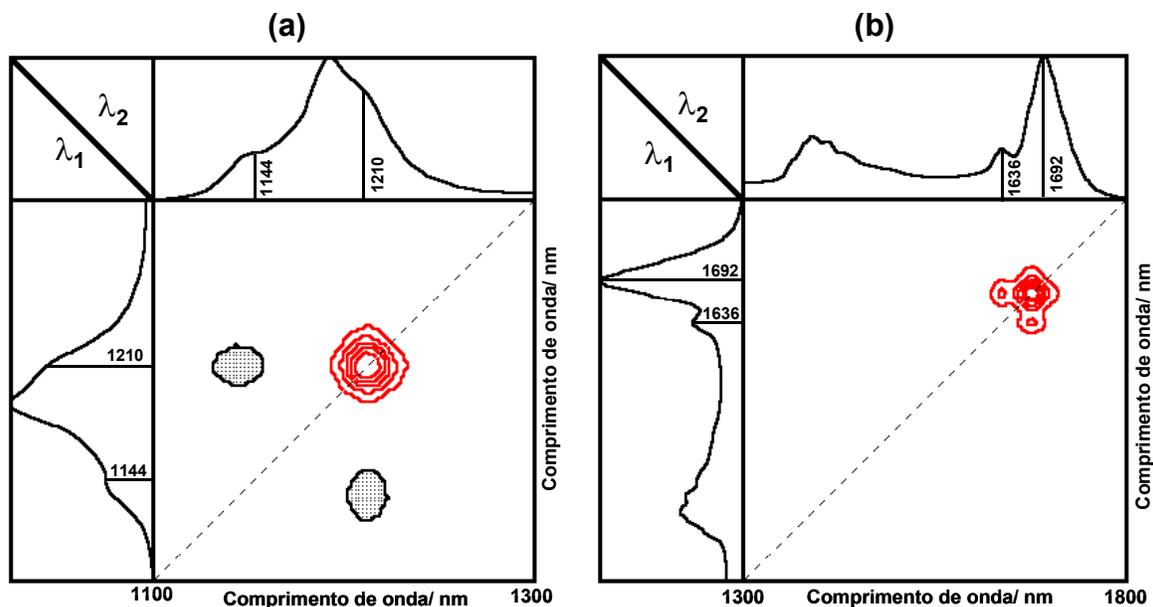


Figura I.16 – Espectros de correlação 2D síncronos para perturbação de concentração de octano sobre gasolina tipo A (representação de mapa de contorno). (a) faixa espectral = 1100 – 1300 nm; (b) faixa espectral = 1300 – 1800 nm.

A diminuição no teor de aromático para essa perturbação pode também ser verificada no surgimento do autopico entre 1636 e 1692 nm (Figura I.16b), região de primeiro sobretom de estiramento C – H de aromáticos.

Já a perturbação de concentração de iso-octano (maior octanagem) sobre a gasolina tipo A (Figura I.17a) apresenta um autopico de pouca intensidade entre 1186 e 1200 nm, cuja banda é atribuída aos grupos metila, e outro de menor intensidade entre 1206 e 1212 nm (grupos metileno). Picos cruzados negativos entre esses dois autopicos, indicam a variação, em sentidos opostos, dessas duas regiões. Picos cruzados negativos com coordenadas espectrais (1144 e 1192 nm) são também observados, e indicam o aumento da banda em 1192 nm, atribuída aos grupos metila e diminuição da banda em 1144 nm, atribuída à ligação C – H de aromáticos.

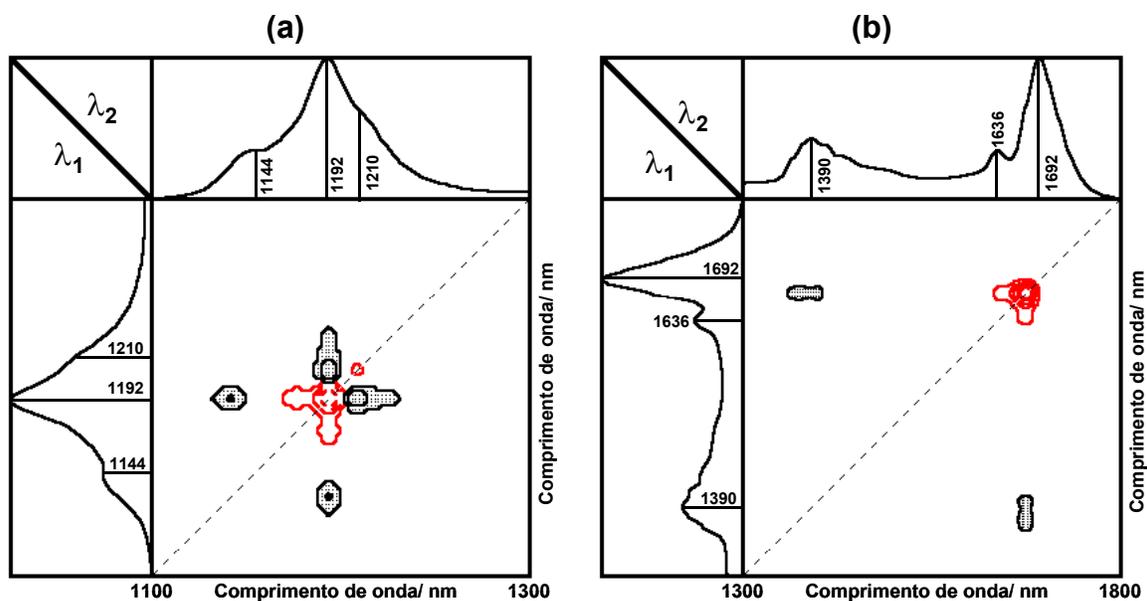


Figura I.17 – Espectros de correlação 2D síncronos para perturbação de concentração de iso-octano sobre gasolina tipo A (representação de mapa de contorno). (a) faixa espectral = 1100 – 1300 nm; (b) faixa espectral = 1300 – 1800 nm.

De forma semelhante à perturbação de concentração de octano, essa diminuição da concentração de aromáticos também se manifesta por meio do autopico entre 1636 e 1692 nm (Figura I.17b). Entretanto, picos cruzados negativos são observados nas coordenadas (1382 e 1676 nm), os quais indicam a relação entre variações espectrais nessas duas regiões, atribuídas aos grupos metileno e C – H de aromáticos, respectivamente.

As variações espectrais em decorrência da ligação C – H de aromático são mais evidentes nos espectros de correlação 2D síncronos para perturbação de tolueno sobre gasolina A (Figura I.18). Para esses espectros, dois autopicos de relativa intensidade são obtidos para a faixa espectral de 1100 – 1300 nm (Figura I.18a). O primeiro deles, entre 1130 e 1150 nm, é atribuído à ligação C – H de aromático e o segundo, entre 1172 e 1234 nm, compreende regiões de absorção dos grupos metila e metileno. Os picos cruzados negativos entre esses dois autopicos, indicam que há variação em sentidos opostos para essas duas regiões. Ou seja, há uma intensificação da banda devido à ligação C – H de aromático e diminuição da banda atribuída aos grupos metila e metileno.

Comportamento semelhante ao obtido para as perturbações de concentração de octano e iso-octano, na região de primeiro sobretudo dos modos de estiramento das ligações C – H de aromáticos, também foi observado para a perturbação de concentração de tolueno sobre gasolina A (Figura I.18b).

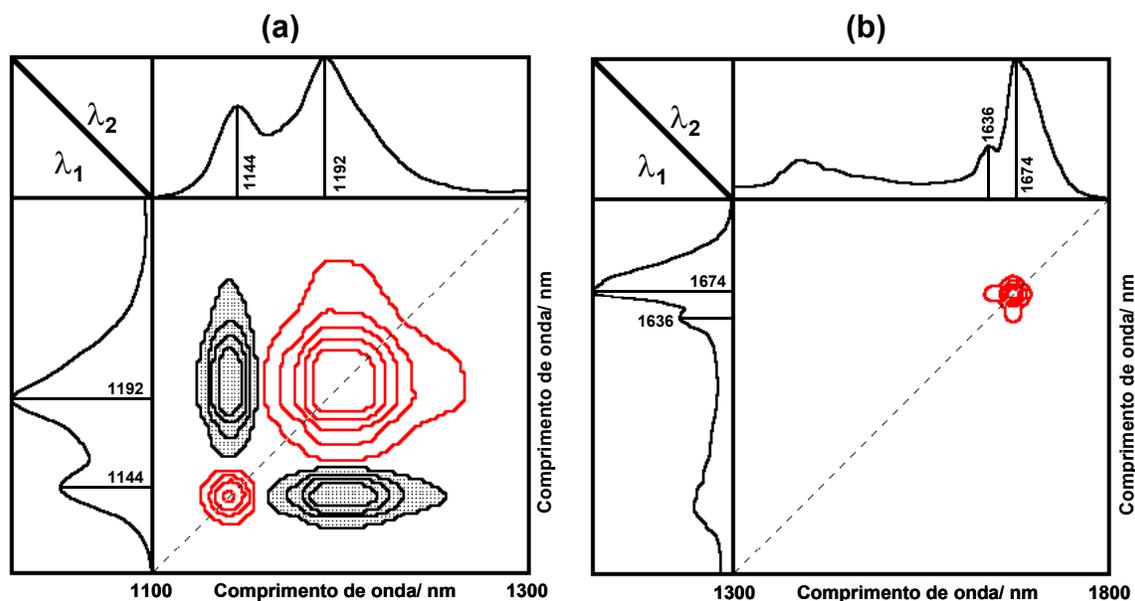


Figura I.18 – Espectros de correlação 2D síncronos para perturbação de concentração de tolueno sobre gasolina tipo A (representação de mapa de contorno). (a) faixa espectral = 1100 – 1300 nm; (b) faixa espectral = 1300 – 1800 nm.

A Tabela I.5 resume todas as regiões selecionadas através da espectroscopia de correlação 2D. A região espectral 1658 – 1688 nm, apesar de estar relacionada à ligação C – H de aromáticos, não foi utilizada nos modelos de calibração multivariada construídos, já que essa variação foi sistemática para os três diferentes compostos utilizados, sendo, portanto, influenciada por espécies que causam aumento e diminuição da octanagem.

Tabela I.5 – Regiões espectrais selecionadas pela espectroscopia de correlação 2D para perturbações de concentração de octano, iso-octano e tolueno sobre gasolina tipo A.

Reagente	Região espectral (nm)
Octano	1188 – 1200
	1208 – 1210
	1658 - 1688
Iso-octano	1200 – 1226
	1658 – 1696
Tolueno	1130 – 1152
	1172 – 1234
	1658 – 1688

Com a finalidade de comparação, foram construídos modelos de calibração multivariada utilizando todas as variáveis espectrais, as variáveis mais influentes (com base nos gráficos de loadings e coeficientes de regressão) e variáveis selecionadas utilizando o APS. A propriedade MON foi modelada utilizando-se 196 amostras de calibração e 97 amostras para validação externa. Para a propriedade RON, foram utilizadas 192 amostras de calibração e 97 amostras de validação.

Os resultados obtidos para previsão de MON e RON em amostras de gasolinas, externas aos modelos de calibração, utilizando-se as diferentes ferramentas de seleção de variáveis são apresentados a seguir.

Para a previsão do parâmetro MON, todos os modelos construídos apresentaram valores de previsão semelhantes (Tabela I.6), o que foi confirmado através do teste F realizado (Tabela I.7). Entretanto, as vantagens de cada um deles devem ser destacadas. O modelo MLR/APS foi o que apresentou melhor desempenho na previsão de MON em gasolinas, uma vez que, trata-se de um procedimento de modelagem mais simples, além de utilizar um número de variáveis espectrais significativamente menor (15 variáveis) que o total registrado. Dentre os modelos PLS, destaca-se o modelo que utilizou a espectroscopia de correlação 2D. Nesse caso, um número de variáveis espectrais menor (44), em relação ao total de variáveis registradas e as selecionadas com base nos loadings e coeficientes de regressão, foi utilizado. Além disso, o número de componentes

principais requeridas para explicar a maior variância dos dados foi também menor (Figura I.19). Essas componentes principais requeridas para explicar a maior variância dos dados nos modelos PLS/2D, provavelmente, referem-se aos três compostos escolhidos para a perturbação de concentração sobre gasolina A (hidrocarbonetos lineares, ramificados e aromáticos) e que influenciam a octanagem.

Tabela I.6 - Resultados dos erros médios de previsão (RMSEP), número de variáveis espectrais, componentes principais e coeficientes de correlação para o parâmetro MON em gasolinas da BRASKEM S/A, empregando diferentes formas de seleção de regiões espectrais (NIR) e amostras externas aos modelos de calibração.

Modelo	PLS – 2D ^a	PLS – t ^b	PLS – L/CR ^c	MLR ^d
RMSEP	0,53	0,53	0,55	0,52
Nº de variáveis espectrais	44	476	233	15
Nº de componentes principais	3	6	6	-

^aespectroscopia 2D; ^btodas as variáveis espectrais, ^ccom base nos loadings e coeficientes de regressão; e ^dAlgoritmo das Projeções Sucessivas.

Tabela I.7 – Valores calculados do teste F, com 95% de confiança, para os erros de previsão (RMSEP) para o parâmetro MON em gasolinas da BRASKEM S/A, empregando diferentes formas de seleção de regiões espectrais (NIR) e amostras externas aos modelos de calibração.

F teórico	PLS – 2D ^a	PLS – t ^b	PLS – L/CR ^c	MLR ^d
1,44	1,04	1,04	1,12	1,00

^aespectroscopia 2D; ^btodas as variáveis espectrais; ^ccom base nos loadings e coeficientes de regressão e ^dAlgoritmo das Projeções Sucessivas.

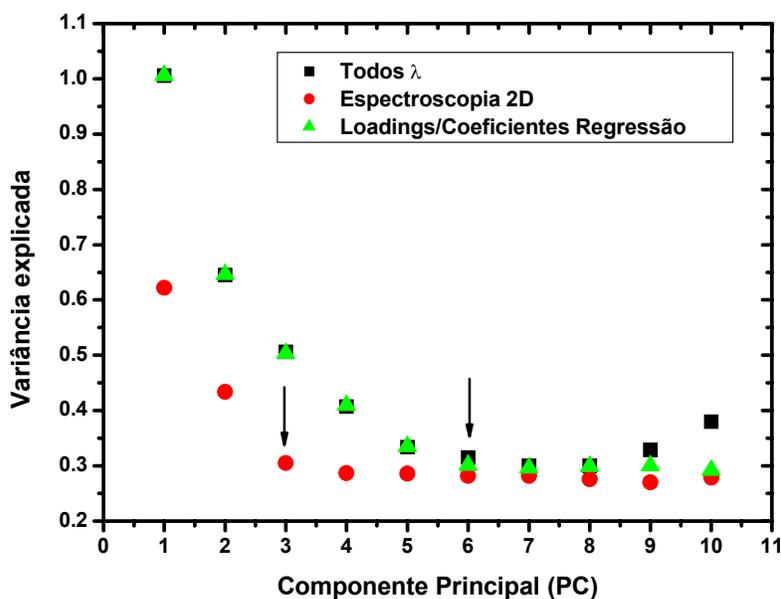


Figura I.19 – Variância total explicada com os modelos construídos para a previsão de MON utilizando todas as variáveis espectrais (■), espectroscopia de correlação 2D (●) e Loadings/Coefficientes de Regressão (▲).

O gráfico de Coeficientes de Regressão para todas as componentes principais sugeridas para explicar a maior variância dos dados espectrais (Figura I.20), sugere que as regiões de segundo (1100 – 1300 nm) e primeiro sobretom (1400 – 1800 nm) de estiramento C – H são as mais importantes nessa análise. Além dessas, a região de combinação das vibrações de estiramento C – H de metileno (1350 – 1440 nm), apesar de apresentar menores pesos nessa modelagem, foi também incluída na calibração.

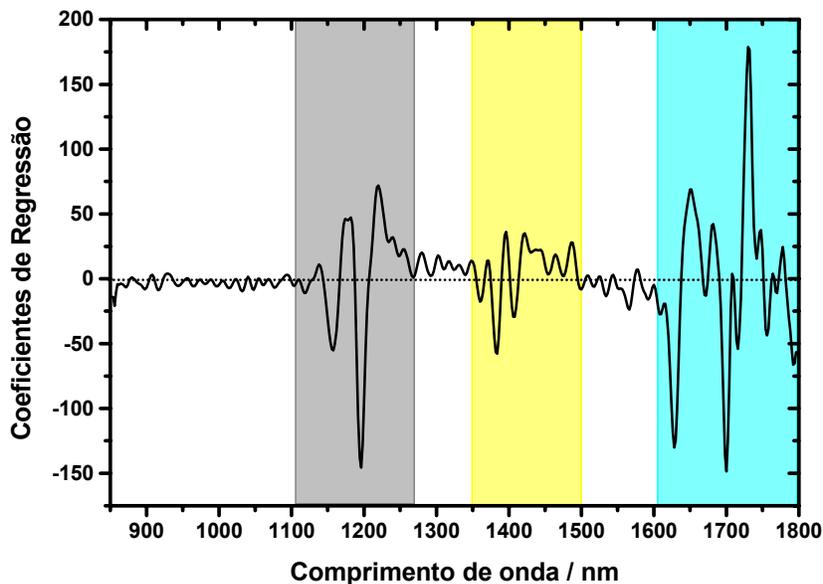


Figura I.20 – Gráfico de coeficientes de regressão para as seis componentes principais sugeridas para explicar a maior variância dos dados espectrais para o parâmetro MON.

As variáveis selecionadas com o APS (Figura I.21) são, preferencialmente, aquelas na região de primeiro sobretom dos modos de estiramento C – H, o que é bastante semelhante aquelas dos gráficos de Loadings do modelo PLS. Entretanto, o estudo realizado com a espectroscopia de correlação 2D, mostrou que essa região, apesar de ter grande influência, conduz a utilização de um maior número de componentes principais.

Por fim, vale ressaltar que, os valores de erros médios de previsão (RMSEP) obtidos por meio dos diferentes modelos de calibração para a previsão de MON, estão abaixo do valor de reprodutibilidade (0,7) do método padrão (Norma ASTM 2700) [53], podendo, portanto, ser utilizados como método alternativo para determinação desse parâmetro.

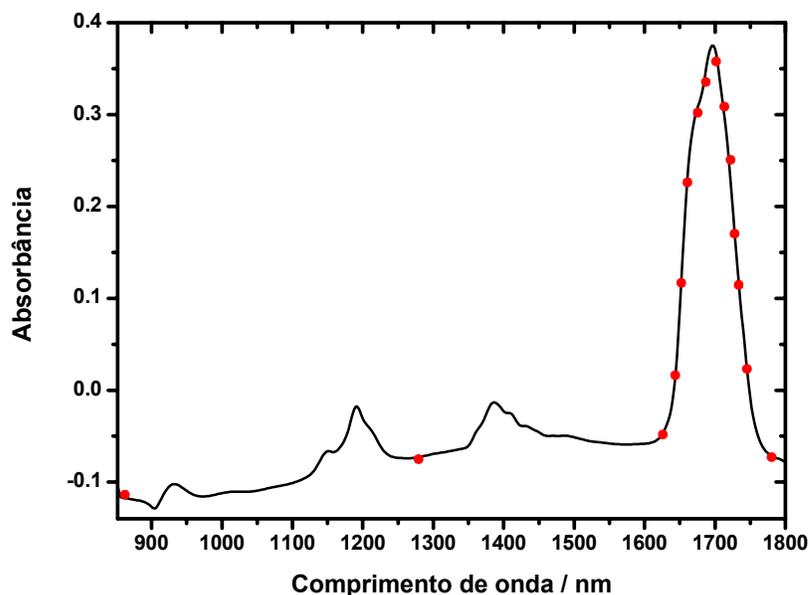


Figura I.21 – Variáveis selecionadas com o APS para previsão de MON em gasolinas tipo A.

Os resultados de previsão para o parâmetro RON em gasolinas do tipo A são mostrados na Tabela I.8. Pode-se verificar através dos mesmos, que o modelo PLS que utilizou a espectroscopia de correlação 2D como método para seleção de variáveis espectrais, foi o que apresentou menor valor numérico de previsão para as amostras externas ao modelo de calibração. Entretanto, esse valor não é estatisticamente diferente daqueles obtidos para os demais modelos (Tabela I.9). Outra característica importante que deve ser destacada desse modelo, é que de forma semelhante ao modelo para previsão de MON, um número menor de componentes principais foi utilizado (Figura I.22), e, portanto, o mesmo está menos suscetível a sobreajuste.

Tabela I.8 – Resultados dos erros médios de previsão (RMSEP), número de variáveis espectrais, componentes principais e coeficientes de correlação para o parâmetro RON em gasolinas da BRASKEM S/A, empregando diferentes formas de seleção de regiões espectrais (NIR) e amostras externas aos modelos de calibração.

Modelo	PLS – 2D ^a	PLS – t ^b	PLS – L/CR ^c	MLR ^d
RMSEP	0,67	0,71	0,69	0,69
Nº de variáveis espectrais	44	476	171	14
Nº de componentes principais	3	6	5	-

^aespectroscopia 2D; ^btodas as variáveis espectrais; ^ccom base nos loadings e coeficientes de regressão e ^dAlgoritmo das Projeções Sucessivas.

