



Departamento  
de Engenharia Química e Biológica

---

# **Fotodegradação de antibióticos de nitrofurano em condições ambientais**

Dissertação apresentada para a obtenção do grau de Mestre em  
Processos Químicos e Biológicos

**Autor**

**João Miguel Mendes Ferreira**

**Orientador**

**Doutor Luís Jorge Assunção Martins**  
Instituto Superior de Engenharia de Coimbra

**Coimbra, Dezembro, 2013**



## **Agradecimentos**

Ao Professor Luís Martins dedico um profundo e sentido agradecimento por ter confiado em mim e me ter dado a oportunidade de trabalhar neste projecto, pelo empenho e orientação inextinguíveis, pela partilha de conhecimento e pelos exemplos de dedicação ao trabalho, defesa de valores e convicções que levarei sempre comigo.

Aos meus pais, Alfredo e Gracinda, ficarei eternamente agradecido pelo apoio, incentivo, dedicação e amor incondicional que sempre me deram.

À família Alice, Aninhas e, em especial, ao meu irmão Tiago, por ter sido sempre o meu exemplo, conselheiro e melhor amigo.

Ao meu amor, Ana Beatriz, por ter partilhado comigo os últimos 12 anos, por me fazer sorrir, por me ter apoiado e acompanhado nas alturas difíceis e pelo carinho que sempre me deu.



## Resumo

Ao submeter uma solução aquosa de 5-nitro-2-furaldeído (NFA) a fotólise com impulsos de luz de curta duração (produzidos por um laser de estado sólido de Nd-YAG) origina-se uma absorvância (transiente) de curta duração que é atribuída à absorção de luz pelo NFA no estado tripleto mais baixo ( $^3\text{NFA}^*$ ). O espectro desta absorção de luz apresenta um  $\lambda_{\text{max}} = 475 \pm 5$  nm, que se mostrou ser insensível à polaridade do solvente. Em solução aquosa, a absorção do  $^3\text{NFA}^*$  decai para uma absorção transiente de tempo de vida mais longo e que, medida em tempos diferentes (depois do fim do impulso), revelou ser devida a um radical furiloxilo (a de  $\lambda_{\text{max}} \approx 375$  nm) e ao anião radical  $\text{NFA}^{\cdot-}$  (a de  $\lambda_{\text{max}} \approx 400$  nm). Estes dois radicais foram gerados independentemente um do outro, o que permitiu confirmar a atribuição daquela absorção de longo tempo de vida (obtida na fotólise de NFA em água) aos radicais furiloxilo e anião radical do NFA. O tempo de vida ( $\tau$ ) do  $^3\text{NFA}^*$  revelou uma dependência em relação à natureza do solvente e à concentração de NFA no estado fundamental. Da propensão do  $^3\text{NFA}^*$  para abstrair um átomo de hidrogénio de solventes (com átomos de H abstraíveis) concluiu-se a natureza ( $n, \pi^*$ ) do estado tripleto de menor energia do NFA. A dependência de  $\tau$  em relação à concentração de NFA (no estado fundamental) forneceu evidência cinética em favor da formação de um excímero tripleto que supostamente se dissocia em iões radicais (catião e anião) como é proposto no mecanismo de auto-supressão do  $^3\text{NFA}^*$  por transferência de electrão. O efeito da acidade sobre  $\tau$  corrobora o mecanismo de auto-supressão por transferência de electrão. A análise cromatográfica e espectroscópica da solução fotolisada de NFA em água permitiu identificar a 5-hidroximetileno-2(5H)-furanona, o ião nitrito e uma substância desconhecida de  $t_R$  3.69 minutos como os fotoprodutos maioritários. Apresenta-se evidência conclusiva de que a 5-hidroximetileno-2(5H)-furanona provém do radical furiloxilo. Mostra-se que a substância desconhecida também pode ser obtida na foto-redução de NFA em propan-2-ol e na redução química de NFA por Fe (s) em água (em ambas, conjuntamente com produção de 5-amino-2-furaldeído). Com base na análise por espectroscopia de absorção de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  (com 2-D HMQC) e vibracional por FT no infravermelho médio, discute-se a possível estrutura da substância de  $t_R$  3.69 minutos obtida como um produto da foto-redução de NFA em água. Experiências de sensibilização e supressão do  $^3\text{NFA}^*$  permitiram obter a energia de excitação do estado tripleto como  $238 \pm 2$  kJ mol $^{-1}$  o que, conjuntamente com o potencial de redução monoelectrónica ( $E_7^1$ ) do NFA fornece  $E_7^1(^3\text{NFA}^* / \text{NFA}^{\cdot-}) = 2.26$  V vs. SHE para o potencial de redução monoelectrónica do  $^3\text{NFA}^*$  em solução aquosa neutra. Mostra-se que os aniões inorgânicos (usados como nucleófilos) são mono-oxidados pelo  $^3\text{NFA}^*$  (como é indicado pela observação de  $\text{NFA}^{\cdot-}$  e do radical inorgânico) com constantes de velocidade de segunda-ordem ( $k_2$ ) que dependem de  $E_7^1$  do radical inorgânico. De facto, os valores medidos de  $k_2$  variam de  $1 \times 10^9$  para o ião cloreto a  $6 \times 10^9$  dm $^3$  mol $^{-1}$  s $^{-1}$  para o ião iodeto. Discutem-se os resultados obtidos na fotólise com impulsos de luz (e subsequente análise de produtos) de soluções aquosas de NFA com uma concentração de anião inorgânico que suprime

completamente o  $^3\text{NFA}^*$ , quanto às suas implicações para a compreensão do mecanismo da fototransformação do NFA em água.

**Palavras-chave:** Fotólise com impulsos de luz, 5-nitro-2-furaldeído (NFA), auto-supressão por transferência de electrão.

## Abstract

Laser flash photolysis (355 nm) of 5-nitro-2-furaldehyde (NFA) in solution (at 298 K) shows a short-lived transient absorption with  $\lambda_{\text{max}} = 475 \pm 5$  nm, which is rather insensitive to solvent polarity and is assigned to the lowest triplet state of NFA ( $^3\text{NFA}^*$ ). In water, the  $^3\text{NFA}^*$  absorption decays to a longer-lived absorption the measurement of which, at different times after the end of the pulse, reveals to be due to a furyloxyl radical ( $\lambda_{\text{max}} \approx 375$  nm) and to the radical anion  $\text{NFA}^{\cdot-}$  ( $\lambda_{\text{max}} \approx 400$  nm). These two radicals could be produced independently and confirmed the assignment. The lifetime of  $^3\text{NFA}^*$  depends both on the solvent and the ground-state concentration of NFA. An ( $n, \pi^*$ ) nature is attributed to  $^3\text{NFA}^*$  on the basis of the propensity of  $^3\text{NFA}^*$  to abstract a hydrogen-atom from the donor solvent. Kinetic evidence for triplet excimer formation was obtained from the self-quenching of  $^3\text{NFA}^*$  in solvents where the triplet decay is slower. The effect of acidity on the triplet lifetime is discussed in respect of the electron-transfer self-quenching mechanism, assisted by the triplet excimer which is proposed to dissociate into radical ions. Chromatographic and spectroscopic analysis of the photolysed aqueous solution of NFA enabled the identification of 5-hydroxymethylene-2(5H)-furanone, nitrite ion and an unknown substance (of  $t_{\text{R}}$  3.69 minutes) as the major photoproducts. Conclusive evidence is presented that the observed 5-hydroxymethylene-2(5H)-furanone is formed from the furyloxyl radical. It is shown that the unknown substance can also be obtained from both the photoreduction of NFA in propan-2-ol and chemical reduction of NFA by Fe (s) in water (along with 5-amino-2-furaldehyde). Based on  $^1\text{H}$ - and  $^{13}\text{C}$ -NMR (with 2-D HMQC) and vibrational absorption spectroscopy, a tentative structure is proposed for the substance of  $t_{\text{R}}$  3.69 minutes obtained as a photoreduction product of NFA in water. Sensitization and quenching experiments allowed the triplet state energy of  $^3\text{NFA}^*$  to be estimated as  $238 \pm 2$  kJ mol $^{-1}$ , which together with the one-electron reduction potential ( $E_7^1$ ) of NFA affords  $E_7^1$  ( $^3\text{NFA}^* / \text{NFA}^{\cdot-}$ ) = 2.26 V vs. SHE in neutral aqueous solution. Inorganic anions (used as nucleophiles) are shown to be one-electron oxidised by  $^3\text{NFA}^*$  (as indicated by the observation of both the radical anion of NFA and the inorganic radical) with second-order rate constants that depend on  $E_7^1$  of the inorganic radical. Thus, the second-order rate constants for the one-electron oxidation of a number of inorganic ions by  $^3\text{NFA}^*$  range from  $1 \times 10^9$  for chloride ion to  $6 \times 10^9$  dm $^3$  mol $^{-1}$  s $^{-1}$  for iodide ion. The implications of the results, from laser flash photolysis and product analysis of completely quenched aqueous solutions of NFA and inorganic anion, for the phototransformation mechanism of NFA in water are discussed.

**Keywords:** Laser flash photolysis, 5-nitro-2-furaldehyde (NFA), electron-transfer self-quenching.





# Índice

1. INTRODUÇÃO .....	1
1.1. Antibióticos.....	1
1.2. Efeitos dos Antibióticos no Meio Ambiente.....	3
1.3. Vias de entrada e Ocorrência de Antibióticos no Ambiente.....	3
1.3.1. Consumo Humano.....	3
1.3.2. Consumo Animal .....	4
1.3.3. Aquacultura.....	4
1.3.4. Agricultura.....	5
1.3.5. Produção Industrial .....	5
1.4. Antibióticos de Nitrofurano .....	7
1.5. Fotoquímica dos Derivados de Nitrofurano.....	10
1.5.1. Foto-Rearranjo Nitro-Nitrito .....	10
1.5.2. Auto-Supressão por Transferência de Electrão.....	12
1.5.3. Fotodissociação Heterolítica com Libertação de Nitrito.....	15
1.6. Estudos de Fotoquímica.....	17
1.6.1. Irradiação Estacionária.....	17
1.6.2. Laser Flash Photolysis.....	18
1.7. Objectivo.....	19
2. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	21
2.1. Laser Flash Photolysis .....	21
2.2. Análise Quantitativa .....	22
2.2.1. Cromatografia Analítica de HPLC.....	22
2.2.2. Determinação Espectrofotométrica de Nitrito .....	23
2.3. Irradiação Estacionária.....	23
2.3.1. Irradiação Estacionária no Reactor Fotoquímico .....	23
2.3.1.1. Solução aquosa de NFA.....	24
2.3.1.2. Solução NFA em propan-2-ol .....	25
2.3.2. Irradiação Estacionária com lâmpada de Xenon.....	25
2.3.3. Cromatografia Semipreparativa de HPLC.....	25
2.4. Redução Química do NFA.....	26
2.4.1. Redução por Hidrogenação.....	26
2.4.2. Redução com Ferro Metálico .....	26
2.5. Caracterização e Identificação .....	26
2.5.1. Espectrofotometria UV/VIS.....	26

2.5.2.	Espectrometria de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) .....	27
2.5.3.	Espectrometria de Ressonância Magnética Nuclear de Protões (H-RMN) .....	27
3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
3.1.	Caracterização das Espécies Transientes Formadas na Fotólise por Impulsos de Luz (“Laser Flash Photolysis”) do 5-Nitro-2-furaldeído em Solução Aquosa .....	29
3.2.	Análise de Produtos.....	50
3.3.	Energia e Potencial de Redução Monoeléctronica do Estado Triplete de Menor Energia do 5-Nitro-2-furaldeído .....	58
3.4.	Oxidação Monoeléctronica de Nucleófilos Inorgânicos pelo Estado Triplete de Menor Energia do 5-Nitro-2-furaldeído.....	61
4.	CONCLUSÃO.....	67
5.	BIBLIOGRAFIA .....	69
6.	ANEXOS .....	75

## Índice de Esquemas

Esquema 1.1 - Possíveis vias de entrada dos antibióticos no meio aquoso. Adaptado de Hirsh, et al., 1999.....	6
Esquema 1.2 – Fotodegradação em meio aquoso do NFA (contendo 0.15 M de NaCl). Adaptado de Busker, et al., 1987.....	9
Esquema 1.3 – Fotoquímica do 9-nitroantraceno. Adaptado de Chapman, et al., 1966. ....	10
Esquema 1.4 – Fotorrearranjo Nitro-Nitrito. Adaptado de Chapman, et al., 1966.....	11
Esquema 1.5 - Rearranjo do catião radical nitroarilo. Adaptado de Chapman, et al., 1966.....	11
Esquema 1.6 – Fotoquímica do clorobenzeno. Adaptado de Soumillion, et al., 1981.....	13
Esquema 1.7 – Produtos da reacção com luz e com radical hidroxilo do ácido 5-bromo-2-furóico.....	13
Esquema 1.8 – Mecanismo de auto-supressão por transferência de electrão do ácido 5-nitro-2-furóico. Adaptado de Maruthamuthu, et al., 1985. ....	14
Esquema 1.9 – Fototransformação do 2-nitrofurano em meio aquoso na presença de KCN no composto nitrilo correspondente (2-furanonitrilo). Adaptado de Groen, et al., 1974. ....	15
Esquema 1.10 – Fototransformação em meio aquoso do 2-nitrofurano em 2-hidroxifurano e ácido nitroso. Adaptado de Groen, et al., 1974.....	15
Esquema 1.11 – Fotodissociação heterolítica com libertação de nitrito de um estado tripleto do 2-nitrofurano dando origem ao catião furano e conseqüente formação do 2-furanonitrilo e 2-hidroxifurano (e tautómero 2(5H)-furanona). Adaptado de Groen, et al., 1974. ....	16
Esquema 1.12 – Estrutura de um Reactor Fotoquímico.....	17
Esquema 3.1 – Oxidação monoelectrónica do radical 1-hidroxietilo pelo NFA através de adição (para formar o radical N-alcoxiainoxilo) e heterólise do radical N-alcoxiainoxilo. ....	35
Esquema 3.2 – Mecanismo de formação do radical furiloxilo (II) a partir da adição do OH· ao NFA e subsequente perda de ácido nitroso. ....	40
Esquema 3.3 – Mecanismo de formação do radical furiloxilo (II) a partir da adição de ião OH· ao catião radical formado na auto-supressão (por transferência de electrão) do estado tripleto de menor energia do NFA. ....	41
Esquema 3.4 – Mecanismo de formação do radical furiloxilo (II) a partir da adição do OH· ao 5BrFA e subsequente perda de ácido bromídrico.....	47
Esquema 3.5 – Desidratação e abertura do anel da 5-hidroxilamina-2-furaldeído seguida da ciclização e formação do iminoceteno (III).....	54
Esquema 3.6 – Formação e decaimento do radical dímero de tiocianato (SCN) <sub>2</sub> <sup>-</sup> , no sistema em estudo. ....	62