Tabela I.9 – Valores calculados do teste F, com 95% de confiança, para os erros de previsão (RMSEP) para o parâmetro RON em gasolinas da BRASKEM S/A, empregando diferentes formas de seleção de regiões espectrais (NIR) e amostras externas aos modelos de calibração.

F teórico	PLS – 2D ^a	PLS – t ^b	PLS – L/CR ^c	MLR ^d
1,44	1,00	1,12	1,06	1,06

^aespectroscopia 2D; ^btodas as variáveis espectrais; ^ccom base nos loadings e coeficientes de regressão e ^dAlgoritmo das Projeções Sucessivas.

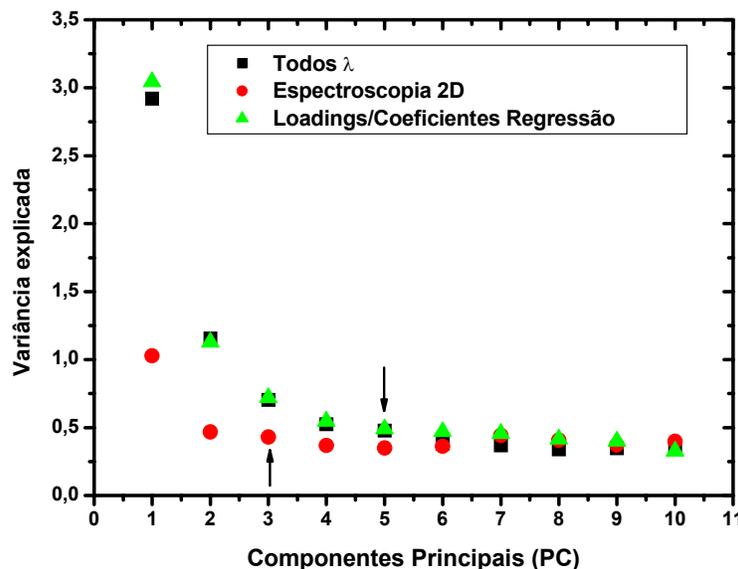


Figura I.22 - Variância total explicada com os modelos construídos para previsão de RON utilizando todas as variáveis espectrais (■), espectroscopia de correlação 2D (●) e Loadings/Coefficientes de Regressão (▲).

O gráfico de Coeficientes de Regressão (Figura I.23), para todas as componentes principais sugeridas para explicar a maior variância dos dados, mostra de forma semelhante à obtida para o parâmetro MON, que a região de primeiro sobretom de estiramento C – H é a mais influente na determinação do parâmetro RON. Além dessa, as regiões de segundo sobretom de estiramento C – H e segundo sobretom de combinação das vibrações de estiramento C – H de metileno, mostraram-se importantes na previsão desse parâmetro de qualidade. Entretanto, com o auxílio da espectroscopia de correlação 2D, foi possível verificar que a região de primeiro sobretom de estiramento C – H é influenciada tanto por compostos responsáveis pelo aumento da octanagem (iso-octano e tolueno), quanto por aqueles que a diminuem (octano), podendo, portanto, ser excluída da calibração, o que diminuiu o número de componentes principais requeridas para explicar a maior variância dos dados.

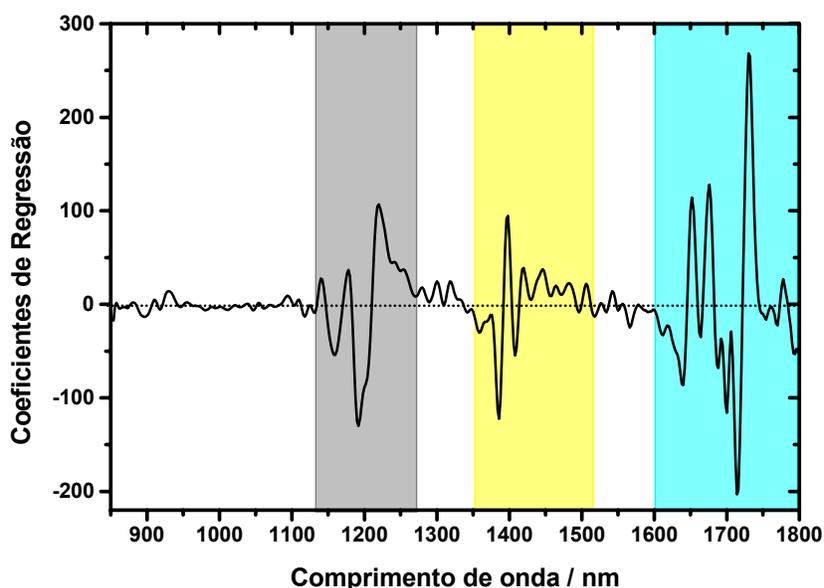


Figura I.23 - Gráficos de coeficientes de regressão para as seis componentes principais sugeridas para explicar a maior variância dos dados espectrais para o parâmetro RON.

As variáveis selecionadas com o APS (Figura I.24), na sua maioria, também contemplam a região de primeiro sobretom de estiramento C – H, e apenas quatorze variáveis são requeridas para previsão do parâmetro RON em gasolinas.

A octanagem RON não faz parte do quadro da especificação brasileira da gasolina automotiva dos tipos A ou C, porém, quando comparados aos valores de reprodutibilidade (0,9) para o método RON (Norma ASTM 2699) [53], os erros médios de previsão (RMSEP) obtidos para os diferentes modelos de calibração são inferiores, indicando que os mesmos podem ser utilizados como método alternativo para esse tipo de determinação.

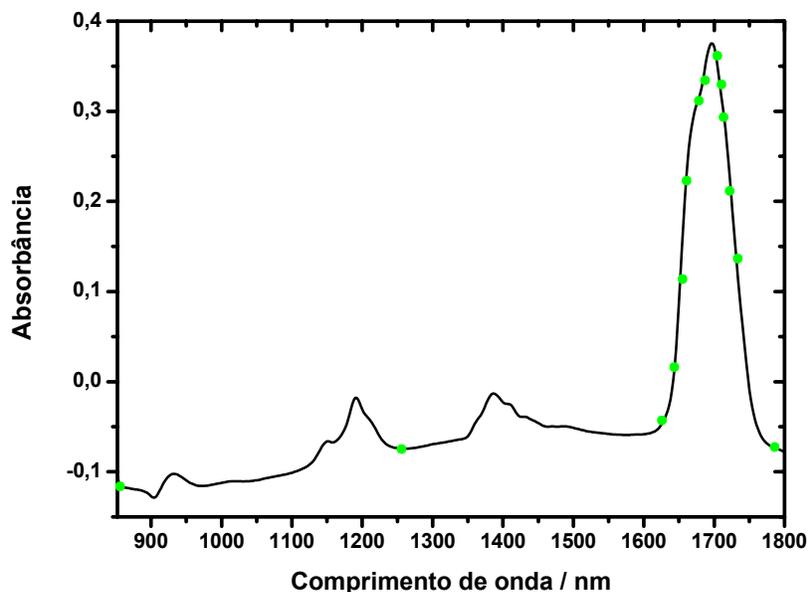


Figura I.24 - Variáveis selecionadas com o APS para previsão de RON em gasolinas tipo A.

I.5. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos através da análise de correlação 2D mostram o potencial do uso da perturbação de concentração em fluxo em experimentos conduzidos de forma a selecionar regiões espectrais úteis aos algoritmos de regressão multivariada. Tal perturbação apresenta algumas vantagens: os experimentos são realizados em sistema fechado (menor risco de contaminação das amostras); maior velocidade na aplicação da perturbação, além de se trabalhar em micro-escala (menor consumo de amostras e compostos de teste).

Os modelos de calibração multivariada utilizando a espectroscopia NIR para previsão de etanol em gasolina são influenciados de forma significativa pela alteração de matriz advinda de adulterações. A incorporação de amostras adulteradas na modelagem minimiza essa influência.

Por meio dos resultados obtidos, foi possível avaliar a capacidade de previsão de diferentes modelos de calibração multivariada para MON e RON em gasolinas utilizando diferentes ferramentas de seleção de variáveis. A Espectroscopia de Correlação 2D, apesar de não ser uma ferramenta descrita na literatura para seleção de variáveis, mostrou-se viável apresentando resultados semelhantes aos modelos obtidos com o APS e com base nos Loadings e Coeficientes de Regressão. Além disso, a espectroscopia 2D faz uso de um experimento de perturbação de concentração que pode correlacionar as variáveis selecionadas à informação química da espécie ou parâmetro que se deseja determinar.

Evidentemente, a espectroscopia de correlação 2D apresenta limitações quanto à seleção de regiões espectrais quando o parâmetro a ser analisado é global, ou seja aquele parâmetro que não depende apenas de um constituinte da gasolina, como é o caso da octanagem. Porém, como visto no presente estudo, o uso de três espécies que estão relacionadas com esse parâmetro de qualidade, utilizando um experimento simples de perturbação de concentração em fluxo, foi possível alcançar resultados semelhantes às outras ferramentas de seleção com redução significativa do número de variáveis e

manutenção da interpretação química do efeito dessas variáveis sobre os parâmetros analisados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. NODA, I. 2-dimensional infrared (2D IR) spectroscopy - theory and applications, **Appl. Spectrosc.**, 44 (4), 550 – 561, 1990.
2. NODA, I.; DOWREY, A. E.; MARCOTT, C.; STORY, G. M. Generalized two-dimensional correlation spectroscopy, **Appl. Spectrosc.**, 54 (7), 236A – 248A, 2000.
3. SKOOG, D. A.; LEARY, J. J. **Principles of Instrumental Analysis**. 4th ed. New York: Saunders College Publishing, 1992.
4. NODA, I. Generalized 2-dimensional correlation method applicable to infrared, raman, and other types of spectroscopy, **Appl. Spectrosc.**, 47 (9), 1329 – 1336, 1993.
5. WU, P.; SIESLER, H. W. Two-dimensional correlation analysis of variable-temperature Fourier-transform mid- and near-infrared spectra of polyamide 11, **J. Mol. Struct.**, 521, 37 – 47, 2000.
6. Gregoriou, V. G.; Rodman, S. E.; Nair, B. R.; Hammond, P. T. Two-dimensional correlation infrared analysis (2D-IR) based on dynamic infrared spectroscopy used as a probe of the viscoelastic behavior of side chain liquid crystalline polyurethanes, **J. Phys. Chem. B**. 106 (43), 11108 - 11113, 2002.
7. Huang, H.; Malkov, S.; Coleman, M.; Painter, P. Application of two-dimensional correlation infrared spectroscopy to the study of immiscible polymer blends, **Macromolecules**, 36 (21), 8148 - 8155, 2003.
8. Huang, H.; Malkov, S.; Coleman, M.; Painter, P.; Application of two-dimensional correlation infrared spectroscopy to the study of miscible polymer blends, **Macromolecules**, 36 (21), 8156 - 8163, 2003.
9. Peng, Y.; Wu, P. Y.; Yang, Y. L. Two-dimensional infrared correlation spectroscopy as a probe of sequential events in the diffusion process of water in poly(epsilon-caprolactone), **J. Chem. Phys.** 119 (15), 8075 - 8079, 2003.
10. AMARI, T.; OZAKI, Y.; Generalized two-dimensional attenuated total reflection/infrared and near-infrared correlation spectroscopy studies of real-time monitoring of the initial oligomerization of bis(hydroxyethyl terephthalate), **Macromolecules**, 35 (21), 8020 - 8028, **2002**.
11. TIAN, G.; WU, Q.; SUN, S. Q.; NODA, I.; CHEN, G. Q. Study of thermal melting behavior of microbial polyhydroxyalkanoate using two-dimensional Fourier transform infrared correlation spectroscopy, **Appl. Spectrosc.**, 55 (7), 888 - 893, 2001.
12. ZHAO, J. G.; JIANG, J. H.; YOSHIHARA, T.; SIESLER, H. W.; OZAKI, Y. Dynamics of a ferroelectric liquid crystal with a naphthalene ring during electric-field-induced switching studied by time-resolved infrared spectroscopy combined with two-dimensional correlation spectroscopy, **Appl. Spectrosc.**, 57 (9), 1063 - 1069, 2003.

13. AYORA-CAÑADA, M. J.; LENDL, B.; Study of acid-base titration of succinic and malic acid in aqueous solution by two-dimensional FTIR correlation spectroscopy, **Vib. Spectrosc.**, 24 (2), 297 - 306, 2000.
14. MURAYAMA, K.; OZAKI, Y. Two-dimensional near-IR correlation spectroscopy study of molten globule-like state of ovalbumin in acidic pH region: Simultaneous changes in hydration and secondary structure, **Biopolymers**, 67 (6), 394 - 405, 2002.
15. JUNG, Y. M; CZARNIK-MATUSEWICZ, B.; OZAKI, Y. Two-dimensional infrared, two-dimensional Raman, and two-dimensional infrared and Raman heterospectral correlation studies of secondary structure of beta-lactoglobulin in buffer solutions, **J. Phys. Chem. B.**, 104 (32), 7812 - 7817, 2000.
16. TORRECILLAS, A.; CORBALAN-GARCIA, S.; GOMEZ-FERNANDEZ, J. C. Structural study of the C2 domains of the classical PKC isoenzymes using infrared spectroscopy and two-dimensional infrared correlation spectroscopy, **Biochemistry**, 42 (40), 11669 - 11681, 2003.
17. YAN, Y. B; WANG, Q.; HE, H. W.; HU, X. Y.; ZHANG, R. Q.; ZHOU, H. M. Two-dimensional infrared correlation spectroscopy study of sequential events in the heat-induced unfolding and aggregation process of myoglobin, **Biophys. J.** 85 (3), 1959 - 1967, 2003.
18. BREDENBECK, J.; HAMM, P. Peptide structure determination by two-dimensional infrared spectroscopy in the presence of homogeneous and inhomogeneous broadening, **J. Chem. Phys.** 119 (3), 1569 - 1578, 2003.
19. OZAKI, Y.; MURAYAMA, K.; WU, Y.; CZARNIK-MATUSEWICZ, B. Two-dimensional infrared correlation spectroscopy studies on secondary structures and hydrogen bondings of side chains of proteins, **Spectroscopy – an international journal**, 17 (2 –3), 79 – 100, 2003.
20. WU, Y.; MURAYAMA, K.; CZARNIK-MATUSEWICZ, B.; OZAKI, Y. Two-dimensional attenuated total reflection/infrared correlation spectroscopy studies on concentration and heat-induced structural changes of human serum albumin in aqueous solutions, **Appl. Spectrosc.**, 56(9), 1186 – 1193, 2002.
21. PAQUET, M. J.; LAVIOLETTE, M.; PEZOLET, M. AUGER, M. Two-dimensional infrared correlation spectroscopy study of the aggregation of cytochrome c in the presence of dimyristoylphosphatidylglycerol, **Biophys. J.**, 81 (1), 305 – 312, 2001.
22. FILOSA, A.; WANG, Y.; ISMAIL, A.; ENGLISH, A. M. Two-dimensional infrared correlation spectroscopy as a probe of sequential events in the thermal unfolding of cytochromes c, **Biochemistry**, 40 (28), 8256 – 8263, 2001.
23. LIU, Y.; CHEN, Y. Two-dimensional correlation spectroscopy study of visible and near-infrared spectral variations of chicken meats in cold storage, **Appl. Spectrosc.**, 54 (10), 1458 – 1470, 2000.

24. WANG, Y.; TSENKOVA, R.; AMARI, M.; TERADA, F.; HAYASHI, T.; ABE, A.; OZAKI, Y. Potential of two-dimensional correlation spectroscopy in analyses of NIR spectra of biological fluids. I. Two-dimensional correlation analysis of protein and fat concentration-dependent spectral variations of milk, **Analisis**, 26 (4), M64 – M69, 1998.
25. CZARNIK-MATUSEWICZ, B.; MURAYAMA, K.; TSENKOVA, R.; OZAKI, Y. Analysis of near-infrared spectra of complicated biological fluids by two-dimensional correlation spectroscopy: Protein and fat concentration-dependent spectral changes of milk, **Appl. Spectrosc.**, 53 (12), 1582 - 1594, 1999.
26. Liu, Y.; Chen, Y.; Two-dimensional visible/near-infrared correlation spectroscopy study of thawing behavior of frozen chicken meats without exposure to air, **Meat Science**, 57 (3), 299 – 310, 2001.
27. ERNST, R. R.; BODENHAUSEN, G.; WOKAUN, A. **Principles of nuclear magnetic resonance in one and two dimensions**. Oxford: Clarendon Press, 1987. p. 283.
28. Grant, D. M.; Harris, R. K. **Encyclopedia of nuclear magnetic resonance**. Chichester: John Wiley & sons, 1996. p. 92 – 106.
29. AUE, W. P.; BARTHOLDI, E.; ERNST, R. R. 2-dimensional spectroscopy - application to nuclear magnetic-resonance, **J. Chem. Phys.**, 64(5), 2229 – 2246, 1976.
30. MORRIS, G. A. Modern NMR techniques for structure elucidation, **Magnetic Resonance in Chemistry**, 24(5), 371 – 403, 1986.
31. NODA, I.; DOWREY, A. E.; MARCOTT, C. A spectrometer for measuring time-resolved infrared linear dichroism induced by a small-amplitude oscillatory strain, **Appl. Spectrosc.**, 42(2), 203 - 216, 1988.
32. MARCOTT, C.; NODA, I.; DOWREY, A. E. Enhancing the information-content of vibrational-spectra through sample perturbation, **Anal. Chim. Acta.**, 250 (1), 131- 143, 1991.
33. NODA, I.; DOWREY, A. E.; MARCOTT, C. Recent developments in 2-dimensional infrared (2D-IR) correlation spectroscopy, **Appl. Spectrosc.**, 47 (9), 1317-1323, 1993.
34. MARCOTT, C.; DOWREY, A. E.; NODA, I. Dynamic 2-dimensional IR spectroscopy, **Anal. Chem.**, 66 (21), 1065A-1075A, 1994.
35. SEFARA, N. L.; MAGTOTO, N. P.; RICHARDSON, H. H. Structural characterization of p-lactoglobulin in solution using two-dimensional FT mid-infrared and FT near-infrared correlation spectroscopy, **Appl. Spectrosc.**, 51(4), 536 – 540, 1997.
36. EBIHARA, K.; TAKAHASHI, H.; NODA, I. Nanosecond 2-dimensional resonance raman correlation spectroscopy of benzil radical-anion, **Appl. Spectrosc.**, 47(9), 1343 – 1344, 1993.

37. NODA, I. 2-dimensional Fourier-transform near-infrared correlation spectroscopy studies of temperature-dependent spectral variations of oleyl alcohol, **J. Phys. Chem.**, 99 (10), 3068 – 3073, 1995.
38. NODA, I. Two-dimensional Fourier-transform near-infrared correlation spectroscopy study of dissociation of hydrogen-bonded N-methylacetamide in the pure liquid state, **J. Phys. Chem.**, 100 (18), 7326 – 7332, 1996.
39. OZAKI, Y.; LIU, Y.; NODA, I. Two-dimensional near-infrared correlation spectroscopy study of premelting behavior of nylon 12, **Macromolecules**, 30 (8), 2391 – 2399, 1997.
40. OZAKI, Y.; MURAYAMA, K.; WANG, Y. Application of two-dimensional near-infrared correlation spectroscopy to protein research, **Vib. Spectrosc.**, 20 (2), 127 – 132, 1999.
41. ROSELLI, C.; BURIE, J. R.; MATTIOLI, T.; BOUSSAC, A. Two-dimensional correlation method applied to Yb³⁺ vibronic sideband spectroscopy: discrimination of fluorescence spectral features arising from different Yb³⁺ binding sites, **Biospectroscopy**, 1 (5), 329 – 339, 1995.
42. SASIC, S.; MUSZYNSKI, A.; OZAKI, Y. A new possibility of the generalized two-dimensional correlation spectroscopy. 1. Sample-sample correlation spectroscopy, **J. Phys. Chem. A**, 104 (27), 6380 – 6387, 2000.
43. JUNG, Y. M.; SHIN, H.S.; BIN KIM, S.; NODA, I. New approach to generalized two-dimensional correlation spectroscopy. 1: Combination of principal component analysis and two-dimensional correlation spectroscopy, **Appl. Spectrosc.**, 56 (12), 1562 – 1567, 2002.
44. SASIC, S.; OZAKI, Y. Statistical two-dimensional correlation spectroscopy: Its theory and applications to sets of vibration spectra, **Anal. Chem.**, 73 (10), 2294 – 2301, 2001.
45. WU, Y. Q.; JIANG, J. H.; OZAKI, Y. A new possibility of generalized two-dimensional correlation spectroscopy: Hybrid two-dimensional correlation spectroscopy, **J. Phys. Chem. A**, 106 (11), 2422 – 2429, 2002.
46. WEYER, L. G. Near-Infrared Spectroscopy of organic substances, **Appl. Spectrosc. Rev.**, 21 (1-2), 1 – 43, 1985.
47. WORKMAN Jr., J. J. Interpretative Spectroscopy for Near Infrared, **Appl. Spectrosc. Rev.**, 31 (3), 251 – 320, 1996.
48. BOKOBZA, L. Near Infrared Spectroscopy, **J. Near Infrared Spectrosc.**, 6, 3 – 17, 1998.
49. PASQUINI, C. Near Infrared Spectroscopy: fundamentals, practical aspects and analytical applications, **J. Braz. Chem. Soc.**, 14 (2), 198 – 219, 2003.
50. QMCWEB (revista eletrônica do departamento de química – UFSC). Apresenta informações sobre gasolina. Disponível em: <http://qmc.ufsc.br/qmcweb/artigos/gasolina.html>. Acesso em: 22 out. 2003.