## Índice de Figuras

Figura 1.1 – Estrutura dos antibióticos de nitrofurano mais utilizados. ....	8
Figura 1.2 – Estrutura do 5-nitro-2-furaldeído. ....	8
Figura 1.3 – a) 9-nitroantraceno com grupo nitro fora do plano do anel aromático; b) 9-nitroantraceno com grupo nitro no mesmo plano do anel aromático. Adaptado de Crespo-Hernández, et al., 2013....	11
Figura 2.1 – Sistema de Laser Flash Photolysis utilizado para a realização das experiências. ....	21
Figura 2.2 – Sistema de HPLC analítico utilizado na análise quantitativa dos fotoprodutos majoritários das soluções fotolisadas. ....	22
Figura 2.3 – 1) Fonte de energia do reator fotoquímico; 2) Sistema de arrefecimento da lâmpada e válvula cutoff do sistema; 3) Reator fotoquímico. ....	24
Figura 2.4 – 1) Solução aquosa de NFA antes da irradiação de luz; 2) Solução aquosa de NFA após fotólise. ....	24
Figura 3.1 - Espectros de absorção transientes obtidos na fotólise por impulsos de luz de uma solução aquosa de NFA ( $9.04 \times 10^{-4}$ M), saturada de He, imediatamente ( $\blacklozenge$ ), 60 ns ( $\blacksquare$ ) e 350 ns ( $\blacktriangle$ ) após o fim do impulso do laser. ....	29
Figura 3.2 - Variação da Absorvância a 475 nm (a), 390 nm (b) e 375 nm (c) versus tempo observado na laser flash photolysis de uma solução aquosa de NFA ( $9.04 \times 10^{-4}$ M) sem tampão (pH = 4.8). ....	31
Figura 3.3 - Espectros de absorção transientes obtidos na fotólise por impulsos de luz de uma solução aquosa de NFA ( $9.04 \times 10^{-4}$ M) tamponada (pH = 6.9) e saturada de He imediatamente ( $\blacklozenge$ ), 60 ns ( $\blacksquare$ ) e 350 ns ( $\blacktriangle$ ) após o fim do impulso do laser. ....	31
Figura 3.4 - Variação da Absorvância a 475 nm (a), 390 nm (b) e 375 nm (c) versus tempo observado na laser flash photolysis de uma solução aquosa de NFA ( $9.04 \times 10^{-4}$ M) tamponada (pH = 6.9). ....	32
Figura 3.5 – Espectros de absorção transientes obtidos na fotólise por impulsos de luz de uma solução saturada de He de NFA ( $3.46 \times 10^{-3}$ M) em acetonitrilo (o), ( $7.76 \times 10^{-4}$ M) em acetona (+), ( $9.04 \times 10^{-4}$ M) em água ( $\blacklozenge$ ), ( $7.45 \times 10^{-4}$ M) em etanol ( $\blacktriangle$ ) e ( $7.45 \times 10^{-4}$ M) em metanol ( $\blacksquare$ ) imediatamente após o fim do impulso do laser. ....	33
Figura 3.6 – Espectros de absorção transientes obtidos na fotólise por impulsos de luz de uma solução de NFA ( $1,01 \times 10^{-3}$ M) em propan-2-ol, saturada de He, imediatamente ( $\blacklozenge$ ) e 3 $\mu$ s ( $\blacksquare$ ) após o fim do impulso do laser. ....	33
Figura 3.7 – Espectros de absorção transientes obtidos na fotólise por impulsos de luz de uma solução de NFA ( $7.45 \times 10^{-4}$ M) em etanol saturada de He ( $\blacklozenge$ ) e saturada de O <sub>2</sub> ( $\blacksquare$ ) 15 $\mu$ s após o fim do impulso do laser. ....	36
Figura 3.8 – Espectros de absorção transientes obtidos na fotólise por impulsos de luz de uma solução de NFA ( $1.55 \times 10^{-3}$ M) em 1,4-dioxano saturada de He imediatamente ( $\blacklozenge$ ) e 5 $\mu$ s ( $\blacksquare$ ) após o fim do impulso do laser. ....	37
Figura 3.9 – Radical formado pela adição do radical OH ao ácido 5-nitro-2-furóico e consequente eliminação do ácido nitroso. ....	39
Figura 3.10 – Espectros de absorção transientes obtidos na fotólise por impulsos de luz de uma solução saturada de He contendo NFA ( $7.17 \times 10^{-4}$ M) ( $\blacklozenge$ ) e NFA ( $7.17 \times 10^{-4}$ M) + NaOH ( $2.54 \times 10^{-3}$ M) ( $\blacksquare$ ) em metanol 150 ns após o fim do impulso do laser e de solução contendo NFA ( $7.17 \times 10^{-4}$ M) e NaOH ( $2.48 \times 10^{-2}$ M) em metanol 150 ns ( $\blacktriangle$ ) e 10 $\mu$ s ( $\bullet$ ) após o fim do impulso do laser. ....	39
Figura 3.11 - Dependência da constante de velocidade de primeira ordem ( $k_{\text{obs}}$ ) para o decaimento do $^3\text{NFA}^*$ relativamente à concentração de NFA (no estado fundamental) em acetonitrilo ( $\blacklozenge$ ), 1,4-dioxano ( $\blacksquare$ ), acetona ( $\blacktriangle$ ) e hexano ( $\bullet$ ). Ajuste não linear pelo método dos mínimos quadrados da eq. (5) aos pontos experimentais obtidos para a fotólise do NFA em acetonitrilo (Linha Preta). Os valores de $k_{\text{obs}}$ em hexano encontram-se representados pelo eixo vertical do lado direito. ....	43

Figura 3.12 - Dependência da constante de velocidade de primeira ordem do decaimento do $^3\text{NFA}^*$ com a acidez ( $\blacklozenge$ ); Ajuste não linear pelo método dos mínimos quadrados da eq. (3) aos dados experimentais (Linha Preta).....	45
Figura 3.13 - Espectro de absorção transiente obtido na fotólise por irradiação com impulsos de luz de 355 nm de uma solução aquosa de 5BrFA ( $9.51 \times 10^{-4}$ M) saturada de He imediatamente após o fim do impulso do laser.....	46
Figura 3.14 - Radical formado pela eliminação do ácido bromídrico por parte do radical resultante da adição do radical OH $^\cdot$ ao ácido 5-bromo-2-furóico.....	47
Figura 3.15 - Espectros de absorção transientes obtidos na fotólise por impulsos de luz de uma solução aquosa de 5BrFA ( $9,51 \times 10^{-4}$ M) e NaOH ( $5,40 \times 10^{-2}$ M) saturada de He 60 $\mu\text{s}$ ( $\blacklozenge$ ) e 15 ms ( $\blacktriangle$ ) após o fim do impulso do laser e de uma solução aquosa de 5BrFA ( $9.51 \times 10^{-4}$ M) e NaOH ( $8.70 \times 10^{-2}$ M) registado 60 $\mu\text{s}$ ( $\blacksquare$ ) após o fim do impulso do laser.....	48
Figura 3.16 – Espectros de absorção transientes obtidos na fotólise por impulsos de luz de uma solução aquosa de 5BrFA ( $2.38 \times 10^{-4}$ M) e NaOH ( $8.70 \times 10^{-2}$ M) ( $\blacklozenge$ ) e na presença de 0.52 M de <i>t</i> -butanol ( $\blacksquare$ ) 60 $\mu\text{s}$ após o fim do impulso do laser.....	49
Figura 3.17 – Cromatograma de uma solução aquosa de NFA ( $9.637 \times 10^{-4}$ M) (Linha Vermelha), solução aquosa de NFA ( $9.637 \times 10^{-4}$ M) fotolisada com 15 impulsos de luz de 355 nm (Linha Preta), solução aquosa de NFA ( $9.637 \times 10^{-4}$ M) fotolisada com 30 impulsos de luz de 355 nm (Linha Verde) e solução aquosa de NFA ( $9.637 \times 10^{-4}$ M) fotolisada com 30 impulsos de luz de 355 nm após a adição de 1 gota de anidrido acético (Linha Azul).....	50
Figura 3.18 – Cromatograma da redução do NFA com Fe(s) em água em condições essencialmente anaeróbicas e na ausência de luz durante 24 horas à temperatura ambiente (Linha Vermelha), no frigorífico ( $\pm 9^\circ\text{C}$ ) (Linha Azul) e no congelador ( $\pm -20^\circ\text{C}$ ) (Linha Preta).....	52
Figura 3.19 – Espectro de absorção uv da fracção com $t_R = 3.69$ minutos obtida a partir da fotólise do NFA em água (Linha Preta) e propan-2-ol (Tracejado Preto) e por redução do NFA em água com Fe (s) (Linha Azul).....	53
Figura 3.20 – Espectros de absorção medidos após a irradiação com 15 impulsos de luz de 355 nm de uma solução aquosa (saturada de He) contendo 5BrFA ( $2.38 \times 10^{-4}$ M) e NaOH ( $8.70 \times 10^{-2}$ M) na ausência de <i>t</i> -butanol (Linha Preta) e na presença de <i>t</i> -butanol (0.52 M) (Linha Azul).....	55
Figura 3.21 - Cromatogramas obtidos no sistema de HPLC analítico após a irradiação com 15 impulsos de luz de 355 nm de uma solução aquosa (saturada de He) contendo 5BrFA ( $2.38 \times 10^{-4}$ M) e NaOH ( $8.70 \times 10^{-2}$ M) na ausência de <i>t</i> -butanol (Linha Azul) e na presença de <i>t</i> -butanol (0.52 M) (Linha Vermelha).....	56
Figura 3.22 – Cromatograma de uma solução de NFA ( $9.64 \times 10^{-4}$ M) saturada de He fotolisada em água (Linha Preta), em propan-2-ol (Linha Vermelha) e de uma solução de 5BrFA ( $9.94 \times 10^{-4}$ M) e NaOH ( $5.01 \times 10^{-2}$ M) fotolisada em água (Linha Azul).....	57
Figura 3.23 – Dependência de $k_{\text{obs}}$ (medida para o decaimento de $^3\text{NFA}^*$ a 475 nm) em relação à concentração da 2'-aminoacetofenona, na supressão de $^3\text{NFA}^*$ por 2'-aminoacetofenona em acetona.....	58
Figura 3.24 - Espectros de absorção transientes obtidos na fotólise por impulsos de luz de uma solução aquosa de NFA ( $9.47 \times 10^{-4}$ M) e KSCN (2.685 M), saturada de He, imediatamente ( $\blacklozenge$ ) e 100 $\mu\text{s}$ ( $\blacksquare$ ) após o fim do impulso do laser.....	62
Figura 3.25 – Cromatograma de uma solução aquosa de NFA ( $9.53 \times 10^{-4}$ M) (Linha Azul) fotolisada com 9 impulsos de luz de 355 nm (Linha Vermelha) e solução aquosa de NFA ( $9.53 \times 10^{-4}$ M) e KSCN (2.148 M) fotolisada com 9 impulsos de luz de 355 nm do laser (Linha Preta).....	63
Figura 3.26 – Espectro de absorção transiente obtido na fotólise por impulso de luz de uma solução aquosa de NFA ( $9.55 \times 10^{-4}$ M) e KI (1.03 M), saturada de He, imediatamente e 100 ns ( $\blacklozenge$ ) após o fim do impulso do laser.....	64
Figura 3.27 – Dependência da fracção de fotoprodutos, formada na irradiação com 9 impulsos de luz de 355 nm de uma solução aquosa de NFA ( $9.14 \times 10^{-4}$ M) e NaCl/KCl, com a concentração de Cl $^-$ .	

Fotoproducto 1_1 (◆), HFA (■) e ião nitrito (▲). A concentração de nitrito foi corrigida para a concentração de nitrito na solução antes da fotólise ( $[\text{HNO}_2]_i = 4.35 \times 10^{-6} \text{ M}$ ).....	64
Figura 3.28 – Dependência da concentração de nitrito (◆), CFA formado (■) e da razão $[\text{CFA}]/[\text{HNO}_2]$ (▲) com a concentração de ião cloreto presente na irradiação com 9 impulsos de luz de 355 nm de uma solução aquosa de NFA ( $9.14 \times 10^{-3} \text{ M}$ ) e NaCl, saturada de He. A concentração de nitrito foi corrigida para a concentração de nitrito na solução antes da fotólise ( $[\text{HNO}_2]_i = 4.35 \times 10^{-6} \text{ M}$ ).....	65
Figura 3.29 - Espectros de absorção transientes obtidos na fotólise por impulsos de luz de uma solução aquosa de NFA ( $9.05 \times 10^{-4} \text{ M}$ ) e $\text{NaNO}_2$ ( $1.54 \times 10^{-2} \text{ M}$ ), saturada de He, imediatamente (◆) e 350 ns (■) após o fim do impulso do laser.....	66
Figura 6.1 – Cromatograma de solução aquosa de NFA ( $9.17 \times 10^{-5} \text{ M}$ ) fotolisada com 10 impulsos de luz de 355 nm (Linha Vermelha) e de uma solução aquosa de NFA ( $9.12 \times 10^{-4} \text{ M}$ ) fotolisada com 9 impulsos de luz de 355 nm (Linha Azul). ....	92
Figura 6.2 – Cromatograma de solução aquosa de NFA ( $1.15 \times 10^{-4} \text{ M}$ ) e CFA ( $1.44 \times 10^{-5} \text{ M}$ ) (Linha Azul) e de solução aquosa de NFA ( $9.14 \times 10^{-4} \text{ M}$ ) e NaCl ( $1.6414 \text{ M}$ ) fotolisada com 9 impulsos de luz de 355 nm (Linha Vermelha).....	94
Figura 6.3 – Cromatograma de uma solução aquosa de NFA ( $9.17 \times 10^{-5} \text{ M}$ ) (Linha Azul) fotolisada com 15 impulsos de luz de 355 nm (Linha Vermelha) e de solução aquosa de NFA ( $9.17 \times 10^{-5} \text{ M}$ ) e KCl ( $3.4138 \text{ M}$ ) fotolisada com 15 impulsos de luz (Linha Preta). ....	94
Figura 6.4 – Cromatograma de uma solução aquosa de (NFA $1.09 \times 10^{-3} \text{ M}$ ) fotolisada com 8 impulsos de luz de 355 nm Linha Vermelha) e após o seu armazenamento no escuro à temperatura ambiente durante 4,5 horas (Linha Azul).....	95
Figura 6.5 - Cromatograma de uma solução aquosa de NFA ( $1.09 \times 10^{-3} \text{ M}$ ) tamponada e fotolisada com 8 impulsos de luz de 355 nm (Linha Vermelha) e após o seu armazenamento no escuro à temperatura ambiente durante 4,5 horas (Linha Azul). ....	95
Figura 6.6 – Cromatograma de uma solução aquosa de NFA ( $9.52 \times 10^{-4} \text{ M}$ ) e $\text{NaNO}_2$ ( $4.5 \times 10^{-3} \text{ M}$ ) (Linha Vermelha) fotolisada com 15 impulsos de luz de 355 nm (Linha Azul), de uma solução aquosa de NFA ( $9.52 \times 10^{-4} \text{ M}$ ) fotolisada com 15 impulsos de luz 355 nm (Linha Preta) e de uma solução aquosa de NFA ( $9.52 \times 10^{-4} \text{ M}$ ) e $\text{NaNO}_2$ ( $2.25 \times 10^{-3} \text{ M}$ ) fotolisada com 15 impulsos de luz 355 nm (Linha Verde). ....	96
Figura 6.7 - Cromatograma da fracção de AMF recolhida no sistema HPLC semipreparativo (Linha Vermelha) após aquecimento num banho térmico a $80^\circ\text{C}$ durante 30 minutos (Linha Preta) e 60 minutos (Linha Azul). Os tempos de retenção nos cromatogramas apresentados não correspondem aos indicados na discussão de resultados devido ao desgaste da coluna cromatográfica utilizada nesta separação de componentes.....	96
Figura 6.8 – Espectro de absorção uv do AMF ( $\lambda_{\text{max}} = 286.0 \text{ nm}$ ) formado por acetilação, com anidrido acético, do HFA proveniente da fotólise de uma solução aquosa de NFA ( $1.03 \times 10^{-3} \text{ M}$ ) no reactor fotoquímico. O AMF foi isolado por separação cromatográfica no sistema HPLC semipreparativo e o seu espectro medido em solução aquosa neutra com 25% (v/v) de metanol. ....	97
Figura 6.9 – Espectro de absorção uv do HMF ( $\lambda_{\text{max}} = 348.0$ e $357.0 \text{ nm}$ ) formado a partir de uma fracção de AMF recolhida no sistema de HPLC semipreparativo e deixada a hidrolisar durante 48 horas em solução aquosa neutra com 25% (v/v) de metanol.....	97
Figura 6.10 – Espectro de absorção uv do HFA ( $\lambda_{\text{max}} = 305.0 \text{ nm}$ ) formado a partir da acidificação para $\text{pH}=3$ de uma fracção de AMF recolhida no sistema de HPLC semipreparativo e deixada a hidrolisar durante 48 horas em solução aquosa neutra com 25% (v/v) de metanol.....	98
Figura 6.11 – Sobreposição dos espectros de absorção uv do 5-acetoximetileno-2-furanona (AMF; $\lambda_{\text{max}} = 286.0 \text{ nm}$ ) (Linha Vermelha), do 5-hidroximetileno-2-furanona (HMF; $\lambda_{\text{max}} = 348.0$ e $357.0 \text{ nm}$ ) (Linha Preta) e do 5-hidroxi-2-furaldeído (HFA; $\lambda_{\text{max}} = 305.0 \text{ nm}$ ) (Linha Azul). ....	98
Figura 6.12 - Espectro de absorção uv do fotoproducto 1_1 ( $t_R = 3.69 \text{ min}$ e $\lambda_{\text{max}} = 271.5 \text{ nm}$ ) isolado e purificado a partir de uma solução aquosa de NFA fotolisada no reactor fotoquímico. ....	99

Figura 6.13 - Espectro de absorção uv do fotoproducto 1_2 ( $t_R = 3.99$ min e $\lambda_{max} = 285.6$ e $224,6$ nm) isolado e purificado a partir de uma solução aquosa de NFA fotolisada no reactor fotoquímico. ....	99
Figura 6.14 - Espectro de absorção uv do fotoproducto 1_3 ( $t_R = 3.28$ min e $\lambda_{max} = 281.6$ nm) isolado e purificado a partir de uma solução aquosa de NFA fotolisada no reactor fotoquímico. ....	100
Figura 6.15 - Sobreposição dos espectros de absorção uv dos fotoproductos 1_1 (Linha Preta), 1_2 (Linha Azul) e 1_3 (Linha Vermelha) isolados e purificados a partir da fotólise do NFA em água no reactor fotoquímico. ....	100
Figura 6.16 – Cromatograma de uma solução contendo 1% (v/v) de acetona em propan-2-ol (Linha Azul) e de uma solução de NFA ( $9.80 \times 10^{-4}$ M) em propan-2-ol fotolisada com 30 impulsos de luz de 355 nm (Linha Vermelha). ....	102
Figura 6.17 – Cromatograma obtido na fotólise prolongada com lâmpada de Xenon, durante 60 minutos, de uma solução de NFA em propan-2-ol. Para a análise cromatográfica evaporou-se o propan-2-ol no evaporador rotativo sob vácuo a temperatura moderada e redissolveu-se o resíduo obtido em água desionizada. A detecção de componentes foi realizada a 350 nm. ....	103
Figura 6.18 – Cromatograma de uma solução obtida pela dissolução em água do resíduo formado na evaporação do solvente até à secura de uma solução de NFA ( $9.46 \times 10^{-4}$ M) em propan-2-ol, saturada de He, fotolisada com 15 impulsos de luz de 355 nm. ....	103
Figura 6.19 – Espectro de absorção uv do fotoproducto 1_1 ( $t_R = 3.69$ min e $\lambda_{max} = 272.2$ nm) isolado e purificado a partir de uma solução de NFA em propan-2-ol fotolisada no reactor fotoquímico. ....	104
Figura 6.20 - Espectro de absorção uv do fotoproducto 1_2 ( $t_R = 3.99$ min e $\lambda_{max} = 288.5$ e $215.5$ nm) isolado e purificado a partir de uma solução de NFA em propan-2-ol fotolisada no reactor fotoquímico. ....	104
Figura 6.21 - Espectro de absorção uv do fotoproducto 1_3 ( $t_R = 3.28$ min e $\lambda_{max} = 281.8$ nm) isolado e purificado a partir de uma solução de NFA em propan-2-ol fotolisada no reactor fotoquímico. ....	105
Figura 6.22 – Sobreposição dos espectros de absorção uv dos fotoproductos 1_1 (Linha Preta), 1_2 (Linha Azul) e 1_3 (Linha Vermelha) isolados e purificados a partir da fotólise do NFA em propan-2-ol no reactor fotoquímico. ....	105
Figura 6.23 - Espectro de absorção vibracional no infravermelho médio do fotoproducto 1_1 isolado e purificado a partir da fotólise do NFA em propan-2-ol no reactor fotoquímico. Medição do espectro em pastilha de KBr. ....	106
Figura 6.24 – Cromatograma da fracção de 5-amino-2-furaldeído ( $t_R = 3.83$ min) recolhida na separação cromatográfica da mistura preparada por redução química do NFA em etanol com $H_2$ (g) catalisada por 5% Pd sob carbono activado. ....	108
Figura 6.25 – Espectro de absorção uv do 5-amino-2-furaldeído ( $\lambda_{max} = 350.5$ nm) recolhido na separação cromatográfica da mistura preparada por redução química do NFA em etanol com $H_2$ (g) catalisada por 5% Pd sob carbono activado. ....	109
Figura 6.26 - Espectro de absorção vibracional no infravermelho médio do 5-amino-2-furaldeído isolado e purificado a partir da redução química do NFA em etanol com $H_2$ (g) sobre 5%Pd/C. Medição do espectro em pastilha de KBr. ....	109
Figura 6.27 – Espectro de absorção uv da fracção do fotoproducto 1_1 ( $\lambda_{max} = 372.0$ nm) obtido na separação cromatográfica da mistura preparada por redução química do NFA com Fe (s) em água. .	111
Figura 6.28 – Espectro de absorção uv da fracção de 5-amino-2-furaldeído ( $\lambda_{max} = 349.5$ nm) obtido na separação cromatográfica da mistura preparada por redução química do NFA com Fe (s) em água. .	111
Figura 6.29 – Comparação do espectro de absorção uv do 5-amino-2-furaldeído obtido por redução química do NFA com Fe(s) em água (Linha Contínua) e com $H_2$ (g) em etanol catalisado por 5% Pd/C (Linha Tracejada). ....	112
Figura 6.30 – Cromatograma de uma solução de 5BrFA ( $5.48 \times 10^{-4}$ M) e NaOH ( $9.05 \times 10^{-2}$ M) em meio aquoso fotolisada durante 1 hora com lâmpada de Xenon e neutralizada com uma solução de HCl	

1 M para pH = 5 (Linha Vermelha) e após a adição de 20 gotas de anidrido acético a 0.05 dm <sup>3</sup> de solução fotolisada e neutralizada (Linha Azul) .....	113
Figura 6.31 – Espectro de absorção uv de uma solução aquosa de 5BrFA (9.51 x 10 <sup>-5</sup> M) (Linha Preta) e NaOH (2.70 x 10 <sup>-2</sup> M) ( $\lambda_{\max}$ = 290.6 nm) (Linha Azul) .....	114
Figura 6.32 - Espectro de absorção uv de uma solução aquosa de 5BrFA (9.51 x 10 <sup>-4</sup> M) e NaOH (2.70 x 10 <sup>-2</sup> M) ( $\lambda_{\max}$ = 290.0 nm) (Linha Azul) fotolisada com 15 impulsos de luz de 355 nm ( $\lambda_{\max}$ = 291.0 e 355.0 nm) (Linha Vermelha). As soluções foram sujeitas a uma diluição de 1:10. ....	114
Figura 6.33 - Espectro de absorção uv de uma solução aquosa de 5BrFA (9.51 x 10 <sup>-4</sup> M) e NaOH (5.40 x 10 <sup>-2</sup> M) (Linha Preta) fotolisada com 15 impulsos de luz de 355 nm no sistema de Laser Flash Photolysis ( $\lambda_{\max}$ = 347.0 e 356.2 nm) (Linha Azul) .....	115
Figura 6.34 - Espectro de absorção uv de uma solução aquosa de 5BrFA (9.51 x 10 <sup>-4</sup> M) e NaOH (8.70 x 10 <sup>-2</sup> M) fotolisada com 30 impulsos de luz (Linha Vermelha) e de uma solução aquosa de 5BrFA (2.34 x 10 <sup>-4</sup> M) e NaOH (8.70 x 10 <sup>-2</sup> M) fotolisada com 15 (Linha Preta) e 30 (Linha Azul) impulsos de luz de 355 nm.....	115
Figura 6.35 - Espectro de absorção uv de uma solução aquosa de 5BrFA (9.51 x 10 <sup>-4</sup> M) e NaOH (5.40 x 10 <sup>-2</sup> M) (Linha Preta) fotolisada com 15 impulsos de luz a pH=12.7 (Linha Azul) e a pH=1.5 (Linha Vermelha).....	116