51. OZAKI, Y. Apresenta o software para aplicação da espectroscopia de correlação 2D generalizada. Disponível em: <http://sci-tech.ksc.kwansei.ac.jp/~ozaki/2D-Pocha.htm>. Acesso em: 18 jul. 2002.
52. ARAÚJO, M. C. U.; SALDANHA, T. C.B.; GALVÃO, R. K. H.; YONEYAMA, T.; CHAME, H. C.; VISANI, V. The successive projections algorithm for variable selection in spectroscopic multicomponent analysis, **Chemom. Intell. Lab. Syst.**, 57, 65 – 73, 2001.
53. SACAROGUE, L. A. Avaliação de diferentes regiões do espectro do infravermelho próximo na determinação de parâmetros de qualidade de combustíveis empregando ferramentas quimiométricas. 2004. 235 p. Tese (Doutorado) – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas/SP.
54. BOHÁCS, G.; OVÁDI, Z.; SALGÓ, A. Prediction of gasoline properties with near infrared spectroscopy, **J. Near Infrared Spectrosc.**, 6, 341 – 348, 1998.

II.1. INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de instrumentação adequada para determinação de substâncias opticamente ativas tem sido um tema de bastante relevância nas últimas décadas. Tal fato decorre principalmente da necessidade das indústrias farmacêutica e açucareira em desenvolver produtos de maior pureza e qualidade. No caso da indústria farmacêutica, sabe-se que dentre as muitas drogas encontradas como misturas racêmicas, geralmente, apenas um dos seus enantiômeros possui efeitos terapêuticos, sendo que o outro pode apresentar efeitos colaterais significativos [1 – 3]. Um exemplo clássico disso, é a talidomida, sedativo bastante utilizado no início da década de 60, sendo um de seus enantiômeros extremamente teratogênico [4]. Já para a indústria açucareira, a utilização de soluções de açúcar não clarificadas e instrumentos que operem na região do Infravermelho Próximo (NIR) faz-se necessária em decorrência da proibição, por questões ambientais, do uso de clarificantes a base de chumbo.

Dentre as técnicas existentes para medida de substâncias opticamente ativas, *i. e.* polarimetria, Dispersão Óptica Rotatória (ORD) e Dicroísmo Circular (CD), essa última é certamente a mais utilizada porque fornece informação direta sobre a atividade óptica dos centros quirais que absorvem na molécula em estudo [2]. Entretanto, essas medidas são consideradas difíceis devido à pequena magnitude do sinal obtido (10^{-2} a 10^{-4} de uma unidade de absorbância), além dos instrumentos CD serem mais eficientes na investigação de compostos quirais que apresentam cor, já que esses instrumentos realizam medidas na região do visível.

A região do Infravermelho Próximo (NIR), por apresentar bandas de absorção devido aos sobretons e combinação das transições vibracionais fundamentais de grupos C – H, O – H e N – H, presentes em todas os tipos de moléculas orgânicas, constitui uma boa alternativa no desenvolvimento de instrumentos para medida de substâncias opticamente ativas.

Considerando esses aspectos, o presente trabalho descreve a construção de um espectropolarímetro baseado em Filtro Óptico Acústico Sintonizável (AOTF) que opera na região do Infravermelho Próximo (NIR).

II. 1.1. Origem da Atividade Óptica

A constatação da atividade óptica de alguns sólidos e substâncias está diretamente relacionada à descoberta, em 1809 pelo físico francês Malus, da luz plano-polarizada. Em 1811, outro cientista francês, Biot, descobriu que um cristal de quartzo, cortado em um determinado ângulo, girava o plano de polarização da luz em um ângulo proporcional à espessura do cristal [5]. Tal fenômeno é conhecido como rotação óptica e sua descrição é feita a seguir.

A luz não polarizada consiste de grupos de ondas que se propagam em todas as direções perpendiculares à sua direção de deslocamento (Figura II.1a). Ao contrário, se a radiação é filtrada, de modo a remover todas as oscilações deixando passar apenas uma direção no plano x, z, então a luz é denominada plano-polarizada (Figura II.1b) [5, 6]. Nesse caso, a luz consiste de duas componentes polarizadas circularmente, em fase, que traçam caminhos helicoidais de sentidos opostos. A Figura II.1c representa a componente da luz polarizada circularmente para a direita. Tal denominação é dada, em virtude da trajetória de propagação, no sentido dos ponteiros do relógio ($6 \rightarrow 0$), a partir do observador até a fonte de radiação [5, 6].

No vácuo, tanto a luz polarizada circularmente para a direita quanto para a esquerda possuem velocidades iguais. Entretanto, fora do vácuo, quando a luz passa através de um meio ou material, sua velocidade de propagação muda e depende do índice de refração desse meio ou material. Se a luz plano-polarizada passa através de uma substância quiral, não só sua velocidade de propagação muda, mas, também sua direção é alterada por um ângulo (α) que é característico da substância. A atividade óptica, portanto, resulta da diferença no grau de *refração* da luz polarizada circularmente para a direita e esquerda pela substância quiral. Ou seja, a fonte da rotação é a birrefringência [5, 6].

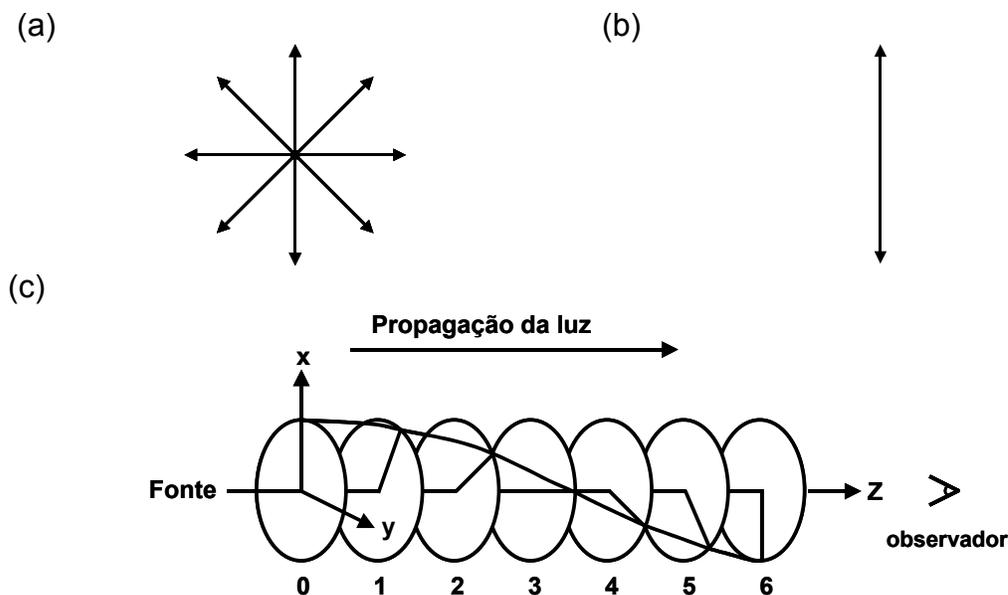


Figura II.1 – Propagação da luz (a) não-polarizada, (b) plano-polarizada, (c) circularmente polarizada para a direita.

Se a onda polarizada circularmente para direita passar através do meio ou material opticamente ativo com maior velocidade que a onda polarizada circularmente para a esquerda, uma rotação positiva (+) da luz plano-polarizada é observada, e o meio ou material é denominado *dextrógiro*. Ao contrário, se a onda polarizada para esquerda apresentar maior velocidade de propagação, o meio ou material é denominado *levógiro*.

Essa mudança no plano de polarização da luz por substâncias quirais (Figura II.2), é a única propriedade capaz de distinguir seus enantiômeros, uma vez que, as demais propriedades dessas substâncias, tais como, propriedades físicas, espectros RMN e no Infravermelho, são iguais.

As principais técnicas utilizadas para investigar a atividade óptica de substâncias quirais são apresentadas no próximo item.

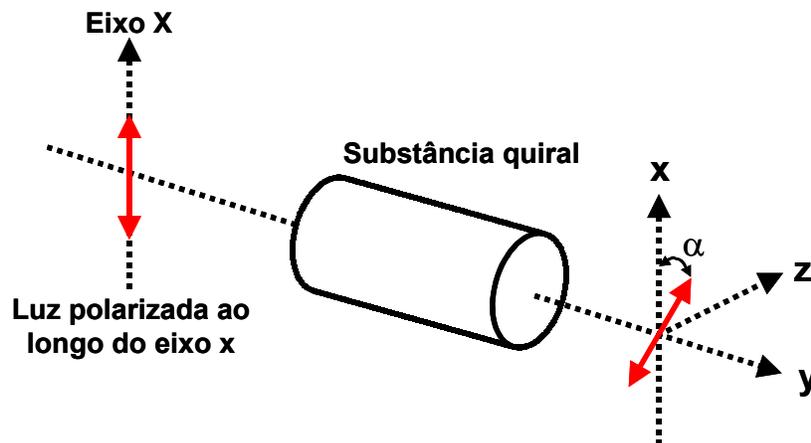


Figura II.2 – Rotação da luz polarizada por um material quiral.

II. 1.2. Técnicas Utilizadas para Medida de Substâncias Opticamente Ativas

A técnica tradicionalmente empregada para medidas de rotação óptica é a *polarimetria*, cujo instrumento utilizado para essas medidas é o *polarímetro*. Esse instrumento é constituído por uma fonte de radiação monocromática (geralmente uma lâmpada de sódio com filtro para $\lambda = 589 \text{ nm}$), um polarizador, normalmente um prisma de Nicol, célula polarimétrica e um analisador, o qual pode ser tanto uma lente Polaroid quanto um outro prisma de Nicol. A rotação óptica imposta pela amostra investigada é medida girando o analisador até que uma quantidade mínima de luz seja detectada no detector [6, 7].

Segundo a Lei de Biot, a rotação observada é proporcional ao comprimento (l) da célula ou tubo que contém o líquido ou solução opticamente ativa e à sua concentração c (ou densidade, no caso de líquido puro):

$$\alpha = [\alpha]cl \quad (\text{II.1})$$

onde:

$[\alpha]$ = rotação específica;

α = rotação observada;

l = comprimento do caminho óptico (em decímetros);

c = concentração, g mL^{-1} para líquidos puros ou $\text{g } 100 \text{ mL}^{-1}$ quando soluções são utilizadas (Equação II.2).

$$[\alpha] = \frac{\alpha}{l(dm)c(\text{gmL}^{-1})} = \frac{100\alpha}{l(dm)c'(\text{g}100\text{mL}^{-1})} \quad (\text{II.2})$$

A rotação específica $[\alpha]$ depende do comprimento de onda e da temperatura nas quais as medidas são realizadas. Essas duas variáveis, geralmente são indicadas como itens subscrito e sobrescrito na constante $[\alpha]$, respectivamente. Além disso, $[\alpha]$ também depende do solvente no qual a solução da amostra é preparada [5].

O campo de aplicação de maior destaque da polarimetria é, com certeza, a indústria do açúcar, devido a grande importância comercial desse produto. A determinação da sacarose, geralmente, não é feita de forma direta, pois esse açúcar ocorre naturalmente junto com outros açúcares opticamente ativos. Frequentemente, essa determinação é feita através da reação de hidrólise da sacarose, a qual é conhecida como *reação de inversão*, em que uma mistura de glicose e frutose é obtida. Além da indústria do açúcar, a polarimetria é vastamente empregada no controle de qualidade, processos e pesquisas nas indústrias farmacêuticas, químicas, de óleos essenciais e alimentos [8].

Quando o interesse é investigar as estruturas e conformações das moléculas de substâncias opticamente ativas, as técnicas Dispersão Óptica Rotatória (ORD) e Dicroísmo Circular (CD) são as escolhidas.

A técnica ORD baseia-se na medida da rotação óptica em função do comprimento de onda. Para um composto que não apresenta absorção na região espectral estudada, a atividade óptica diminuirá, progressivamente, com o aumento do comprimento de onda, e uma curva ORD contínua (normal) é observada (Figura II.3a) [5, 9]. Esse comportamento da curva ORD contínua, em função do aumento do comprimento de onda, é representado matematicamente pela Equação de Fresnel:

$$\alpha = (n_L - n_R)1800l / \lambda_0 \quad (\text{II.3})$$

onde:

α = coeficiente de rotação óptica;

n_L e n_R = índices de refração para os feixes circularmente polarizados para a esquerda e direita;

l = comprimento do caminho óptico (em decímetros);

λ_0 = comprimento de onda no vácuo do feixe de luz (em centímetros).

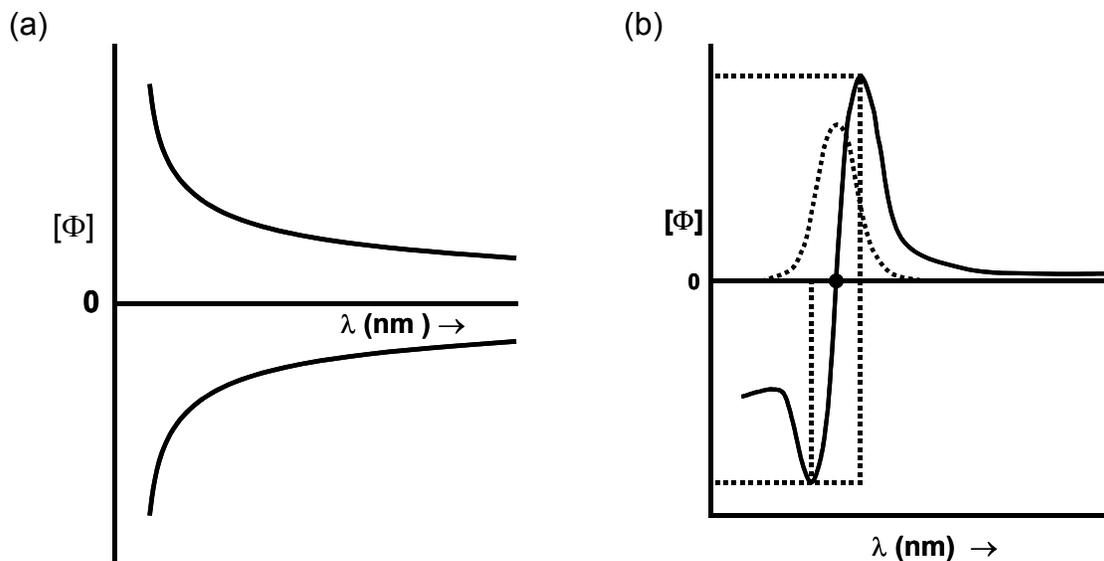


Figura II.3 – Curvas ORD na região espectral UV/Vis. (a) substância que não apresenta absorção, (b) substância que apresenta absorção. (----) espectro de absorção, (—) curva ORD. $[\Phi]$ = rotação molar.

Já uma substância cuja molécula possua centros quirais que apresentam absorção, as curvas ORD são descontínuas (anormais) e apresentam máximos ou mínimos (picos ou vales) e um ponto de inflexão na região do espectro referente àquela de absorção máxima do centro quiral (Figura II.3b). Esse comportamento de inflexão das curvas anormais é conhecido como *Efeito Cotton* (Figura II.3b). Para a região do ultravioleta e visível (UV/Vis), o Efeito Cotton, coincide com o comprimento de onda de absorção máxima. Entretanto, sua forma pode não ser simétrica, devido às sobreposições desse efeito ao longo da região espectral estudada [5, 9].

A técnica CD consiste em medir a diferença de absorção da luz polarizada circularmente para a direita e esquerda para as mesmas transições

observadas na espectroscopia de absorção normal. Tal diferença de absorção está associada à transição eletrônica ou vibracional do centro quiral presente na molécula quiral [5, 9, 10]. A Lei de Beer é obedecida para ambas componentes da luz polarizada circularmente (E = esquerda, D = direita), e a diferença de absorção é dada por:

$$\Delta A = \Delta \epsilon l C \quad (II.4)$$

onde:

$\Delta \epsilon = \epsilon_E - \epsilon_D$ (sendo ϵ_E e ϵ_D as absorptividades molares para a luz polarizada circularmente para a esquerda e direita, respectivamente).

A Figura II.4 mostra espectros hipotéticos de absorção e CD. Pode-se observar por meio deles, que existe correspondência entre as bandas CD e as bandas de absorção normal, mas as bandas CD podem ter tanto valores positivos quanto negativos, dependendo de qual componente da luz é absorvida mais fortemente. De modo geral, as bandas CD têm forma muito semelhante às bandas de absorção como mostrado na Figura II.4. No entanto, em moléculas mais complexas como polinucleotídeos e polipeptídios, curvas mais complexas podem ser obtidas devido à interação entre os centros quirais presentes nessas moléculas [10].

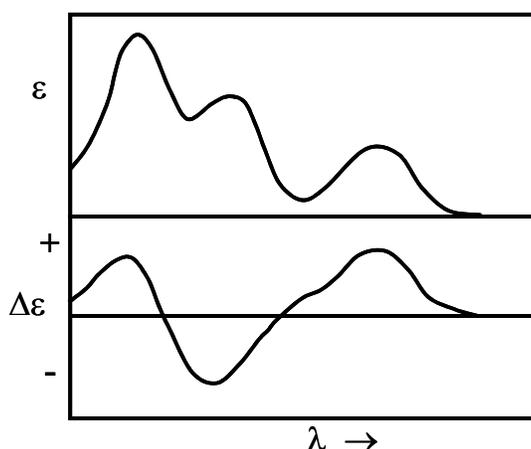


Figura II.4 – Espectro hipotético de absorção normal e seu correspondente espectro CD.

Como citado anteriormente, as técnicas ORD e CD têm maior campo de aplicação na investigação de configurações e conformações de moléculas biológicas. Atualmente, a técnica CD é a preferida, sendo a técnica ORD utilizada apenas de forma complementar, nos seguintes casos: (1) para verificar *Efeito Cotton* fora da faixa espectral de operação de espectrômetros CD comerciais, (2) medidas de propriedades ópticas de substâncias com baixa atividade óptica [5].

A preferência pela técnica CD deve-se ao fato dessa fornecer informação direta sobre os centros quirais presentes nas moléculas em estudo. Além disso, a técnica é não destrutiva e requer pequena quantidade de amostra. Entretanto, as medidas CD são consideradas difíceis de serem realizadas devido à pequena magnitude do sinal obtido (10^{-4} – 10^{-2} de uma unidade de absorbância) e ao fato das medidas preferencialmente, serem feitas com compostos que apresentam cor, já que, a maioria dos instrumentos CD comerciais existentes opera na região UV/Vis.

Nos últimos anos, o interesse por instrumentos CD que operem na região espectral de transições vibracionais (Infravermelho Médio e Próximo) tem aumentado e alguns trabalhos podem ser encontrados na literatura [11 – 15]. A maior motivação para o desenvolvimento de instrumentos nessas regiões espectrais, é que a mesma compreende transições vibracionais de grupos C – H, O – H e N – H, presentes em todas os tipos de moléculas orgânicas, além de a mesma permitir a medida de substâncias incolores.

II. 1.2.1. Medidas Vibracionais de Substâncias Opticamente Ativas

A idéia de se utilizar a região espectral que compreende transições vibracionais para investigação de substâncias opticamente ativas é bem antiga. Entretanto, as baixas sensibilidades das medidas, as quais em sua grande maioria são baseadas na técnica de Dicroísmo Circular (CD), limitaram o desenvolvimento de instrumentos comerciais para a região do Infravermelho Médio (MID) e Infravermelho Próximo (NIR) até o início da década de 90. Entretanto, nos últimos

anos a utilização de diferentes acessórios ópticos e eletrônicos tem sido descrita na literatura a fim de melhorar a sensibilidade e eficiência das medidas nessas regiões espectrais [11 – 15].

Um dos primeiros instrumentos descritos para medidas CD na região NIR (800 – 3000 nm) foi proposto em 1973, por Osborne *et al.* [16]. O instrumento que utiliza um modulador fotoelástico de quartzo mostrou-se bastante sensível e com alta resolução instrumental em medidas CD de complexos de tartarato de samário e níquel, conduzindo a resultados comparáveis aos obtidos com instrumentos CD UV/Vis.

Nafie *et al.*[17], em 1976, investigaram diferentes compostos quirais utilizando um instrumento CD na região espectral 2500 – 4000 nm. As bandas de absorção para essa região apresentaram sinais entre 0,08 – 0,89, e os sinais CD obtidos foram da ordem de 10^{-5} . Segundo os autores, a baixa sensibilidade do instrumento poderia ser melhorada com o aumento da intensidade da fonte de radiação, aumento na sensibilidade dos detectores e qualidade dos dispositivos ópticos de polarização.