## Índice de Tabelas

Tabela 2.1 - Solventes e substratos utilizados na preparação das soluções de NFA fotolisadas no sistema de Laser Flash Photolysis.....	21
Tabela 3.1 – Concentração de ácido nitroso em soluções de NFA após fotólise com 8 impulsos de luz de 355 nm no sistema de laser flash photolysis <sup>a</sup> .....	38
Tabela 3.2 – Concentração de ácido nitroso numa solução de NFA ( $7,17 \times 10^{-4}$ M) e NaOH em metanol após fotólise com 8 impulsos de luz de 355 nm. Antes da fotólise todas as soluções foram saturadas de He. ....	39
Tabela 3.3 – Tempo de Vida ( $\tau$ ) do $^3\text{NFA}^*$ em diferentes solventes. As soluções foram saturadas de He antes da fotólise.....	42
Tabela 3.4 – Dependência da constante de velocidade de primeira ordem ( $k_{\text{obs}}$ ) do decaimento do $^3\text{NFA}^*$ relativamente à concentração de NFA (no estado fundamental).....	43
Tabela 3.5 – Dependência da constante de velocidade de primeira ordem ( $k_{\text{obs}}$ ) <sup>a</sup> do decaimento do $^3\text{NFA}^*$ com a acidez.....	45
Tabela 3.6 – Dados obtidos sobre a transferência de energia <sup>(a)</sup> do $^3\text{NFA}^*$ em solução <sup>(b)</sup> a 298 K.....	59
Tabela 3.7 – Constantes de velocidade de segunda ordem ( $k_2$ ) para a reacção do $^3\text{NFA}^*$ com aniões inorgânicos (D) em solução aquosa (medidas a 293 K).....	61
Tabela 6.1 – Massas pesadas e dados utilizados para o cálculo da concentração da solução stock preparada para a construção da curva de calibração do método espectrofotométrico de determinação de nitrito. A solução stock 2 foi preparada por diluição 1:50 da solução stock 1.....	75
Tabela 6.2 – Dados utilizados para a construção da curva de calibração do Nitrito.....	75
Tabela 6.3 – Concentração e Volume da solução Stock de CFA preparada para a construção da curva de calibração.....	77
Tabela 6.4 – Áreas e Alturas obtidos para a construção das curvas de calibração do CFA.....	77
Tabela 6.5 – Dados obtidos no sistema de laser flash photolysis utilizados para a construção dos espectros de absorção das espécies transientes formadas na fotólise por impulsos de luz de uma solução aquosa de NFA ( $9,04 \times 10^{-4}$ M) não tamponada (pH $\approx$ 4.8) saturada de He. A medição das absorvâncias aos diferentes comprimentos de onda efectuou-se 15 ns, 60 ns e 350 ns após o fim do impulso do laser. ....	79
Tabela 6.6 - Dados obtidos no sistema de laser flash photolysis utilizados para a construção dos espectros de absorção das espécies transientes formadas na fotólise por impulsos de luz de uma solução aquosa de NFA ( $9,06 \times 10^{-4}$ M) tamponada (pH=6.9), saturada de He. A medição das absorvâncias aos diferentes comprimentos de onda efectuou-se 13 ns, 60 ns e 350 ns após o fim do impulso do laser. ....	80
Tabela 6.7 - Dados obtidos no sistema de laser flash photolysis utilizados para a construção dos espectros de absorção das espécies transientes formadas na fotólise por impulsos de luz de uma solução de NFA ( $9,04 \times 10^{-4}$ M) em água, ( $7,45 \times 10^{-4}$ M) em metanol, ( $7,45 \times 10^{-4}$ M) em etanol, ( $7,76 \times 10^{-4}$ M) em acetona e ( $3,46 \times 10^{-3}$ M) em acetonitrilo. A medição das absorvâncias aos diferentes comprimentos de onda efectuou-se 15 ns (em água, metanol e etanol) e 50 ns (em acetona e acetonitrilo) após o fim do impulso do laser. ....	81
Tabela 6.8 - Dados obtidos no sistema de laser flash photolysis utilizados para a construção dos espectros de absorção das espécies transientes formadas na fotólise por impulsos de luz de uma solução de NFA ( $1,01 \times 10^{-3}$ M) em propan-2-ol saturada de He. A medição das absorvâncias aos diferentes comprimentos de onda efectuou-se 13 ns e 3 $\mu$ s após o fim do impulso do laser. ....	83
Tabela 6.9 - Dados obtidos no sistema de laser flash photolysis utilizados para a construção dos espectros de absorção das espécies transientes formadas na fotólise por impulsos de luz de uma solução de NFA ( $7,45 \times 10^{-4}$ M) em etanol saturada de He ou O <sub>2</sub> . A medição das absorvâncias aos diferentes comprimentos de onda efectuou-se 15 $\mu$ s após o fim do impulso do laser. ....	84

Tabela 6.10 - Dados obtidos no sistema de laser flash photolysis utilizados para a construção dos espectros de absorção das espécies transientes formadas na fotólise por impulsos de luz de uma solução de NFA ( $1.55 \times 10^{-3}$ M) em 1,4-dioxano. A medição das absorvâncias aos diferentes comprimentos de onda efectuou-se 50 ns e 15 $\mu$ s após o fim do impulso do laser. ....	84
Tabela 6.11 - Dados obtidos no sistema de laser flash photolysis utilizados para a construção do espectro de absorção da espécie transiente formada na fotólise por impulsos de luz de uma solução aquosa de 5BrFA ( $9.51 \times 10^{-4}$ M), saturada de He, imediatamente após o fim do impulso do laser.....	85
Tabela 6.12 - Dados obtidos no sistema de laser flash photolysis utilizados para a construção do espectro de absorção transiente da espécie formada na fotólise por impulsos de luz de uma solução aquosa, saturada de He, de 5BrFA ( $9.51 \times 10^{-4}$ M) e NaOH ( $5.4 \times 10^{-4}$ M) (1) (medição a 60 $\mu$ s e 15 ms após fim do impulso do laser) e de 5BrFA ( $9.51 \times 10^{-4}$ M) e NaOH ( $8.7 \times 10^{-4}$ M) (2) (medição 60 $\mu$ s após o fim do impulso do laser).....	86
Tabela 6.13 - Dados obtidos no sistema de laser flash photolysis utilizados para a construção do espectro de absorção da espécie formada na fotólise por impulsos de luz de uma solução aquosa, saturada de He, de 5BrFA ( $9.51 \times 10^{-4}$ M) e NaOH ( $8.7 \times 10^{-4}$ M) (1) e de 5BrFA ( $9.51 \times 10^{-4}$ M), NaOH ( $8.7 \times 10^{-4}$ M) e <i>t</i> -butanol (0.52 M) (2). As medições de absorvância efectuaram-se 60 $\mu$ s após o fim do impulso do laser. ....	87
Tabela 6.14 - Dados obtidos no sistema de laser flash photolysis utilizados para a construção do espectro de absorção da espécie formada na fotólise por impulsos de luz de uma solução saturada de He de NFA ( $7.17 \times 10^{-4}$ M) (1) e NaOH ( $2.54 \times 10^{-3}$ M) (2), e ( $2.48 \times 10^{-2}$ M) (3) em metanol. As medições da absorvância foram efectuadas 150 ns (1,2 e 3) e 10 (3) $\mu$ s após o fim do impulso do laser. ....	88
Tabela 6.15 - Dados obtidos no sistema de laser flash photolysis utilizados para a construção do espectro de absorção das espécies transientes formadas na fotólise por impulsos de luz de uma solução aquosa de NFA ( $9.47 \times 10^{-4}$ M) e KSCN (2.685 M). A medição das absorvâncias aos diferentes comprimentos de onda efectuou-se 25 ns e 100 ms após o fim do impulso do laser. ....	89
Tabela 6.16 - Dados obtidos no sistema de laser flash photolysis utilizados para a construção do espectro de absorção das espécies transientes formadas na fotólise por impulsos de luz de uma solução aquosa de NFA ( $9.55 \times 10^{-4}$ M) e KI (1.03 M). A medição das absorvâncias aos diferentes comprimentos de onda efectuou-se 100 ns após o fim do impulso do laser.....	90
Tabela 6.17 - Dados obtidos no sistema de laser flash photolysis utilizados para a construção do espectro de absorção das espécies transientes formadas na fotólise por impulsos de luz de uma solução aquosa de NFA ( $9.05 \times 10^{-4}$ M) e NaNO <sub>2</sub> ( $1.54 \times 10^{-2}$ M). A medição das absorvâncias aos diferentes comprimentos de onda efectuou-se 13 e 350 ns após o fim do impulso do laser.....	91
Tabela 6.18 – Resultados obtidos após a irradiação de 9 impulsos de luz de 355 nm de uma solução de NFA ( $9.14 \times 10^{-4}$ M) na presença de Cl <sup>-</sup> . A concentração de CFA corresponde ao valor médio calculado através da área e altura do pico correspondente detectado no sistema de HPLC analítico. [NaCl/KCl], [CFA] e [HNO <sub>2</sub> ] expressas em M.....	93
Tabela 6.19 – Tratamento dos dados obtidos após a irradiação de 9 impulsos de luz de 355 nm de uma solução de NFA ( $9.14 \times 10^{-4}$ M) na presença de Cl <sup>-</sup> para a construção da Figura 3.27 e Figura 3.28. A $\Delta$ [HNO <sub>2</sub> ] e [CFA]/[HNO <sub>2</sub> ] foram corrigidas tendo em conta a concentração inicial de nitrito da solução não fotolisada de NFA ( $4.35 \times 10^{-6}$ M). ....	93

## Índice de Espectros de RMN

Espectro RMN 6.1 - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do AMF obtido a partir da acetilação, com anidrido acético, do HFA formado na fotólise de uma solução aquosa de NFA no reactor fotoquímico. ....	101
Espectro RMN 6.2 - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do fotoproducto 1_1 obtido na fotólise do NFA em propan-2-ol no reactor fotoquímico. ....	106
Espectro RMN 6.3 - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do fotoproducto 1_1 obtido na fotólise do NFA em propan-2-ol no reactor fotoquímico. ....	107
Espectro RMN 6.4 – Espectro de RMN 2D-HMQC do fotoproducto 1_1 formado na fotólise do NFA em propan-2-ol. ....	107
Espectro RMN 6.5 - Espectro RMN de $^1\text{H}$ do 5-amino-2-furaldeído obtido na separação cromatográfica da mistura preparada por redução química do NFA em etanol com $\text{H}_2$ (g) catalisada por 5% Pd/C. ....	110
Espectro RMN 6.6 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do AMF obtido a partir da acetilação, com anidrido acético, do HMF formado na fotólise de 5BrFA em meio aquoso alcalino. ....	116



## **Simbologia e Abreviaturas**

5BrFA - 5- bromo-2-furaldeído

AMF - 5-acetoximetileno-2-Furanona

ATR. – Refletância Total Atenuada

ESR – Ressonância de Spin Electrónico

FTIR - Espectrometria de Infravermelhos por Transformada de Fourier

FZD – Furazolidona

HFA - 5-hidroxi-2-Furaldeído

HMF - 5-hidroximetileno-2-furanona

HMQC – Correlação Heteronuclear de Quantum-Múltiplo

HPLC - Cromatografia Líquida de Alta Pressão

NFA - 5-nitro-2-furaldeído

NFO - Nifuroxima

NFT – Nitrofurantoína

NFZ – Nitrofurazona

RMN – Ressonância Magnética Nuclear



## 1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas o consumo de medicamentos cresceu exponencialmente devido à necessidade de melhorar e prolongar a esperança de vida dos seres humanos. Em 1900 a esperança média de vida em países desenvolvidos era aproximadamente 45 anos de idade e muitas das crianças nascidas nesse período não atingiam sequer a adolescência, vítimas de doenças infecciosas. Hoje, 113 anos mais tarde, o panorama é totalmente distinto e a esperança média de vida em alguns países desenvolvidos ultrapassa os 80 anos (Kinsella, 1992) (Salomon, et al., 2012). Durante este período a investigação e desenvolvimento científico de fármacos ajudaram a transformar os cuidados de saúde de uma prática largamente paliativa em tratamentos com grande base científica oferecendo às populações curas para doenças até então consideradas fatais.

Actualmente a utilização de fármacos não se restringe apenas à medicina humana. Desde a década de 50 estes começaram a adquirir importância em vários sectores agrícolas de produção animal melhorando a eficácia e qualidade das explorações de cultivo intensivo, fundamentais para a alimentação de um planeta sobrelotado (Dibner, et al., 2005).

Os fármacos são compostos químicos concebidos para estimular uma resposta fisiológica em humanos, animais, bactérias e outros organismos (Kümmerer, 2003). Existem várias categorias de fármacos como sedativos, anti-histamínicos, promotores de crescimento, suplementos nutricionais, anti-inflamatórios, broncodilatadores entre outros.

### 1.1. Antibióticos

Uma das classes de medicamentos amplamente utilizados, tanto na medicina humana como veterinária, são os antibióticos. O termo antibiótico é usualmente destinado para uma vasta gama de compostos, de origem microbiana, sintética ou semi-sintética, que eliminam ou inibem o crescimento de determinados microorganismos (Sarmah, et al., 2006; Homem, et al., 2011; Kümmerer, 2009). O primeiro antibiótico usado para fins medicinais, com fundamento científico, foi a penicilina, descoberta por Alexander Fleming em 1928. Num regresso a casa após férias o bacteriologista do hospital St. Mary's de Londres deparou-se com o desenvolvimento de um misterioso bolor numa caixa de Petri que continha uma cultura de bactérias do género *Staphylococcus* e verificou que a cultura não apresentava crescimento bacteriano nas zonas de crescimento do bolor. Esta observação fez com que o cientista concluísse que aquele bolor possuía uma substância com acção antibacteriana, a qual designou de penicilina visto o bolor ser do género *Penicillium*. Apesar da descoberta, Fleming não conseguiu isolar e purificar o composto e só em 1940 o feito foi alcançado na Universidade de Oxford por Howard Florey e Ernst Chain. Estes dois cientistas demonstraram a eficácia e acção do composto em ratos e iniciaram o teste em humanos. Em 1942, depois da descoberta de outro bolor do género *Penicillium*, que produzia 200 vezes mais penicilina que o bolor inicialmente descoberto por Fleming, várias empresas norte americanas começaram a produzir penicilina purificada em larga escala. Um ano mais tarde existia penicilina suficiente para tratar as severas feridas de combate dos soldados americanos na Segunda Guerra Mundial (Markel, 2013).

Desde esse momento até hoje, centenas de antibióticos surgiram no mercado e encontram-se disponíveis, tanto para humanos e animais, para o tratamento de doenças, como promotores de crescimento e para melhorar a eficiência alimentar. De facto, durante a década de 90, os antibióticos adquiriram mesmo um papel essencial na agricultura moderna e explorações de animais. O aumento da população mundial e a globalização dos mercados deu origem à necessidade de produções constantes e volumosas e, devido à proximidade de um grande número de animais nas instalações de produção e à potencial rápida propagação de doenças, tornou-se usual a administração de antibióticos como promotores de crescimento a fim de se manter a viabilidade da produção (Sarmah, et al., 2006). O termo antibiótico promotor de crescimento é usado para descrever qualquer medicamento que destrua ou iniba o crescimento bacteriano quando administrado em doses baixas. Os agentes infecciosos diminuem o rendimento de animais criados em explorações e a administração constante de doses subterapêuticas de antibióticos e agentes antimicrobianos está provado ser uma prática bastante eficaz (Hughes, et al., 2004). O efeito promotor de crescimento dos antibióticos foi observado pela primeira vez nos anos 40 quando se verificou que galinhas alimentadas com determinadas doses de streptomina apresentavam crescimento acelerado (Moore, et al., 1946). Ainda hoje não existe consenso sobre o mecanismo de acção para o efeito referido. A hipótese com maior aceitação na comunidade científica aponta para a interacção dos antibióticos com a população microbiana intestinal dos animais (Dibner, et al., 2005). Porém alguns cientistas preferem destacar o efeito anti-inflamatório dos antibióticos (Niewold, 2007).

Devido à proliferação do uso de antibióticos como promotores de crescimento, em 1950s e 60s os estados aprovaram as suas próprias legislações relacionadas com o uso de antibióticos em explorações animais. A partir de 1970 os países europeus procuraram harmonizar as regras criando decretos de lei a nível internacional, contudo apenas no fim da década de 90 estes se tornaram eficazes (Castanon, 2007). Por exemplo, na Dinamarca, um dos primeiros países europeus a aplicar fortes medidas de proibição, registou-se uma diminuição de 100 000 kg para praticamente zero entre 1996 e 2000 relativamente à aplicação de antibióticos como promotores de crescimento (Casewell, et al., 2003). No que diz respeito ao conjunto de países da UE, em 1996, cerca de 10200 toneladas de antibióticos foram consumidos dos quais aproximadamente 50 % foram utilizados em aplicações veterinárias como promotores de crescimento. No ano de 1999 registou-se uma forte redução e, das 13288 toneladas de antibióticos consumidos na UE e Suíça, apenas 6 % foram utilizados como promotores de crescimento. A redução do uso de antibióticos em explorações animais é explicada pela proibição da aplicação de muitos promotores de crescimento na UE (Kümmerer, 2003).



## 1.2. Efeitos dos Antibióticos no Meio Ambiente

Devido ao elevado consumo e ampla utilização de antibióticos, na década de 90 verificou-se um crescente interesse sobre os efeitos adversos que o uso e libertação dos mesmos pode constituir para a saúde humana e ambiental (Sarmah, et al., 2006). A sua presença em ambientes aquáticos ganhou particular relevância. Estudos demonstraram que vários antibióticos foram detectados em águas superficiais e efluentes de Estações de Tratamento de Resíduos em concentrações superiores a vários  $\mu\text{g/L}$  (Hirsh, et al., 1999; Halling-Sørensen, et al., 1998). Estes resultados sugerem que os antibióticos não podem ser completamente removidos por tratamentos biológicos e que são emitidos para os mais variados receptores de água. O efeito de maior relevância da ocorrência de antibióticos no ambiente resulta da possibilidade de selecção e desenvolvimento de bactérias resistentes a determinados antibióticos (Kümmerer, 2003; Sarmah, et al., 2006; Hirsh, et al., 1999; Balcioglu, et al., 2003). Num relatório da Câmara dos Lordes é enunciado que a “resistência a antibióticos e outros agentes anti-infecciosos constitui uma grande ameaça à saúde pública” (Kümmerer, 2003). Do ponto de vista ambiental a maior ameaça resulta, principalmente, da sua presença em meios aquáticos e advém do efeito genotóxico e acumulativo que estes podem ter nas cadeias alimentares e sedimentos marinhos, afectando assim o balanço ecológico natural (Halling-Sørensen, et al., 1997; Migliore, et al., 1997).

## 1.3. Vias de entrada e Ocorrência de Antibióticos no Ambiente

A ocorrência de antibióticos no meio ambiente deve-se essencialmente a actividades de medicina humana e veterinária embora existam outras fontes de emissão de menor importância. Muitos antibióticos existem no meio ambiente naturalmente uma vez que são produzidos por bactérias do solo, as *Actinomycetas*. No entanto, devido à baixa densidade celular destes organismos nos solos e falta de evidências significativas na pesquisa de antibióticos em solos não fertilizados, não é atribuída grande relevância à ocorrência natural dos antibióticos no meio ambiente (Kümmerer, 2009).

### 1.3.1. Consumo Humano

Das fontes mais importantes para a presença de antibióticos no meio ambiente as emissões associadas ao consumo humano são da maior relevância. O consumo humano total e per capita e a percentagem individual de cada antibiótico varia de forma significativa em cada país. A variação dos números explica-se essencialmente pela demografia das diferentes regiões, número de instalações/acesso a unidades hospitalares e percentagem da contribuição estatal para a compra de medicamentos.

Os antibióticos utilizados para medicina humana podem contaminar o ambiente via excrementos, despejo de medicamentos fora da validade ou prescrições antigas, lixos hospitalares e descargas de estações de tratamento de efluentes residuais (Kümmerer, 2003; Sarmah, et al., 2006; Homem, et al., 2011).

Muitos dos medicamentos utilizados na medicina humana e animal não são totalmente metabolizados após a sua administração. Como a maior parte dos antibióticos são solúveis em água, 90% da dose administrada pode ser libertada pela urina e até 75% nas fezes. Na prática,

isto significa que uma grande parte dos antibióticos administrados em medicina humana chega inalterada às estações de tratamento de efluentes. Para além da percentagem elevada de antibióticos não metabolizados que atinge as estações de tratamento é preciso ter em conta que a fracção metabolizada pode permanecer bioactiva ou até mesmo ser reconvertida no composto original após a excreção (Sarmah, et al., 2006). De notar ainda que muitos antibióticos são de curta duração quando chegam a ambientes naturais após a excreção, decaindo em substâncias mais estáveis que o seu precursor que podem também apresentar impactos ambientais significativos (Palmer, et al., 2010).

Muitas das estações de tratamento de efluentes residuais (ETARs) não foram inicialmente concebidas para a remoção de antibióticos (Xu, et al., 2007). Grande parte do processo de eliminação de compostos poluentes é alcançado através da absorção destas substâncias em lamas activadas. Uma vez que este processo é mediado parcialmente por interacções hidrofóbicas apresenta-se ineficaz para a remoção de antibióticos com características polares (Hirsh, et al., 1999). Por este motivo muitos dos antibióticos administrados como medicação humana nos hospitais, residências particulares, clínicas e centros de saúde podem atingir cursos de água superficiais através das descargas de ETARs pouco eficientes na eliminação dos mesmos.

### **1.3.2. Consumo Animal**

Como já foi referido anteriormente os antibióticos são também usados largamente em explorações de produção animal intensiva. A incorporação destas substâncias na produção animal pode ter propósito preventivo, terapêutico ou para promoção de crescimento. Em alguns países são administradas sub-dosagens de antibióticos na alimentação dos animais como forma de garantir um produto final de melhor qualidade uma vez que é reconhecido que esta prática conduz a carnes com menor percentagem de gordura e maior percentagem de proteínas (Cromwell, 2002). Porém, existem formas alternativas para melhorar a qualidade da carne sem recurso a promotores de crescimento sendo que, em países como a Suécia e Suíça, o uso destas substâncias para produção animal já não se encontra permitido (Kümmerer, 2009). A administração de antibióticos em explorações animais pode ser feita através da água ou da comida. De forma semelhante ao que acontece nos humanos, também nos animais grande parte dos antibióticos não são metabolizados e acabam por atingir os solos através do estrume (Sarmah, et al., 2006; Homem, et al., 2011; Hirsh, et al., 1999). O estrume das explorações é principalmente utilizado como fertilizante de campos agrícolas e assim os antibióticos acabam por atingir o solo e conseqüentemente águas subterrâneas e superficiais.

### **1.3.3. Aquacultura**

Outra actividade produtiva reconhecida pelo seu impacto no meio ambiente é a aquacultura. Na aquacultura os peixes sofrem elevado stress resultante das manipulações/mudanças de ambiente efectuadas durante o processo de produção. O desgaste provocado no organismo dos peixes por essas constantes mudanças do meio diminui a eficácia do seu sistema imunitário na remoção de infecções bacterianas e, conseqüentemente, o rendimento das explorações (Barton, et al., 1991; Naylor, et al., 2005). Por esse motivo tornou-se prática comum o uso de antibióticos profilácticos nestas explorações (Kümmerer,

2009; Cabello, 2006). Embora o uso de drogas antimicrobianas nalgumas espécies de peixes tenha sido estudado e correlacionado positivamente com a produção de biomassa das instalações (Grave, et al., 2008), estas práticas constituem uma fonte de libertação de antibióticos para o meio ambiente. Os antibióticos são fornecidos aos peixes como componentes da sua comida ou por introdução directa na água. Assim, a comida não consumida e as fezes dos peixes podem difundir-se directamente para os sedimentos depositados no fundo dos tanques de cultivo sem serem sujeitos a nenhum processo de purificação. Esta situação dá origem a compartimentos de água e sedimentos adjacentes com elevadas concentrações de antibióticos. Os sedimentos podem sofrer washout devido a correntes e migrar para sítios distantes. Chegados ao meio ambiente os antibióticos podem ser ingeridos por outros peixes e crustáceos. Os antibióticos residuais que permanecem nos sedimentos exercem ainda uma pressão selectiva, alterando a composição da comunidade microbiana do sedimento, e dando origem a uma prevalência de bactérias resistentes a antibióticos (Hektoen, et al., 1995).

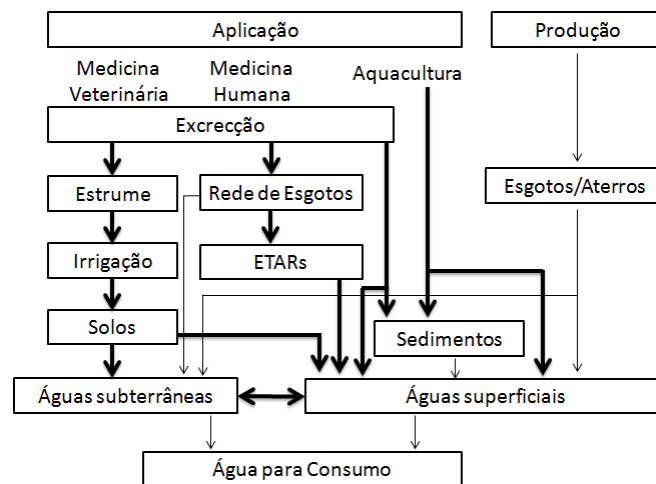
#### **1.3.4. Agricultura**

Na horticultura o uso de antibióticos também constituiu prática corrente durante muitos anos. No passado era usual a aplicação de antibióticos em culturas de frutos de alto valor para controlar pragas bacterianas. No entanto, números dos USA revelam que apenas menos de 0,5 % dos antibióticos usados no país eram utilizados para esse fim (McManus, et al., 2002). Estes números, para além de pouco significativos, poderão ter ainda uma tendência decrescente uma vez que é cada vez mais usual a incorporação de genes nas plantas que lhes conferem resistência a infecções bacterianas. Porém a actividade hortofrutícola é afectada pela presença de antibióticos devido à utilização de estrume e lamas activadas como fertilizantes. De facto, alguns estudos já provaram a existência de antibióticos em produtos hortícolas cultivados em terrenos fertilizados o que aumenta as preocupações sobre os potenciais efeitos da exposição dos humanos a baixas doses de antibióticos (Boxall, et al., 2006; Dolliver, et al., 2007).

#### **1.3.5. Produção Industrial**

Por fim, a actividade da indústria de produção farmacêutica pode ser também responsável pela presença de antibióticos no meio ambiente. A produção de antibióticos tem vários processos associados que podem contribuir para essa ocorrência (fermentações, extracções e lavagens dos equipamentos). Os efluentes resultantes da lavagem de equipamentos, por exemplo, são caracterizados por baixos caudais e concentrações de antibióticos (Balcioglu, et al., 2003). No entanto, como já foi atrás mencionado, os antibióticos podem apresentar reduzida biodegradabilidade e não serem eliminados pelos tratamentos de efluentes convencionais alcançando o meio ambiente directamente, através da descarga do efluente tratado, ou por aplicação das lamas resultantes em campos agrícolas como fertilizantes. Embora as emissões de antibióticos no meio ambiente resultantes da produção farmacêutica terem sido consideradas de pouca importância, estudos recentes revelaram que esta actividade pode ter uma contribuição mais significativa do que se pensava inicialmente (Larsson, et al., 2007; Li, et al., 2008; Li, et al., 2008).