O comportamento CD da cânfora na faixa espectral de 1600 – 3600 nm foi descrito em 1976 por Keiderling e Stephens [18] utilizando um instrumento dispersivo baseado em uma grade de difração como monocromador. Várias bandas CD em decorrência dos diferentes modos vibracionais das ligações CH e CO foram observadas. Os sinais obtidos foram da ordem de 10^{-5} , sendo os mesmos considerados de magnitude razoável e comparáveis aos obtidos com transições fundamentais. Entretanto, o tempo de análise para o par enantiomérico foi alto (4h) e para as regiões de sobretom uma maior quantidade de amostra foi necessária.

Espectros CD na região 800 – 1300 nm de uma série de terpenos e compostos correlatos (*p.ex*: limoneno, propileno e ciclohexeno) foram investigados por Abbate *et al.* [19] em 1989. Para esses estudos foi utilizado um espectrômetro Jasco Modelo J200D. Para a região de segundo sobretom, utilizou-se um detector de HgCdTe e uma cubeta de 1 cm de caminho óptico. Já para a região de terceiro

sobretudo, a detecção foi feita com uma fotomultiplicadora Hamamatsu R316 e uma célula de 10 cm de caminho óptico. Nesse estudo foram investigados, comparativamente, os diferentes modos vibracionais das ligações CH dos compostos citados acima.

Um espectropolarímetro que utiliza um laser de titânio-safira sintonizável na faixa espectral de 670 – 1030 nm como fonte de radiação, foi descrito por Tran e Grishko em 1994 [2]. A utilização de amplificadores do tipo “lock-in” conduziu o instrumento a uma sensibilidade viável para medidas de dicroísmo circular das transições de sobretudo de compostos quirais, p. ex: (R)- e (S)-cânfora, (R)- e (S)-2-octanol, e (R)- e (S)-2-amino-1-octanol. A magnitude dos sinais CD obtidos com esse instrumento foi da ordem de 10^{-4} , utilizando células de medida com 20 cm de caminho óptico.

Um detector baseado na medida de CD/NIR de efluentes quirais de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência foi desenvolvido por TRAN *et al.* em 1994 [3]. Nesse instrumento, um laser no estado sólido, sintonizável na faixa espectral de 2400 – 3500 nm, foi utilizado como fonte de radiação. A luz polarizada linearmente do laser foi convertida em luz circularmente polarizada para a esquerda e direita por meio de um modulador fotoelástico (42 kHz), e os sinais transmitidos foram medidos utilizando-se detectores de antimônio de índio. Nessa configuração, o instrumento pôde ser usado para medidas VCD (Dicroísmo Circular Vibracional) de grupos OH e os limites de detecção obtidos para os compostos investigados foram da ordem de microgramas.

Em 1997, LONG *et al.* [11] descreveram um instrumento VCD para a faixa espectral de 2500 – 4000 nm. O instrumento é um FT-IR-VCD que utiliza fonte tungênio-halógena, janelas de BaF₂, lentes de ZnSe e detectores de InSb. Os resultados obtidos foram semelhantes aos obtidos com um VCD baseado em grade de difração, com sinais da ordem de 10^{-5} ΔA e tempo de coleta dos espectros com resolução de 8 cm⁻¹ de 4 h.

Castiglioni *et al.* [12], em 2002, desenvolveram e aplicaram um instrumento CD/NIR que opera na região espectral de 800 – 1300 nm. Os autores

demonstraram o comportamento CD de 12 pares enantioméricos de moléculas de cetonas bicíclicas e monoterpenos. O instrumento utiliza uma fonte tungstênio-halógena, polarizador linear, um modulador fotoelástico e detectores de InGaAs. Os resultados obtidos demonstraram uma maior sensibilidade analítica ($10^{-5} \Delta A$) e menor consumo de amostra para a região de segundo sobretom de ligações C – H e C = O.

O estudo realizado por Keiderling e Stephens em 1976 para cânfora na faixa espectral de 1600 – 3600 nm, foi repetido em 2003 por Nafie *et al.* [13] utilizando um instrumento baseado em Transformada de Fourier. A principal vantagem apresentada pelo instrumento proposto é a redução significativa do tempo de medida espectral (de 4h para menos de 2 minutos para o par enantiomérico). Além disso, as medidas são mais fáceis, uma vez que se utilizam detectores de InGaAs, que operam a temperatura ambiente ou são termoeletricamente resfriados, não havendo necessidade do uso de nitrogênio líquido para realizar as medidas.

Longhi *et al.* [14], em 2004, investigaram o comportamento espectropolarimétrico da cânfora e fenconona na faixa espectral de 850 – 1500 nm. O instrumento utilizado é uma versão modificada daquele descrito por Castiglioni *et al.* [15]. Nessa região de sobretom e sobretons de combinação de vibrações de ligações C – H, os sinais CD obtidos foram da ordem de 10^{-6} . Apesar da menor sensibilidade obtida para a região de terceiro sobretom dos modos de estiramento C – H, quando comparados aos resultados obtidos por Tran e Grishko [2], o trabalho citado inclui o estudo CD da cânfora na região de combinação de modos de estiramento C – H, a qual ainda não havia sido descrita na literatura.

Um instrumento comercial VCD FT/IR foi modificado por Cao *et al.* [15] para operar na ampla faixa espectral que compreende as regiões NIR/MID (1000 – 12.500 nm). O comportamento espectropolarimétrico de substâncias como: 2,2 – dimetil-dioxalano – 4 – metanol (DDM), α - pineno e cânfora, foram demonstrados. Um conjunto de detectores de HgCdTe resfriados termoeletricamente e com nitrogênio líquido, além de detectores de InGaAs e Ge, foram utilizados para

operação em toda a faixa espectral estudada. A magnitude dos sinais VCD obtidos foram da ordem de 10^{-5} utilizando-se caminhos ópticos que variaram de 0,003 – 50 mm e tempo de medida de 1 – 12 h.

Pode-se verificar por meio dos trabalhos citados que há um grande interesse na literatura pelo desenvolvimento de instrumentos para medida de substâncias opticamente ativas na região de transições vibracionais, principalmente na região NIR. Esse interesse deve-se às vantagens que essa região espectral pode oferecer: não há necessidade de preparo da amostra, as medidas são rápidas, pode-se utilizar caminhos ópticos de tamanhos variáveis, além das bandas de absorção nessa região compreenderem transições vibracionais de ligações C – H, N – H, O – H presentes nas moléculas orgânicas.

De modo geral, os instrumentos desenvolvidos para as regiões MID/NIR, possuem sensibilidades analíticas inferiores às obtidas para a região UV/VIS. Entretanto, há uma tendência clara em se utilizar dispositivos ópticos e eletrônicos, *p.ex.*: laser como fonte de radiação, amplificadores do tipo “lock-in”, detectores de InGaAs etc., que melhoram a sensibilidade dos sinais CD obtidos com esses instrumentos.

O tempo de análise nos instrumentos sugeridos é outro fator que deve ser considerado. A maioria deles é de instrumentos dispersivos baseados em grade de difração, que apesar de apresentarem baixo custo têm as desvantagens de serem de varredura lenta e perderem a precisão nos comprimentos de onda com o decorrer do tempo de uso. A tendência em se utilizar instrumentos baseados em Transformada de Fourier deve ser destacada, pois esses instrumentos possuem melhores características como: melhor precisão (0,05 nm) e exatidão nos comprimentos de onda, maior relação sinal/ruído e velocidade de varredura [20].

Considerando todos os aspectos citados, o desenvolvimento de espectropolarímetros baseados em Filtros Óptico Acústico Sintonizáveis (AOTF) pode ser uma boa alternativa para a região do Infravermelho Próximo (NIR), devido às características inerentes desses dispositivos: não possuem partes

móveis, apresentam alta velocidade de varredura dos comprimentos de onda, sendo que essa varredura pode ser feita de forma aleatória, a precisão nos comprimentos de onda é da ordem de 0,05 nm, sua resolução fica entre 5 e 15 nm dependendo da faixa espectral utilizada, e apresenta uma alta taxa de transmissão da radiação monocromática.

II.2. OBJETIVOS

- ✓ Construir um espectropolarímetro baseado em Filtro Óptico Acústico Sintonizável (AOTF) para a região do Infravermelho Próximo (NIR);
- ✓ Avaliar a performance do instrumento na investigação de substâncias opticamente ativas.

II.3. PARTE EXPERIMENTAL

II.3.1. Montagem do Instrumento Proposto

O instrumento desenvolvido (Figura II.5) é composto de: fonte de luz tungstênio-halógena, lente colimadora de radiação, modulador mecânico (frequência de 1 KHz), polarizador colorPol® IR 1300 BC5, célula de medida de 10 cm de comprimento, AOTF de TeO₂ fabricado pela Brimrose (TEAF_0,8 - 1,6) que opera na região de 800 a 1600 nm com resolução espectral de 2 – 6 nm e dois detectores de InGaAs. O sinal de rádio-frequência (rf), na faixa de 190 – 90 MHz, utilizado para acionar o AOTF é produzido por um gerador de rf TTI (Thurlby Thandar Instruments) modelo TGR 1040, o qual é controlado via RS-232 através de um programa computacional desenvolvido em Visual Basic 5.0. Esse programa computacional também é responsável pela aquisição de dados dos amplificadores do tipo lock-in (Femto, LIA-MV-150). Essa aquisição é feita através das saídas analógicas dos amplificadores, que foram conectadas à interface paralela (PCL-711S), a qual é responsável pela conversão do sinal do domínio analógico para o digital com resolução de 12-bits.

Fotos do espectropolarímetro construído são mostradas na Figura II.6.

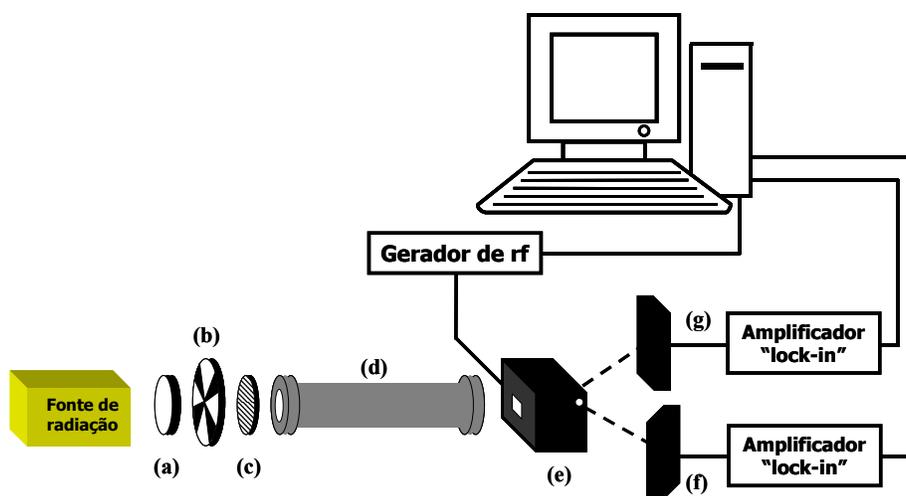
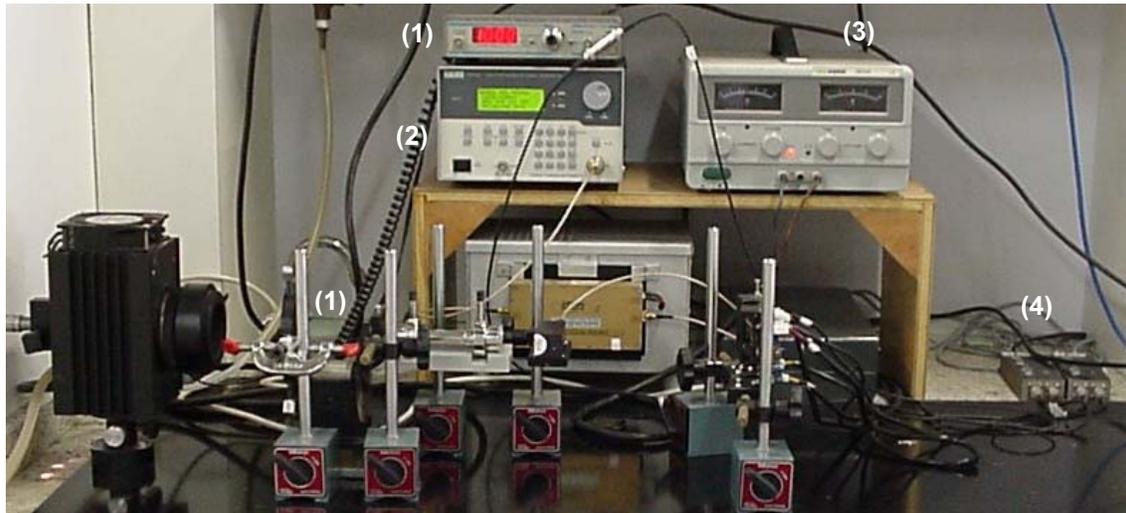


Figura II.5 – Esquema geral do espectropolarímetro proposto. (a) Lente colimadora de radiação, (b) modulador mecânico, (c) polarizador, (d) célula de medida, 10 cm, (e) AOTF, (f) e (g) detectores de InGaAs.

(a)



(b)

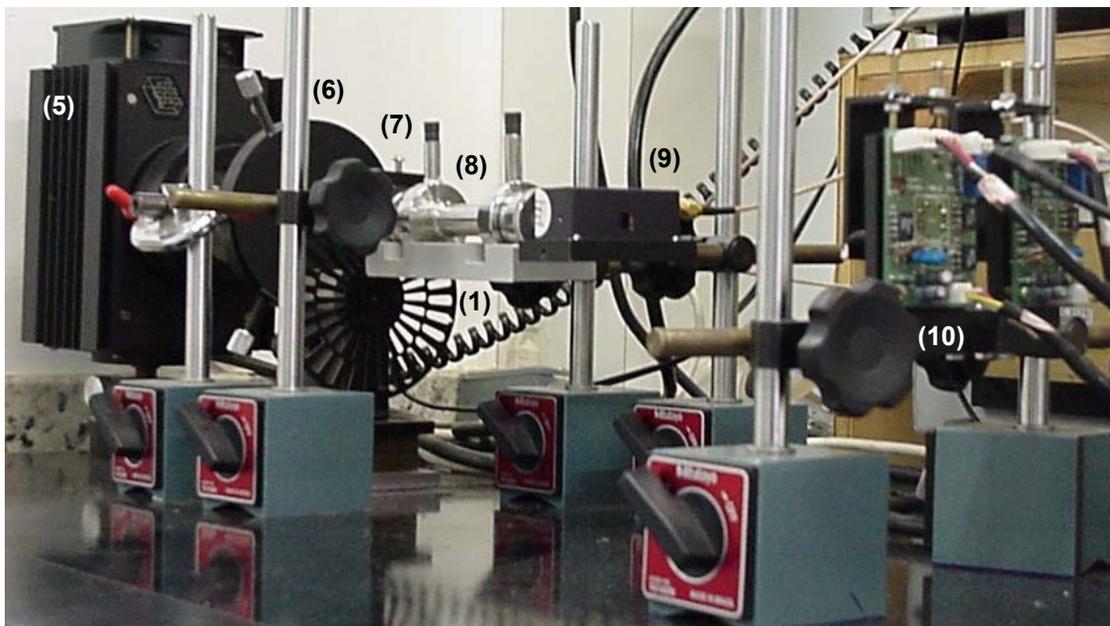


Figura II.6 – Fotos do espectropolarímetro construído. (a) Visão geral do instrumento: (1) modulador mecânico (frequência de 1 KHz), (2) gerador de rf, (3) controlador de potência da fonte de radiação, (4) amplificadores do tipo “Lock-in”. (b) Detalhe das partes principais do instrumento, (5) Fonte de radiação tungstênio-halógena, (6) lente colimadora de radiação, (7) polarizador, (8) célula de medida, (9) AOTF, (10) detectores InGaAs.

II.3.1.1. Polarizador

O elemento polarizador utilizado neste trabalho, Codixx ColorPol® IR 1300 BC5, cuja tecnologia foi desenvolvida em 2002 [21], consiste de uma lâmina de vidro ($10 \times 10 \text{ mm}^2$ e espessura igual a $220 \pm 20 \mu\text{m}$) contendo partículas alongadas de prata uniformemente orientadas. Essas partículas alongadas de prata são responsáveis pela conversão da luz não polarizada em luz linearmente polarizada. O gráfico da transmitância e contraste (razão entre as transmitâncias dos feixes paralelo e perpendicular) em função do comprimento de onda mostra que para a faixa espectral utilizada neste trabalho (800 – 1600 nm), o polarizador apresenta o efeito máximo de polarização (Figura II.7).

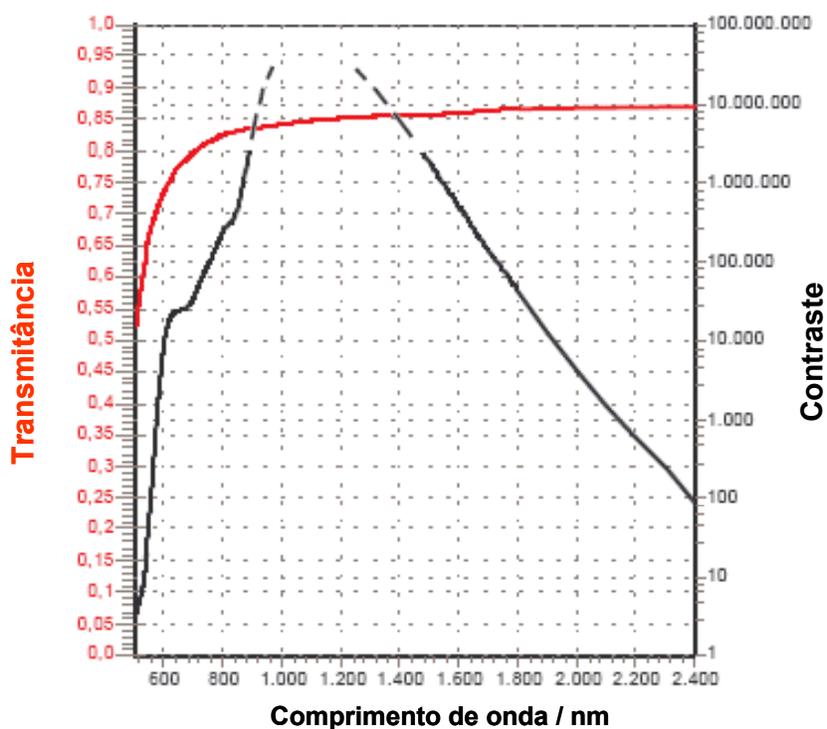


Figura II. 7 – Transmitância e contraste em função do comprimento de onda do polarizador ColorPol® IR 1300 BC5 utilizado.

II.3.2. Filtro Óptico Acústico Sintonizável (AOTF)

Os Filtros Ópticos Acústicos Sintonizáveis (AOTF) são dispositivos que operam como filtros ópticos sintonizáveis eletronicamente, que servem simultaneamente, para modular a intensidade e o comprimento de onda de uma fonte [22, 23]. Esses dispositivos consistem de um cristal birrefringente cujas propriedades ópticas variam em função da interação com uma onda acústica. No presente trabalho, o AOTF utilizado, consiste de um cristal de TeO_2 (dióxido de telúrio) ao qual um transdutor piezoelétrico (LiNbO_3) está ligado (Figura II.8). Quando um sinal oscilante de radiofrequência (RF) é aplicado no transdutor, esse gera uma onda (acústica) vibracional de alta frequência que se propaga pelo cristal. Essa onda acústica induz uma re-distribuição periódica do índice de refração através do cristal, que age como uma grade de difração, difratando a luz incidente em um feixe de primeira ordem. A alteração na frequência do sinal do transdutor aplicado ao cristal altera o período de variação do índice de refração e, portanto, o comprimento de onda da luz que é difratada. A intensidade relativa do feixe difratado é determinada pela amplitude do sinal de rf aplicado ao cristal [24].

Em um AOTF de configuração não-colinear (Figura II.8), utilizado neste trabalho, quando a luz incidente não é polarizada, a porção difratada do feixe incidente consiste de dois feixes de primeira ordem separados espacialmente e ortogonalmente polarizados. Se o feixe de entrada que incide sobre o AOTF é linearmente polarizado a 90° , só um feixe difratado sai do dispositivo e seu estado de polarização sofre uma rotação de 90° em relação ao eixo de polarização do feixe de entrada. Entretanto, se o feixe de entrada é linearmente polarizado a 45° em relação ao AOTF, dois feixes ortogonalmente polarizados e de mesma intensidade são difratados.

Essa propriedade dos AOTF foi utilizada na construção do espectropolarímetro descrito neste trabalho.