O Esquema 1.1 apresenta todos os caminhos possíveis para a introdução de antibióticos no meio ambiente a partir das fontes consideradas de maior relevância.



Esquema 1.1 - Possíveis vias de entrada dos antibióticos no meio aquoso. Adaptado de Hirsh, et al., 1999.

Como se pode observar (Esquema 1.1), os antibióticos após alcançarem águas subterrâneas ou superficiais, pelas distintas vias abordadas anteriormente, podem ser introduzidos em águas para consumo humano consideradas potáveis. Embora as águas comercializadas para consumo humano pelas redes nacionais de distribuição de água sejam sujeitas a tratamentos de purificação após a sua captação, a presença de diferentes tipos de antibióticos já foi detectada em águas da rede (Yiruhan, et al., 2010). No início dos anos 90 bactérias com resistência a antibióticos foram detectadas em águas potáveis provenientes de redes de distribuição. Os autores desses estudos concluíram que os tratamentos da água captada e a sua posterior distribuição influenciam a selecção de bactérias resistentes a antibióticos (Kümmerer, 2009).

Para além do impacto directo negativo causado pela presença dos antibióticos no meio aquoso é igualmente necessário ter em conta os efeitos adversos indirectos derivados dos seus produtos de decomposição térmica e/ou fotoquímica. Muitos dos antibióticos que chegam aos cursos de água são fotoquimicamente instáveis e decompõe-se rapidamente em meio aquoso noutras substâncias que podem ser, ou não, mais tóxicas que a molécula parental. Por esse motivo é também fundamental conhecer fotoquímica destas substâncias em condições semelhantes às encontradas no meio ambiente.

#### 1.4. Antibióticos de Nitrofurano

Uma vasta classe de antibióticos amplamente usados em todo o mundo são os nitrofuranos. Estes compostos são caracterizados por possuírem na sua estrutura um grupo 5-nitrofurano a que está ligado (pelo átomo de carbono-2) um grupo lateral através de uma ligação azometino.

Em 1944, Dodd e Stillman, mostraram que a adição do grupo nitro a um vasto número de derivados de furano substituídos aumentava as suas propriedades antimicrobianas. O seu trabalho demonstrou ainda que o efeito da adição do grupo nitro pode ser bacteriostático ou bactericida dependendo das concentrações do composto utilizado (Dodd, et al., 1944). Desde então muitos derivados de nitrofuranos foram sintetizados e usados em diversas áreas da medicina. Inicialmente estes compostos foram utilizados não só em medicina humana e veterinária, mas também como promotores de crescimento na criação de animais. Na realidade, durante um determinado período, alguns antibióticos de nitrofurano tiveram mesmo um enorme impacto ao nível dos distintos sectores da produção animal, como a criação de gado, peixe ou abelhas (Vass, et al., 2008). Contudo nos anos 70 e 80 vários estudos de genotoxicidade e carcinogenicidade suscitaram preocupações acerca do uso deste tipo de substâncias (McCalla, 1983; Wang, et al., 1975). Por esse motivo, em 1993, a UE banuiu o uso de Nitrofurantoína, Nitrofurazona e Furaltadona em medicina veterinária e mais tarde (em 1995) também o da Furazolidona. Passados alguns anos, em 2003, a proibição foi também estendida ao uso de Nifursol (Barbosa, et al., 2011). No entanto, apesar da estrita proibição imposta na EU e devido à sua eficácia, disponibilidade e baixo custo, os nitrofuranos são frequentemente usados ilegalmente nas explorações de animais como se pode constatar nos relatórios de Alerta Rápidos sobre riscos alimentares da Comissão Europeia (Vass, et al., 2008). Um estudo realizado em Portugal aponta também para a resistência da *Salmonella* à Nitrofurantoína como resultado do uso ilegal de nitrofuranos em explorações de gado (Antunes, et al., 2006).

Presentemente, os antibióticos de nitrofurano são usados essencialmente no tratamento de infeções gastrointestinais e urinárias e no tratamento de feridas superficiais tanto em humanos como em animais (Edhlund, et al., 2006). A Nitrofurantoína (NFT), Nitrofurazona (NFZ) e a Furazolidona (FZD) são alguns dos compostos derivados de nitrofurano mais utilizados devido às suas aplicações e largo espectro de acção.

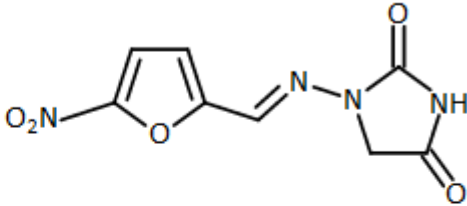
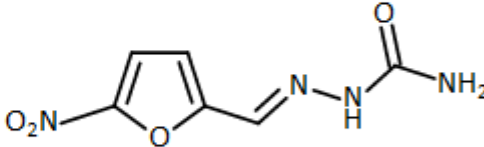
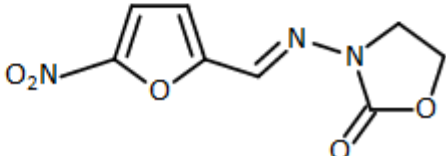
Composto	Estrutura
Nitrofurantoína (NFT)	
Nitrofurazona (NFZ)	
Furazolidona (FZD)	

Figura 1.1 – Estrutura dos antibióticos de nitrofurano mais utilizados.

Como todos os outros antibióticos usados o destino final deste tipo de substâncias é o meio aquático e, por isso, a avaliação do seu potencial adverso sobre o meio ambiente é de grande importância. Em particular, o conhecimento da sua degradação (química, fotoquímica e/ou biológica) em meio aquoso é útil na avaliação do impacto ambiental desse grupo de fármacos.

Em meio aquoso e por irradiação com luz ultravioleta, é sabido que os antibióticos de nitrofurano (com ligação azometino) sofrem isomerização syn-anti em relação à ligação azometino e que a foto-hidrólise de qualquer dos isômeros produz o 5-nitro-2-furfural (NFA) (Edhlund, et al., 2006). A hidrólise ácida dos antibióticos de nitrofurano (com ligação azometino) dá origem ao mesmo composto (Inotsume, et al., 1987).

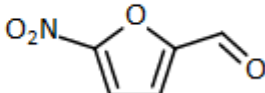
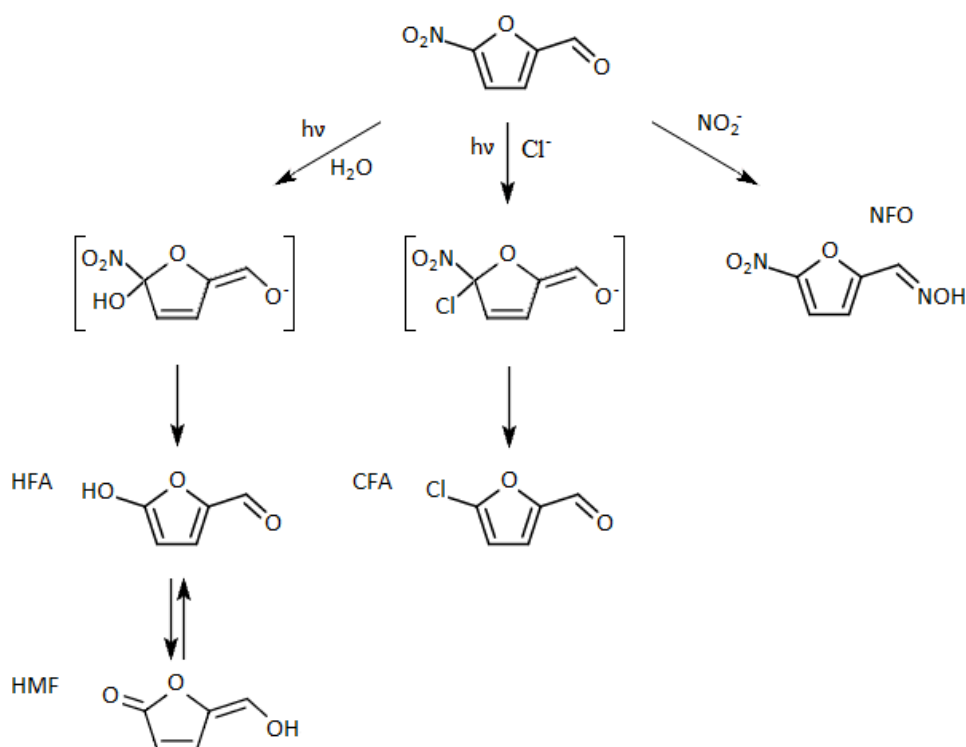
Composto	Estrutura
5-Nitro-2-Furaldeído (NFA)	

Figura 1.2 – Estrutura do 5-nitro-2-furaldeído.

O NFA é uma substância instável por irradiação com luz ultravioleta e a sua fotodegradação é tida como responsável pelos efeitos tóxicos, quer para os humanos como para o meio ambiente, associados ao uso de antibióticos derivados de nitrofuranos (Busker, et al., 1988; Edhlund, et al., 2006). Sabe-se que, por fotólise do NFA em meio aquoso forma-se ácido nitroso ( $\text{HNO}_2$ ) e 5-hidroxi metileno-2(5H)-furanona (HMF) (Busker, et al., 1987). Apesar da fototoxicidade do NFA se encontrar comprovada a origem desse efeito não se encontra bem definida. Num estudo sobre a fototoxicidade do NFA foi concluído que o fotoproduto maioritário (HMF) contribuiu para o efeito genotóxico observado (Busker, et al., 1987). Contudo, com base nos resultados da mesma investigação, os autores afirmam parecer

existir o contributo de uma substância desconhecida, também formada a partir da fotólise do NFA, para o efeito tóxico verificado. Outros estudos apontam a redução do grupo nitro (por nitro-reductases) como a origem da actividade antibacteriana dos nitrofuranos e a causa do seu efeito mutagénico e citotóxico (Bryant, et al., 1980; Rosenkranz, et al., 1976).

O estudo mais completo publicado sobre a fotoquímica do 5-nitro-2-furaldeído pertence a Ruud Busker e Beijersbergen van Henegouwen (Busker, et al., 1987). Nesse trabalho, os autores concentraram-se essencialmente na substituição nucleófila do grupo nitro. Para a realização dessa investigação efectuaram irradiações estacionárias de luz num reactor fotoquímico e analisaram os fotoprodutos obtidos. Para além dos fotoprodutos maioritários já mencionados, concluíram também que a irradiação do NFA em meio aquoso origina a formação de nifuroxima (NFO) e 5-cloro-2-furaldeído (CFA), quando a fotólise é realizada na presença de NaCl. Com base nesses resultados foi proposto que o mecanismo mais provável para a explicação da formação dos fotoprodutos observados seria a fotoadição de OH<sup>-</sup> e Cl<sup>-</sup> seguida da libertação de nitrito (Esquema 1.2).



Esquema 1.2 – Fotodegradação em meio aquoso do NFA (contendo 0.15 M de NaCl). Adaptado de Busker, et al., 1987.

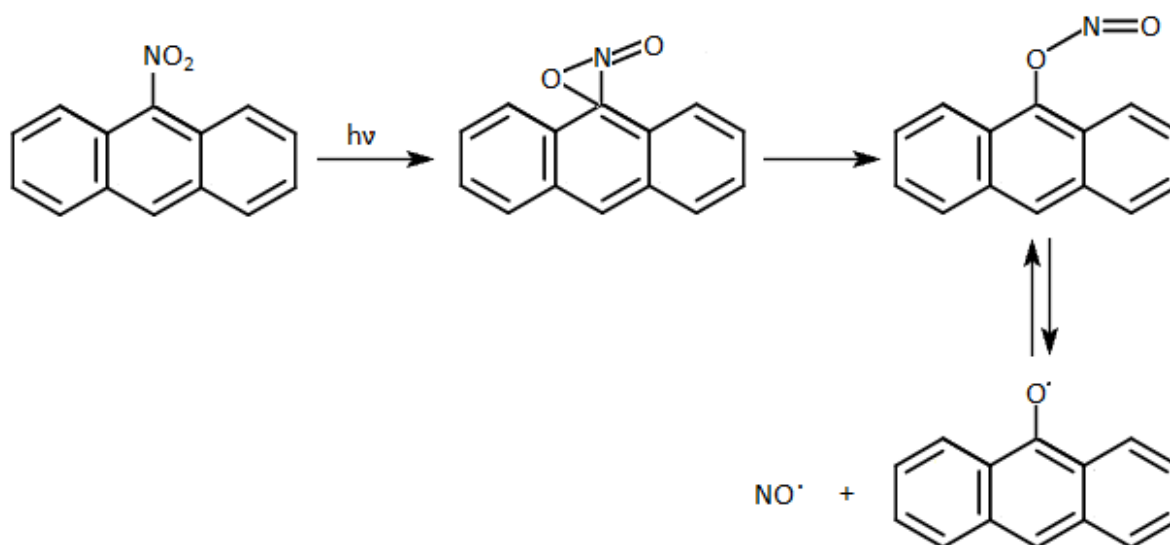
A formação de NFO deve-se à reacção térmica de ião nitrito com o grupo aldeído de NFA para formar a oxima correspondente (*cf.* Esquema 1.2).