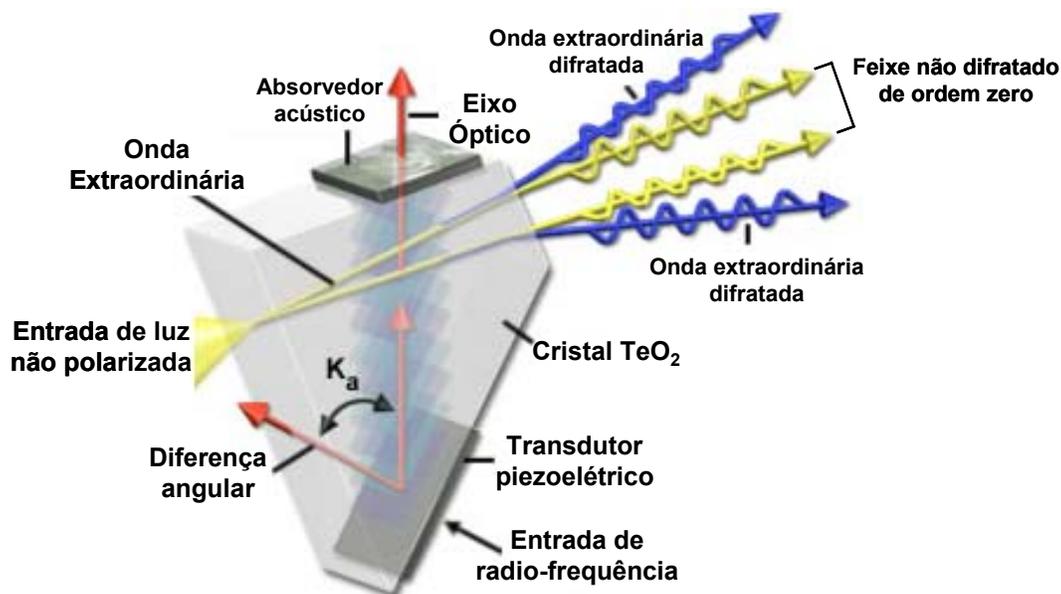


Figura II.8 – Filtro Óptico Acústico Sintonizável (AOTF).

II.3.2.1. Calibração do Comprimento de Onda

Para calibração dos comprimentos de onda dos dois feixes difratados pelo AOTF utilizou-se o espectro de absorção óptica do clorofórmio, o qual apresenta várias bandas de absorção características na região espectral de interesse (800 – 1600 nm). As medidas de referência foram realizadas em um espectrofotômetro comercial NIR com transformada de Fourier da AMM Bomen Inc. (modelo MB 160D), com resolução espectral (8 cm^{-1}) e caminhos ópticos de 0,5 e 5,0 cm.

II. 3.3. Reagentes e Soluções

Os principais reagentes utilizados no presente trabalho foram: (+) sacarose (Synth), (+) glicose (Synth), (-)frutose (Synth), (\pm) cânfora (Acros), (+) cânfora (Acros), (-) cânfora (Acros), tetracloreto de carbono (Merck), clorofórmio (Synth).

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico e as soluções aquosas preparadas diariamente com água desionizada.

II.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

II.4.1. Calibração do Comprimento de onda

No instrumento construído a seleção dos comprimentos de onda é feita por meio da radiofrequência aplicada ao AOTF. A dependência do comprimento de onda da radiação difratada com o sinal de radiofrequência (rf) não é linear [24, 25], e, portanto, uma calibração dos feixes difratados pelo AOTF deve ser realizada.

Para estabelecer a relação entre comprimento de onda e radiofrequência, obteve-se os espectros de absorção do clorofórmio (CHCl_3) na região espectral de 800 – 1600 nm utilizando-se caminhos ópticos de 0,5 e 5,0 cm (Figura II.9). Pode-se observar nesses espectros de absorção várias bandas devido aos diferentes modos vibracionais da ligação C – H, seus sobretons e combinação de sobretons.

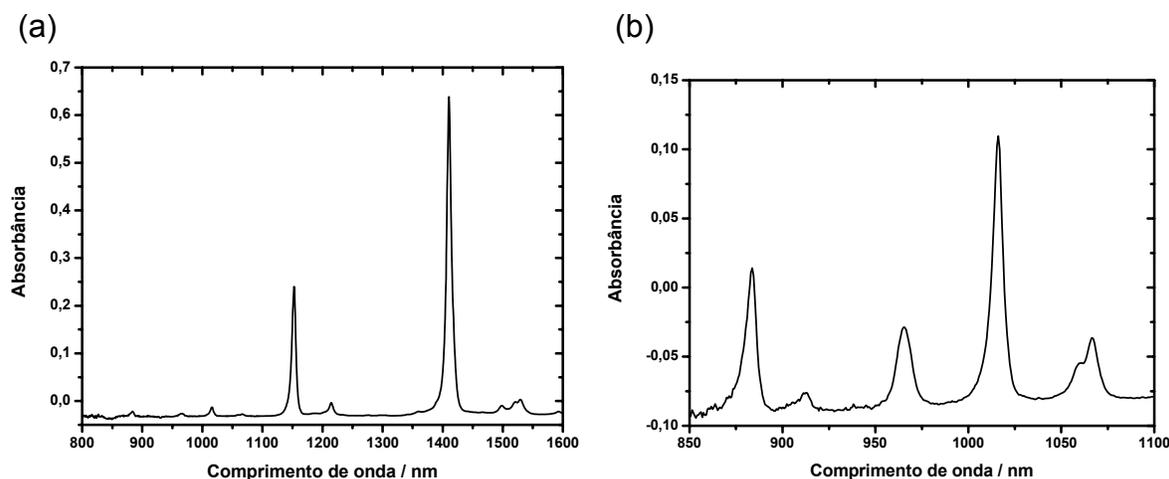
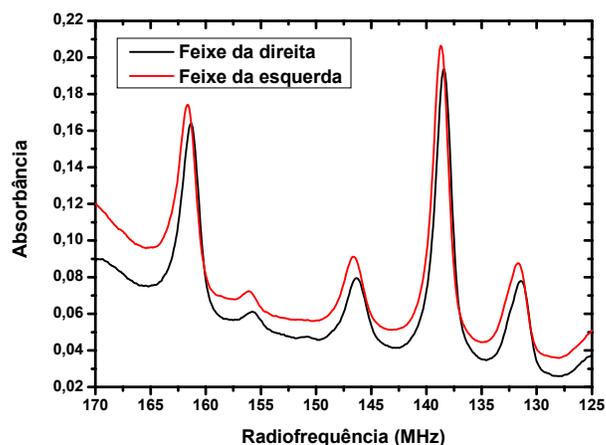


Figura II.9 – Espectros de absorção NIR do clorofórmio em função do comprimento de onda. Referência = CCl_4 , (a) caminho óptico = 0,5 cm, faixa espectral: 800 – 1600 nm, (b) caminho óptico = 5,0 cm, faixa espectral: 850 – 1100 nm. Medida em espectrofotômetro NIR com transformada de Fourier da AMM Bomen Inc.

Essa mesma medida de absorção foi realizada no instrumento construído utilizando-se a célula de 10 cm de caminho óptico. Nesse caso, para a

região de terceiro e segundo sobretom de estiramento da ligação C – H (800 – 1100 nm), cujas bandas são de menor intensidade, a medida foi realizada utilizando-se clorofórmio puro (Figura II.10a). Já para a região de combinação de sobretom e combinação das vibrações de estiramento C – H (1100 – 1600 nm), como as bandas são mais intensas, utilizou-se uma solução (1:5) v/v de clorofórmio em CCl₄ (Figura II.10b). Pode-se observar nos espectros obtidos, que há uma diferença nas radiofrequências relativas às bandas de absorção medidas nos dois feixes difratados pelo AOTF. Essa diferença, segundo a literatura, pode chegar a dezenas de nanômetros, dependendo da configuração do dispositivo [24].

(a)



(b)

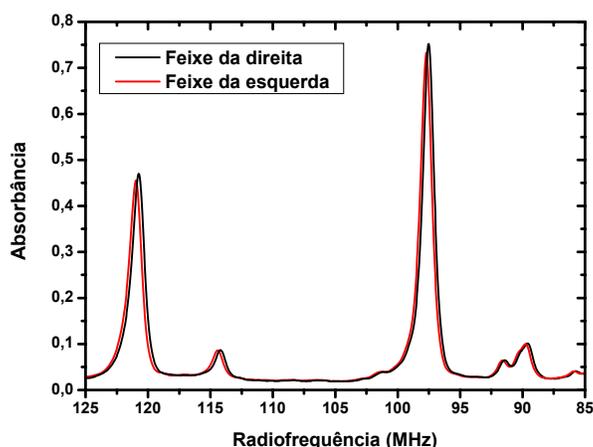


Figura II.10 – Espectros de absorção NIR em função da radiofrequência aplicada ao AOTF utilizado no instrumento construído. (a) clorofórmio puro e (b) sua solução (1:5) v/v em CCl₄. Referência = CCl₄, caminho óptico = 10 cm.

Todos os comprimentos de onda das bandas de absorção observadas (Figura II.9) na região espectral de interesse (800 – 1600 nm) foram correlacionados com os valores de rf (Figura II.10) para estabelecer a relação entre essas duas grandezas. Tais valores são mostrados na Tabela II.1.

Tabela II.1 – Bandas de absorção do clorofórmio na faixa espectral de 800 – 1600 nm e seus correspondentes valores de frequência em MHz.

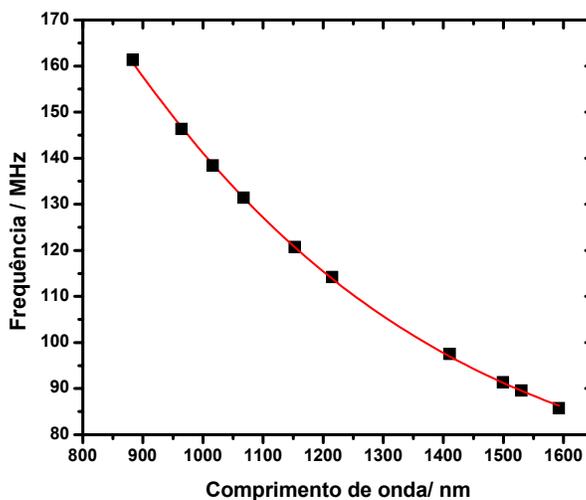
Bandas de absorção do clorofórmio (nm)	Frequência (MHz) feixe da direita	Frequência (MHz) feixe da esquerda	Δrf (MHz)
883,30	161,36	161,66	0,30
964,30	146,36	146,59	0,23
1015,91	138,43	138,68	0,25
1067,39	131,45	131,71	0,26
1152,46	120,74	120,97	0,23
1214,79	114,20	114,42	0,22
1410,38	97,53	97,71	0,18
1499,04	91,42	91,60	0,18
1529,47	89,61	89,78	0,17
1592,17	85,78	85,95	0,17

As curvas de calibração para os dois feixes difratados pelo AOTF foram geradas para converter os comprimentos de onda nos valores de rf desejados (Figura II.11). O conjunto de valores de rf gerados pelas equações (Equação II.5, II.6) foi armazenado no computador e quando um espectro é varrido no instrumento proposto, esses valores são sucessivamente enviados ao gerador de rf. Com essa configuração, um espectro de transmissão com a resolução nominal de 2 nm pode ser varrido de 800 – 1600 nm em aproximadamente 1,5 min.

Feixe da direita
$$y = 64,26 + \frac{585,86}{1 + e^{(x-172,18)/437,97}} \tag{II.5}$$

Feixe da esquerda
$$y = 64,35 + \frac{590,37}{1 + e^{(x-168,09)/438,69}} \tag{II.6}$$

(a)



(b)

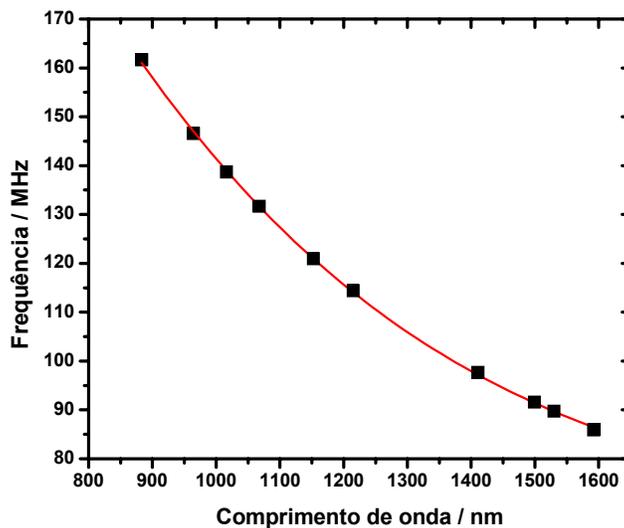


Figura II.11 – Curvas exponenciais geradas para calibração dos comprimentos de onda para os dois feixes difratados pelo AOTF. (a) Feixe de direita, (b) Feixe da esquerda.

Após a calibração dos comprimentos de onda dos feixes difratados pelo AOTF, a medida do espectro de absorção para uma solução 1:5 (v/v) de clorofórmio em CCl_4 mostra uma boa coincidência nos comprimentos de onda das bandas de absorção para esses dois feixes (Figura II.12). Além disso, pode-se verificar a concordância entre os espectros de absorção medidos no instrumento construído e o espectrofotômetro comercial BOMEN (Figuras II.12 e II.9). É importante ainda, ressaltar que a diferença no formato dos espectros deve-se, provavelmente, a diferença de resolução entre os instrumentos utilizados.

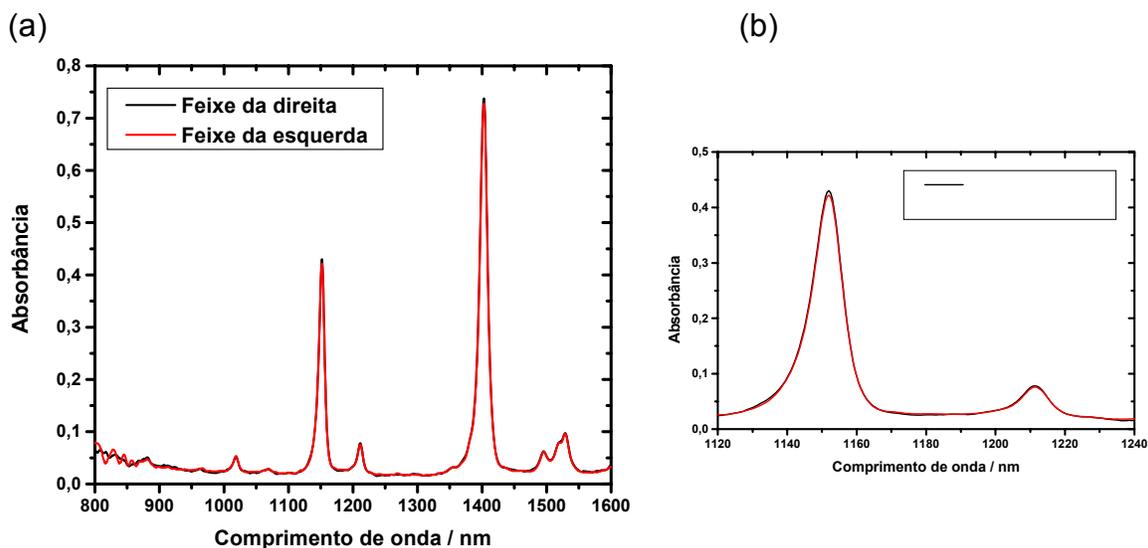


Figura II.12 – Espectro de absorção para solução 1:5 (v/v) de clorofórmio em tetracloreto de carbono. Medida no espectropolarímetro construído. Caminho óptico = 10 cm, resolução espectral = 0,5 nm. (a) toda a faixa espectral (800 – 1600 nm), (b) detalhe para a região 1120 – 1240 nm.

II.4.2. Características Gerais do Instrumento Construído

O instrumento construído possui uma faixa de operação, como citado anteriormente, entre 800 – 1600 nm e uma resolução espectral entre 2 e 6 nm (podendo o usuário definir uma resolução fora dessa faixa). No modo que o instrumento opera são realizadas medidas de transmissão, cujos dados podem ser facilmente manipulados matematicamente para obtenção dos espectros de absorção ou de rotação óptica.

O controle de todos os parâmetros para as medidas espectrais é feito através de um programa computacional desenvolvido em linguagem Visual Basic 5.0, cuja tela de acesso principal é mostrada na Figura II.13.

Dentre os parâmetros que podem ser controlados pelo usuário nessa tela destacam-se: número de varreduras obtidas para uma mesma amostra (replicatas), número de leituras por comprimento de onda, faixa de comprimento de onda de interesse selecionando aquele inicial e o final, resolução espectral, tempo de espera (Delay), intervalo de tempo entre as replicatas (Rest), potência da radiofrequência aplicada ao AOTF, além do usuário poder escolher a medida para os dois detectores (A/D 0 e A/D1).

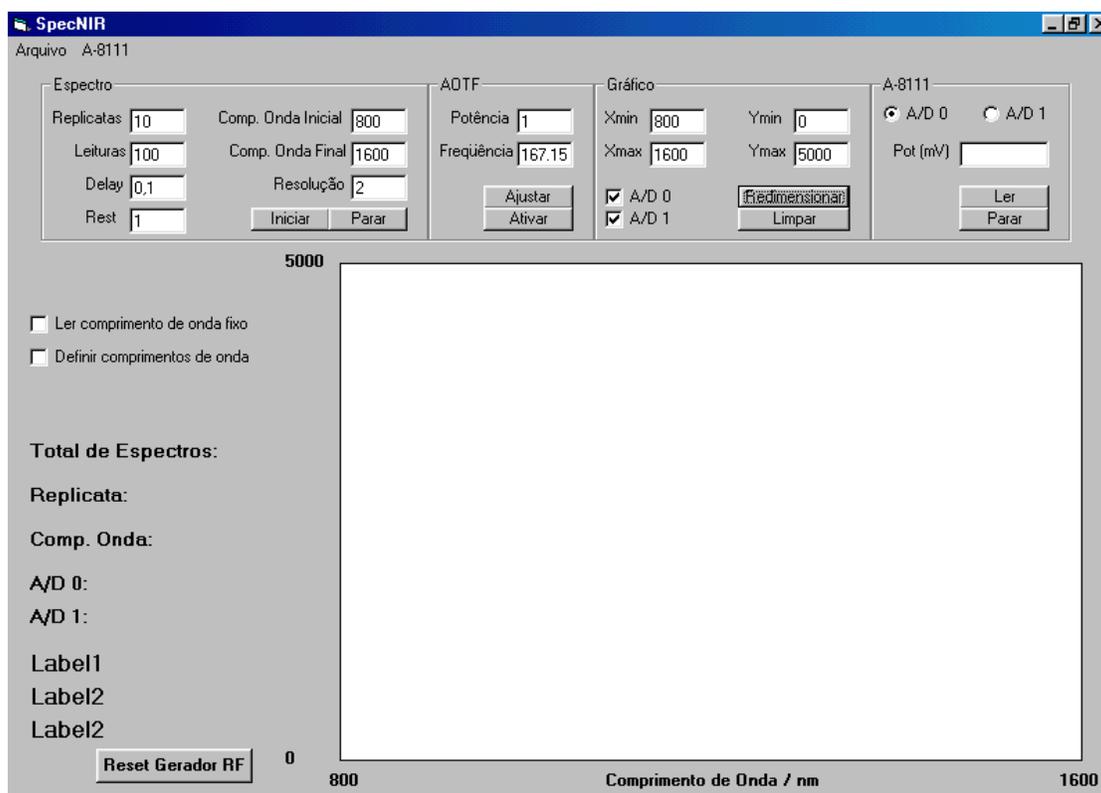


Figura II.13 – Tela principal de acesso do programa desenvolvido em Visual Basic 5.0 para aquisição dos dados no instrumento construído.

O tempo de espera (Delay), 0,1 s, representa o intervalo entre a aquisição dos comprimentos de onda, o qual corresponde a aproximadamente 33 vezes a constante de tempo dos filtros analógicos, nesse caso 3 ms. Já o intervalo de tempo entre as medidas das replicatas (Rest), 1 s, é necessário para que o

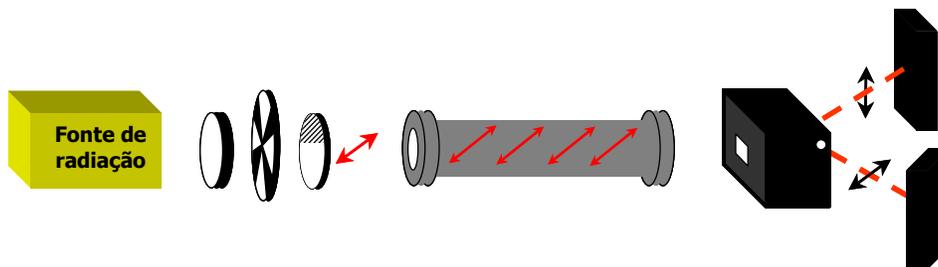
transdutor piezoelétrico do AOTF estabilize a onda acústica no cristal de TeO_2 ao retornar do valor final para o valor inicial de varredura.

Todos os espectros de transmissão, tanto para as referências quanto para as amostras, foram obtidos mantendo-se os parâmetros com os valores descritos anteriormente. Além disso, em todas as medidas realizadas, os espectros foram obtidos como uma média de 10 varreduras.

II.4.3. Medidas de Rotação Óptica no Espectropolarímetro Construído

No instrumento proposto (Figura II.5), a luz que incide sobre a célula de medida é plano-polarizada a 45° em relação ao AOTF (Figura II.14a). Isso significa que, quando essa célula é preenchida com uma substância opticamente inativa, parte da luz transmitida que chega ao AOTF irá sofrer o efeito óptico acústico e dois feixes, ortogonalmente polarizados, de intensidades idealmente iguais serão difratados. Ou seja, a transmissão ou absorção desses dois feixes pela substância será, a princípio, idêntica. Tal fenômeno é demonstrado na Figura II.14, onde a célula de medida foi preenchida com água (substância que não apresenta atividade óptica). Nesse caso, os sinais de transmissão obtidos para os dois feixes difratados pelo AOTF, medidos alternadamente nos dois detectores, possuem intensidades praticamente iguais (Figura II.14b).

(a)



(b)

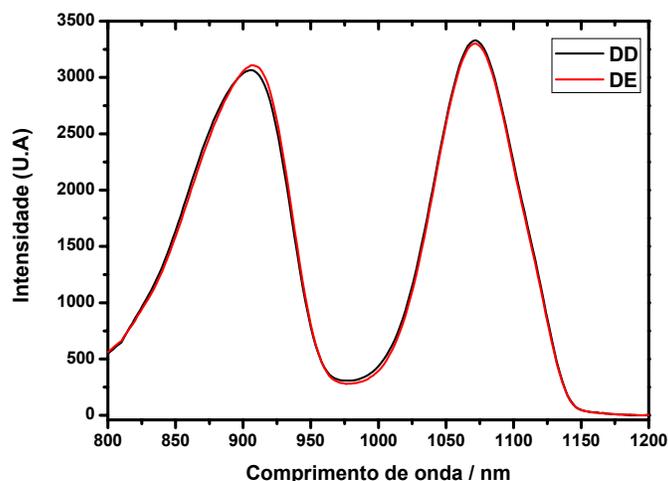
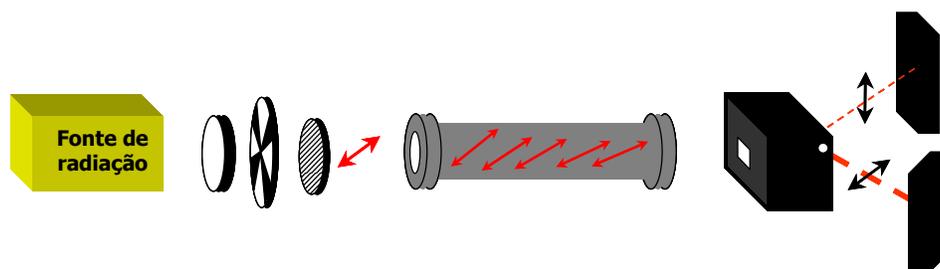


Figura II.14 – (a) Comportamento do espectropolarímetro quando uma substância opticamente inativa (água) está presente na célula de medida. (b) Sinais semelhantes obtidos para os dois detectores sob essa condição. DD = Detector da direita, DE = Detector da esquerda.

Ao contrário, quando a luz encontra uma substância opticamente ativa, que gira seu plano de polarização para a direita (substância dextrógira – rotação positiva), por exemplo, sacarose, essa mudança no plano de polarização é refletida na diferença de intensidade dos dois feixes difratados pelo AOTF. Ou seja, a transmissão do feixe da direita é maior que a transmissão do feixe da esquerda, como mostrado na Figura II.15.

(a)



(b)

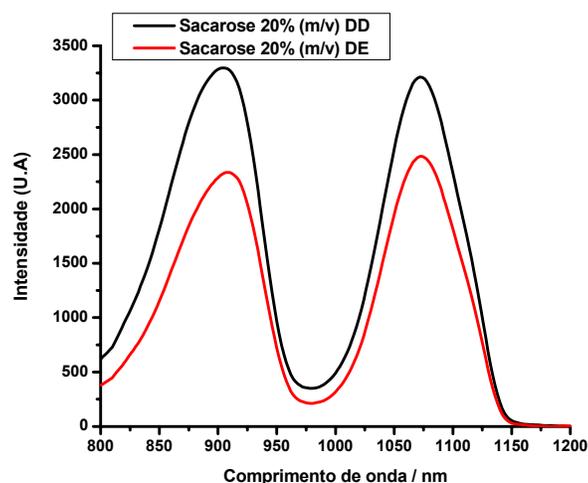
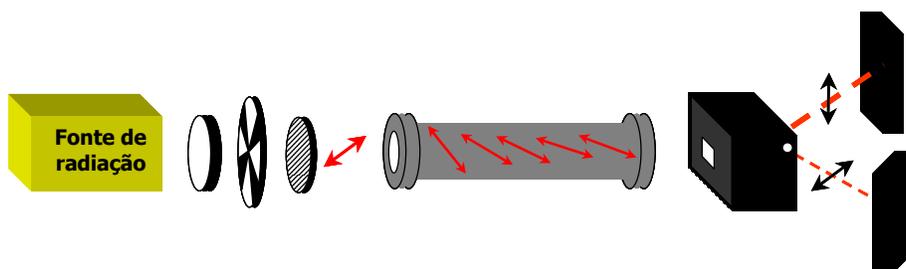


Figura II.15 – (a) Comportamento do espectropolarímetro quando uma substância opticamente ativa (sacarose \rightarrow rotação óptica em 589 nm = $+66,5^\circ$) está presente na célula de medida. (b) Sinais diferentes obtidos para os dois detectores, intensidade do detector da direita (DD) maior que para o detector da esquerda (DE).

Comportamento oposto é obtido quando a luz polarizada encontra uma substância opticamente ativa que gira seu plano de polarização para a esquerda (Figura II.16). Esse é o caso, por exemplo, da frutose, cuja rotação óptica em 589 nm é -92° . Nesse caso, a transmissão do feixe da esquerda é maior que a transmissão do feixe da direita.

(a)



(b)

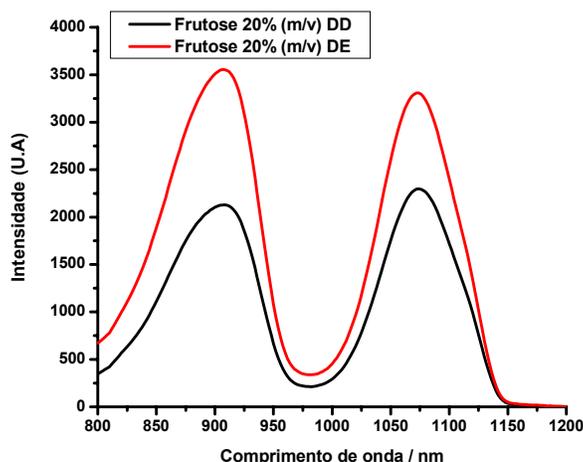


Figura II.16 – (a) Comportamento do espectropolarímetro quando uma substância opticamente ativa (frutose) está presente na célula de medida. (b) Sinais diferentes obtidos para os dois detectores, intensidade do detector da esquerda (DE) maior que para o detector da direita (DD).

Essa mudança nas intensidades dos dois feixes difratados pelo AOTF, quando o plano de polarização da luz incidente é alterado, é, então, utilizado no instrumento construído, para identificar a atividade óptica de substâncias quirais na região do Infravermelho Próximo (NIR). Pode-se notar nas Figuras II.15 e II.16, que a diferença de intensidade dos sinais de transmissão para as soluções de sacarose e frutose medidos no espectropolarímetro proposto, está de acordo com o sinal do ângulo de rotação óptica específica dessas substâncias em 589 nm. Portanto, a **razão** entre as intensidades dos dois feixes difratados pelo AOTF, na faixa de comprimento de onda citada, também é proporcional ao ângulo de rotação da luz polarizada imposto pela amostra. Neste trabalho, as medidas de rotação óptica foram efetuadas utilizando-se razão entre as intensidades do feixe

da direita (DD) e do feixe da esquerda (DE), I_{DD}/I_{DE} , a qual corresponde a relação $\cos\theta/\sin\theta = \cotg\theta$, onde θ é o ângulo de rotação, conforme mostrado na Figura II.17.

Apesar da razão, como citado, ser proporcional ao ângulo de rotação específica das substâncias em 589 nm, sua dependência em função do ângulo de rotação não é linear e obedece a relação mostrada na Figura II.17. Desta forma, foi gerada uma equação (Equação II.7) que se ajusta aos valores de $\cotg\theta$ e que permite determinar o ângulo de rotação, θ (em graus), conhecendo-se a razão I_{DD}/I_{DE} ($\cotg\theta$) determinada experimentalmente. A variação do ângulo de rotação em função do comprimento de onda define, então, um **espectro de rotação óptica**.

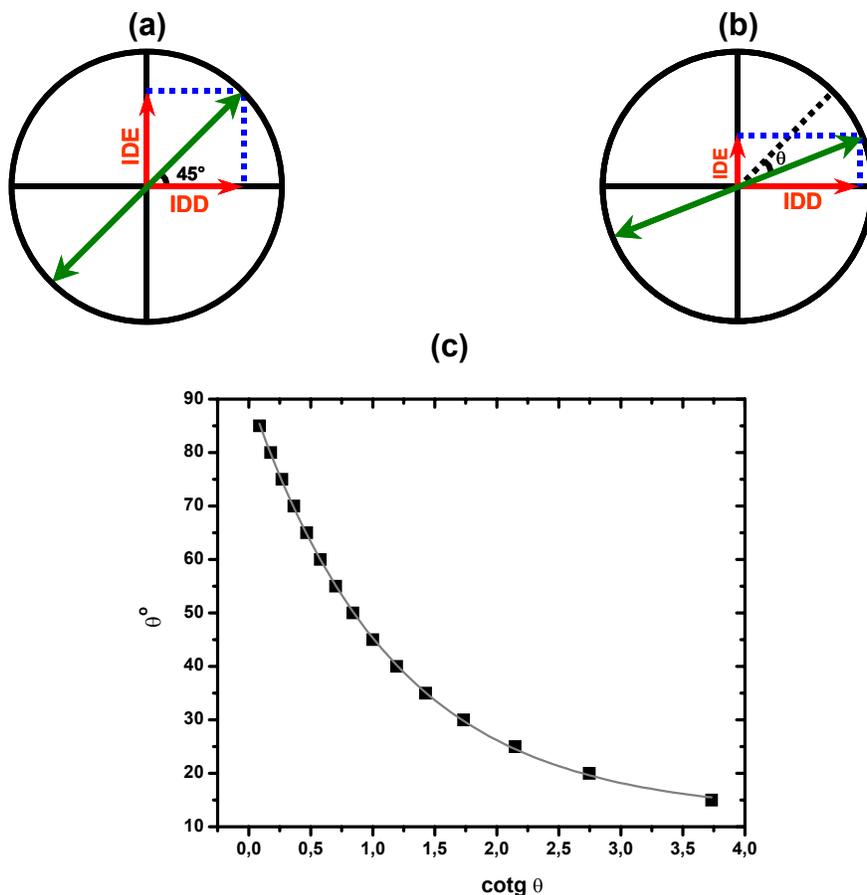


Figura II.17 – Comportamento dos feixes difratados pelo AOTF. (a) Situação inicial dos feixes para $\cotg\theta = \cotg 45^\circ = 1$. (b) Situação dos feixes após passar através de uma substância dextrógiira ($\cotg\theta = I_{DD}/I_{DE} > 1$). (c) Dependência do ângulo de rotação e sua cotangente.

$$\theta = 78,67 \cdot e^{\left(-\cot g\theta / 1,15\right)} + 12,46 \quad (II.7)$$

II.4.4. Avaliação do Comportamento do Instrumento Construído para Medidas de Rotação Óptica

As primeiras aplicações do instrumento construído consistiram na obtenção de espectros de rotação óptica, na região NIR, de soluções aquosas de açúcares. Nesse caso, os estudos foram realizados utilizando-se a faixa espectral de 800 – 1200 nm, uma vez que essa é a região de menor absorção da água para o caminho óptico (10 cm) utilizado (Figura II. 18a). Pode-se verificar nos espectros de transmissão obtidos para os dois detectores, que mesmo para essa região, uma forte banda de absorção entre 930 – 1060 nm é observada. Tal banda é atribuída ao segundo sobretom dos modos vibracionais da ligação O – H da água [26].

Outra característica importante que pode ser verificada nos espectros obtidos (Figura II.18a), é que há uma variação nas linhas de base dos dois detectores, a qual pode ser atribuída a diferenças intrínsecas dos detectores e dos seus circuitos eletrônicos. Essa diferença poderia ser corrigida eletronicamente, porém, uma correção matemática, que consistiu na subtração do menor valor de intensidade obtido para os espectros de transmissão de cada um dos detectores, foi realizada. Tal procedimento foi adotado, uma vez que, esses sinais são semelhantes aos sinais de fundo obtidos quando o AOTF está desativado.

A Figura II.18b mostra o resultado obtido com o ajuste matemático proposto, onde pode-se verificar uma boa concordância entre os sinais obtidos para os dois detectores. Portanto, esse procedimento matemático foi utilizado em todas as medidas de rotação óptica de soluções aquosas realizadas neste trabalho.

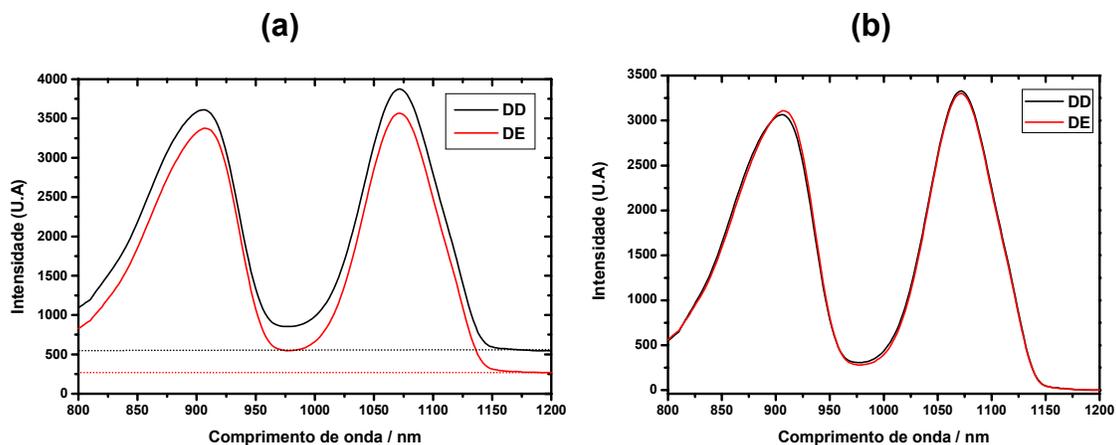


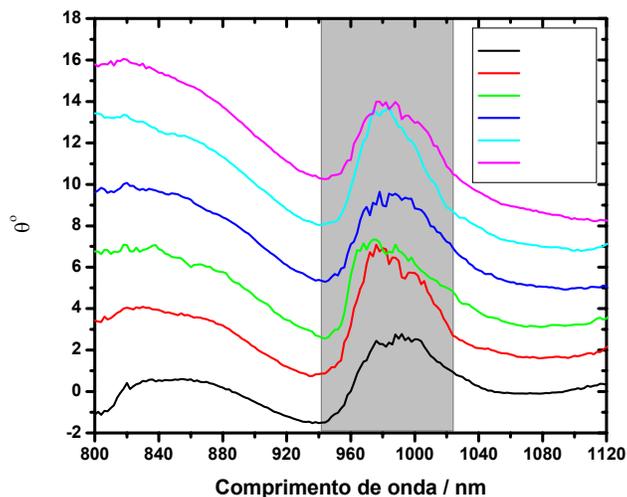
Figura II.18 – Espectros de transmissão para água. Caminho óptico = 10 cm, DD = Detector feixe da direita, DE = detector feixe da esquerda. (a) sem correção, (b) com correção.

As medidas de rotação óptica de soluções aquosas de (+) sacarose, (+) glicose e (-) frutose foram realizadas na faixa de concentração de 5 - 25% (m/v). Para a sacarose, cuja rotação específica em 589 nm é $+66,5^\circ$, os espectros de rotação óptica para a região espectral estudada, mostram que há um aumento no ângulo de rotação óptica com o aumento da concentração das soluções (Figura II.19a). Além disso, o ângulo de rotação óptica, para essas soluções, tende a diminuir com o aumento do comprimento de onda. Esse comportamento é mais evidente quando os espectros de rotação óptica são obtidos utilizando-se água como referência (Figura II.19b), a qual já apresenta uma variação no espectro de rotação óptica que pode ser decorrente tanto de um efeito do próprio AOTF quanto da geometria dos componentes ópticos no instrumento.

O comportamento da rotação óptica em função do aumento do comprimento de onda obtido para as regiões onde não há bandas de absorção (Dispersão Óptica Rotatória), 800 – 930 nm e 1040 – 1120 nm (Figura II.19), está de acordo com a Equação de Fresnel (Equação II.3) [5]. Segundo essa equação, o valor absoluto da rotação óptica tende a diminuir com o aumento do comprimento de onda.

Resultados semelhantes para a região espectral de 800 – 900 nm foram obtidos por Emmerich *et al.* em 1998 [27]. Entretanto, a dispersão óptica rotatória para comprimentos de onda maiores que 900 nm não foi explorada pelos autores, mas uma tendência semelhante ao sinal obtido, é observada.

(a)



(b)

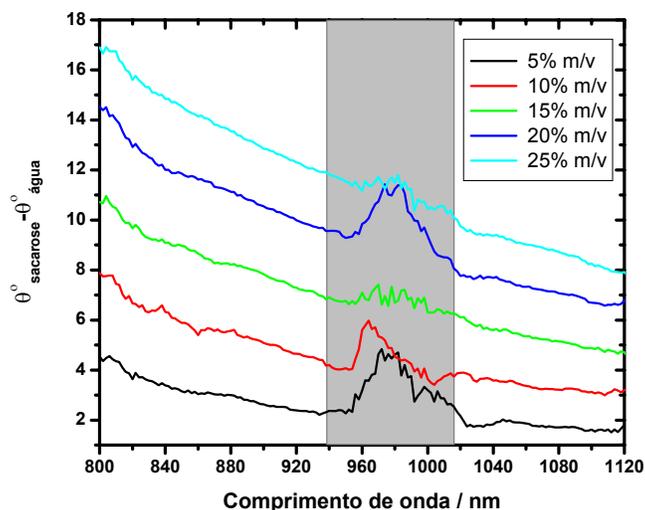


Figura II.19 – (a) Espectros de rotação óptica para soluções aquosas de sacarose (5 – 25% m/v); (b) Espectros de rotação óptica para soluções aquosas de sacarose utilizando-se água como referência. Caminho óptico = 10 cm, θ = ângulo de rotação em graus.

Quanto ao comportamento do ângulo de rotação óptica em função da concentração da sacarose, pode-se verificar através dos espectros de rotação óptica obtidos que há uma tendência de se obter uma resposta linear da rotação em função da concentração para as faixas espectrais de 800 – 930 nm e 1040 – 1120 nm (Figura II.19). Na Figura II.20a são mostradas as curvas analíticas obtidas para a rotação óptica da sacarose nos comprimentos de onda, 840, 880 e 1080 nm em função da sua concentração. Todas as curvas analíticas obtidas para esses comprimentos de onda mostram bons coeficientes de correlação. Quando água é utilizada como referência (Figura II.20b), uma diminuição nos coeficientes lineares das retas é obtida.

Esse comportamento linear do ângulo de rotação óptica em função do aumento da concentração, está de acordo com a Lei de Biot (Equação II.2) [6], a qual diz que a rotação observada é proporcional à concentração e ao comprimento da célula utilizada para as medidas. Além disso, para a sacarose, a literatura relata uma rotação observada de $14,84^\circ$, para uma solução 26% (m/v) a 20°C e célula de 1 dm, no comprimento de onda de 882 nm [27]. Esse valor de rotação observada se aproxima do valor que pode ser obtido por meio da curva analítica obtida a 880 nm que é igual a $14,153^\circ$. A diferença no valor obtido pode ser atribuída à diferença de temperatura na qual se realizaram as medidas no instrumento proposto ($\sim 25^\circ\text{C}$).

Uma avaliação da repetibilidade das medidas de ângulo de rotação foi realizada utilizando-se uma solução de sacarose 15% (m/v). Essa solução foi empregada em 9 medidas consecutivas do ângulo de rotação (θ°) simulando-se o procedimento de amostragem (esvaziando-se e enchendo-se a célula de medida). Os resultados obtidos para o comprimento de 880 nm mostram um desvio padrão de $0,111^\circ$.