## 1.5. Fotoquímica dos Derivados de Nitrofurano

Sabe-se que a absorção de luz por um grande número de nitrofuranos conduz à formação dessas substâncias no estado tripleto mais baixo (Kemp, et al., 1981) (Luzhkov, et al., 1979) (Kuz'min, et al., 1988). Por outro lado, os estudos da fotoquímica dos nitrofuranos baseados na análise de produtos estabeleceram a intermediação do estado tripleto, mais baixo, na formação desses fotoprodutos (Groen, et al., 1974). Por esse motivo, é provável que a formação dos primeiros fotoprodutos estáveis da fotólise deste tipo de compostos evolua a partir do decaimento do nitrofurano no estado tripleto formado logo após a irradiação de luz. Porém, e apesar do elevado número de investigações publicadas, não existe consenso em relação ao mecanismo inicial de fotodegradação dos compostos derivados de nitrofurano. Na literatura científica existem três mecanismos principais para explicar a fotoquímica de compostos nitro-heterocíclicos aromáticos. Os mecanismos de fotodegradação sugeridos consistem no foto-rearranjo nitro-nitrito, auto-supressão por transferência de electrão (Electron Transfer Self-Quenching) e fotodissociação heterolítica com libertação de nitrito, encontrando-se de seguida individualmente descritos.

### 1.5.1. Foto-Rearranjo Nitro-Nitrito

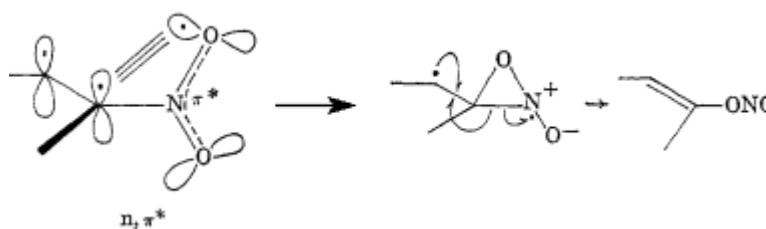
Em 1966 Chapman, et al., 1966 propuseram pela primeira vez o mecanismo de foto-rearranjo nitro-nitrito para explicar a fotólise de determinados compostos nitroaromáticos. Durante o seu trabalho, os autores procederam à irradiação estacionária do 9-nitroantraceno em acetona e posteriormente analisaram os fotoprodutos obtidos. A antraquinona, a 10,10'-diantrona e a antraquinona monoxima foram identificados. Com base nesses resultados e na tentativa de explicar o mecanismo de fotodecomposição envolvido, foi sugerida a formação de dois radicais (antroxilo e o óxido nítrico) a partir de um rearranjo intramolecular via anel de oxaziridina que colapsava dando origem ao arranjo nitrito e subsquente quebra da ligação O-N (Esquema 1.3).



Esquema 1.3 – Fotoquímica do 9-nitroantraceno. Adaptado de Chapman, et al., 1966.

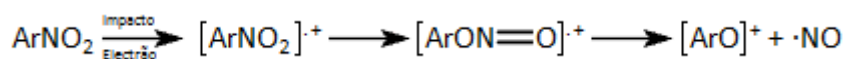


A formação do anel de oxaziridina foi presumida ser precedida de um estado excitado (provavelmente tripleto) com natureza ( $n,\pi^*$ ) do nitroantraceno em que a orbital não ligante do grupo nitro (quase só a orbital atômica p do oxigênio), apenas com um electrão, se sobrepõe à orbital adjacente do anel aromático (Esquema 1.4).



Esquema 1.4 – Fotorrearranjo Nitro-Nitrito. Adaptado de Chapman, et al., 1966.

Para fortalecer a sua hipótese, os autores fizeram uma analogia entre os resultados obtidos na fotólise do 9-nitroantraceno e o seu espectro de massa. Para voltagens de ionização mais baixas o espectro de massa do 9-nitroantraceno exibe um pico principal a  $M - 30$ , resultado da perda do NO que, em nitroaromáticos, é considerado ser uma consequência do rearranjo do radical catião nitroarilo em radical catião nitrito arilo (Esquema 1.5).



Esquema 1.5 - Rearranjo do catião radical nitroarilo. Adaptado de Chapman, et al., 1966.

Este resultado indicia que a ionização de energia mais baixa do 9-nitroantraceno provavelmente evolui a partir da perda de um electrão não ligante do grupo nitro, dando origem a uma espécie idêntica à formada na absorção de luz mas sem electrão na orbital  $\pi^*$ . Com base nesta observação, foi estabelecido que o rearranjo ocorrido no espectrómetro de massa seria idêntico ao que acontece na fotoisomerização.

No mesmo trabalho os autores correlacionaram ainda a probabilidade da fotoreactividade dos nitroaromáticos estar associada ao arranjo espacial do grupo nitro em relação à parte aromática da molécula. Assim, foi estabelecido que a probabilidade da fotólise desencadear o mecanismo anteriormente sugerido será maior quanto mais afastado do plano da parte aromática da molécula se encontrar o grupo nitro.

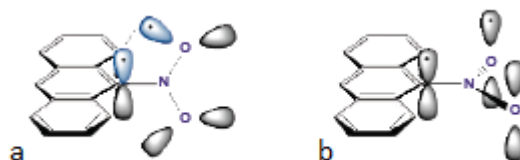
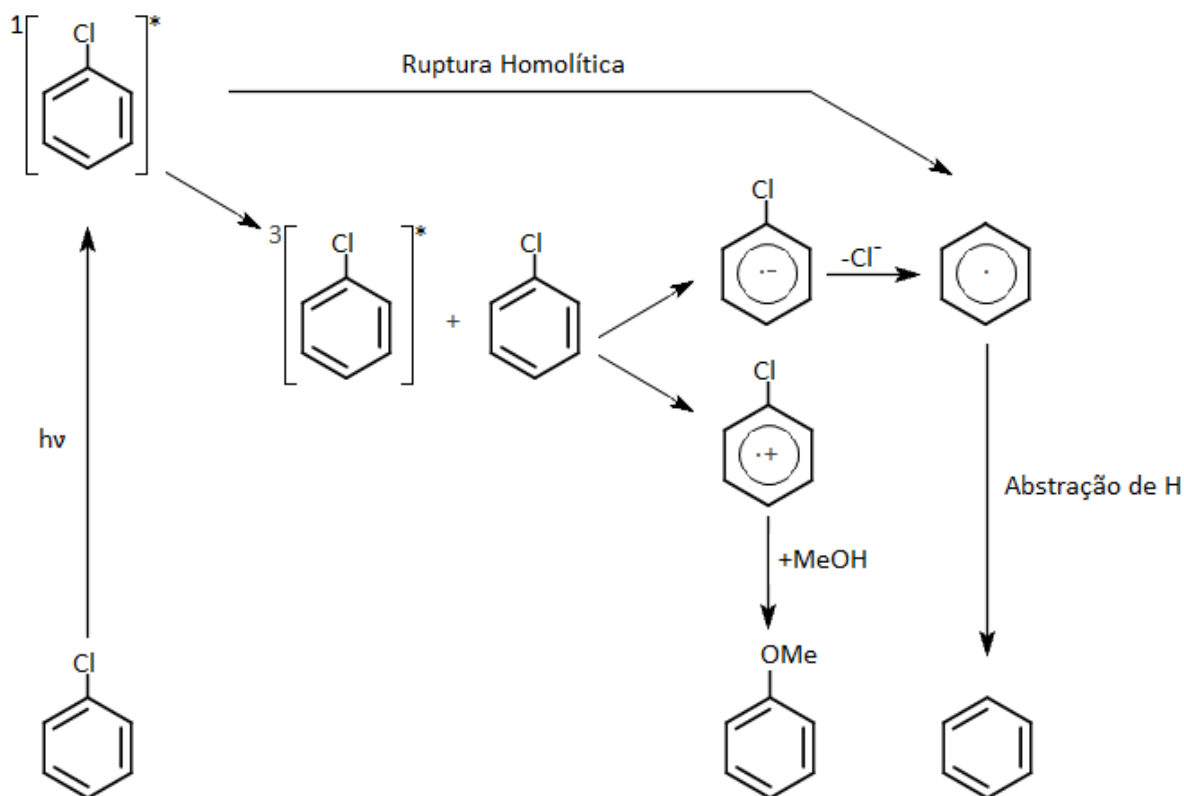


Figura 1.3 – a) 9-nitroantraceno com grupo nitro fora do plano do anel aromático; b) 9-nitroantraceno com grupo nitro no mesmo plano do anel aromático. Adaptado de Crespo-Hernández, et al., 2013.

### 1.5.2. Auto-Supressão por Transferência de Electrão

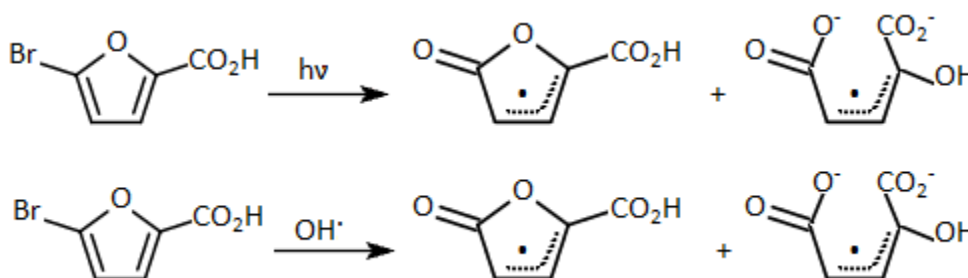
Apesar da menor aceitação por parte da comunidade científica, o mecanismo de auto-supressão por transferência de electrão é uma das hipóteses existentes para a explicação da fotodegradação de nitroaromáticos. Este mecanismo consiste na transferência de um electrão da molécula excitada, no estado tripleto, para uma molécula da mesma espécie no estado fundamental intermediada pela formação de um excímero.

Os belgas Jean Ph. Soumillion e Benoit De Wolf foram os primeiros a propor este tipo de mecanismo em 1981 (Soumillion, et al., 1981). No seu trabalho, os autores estudaram a foto-redução de clorobenzeno e cloroanisóis em metanol, solvente que pode ser dador de átomos de hidrogénio e/ou actuar como nucleófilo. Os seus resultados mostraram que a foto-redução é o principal mecanismo da fotólise directa dos compostos aromáticos substituídos estudados, mas que a proporção dos fotoprodutos formados (i.e. quantidade de produto de foto-redução vs foto-substituição) se altera significativamente se a fotólise for realizada na presença de um sensibilizador (acetona). Nessas condições verificou-se um aumento da quantidade de produto de foto-substituição formado conduzindo à conclusão de que o primeiro estado singlete excitado também contribuiria para a formação do produto de redução. Esta evidência levantou uma questão uma vez que, devido à baixa energia do estado tripleto, não seria de esperar que a ligação C-Cl se quebrasse homoliticamente para dar origem ao produto de redução. Com base nesses resultados os autores decidiram propor um mecanismo que explicasse a formação tanto de produtos de redução como de substituição a partir do estado tripleto mais baixo. Para isso sugeriram a formação de um par de iões radicais por via de um excímero composto por uma molécula excitada no estado tripleto e uma molécula no estado fundamental em que existiria a transferência de um electrão da molécula excitada para a molécula no estado fundamental. Desta forma, o precursor do produto de redução a partir do estado tripleto seria o anião radical, evitando a necessidade de energia para a ruptura da ligação C-Cl. Por outro lado, o catião radical formado explicaria a formação do produto de substituição. (Esquema 1.6).



Esquema 1.6 – Fotoquímica do clorobenzeno. Adaptado de Soumillion, et al., 1981.

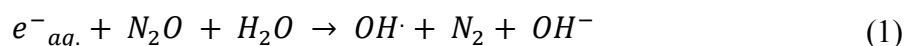
Poucos anos mais tarde, em 1985, P. Maruthamuthu e S. Steenken deram força à hipótese dos cientistas belgas com a investigação da fotólise *in situ* do Ácido 5-Bromo e 5-Nitro-2-Furóico por Ressonância de Spin Electrónico (ESR.) (Maruthamuthu, et al., 1985). Na fotólise do Ácido 5-Bromo-2-Furóico foram identificados dois radicais iguais aos gerados por radiólise de pulso na desnitrificação oxidativa do mesmo composto por reacção com radicais hidroxilo (OH·) (Esquema 1.7) (Greenstock, et al., 1973), levando os autores a concluir que o primeiro passo da fotólise seria a formação de um catião radical por fotoionização ou transferência intermolecular de electrão (Esquema 1.7).



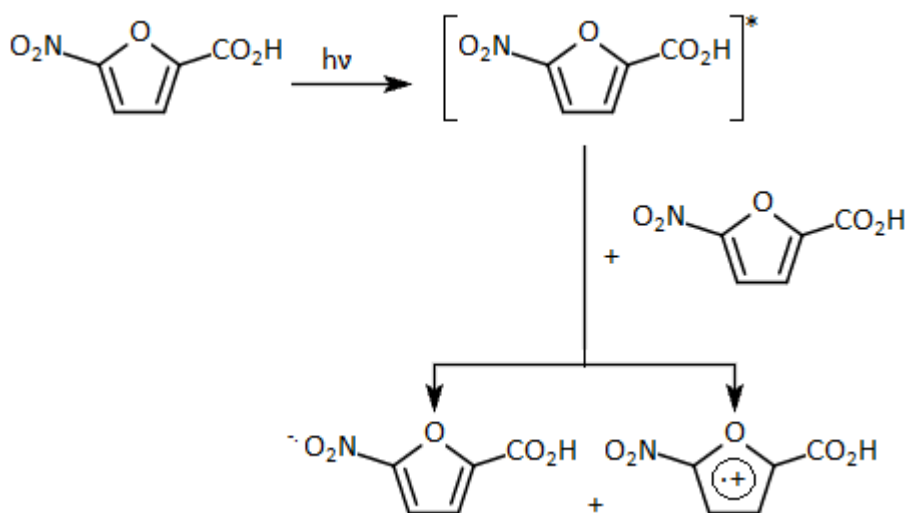
Esquema 1.7 – Produtos da reacção com luz e com radical hidroxilo do ácido 5-bromo-2-furóico.