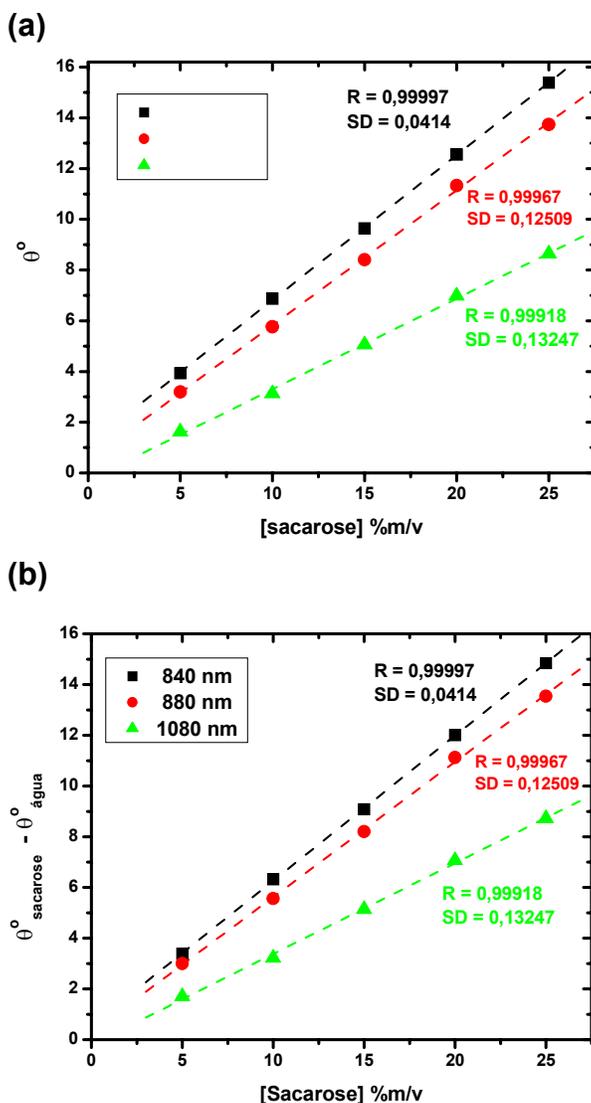


Figura II.20 – Curvas analíticas obtidas para rotação óptica da sacarose em diferentes comprimentos de onda. (a) Dados originais, $\theta^{\circ}_{840 \text{ nm}} = 1,10 + 0,572x$, $\theta^{\circ}_{880 \text{ nm}} = 0,495 + 0,533x$, $\theta^{\circ}_{1080 \text{ nm}} = -0,279 + 0,358x$. (b) Dados após subtração do sinal da água, $\theta^{\circ}_{840 \text{ nm}} = 0,553 + 0,572x$, $\theta^{\circ}_{880 \text{ nm}} = 0,295 + 0,533x$, $\theta^{\circ}_{1080 \text{ nm}} = -0,196 + 0,358x$.

Comportamento semelhante foi obtido para soluções de glicose na mesma faixa de concentração, 5 – 25% m/v (Figura II.21a). Para esse açúcar, cuja rotação específica em 589 nm (+53,0°) é inferior a da sacarose, os espectros de rotação óptica para a faixa espectral estudada, mostram ângulos de rotação óptica inferiores (Figura II.21a). Tal comportamento está de acordo com o esperado, já que, segundo a Lei de Biot (Equação II.2), a rotação observada é proporcional à

rotação específica da espécie opticamente ativa, sua concentração e ao comprimento do caminho óptico.

As curvas analíticas, obtidas a partir dos ângulos de rotação óptica da glicose para os comprimentos de onda de 840, 880, 1080 nm, utilizando água como referência, também mostram bons coeficientes de correlação (Figura II.21b).

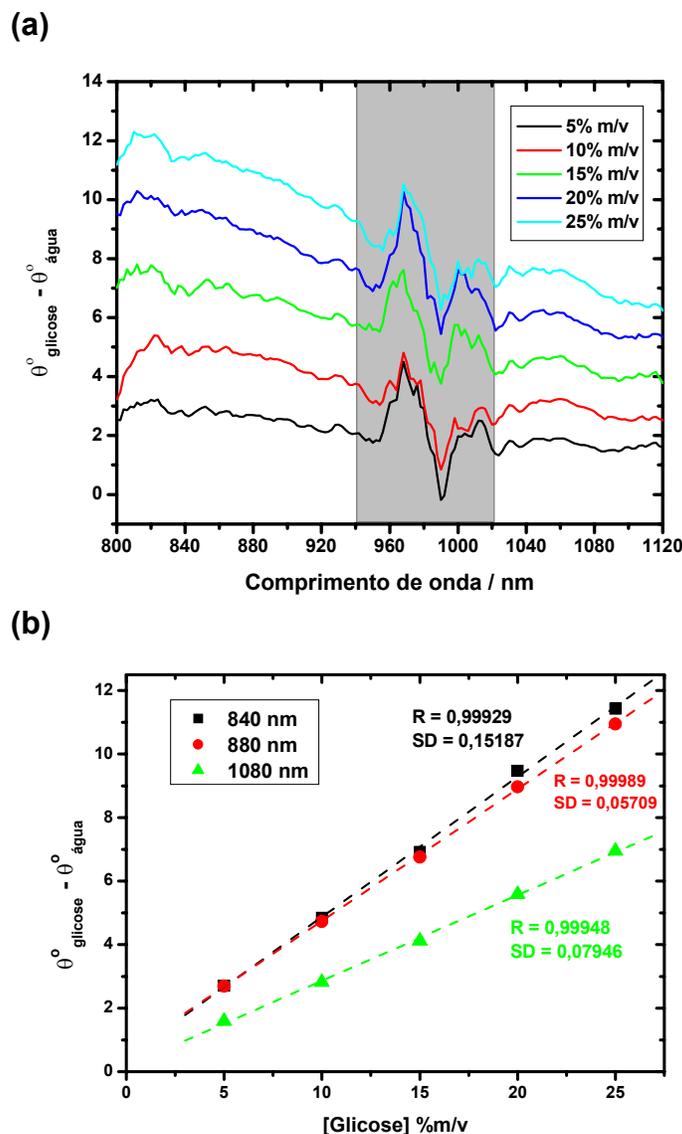


Figura II.21 - (a) Espectros de rotação óptica para soluções aquosas de glicose (5 – 25% m/v), referência: água; (b) Curvas analíticas obtidas para rotação óptica em diferentes comprimentos de onda. $\theta_{840 \text{ nm}}^{\circ} = 0,457 + 0,441x$, $\theta_{880 \text{ nm}}^{\circ} = 0,599 + 0,415x$, $\theta_{1080 \text{ nm}}^{\circ} = 0,166 + 0,269x$.

Quando soluções de frutose, cuja rotação específica em 589 nm é $-92,0^\circ$, são analisadas, os espectros de rotação óptica apresentam comportamento inverso (Figura II.22a) aos obtidos para os açúcares dextrógiros, como era esperado. Além disso, também se observou uma boa relação linear da rotação óptica em função do aumento da concentração da frutose em solução aquosa (Figura II.22b).

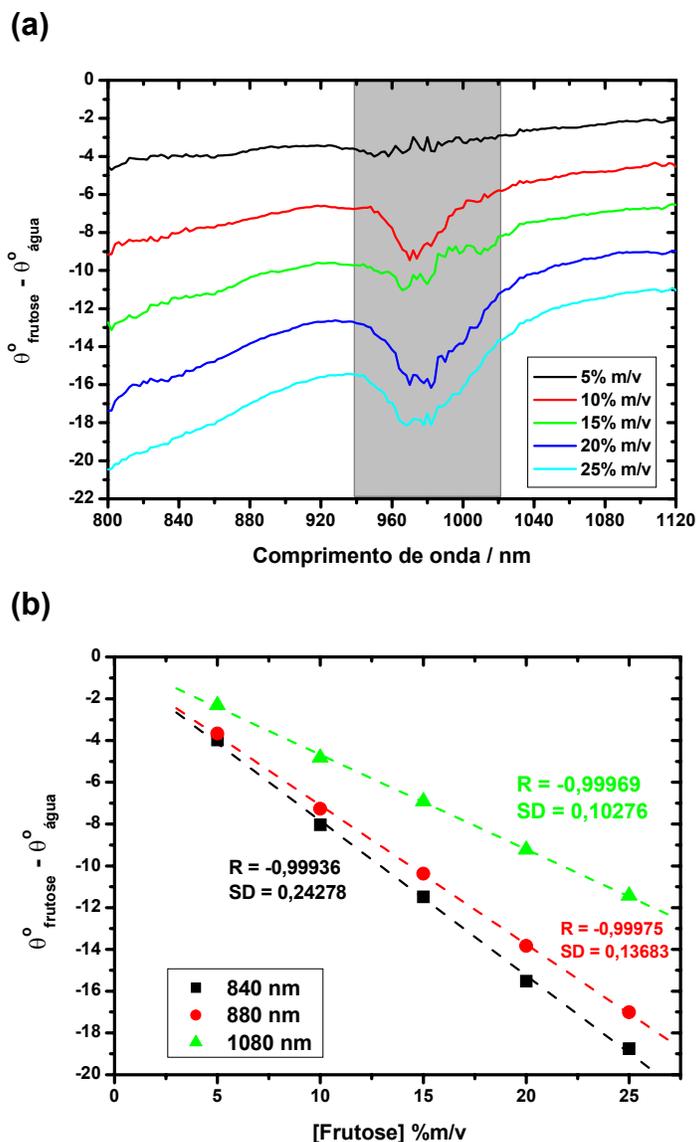


Figura II.22 – (a) Espectros de rotação óptica para soluções aquosas de frutose (5 – 25% m/v), referência: água; (b) Curvas analíticas obtidas para rotação óptica em diferentes comprimentos de onda. $\theta^\circ_{840 \text{ nm}} = -0,439 - 0,741x$, $\theta^\circ_{880 \text{ nm}} = -0,454 - 0,665x$, $\theta^\circ_{1080 \text{ nm}} = -0,149 - 0,453x$.

A região espectral entre 930 e 1060 nm (sombreada nas Figuras II.19, II.21a e II.22a), que compreende uma região de forte absorção da água e onde as espécies estudadas também absorvem, pois decorre dos diferentes modos vibracionais da ligação O – H, apresentou comportamento diferente daquele obtido para regiões espectrais onde não existem bandas de absorção. Entretanto, esse comportamento, apesar de sistemático e parecer influenciado pela concentração e tipo do açúcar (o que se torna mais evidente para sacarose e frutose), não condiz com o efeito Cotton, o qual é previsto para acontecer nos espectros de dispersão óptica rotatória em regiões que apresentam bandas de absorção [5].

Para investigar os sinais obtidos para essa região espectral (930 – 1060 nm), registrou-se os espectros de absorção das soluções aquosas dos açúcares estudados, na faixa espectral de 800 – 1200 nm utilizando-se a água como referência (Figura II.23a). Pode-se verificar nos espectros obtidos, que os mesmos são influenciados de forma significativa pela água, a qual apresenta forte banda de absorção entre 900 – 1050 nm. Tal fato dificulta a interpretação de espectros NIR de soluções aquosas dos açúcares nessa região, já que, as bandas decorrentes dos diferentes modos vibracionais de ligações C – H e O – H, presentes nos açúcares, são previstas para ocorrer também nessa região espectral. Além disso, há a formação de ligações de hidrogênio nesse tipo de sistema, o que dificulta ainda mais a interpretação dos espectros NIR para essa faixa espectral [28].

A sobreposição das bandas de absorção previstas para o terceiro e segundo sobretudo de vibrações de estiramento e deformação de ligações C – H e O – H, predominantes nos açúcares estudados, pode ser verificada nos espectros de reflectância dos mesmos (Figura II.23b). De modo geral, todos os espectros obtidos são bastante semelhantes, com diferença mais significativa para aquele da sacarose, o qual apresenta um pico mais acentuado com máximo de absorção próximo a 980 nm. Porém, esse pico parece ser decorrente do estado cristalino da sacarose e é observado somente no material no estado sólido.

Considerando todos esses aspectos, é difícil realizar qualquer interpretação para os sinais de dispersão óptica rotatória na região espectral de 930 – 1040 nm obtidos para as soluções aquosas dos açúcares estudados, fazendo-se necessária uma investigação mais detalhada desses sistemas.

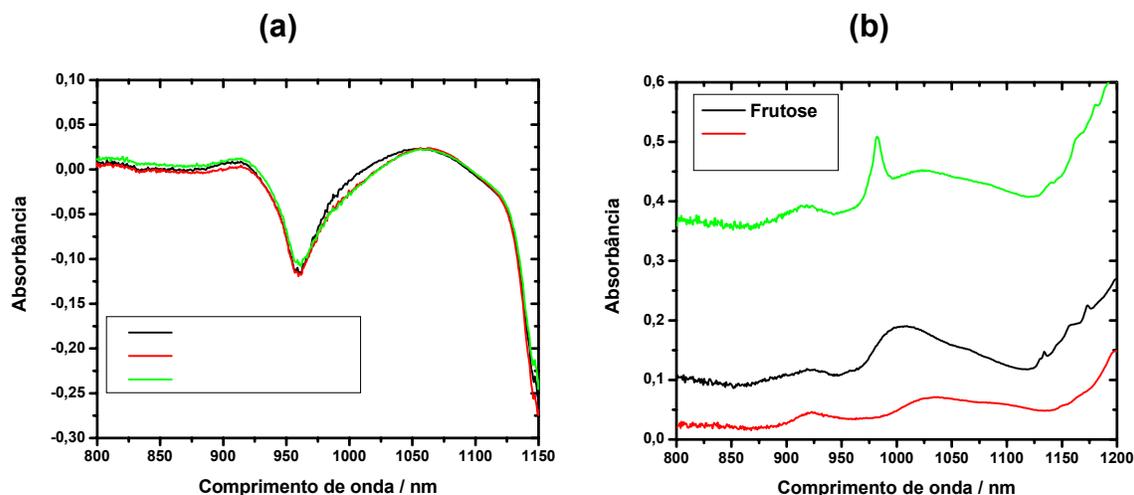


Figura II.23 – (a) Espectros de absorção obtidos em um instrumento comercial (Bomen) para soluções de frutose, glicose e sacarose. Referência = água, caminho óptico = 5 cm. (b) Espectros de reflectância para açúcares frutose, glicose e sacarose. Referência = spectralon 99%.

Para as regiões espectrais onde não há bandas de absorção (800 – 930 nm e 1040 – 1120 nm), o instrumento proposto mostra boa sensibilidade para medidas de rotação óptica (Dispersão Óptica Rotatória), apesar de se trabalhar em uma região espectral onde esse tipo de medida é menos sensível, como demonstrado pela equação de Fresnel.

A observação da resposta linear para essas duas diferentes regiões espectrais no Infravermelho Próximo, para todas as soluções aquosas de açúcares analisadas, é um bom indicativo para o desenvolvimento de instrumentos que operem nessa região espectral, uma vez que existe esse interesse por parte da indústria açucareira. Tal interesse advém da necessidade de medidas de soluções de açúcar não clarificadas, como consequência da proibição do uso de clarificantes à base de chumbo. Tal tendência tem sido descrita na literatura [28 – 31], entretanto, poucos trabalhos utilizando a Dispersão Óptica Rotatória na Região NIR têm sido publicados [27].

De modo geral, o instrumento mostra bom desempenho como polarímetro duplo feixe de varredura, com boa sensibilidade para medida quantitativa de espécies opticamente ativas. Sob esse aspecto, o instrumento apresenta a vantagem de tolerar flutuações da fonte de radiação (Figura II.24), o que, no polarímetro convencional, compromete as medidas, já que a determinação da rotação óptica é feita pela extinção da luz que é medida por meio do elemento analisador [6, 7].

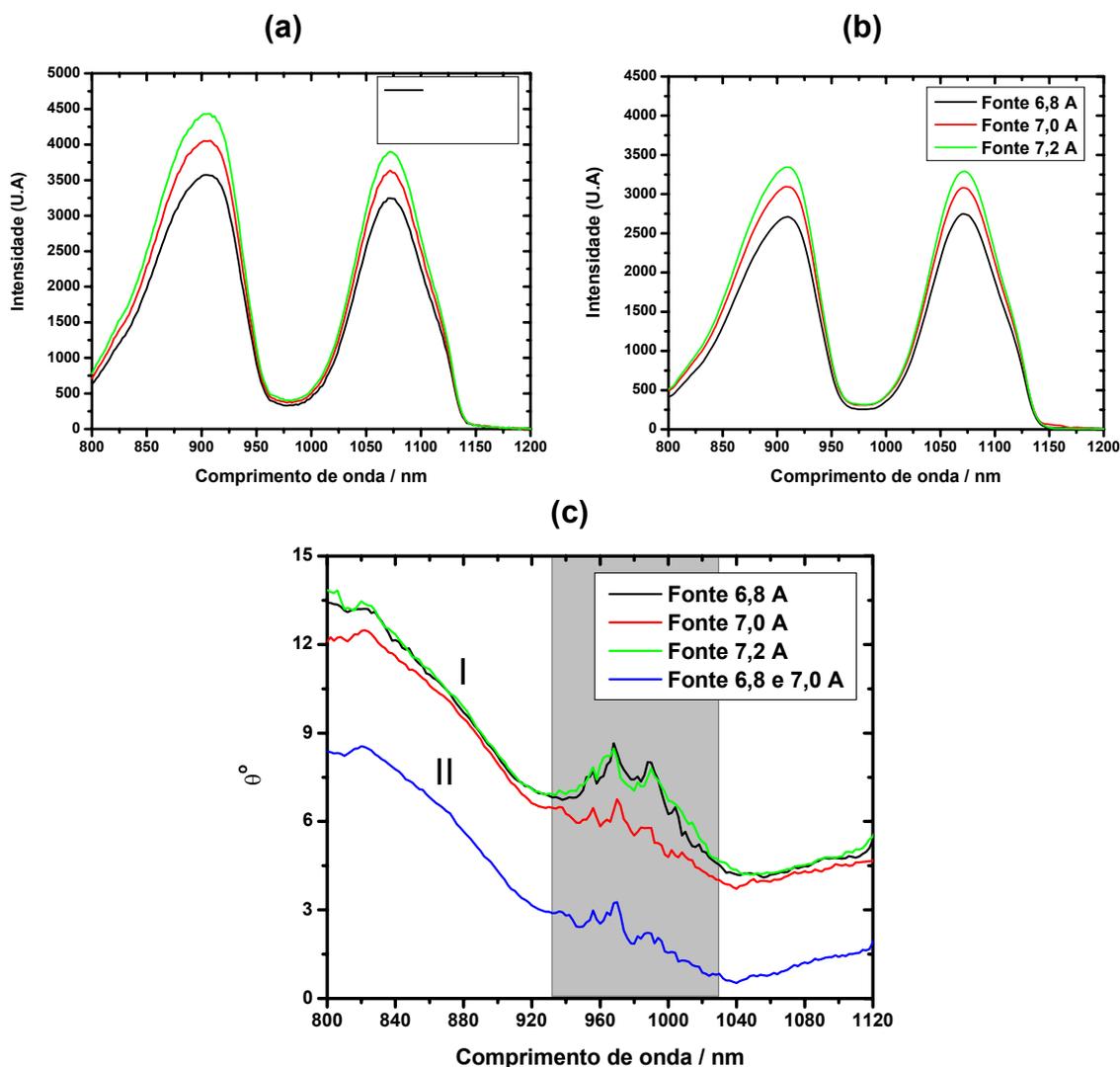


Figura II.24 – Espectros de transmissão para solução aquosa de sacarose 15% (m/v) com diferentes intensidades da fonte de radiação. (a) detector da direita. (b) Detector da esquerda. (c) Espectros de rotação óptica para as diferentes intensidades da fonte; I, obtidos com feixes gerados pela mesma intensidade e II, obtido com feixes a duas intensidades (sistema de feixe único).

II.4.5. Avaliação Preliminar de Medidas do Efeito Cotton na Região do Infravermelho Próximo

Com a finalidade de avaliar o potencial do instrumento construído na investigação do efeito Cotton na região do infravermelho próximo, foram realizadas medidas espectropolarimétricas da cânfora, a qual é utilizada como uma espécie de padrão em instrumentos desenvolvidos para medidas de Dispersão Óptica Rotatória (ORD) e Dicroísmo Circular (CD).

A cânfora é um produto natural pertencente à classe dos óleos essenciais, sendo bastante utilizada na formulação de medicamentos. Sua forma mais abundante é a (+) cânfora, que é extraída, principalmente, da canforeira (*Cinnamomum camphora* L.) [32]. A Figura II.25 mostra os espectros de absorção da (\pm) cânfora obtidos no instrumento desenvolvido no presente trabalho e em um instrumento comercial. Tais espectros mostram diferentes bandas de absorção na região NIR. Entre 1350 e 1500 nm situam-se bandas de absorção atribuídas ao primeiro sobretudo das bandas de combinação dos grupos CH_3 e CH_2 , entre 1100 e 1250 nm está a região de segundo sobretudo dos modos de estiramento das ligações C – H e em 900 nm a banda devido ao terceiro sobretudo dos modos de estiramento das ligações C – H [26]. Pode-se verificar nos espectros obtidos nos dois instrumentos, que há uma boa concordância entre as bandas de absorção, e as diferenças no formato dos espectros, como já mencionado, deve-se principalmente à diferença de resolução de cada um deles. Vale ressaltar ainda, que há uma variação na intensidade das bandas dos espectros medidos no espectropolarímetro que não é proporcional ao caminho óptico utilizado. Isso ocorre porque há uma saturação dos sinais de intensidades obtidos para essa concentração de cânfora (30% m/v) no caminho óptico de 10 cm.

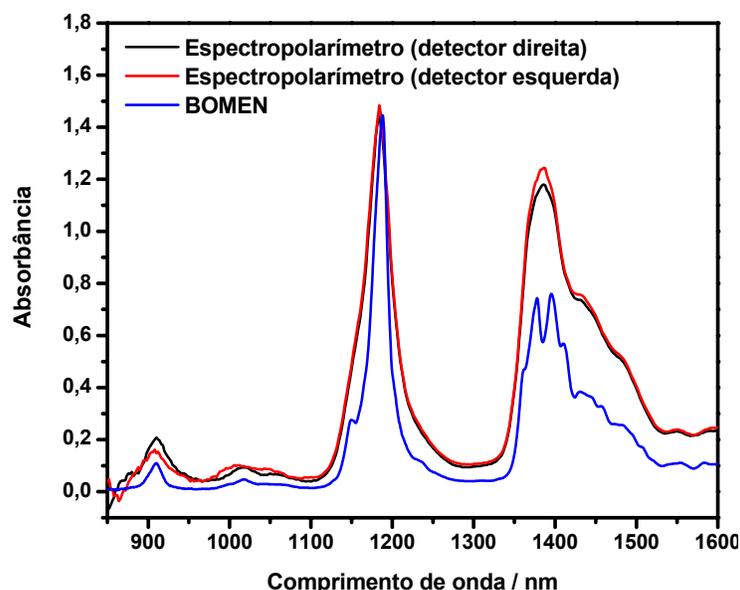


Figura II.25 – Espectros de absorção para solução de (\pm) cânfora 30% (m/v) em CCl_4 na faixa espectral de 850 – 1600 nm. Medidas realizadas no espectropolarímetro construído (caminho óptico = 10 cm) e em um espectrofotômetro comercial NIR com transformada de Fourier da AMM Bomen Inc. (caminho óptico = 5,0 cm). Referência = CCl_4 .

Para investigação do efeito Cotton em espectros de rotação óptica da cânfora, utilizou-se a região espectral de 1000 – 1300 nm e soluções de (\pm) cânfora e (+) cânfora 2,5 e 5,0% (m/v) em CCl_4 . Já as soluções de (-) cânfora mostraram-se turvas e com a presença de impurezas que atribuíram cor à solução e, portanto, não foram empregadas neste trabalho. A Figura II.26 mostra os espectros de rotação óptica da (\pm) cânfora na faixa espectral citada. Pode-se verificar, que há uma variação na rotação óptica na região da banda de absorção atribuída ao segundo sobretom dos modos de estiramento das ligações C – H. Tal variação não deveria ocorrer uma vez que essa espécie constitui-se da mistura racêmica da cânfora. Essa variação surge da diferença nos sinais medidos nos dois detectores, a qual torna-se mais evidente em regiões que apresentam bandas de absorção intensas.

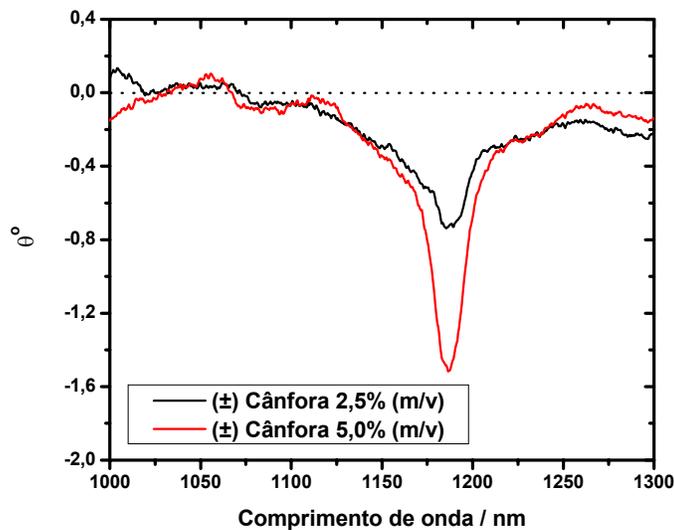


Figura II.26 - Espectros de rotação óptica da (\pm) cânfora na faixa espectral 1000 – 1300 nm. Referência: CCl_4 , célula de medida = 10 cm.

Para evidenciar melhor a diferença de sinais entre os dois detectores, registrou-se o espectro de rotação óptica de uma substância opticamente inativa que apresentasse sinal de absorção próximo ao obtido para cânfora nas concentrações estudadas. No caso, utilizou-se uma solução de clorofórmio 1:5 (v/v) em CCl_4 (Figura II.27a). Pode-se verificar nos espectros de absorção obtidos para o clorofórmio que a pequena variação de sinal entre os detectores (quase imperceptível) no pico de absorção também atribuído ao segundo sobretom dos modos de estiramento da ligação C – H, é responsável por um sinal no espectro de rotação óptica da ordem de $0,6^\circ$ (Figura II.27b). Tal observação, confirma que o sinal de rotação óptica obtido para a (\pm) cânfora, a qual é opticamente inativa, deve-se a essa variação nos sinais obtidos nos dois detectores.

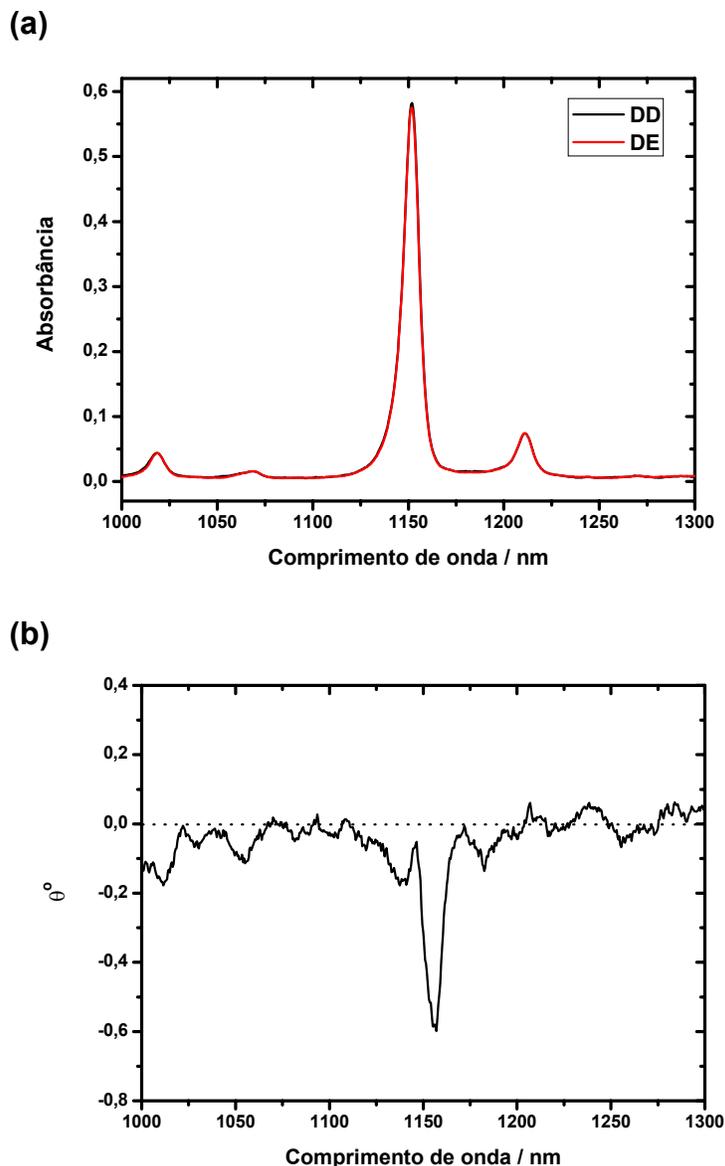


Figura II.27 – (a) Espectros de absorção da solução de clorofórmio (1/5 v/v) em CCl_4 nos dois detectores, DD, detector da direita, DE, detector da esquerda. Referência: CCl_4 . (b) Espectro de rotação óptica do clorofórmio para a solução descrita em (a).

Uma vez confirmada a variação de sinal existente entre os dois detectores para essa banda de absorção, as medidas dos espectros de rotação óptica da (+) cânfora foram realizadas utilizando a mistura racêmica (\pm) cânfora como referência, uma vez que essa já apresenta uma variação de sinal, que como demonstrado, é sistemática no instrumento construído. A Figura II.28 mostra os espectros de rotação óptica obtidos para as soluções de (+) cânfora 2,5 e 5,0%

(m/v) em CCl_4 . Observa-se nesses espectros de rotação óptica, que a rotação óptica na região espectral onde não há absorção aumenta em função da concentração da solução, entretanto, essa rotação é bem inferior àquelas observadas para soluções aquosas de açúcares em concentrações semelhantes. Além disso, observa-se, na região de absorção, o surgimento de curvas com pontos de mínimo, máximo e um ponto de inflexão, o qual é bem próximo àquele de absorção máxima (Figura II.28). Tal comportamento se assemelha bastante ao efeito Cotton, e sua magnitude varia com a concentração da solução de (+) cânfora. Esse sinal surge em decorrência do desvio do plano de polarização da luz pela (+) cânfora.

A observação desses sinais semelhantes ao efeito Cotton, previsto para acontecer, conforme descrito na introdução deste trabalho, em regiões de absorção em espectros de rotação óptica, é um resultado preliminar e a confirmação do mesmo deve ser realizada. Tal confirmação se faz necessária uma vez que, a ocorrência do efeito Cotton está associada ao carbono assimétrico da molécula quiral, e as bandas de absorção na região do Infravermelho Próximo decorrem dos diferentes modos vibracionais de todas as ligações C – H presentes nas moléculas. Portanto, a observação desse efeito é mais difícil de ser evidenciada na região NIR.

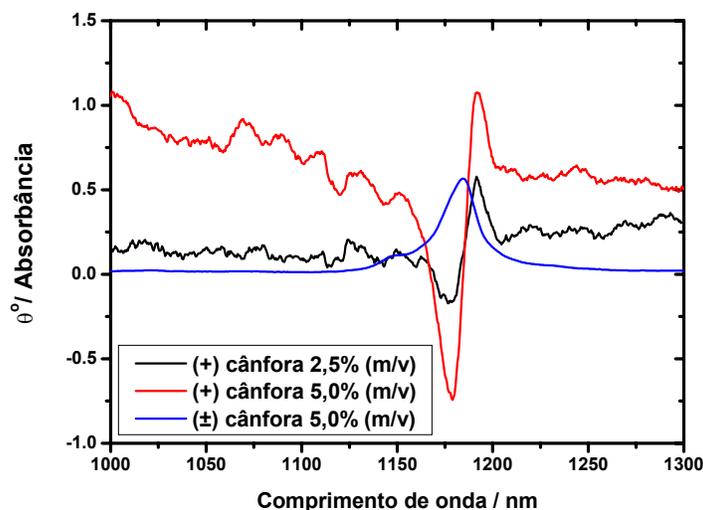


Figura II.28 – Espectros de rotação óptica para (+) cânfora utilizando (±) cânfora como referência. Em azul, espectro de absorção para (±) cânfora.

II.5. CONCLUSÃO

A construção e avaliação de um espectropolarímetro baseado em Filtro Óptico Acústico Sintonizável (AOTF) para a região do infravermelho próximo foram realizadas. O instrumento construído é simples, de fácil operação, pois não há necessidade de pré-tratamento da amostra, apresenta um baixo custo e não necessita de partes mecânicas móveis. Além disso, o instrumento apresenta uma forma inédita de utilização do efeito óptico-acústico de cristais birrefringentes para medidas de rotação óptica expressas em graus, de substâncias quirais em função do comprimento de onda.

A investigação de espectros de rotação óptica de soluções aquosas de (+) sacarose, (+) glicose e (-) frutose mostrou que esses espectros são influenciados de forma significativa pela presença da água, a qual apresenta forte banda de absorção (930 – 1060 nm) na região NIR. Entretanto, para as regiões onde não há bandas de absorção, 800 - 930 nm e 1040 – 1120 nm, obteve-se boa sensibilidade analítica para as medidas de rotação óptica em função da concentração dos açúcares. Sob esse aspecto, o instrumento demonstra bom desempenho como um polarímetro duplo feixe de varredura, com as vantagens de tolerar variações significativas na intensidade da fonte de radiação e de não possuir partes móveis, o que o torna mais robusto.

Na análise qualitativa de substâncias quirais, o instrumento demonstra boa sensibilidade analítica para medidas de rotação óptica na região de segundo sobretom dos modos de estiramento das ligações C – H, como demonstrado no estudo realizado para soluções de cânfora em tetracloreto de carbono (CCl₄). Nesse caso, sinais semelhantes àquele atribuído ao efeito Cotton, previsto para ocorrer em regiões de absorção do espectro, foram obtidos para o enantiômero (+) cânfora. Entretanto, esses resultados para o efeito Cotton são preliminares e devem ser confirmados. Além disso, verificou-se uma tendência de resposta linear em função da concentração dos sinais de rotação óptica obtidos para a região espectral estudada (1000 – 1300 nm).

Considerando que, a rotação óptica também está relacionada com as bandas de absorção das espécies estudadas, essas medidas na região do Infravermelho Próximo podem ser consideradas universais, uma vez que, essa região compreende bandas de combinação de transições fundamentais e sobretons de grupos C – H, O – H e N – H, presentes em todas as moléculas orgânicas.

II.6. PERSPECTIVAS FUTURAS

O instrumento proposto demonstra boa sensibilidade para medidas de rotação óptica na região do Infravermelho Próximo, e, portanto, deve ser explorado para investigar o comportamento de outras substâncias quirais de interesse, principalmente, aquelas da indústria farmacêutica.

Como descrito neste trabalho, uma limitação do instrumento está na diferença nos sinais obtidos para os dois detectores, o que dificultou a interpretação dos sinais de rotação óptica obtidos para as substâncias quirais. Entretanto, as correções matemáticas utilizadas demonstraram que essas medidas podem ser feitas de forma efetiva. Para melhorar o desempenho do instrumento, propõe-se uma investigação mais detalhada do comportamento dos dois feixes difratados pelo AOTF e a estabilidade das medidas em função do tempo e temperatura. Após essa investigação, o uso de diferentes caminhos ópticos pode ser testado com a finalidade de investigar o comportamento espectropolarimétrico de soluções aquosas na região NIR. Além disso, um estudo mais detalhado dos espectros de rotação óptica da cânfora na região NIR deve ser realizado para evidenciar melhor o surgimento do efeito Cotton.

Outra possibilidade é a utilização do AOTF como polarizador de radiação e usar um modulador fotoelástico para converter a radiação linearmente polarizada em circularmente polarizada para obtenção de espectros de Dicroísmo Circular. Nesse caso, o AOTF poderia diminuir os tempos de análise, uma vez que possui uma maior velocidade de varredura dos comprimentos de onda da luz difratada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. GOSS, C. A.; WILSON, D. C.; WEISER, W. E. Flow-injection analysis with high-sensitivity optical-rotation detection, **Anal. Chem.**, 66 (19), 3093-3101, 1994.
2. TRAN, C. D.; GRISHKO, V. I. Universal spectropolarimeter based on overtone circular-dichroism measurements in the near-infrared region, **Anal. Chem.**, 66 (21), 3639-3643, 1994.
3. TRAN, C. D.; GRISHKO, V. I.; HUANG, G. Chiral detection in high-performance liquid-chromatography by vibrational circular-dichroism, **Anal. Chem.**, 66 (21), 2630-2635, 1994.
4. BERMUDEZ, J. A. Z.; BARRAGAT, P. Medicamentos quirais: da dimensão química à discussão política, **Cad. Saúde Públ.**, 12 (1), 47 – 51, 1996.
5. ELIEL, E. L.; WILEN, S. H.; MANDER, L. N. **Stereochemistry of Organic Compounds**. 1. ed. USA: John Wiley & Sons, 1994, p. 991 – 1007.
6. NECKERS, D. C.; DOYLE, M. P. **Organic Chemistry**. 1. ed. USA: John Wiley & Sons, 1977, p. 231.
7. CLAYDEN, J.; GREEVES, N.; WARREN, S.; WOTHERS, P. **Organic Chemistry**. 1. ed. Oxford, Oxford University Press, 2001, p. 388.
8. Rudolph Research Analytical apresenta fundamentos da polarimetria e suas aplicações. Disponível em: <http://www.rudolphresearch.com/polarimetry.htm>, Acesso em: 11 Mar.2005.
9. CRABBÉ, P. **Actividad optica, dispersion rotatória optica y dicroísmo circular em química organica**. 1. ed. Washington, O. E. A., 1974, p. 13.
10. JOHNSON Jr, W. C. Circular dichroism instrumentation. In: Fasman, G. D. (Ed.) **Circular dichroism and the conformational analysis of biomolecules**, New York: Plenum Press, 1996. p. 635.
11. LONG, F.J.; FREEDMAN, T. B.; HAPANOWICZ, R.; NAFIE, L. A. Comparison of step-scan and rapid-scan approaches to the measurement of mid-infrared Fourier transform vibrational circular dichroism, **Appl. Spectrosc.**, 51 (4), 504-507, 1997.
12. CASTIGLIONI E, LEBON F, LONGHI G, ABBATE S. Vibrational circular dichroism in the near infrared: Instrumental developments and applications, **Enantiomer**, 7 (4-5), 161-173, 2002.
13. NAFIE, L. A.; DUKOR, R.K.; ROY, J. R.; RILLING, A.; CAO, X. L.; BUIJS, H. Observation of fourier transform near-infrared vibrational circular dichroism to 6150 cm^{-1} , **Appl. Spectrosc.**, 57 (10), 1245 – 1249, 2003.
14. LONGHI, G.; GANGEMI, R.; LEBON, F.; CASTIGLIONI, E.; ABBATE, S.; PULTZ, V. M.; LIGHTNER, D. A. A comparative study of overtone CH-stretching vibrational circular dichroism spectra of fenchone and camphor, **J. Phys. Chem. A.**, 108 (25), 5338 – 5352, 2004.

15. CAO, X.; SHAH, R. D.; DUKOR, R. K.; GUO, C.; FREEDMAN, T. B.; NAFIE, L. A. Extension of Fourier Transform vibrational circular dichroism into the near-infrared region: continuous spectral coverage from 800 to 10 000 cm^{-1} . **Appl. Spectrosc.**, 58 (9), 1057 – 1064, 2004.
16. OSBORNE, G. A.; CHENG, J. C.; STEPHENS, P. J. A near-infrared circular dichroism and magnetic circular dichroism instrument, **Rev. of Sci. Instrum.**, 44 (1), 10 – 15, 1973.
17. NAFIE, L. A.; KEIDERLING, T. A.; STEPHENS, P. J. Vibrational Circular-Dichroism, **J. Am. Chem. Soc.**, 98 (10), 2715 – 2723, 1976.
18. KEIDERLING, T. A.; STEPHENS, P. J. Vibrational circular dichroism of overtone and combination bands, **Chem. Phys. Lett.**, 1976, 41 (1), 46.
19. ABBATE, S.; LONGHI, G.; RICARD, L.; BERTUCCI, C.; ROSINI, C.; SALVADORI, P.; MOSCOWITZ, A. Vibrational circular-dichroism as a criterion for local-mode versus normal-mode behavior - near-infrared circular-dichroism spectra of some monoterpenes, **J. Am. Chem. Soc.**, 111 (3), 836-840, 1989.
20. PASQUINI, C. Near Infrared Spectroscopy: fundamentals, practical aspects and analytical applications, **J. Braz. Chem. Soc.**, 14 (2), 198 – 219, 2003.
21. Codixx apresenta informações sobre polaróides. Disponível em: www.codixx.de. Acesso: 18 Fev.2006.
22. BEI, L.; DENNIS, G. I.; MILLER, H. M.; SPAINE, T. W.; CARNAHAN, J. W. Acousto-optic tunable filters: fundamentals and applications as applied to chemical analysis techniques, **Progress in Quantum Electronics**, 2004, 28, 67.
23. TRAN, C. D. Acousto-optic devices - optical elements for spectroscopy, **Anal. Chem.** 64 (20), 971A – 981A, 1992.
24. Olympus apresenta informações sobre filtro óptico acústico sintonizável. Disponível em: <http://www.olympusconfocal.com/theory/aotfintro.html>, Acesso em: 30 Ago. 2005.
25. GONZAGA, F. B.; PASQUINI, C. Near-Infrared emission spectrometry based on an acousto-optical tunable filter, **Anal. Chem.** 77 (4), 1046 – 1054, 2005.
26. WORKMAN Jr., J. J. Interpretative Spectroscopy for Near Infrared, **Appl. Spectrosc. Reviews**, 31 (3), 251 – 320, 1996.
27. EMMERICH, A.; KEITEL, J.; MÖSCHE, M.; SEILER, W. Rotatory dispersion of sucrose solutions and quartz in the near infrared, **Zuckerindustrie**, 123 (5), 329 – 339, 1998.
28. GOLIC, M.; WALSH, K.; LAWSON, P. Short-wavelength near-infrared spectra of sucrose, glucose, and fructose with respect to sugar concentration and temperature, **Appl. Spectrosc.** 57 (2), 139 – 145, 2003.
29. ALTENBURG, W.; CHOU, C. C. An alternative method of raw sugar polarization, **Zuckerindustrie**, 116 (12), 1041 – 1046, 1991.

30. PATON, N.H; PLAYER, M. R.; URQUHART, R. M.; DUONG, M. The use of Near Infrared polarimetry to determine the polarization of raw sugar, **Zuckerindustrie**, 118 (9), 705, 709, 1993.
31. SINGLETON, V.; HORN, J.; BUCKE, C.; ADLARD, M. A new polarimetric method for the analysis of dextran and sucrose, **Int. Sugar Jnl.**, 103 (1230), 251 – 254, 2001.
32. Botanical.com a Modern Herbal apresenta informações gerais sobre a cânfora. Disponível em: <http://www.botanical.com/botanical/mgmh/c/campho13.html>, Acesso em: 04 Mar.2006.