Contudo, após a realização da fotólise na presença de óxido nitroso ( $N_2O$ ), os autores sugeriram que a formação do catião radical teria origem numa transferência intermolecular de electrão uma vez que a intensidade do sinal dos radicais não se alterou. Se a formação do catião radical se desse via fotoionização, o electrão libertado na presença de  $N_2O$  em solução daria origem à formação de radical hidroxilo (eq. 1) que, por sua vez, iria reagir com

moléculas do ácido 5-bromo-2-furóico e dar origem a uma maior concentração dos radicais detectados.



Na fotólise do ácido 5-nitro-2-furóico foram observados dois radicais, um idêntico a um dos radicais observados na fotólise do ácido 5-bromo-2-furóico e outro identificado como sendo o anião radical. De forma análoga à fotólise do ácido 5-bromo-2-furóico, a presença de  $N_2O$  em solução durante a irradiação de luz não alterou a intensidade o sinal de nenhum dos radicais formados. A fotólise do ácido 5-nitro-2-furóico foi também realizada na presença de isopropanol, verificando-se a diminuição do sinal correspondente ao radical catião e o aumento do radical anião. Estes resultados levaram os autores a concluir que o mecanismo de fotólise do ácido 5-nitro-2-furóico ocorrerá através da transferência intermolecular de electrão de uma molécula excitada para uma molécula no estado fundamental (Esquema 1.8).

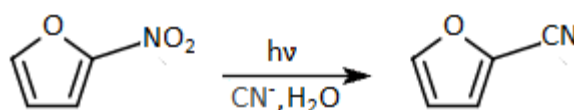


Esquema 1.8 – Mecanismo de auto-supressão por transferência de electrão do ácido 5-nitro-2-furóico. Adaptado de Maruthamuthu, et al., 1985.

### 1.5.3. Fotodissociação Heterolítica com Libertação de Nitrito

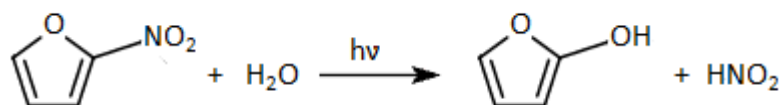
Outro mecanismo proposto para a explicação da fotoquímica de determinados compostos nitro-heterocíclicos foi sugerido por Groen e Havinga e consiste na fotodissociação heterolítica, com libertação de nitrito, da molécula excitada (supostamente, para um estado tripleto dissociativo ou para o estado tripleto ligado mais baixo acima do limite de dissociação) (Groen, et al., 1974). No seu trabalho, os cientistas investigaram a fotoreactividade de vários compostos nitro-heterocíclicos de 5 membros, entre os quais o 2-nitrofurano, e concluíram que em alguns dos compostos estudados se observava a substituição nucleofílica do grupo nitro.

Quando irradiado em solução aquosa na presença de cianeto de potássio (KCN), o 2-nitrofurano é transformado no nitrilo correspondente numa conversão de elevado rendimento.



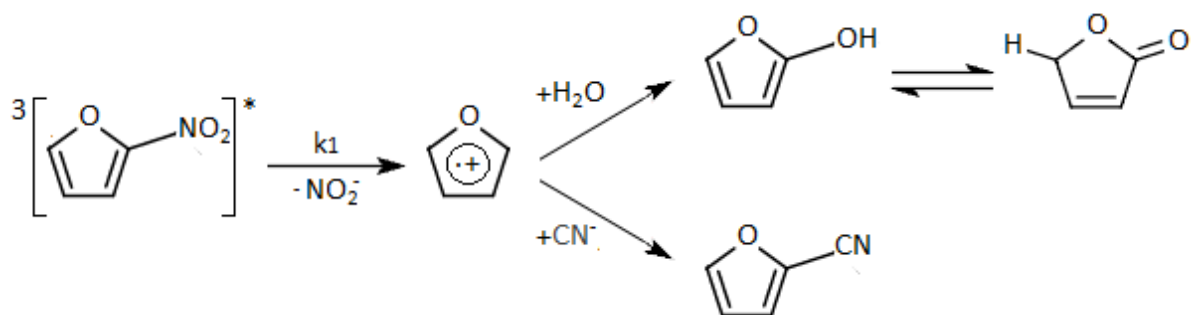
Esquema 1.9 – Fototransformação do 2-nitrofurano em meio aquoso na presença de KCN no composto nitrilo correspondente (2-furanonitrilo). Adaptado de Groen, et al., 1974.

Contudo, embora o rendimento de formação do 2-furanonitrilo aumente com o aumento da concentração de KCN presente na solução durante a irradiação de luz, verifica-se também que a destruição do 2-nitrofurano é independente dessa mesma concentração de KCN. Este resultado levou à conclusão que a água actua como nucleófilo competindo com o ião cianeto. Para comprovarem a sua hipótese, os autores realizaram a fotólise apenas em meio aquoso e observaram a formação de nitrito, bem como a presença da 2-furanona, o tautómero do 2-hidroxifurano.



Esquema 1.10 – Fototransformação em meio aquoso do 2-nitrofurano em 2-hidroxifurano e ácido nitroso. Adaptado de Groen, et al., 1974.

Quando a irradiação de luz é executada na presença de acetona ( $5 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$ ) a velocidade de reacção observada aumenta 4 vezes tanto para o desaparecimento do reagente inicial como para a formação do produto final. Adicionalmente, verifica-se também que o processo de fotodegradação é suprimido na presença de sorbato de sódio e brometo de potássio. Perante estas evidências os autores concluíram que a reacção de substituição nucleofílica observada ocorre, essencialmente, por via do estado tripleto formado. Para explicar a reacção observada por via do tripleto, Groen e Havinga propuseram um mecanismo de fotodissociação heterolítica com libertação de nitrito da molécula excitada, dando origem a um catião aromático que precede a ligação do nucleófilo (Esquema 1.11).



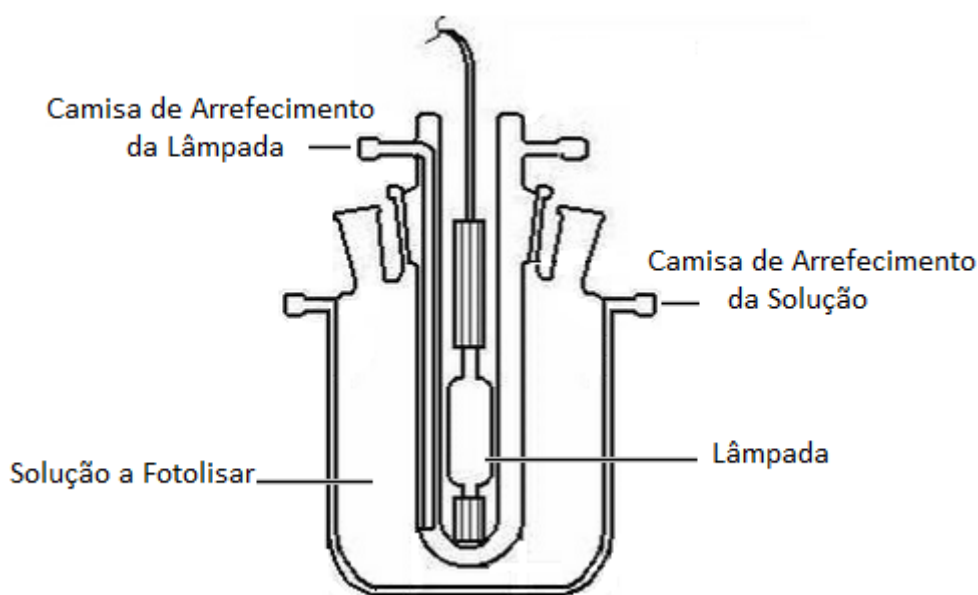
Esquema 1.11 – Fotodissociação heterolítica com liberação de nitrito de um estado tripleto do 2-nitrofurano dando origem ao catião furano e conseqüente formação do 2-furanonitrilo e 2-hidroxifurano (e tautômero 2(5H)-furanona). Adaptado de Groen, et al., 1974.

## 1.6. Estudos de Fotoquímica

As reacções fotoquímicas são bastante importantes nas diversas áreas da Química e por isso o seu estudo é de enorme relevância. Os estudos de fotoquímica são realizados através da irradiação de luz na molécula que se pretende fotolisar e posterior análise do processo de fotodecomposição. A incidência de luz na molécula pode ser efectuada por irradiação contínua de um feixe de luz – Irradiação Estacionária, ou por excitação da molécula através de impulsos de luz – Laser Flash Photolysis.

### 1.6.1. Irradiação Estacionária

A análise do processo de fotodecomposição de uma molécula por irradiação estacionária consiste na incidência de luz através de uma fonte luminosa contínua durante um determinado período de tempo que pode ir de alguns segundos até horas. Este procedimento é usualmente efectuado num reactor fotoquímico. Os reactores tipicamente utilizados são de forma tubular e possuem dois compartimentos, um interior onde se encontra uma lâmpada (fonte de luz) e outro exterior onde se coloca a solução que se pretende fotolisar. Tanto o compartimento da lâmpada como o da solução têm camisas de arrefecimento de forma a que a temperatura da solução a fotolisar permaneça constante durante o processo de irradiação, evitando-se assim o desenvolvimento paralelo de reacções térmicas.



Esquema 1.12 – Estrutura de um Reactor Fotoquímico.

Após a irradiação no reactor a solução fotolisada é recolhida e analisada. Com base na identificação, quantificação e caracterização dos fotoprodutos torna-se possível propor o mecanismo de fotólise da substância em estudo.

O estudo de reacções fotoquímicas por irradiação estacionária possui algumas desvantagens uma vez que não é possível caracterizar as primeiras espécies transientes formadas durante o processo de fotodecomposição. As lâmpadas utilizadas, geralmente de vapor de mercúrio ou sódio, têm um vasto espectro de luz pelo que a irradiação da amostra com um comprimento de onda de luz puro é uma impossibilidade. Contudo, este sistema tem

também vantagens pois a sua utilização permite a fotólise de maiores volumes de solução, sendo ideal para a obtenção de maiores quantidades dos fotoprodutos estáveis formados.

### **1.6.2. Laser Flash Photolysis**

A técnica de Laser Flash Photolysis é geralmente utilizada para se estudar reacções fotoquímicas muito rápidas. Esta técnica deriva da Flash Photolysis inicialmente desenvolvida em 1946 na Universidade de Cambridge por Ronald Norrish e George Porter, mais tarde galardoados com o Prémio Nobel da Química (1967). Nesta altura há muito que era conhecido que a luz podia iniciar reacções, contudo as técnicas existentes para acompanhar reacções fotoquímicas eram extremamente limitadas. Nesse sentido e baseado na sua experiência em electrónica, Porter concebeu a ideia de usar impulsos de luz para formar radicais livres e seguir as respectivas reacções espectrometricamente (Van Houten, 2002; Thrush, 2003). Inicialmente, apenas era possível estudar reacções de velocidade moderada uma vez que as lâmpadas flash utilizadas (lâmpadas de arco de Xenon) possuíam largura de impulso na ordem dos microsegundos, ocultando assim o início do processo de reacções mais rápidas. Contudo, o desenvolvimento da tecnologia de laser com impulsos bastantes mais curtos veio permitir o estudo de reacções que podem ir dos femtossegundos aos nanosegundos - Laser Flash Photolysis. George Porter para além de ter sido um dos criadores da Flash Photolysis foi também o maior impulsionador do desenvolvimento da técnica na área da fotoquímica, criando mais tarde uma empresa de espectrómetros de laser flash photolysis que ainda hoje é uma das maiores e mais reconhecidas do sector, a Applied Photophysics.

Na prática a técnica de Laser Flash Photolysis consiste na obtenção de um curto impulso de luz de comprimento de onda conhecido que é usado para interagir com uma amostra colocada no caminho óptico do espectrómetro. O resultado da interacção da luz com a amostra dá origem ao início do processo fotoquímico. As mudanças de sinal registadas no detector, após a irradiação de impulsos de luz, podem ser resultado da formação de espécies no estado tripleto, produção de radicais por clivagem da molécula, rearranjos moleculares, entre outros. A detecção das espécies formadas é usualmente realizada por detecção UV/VIS. Para cada impulso de luz irradiado a detecção é feita para apenas um comprimento de onda de luz uma vez que não é possível variar a posição da fenda do monocromador para cada ponto no tempo. Por este motivo, é necessário efectuar várias repetições do processo de irradiação variando o comprimento de onda de detecção, tornando assim possível a construção de espectros resolvidos no tempo das primeiras espécies transientes fotoquimicamente formadas. Este processo permite a observação de espécies intermédias e radicais de curto tempo de vida formados nos primeiros passos do processo fotoquímico.



## 1.7. Objectivo

No presente trabalho pretende-se estudar e clarificar o mecanismo de fotólise do 5-nitro-2-furaldeído (NFA) em meio aquoso. A escolha do composto deve-se ao facto de este ser o produto maioritário da decomposição de um vasto número de antibióticos de nitrofuranos comumente utilizados tanto na medicina humana como veterinária. Este composto é considerado fototóxico e encontra-se associado aos efeitos adversos que podem resultar do uso de antibióticos deste tipo. Adicionalmente, o seu mecanismo de fotólise não se encontra bem definido na literatura científica. A fotoquímica do 5-nitro-2-furaldeído pode igualmente ajudar a explicar o mecanismo de fotólise de um vasto número de compostos nitrofuranos. A fotólise em meio aquoso tem como objectivo reproduzir as condições em que a substância é fotodegradada naturalmente por acção de luz solar no meio ambiente.

A investigação foi realizada com recurso à técnica de Laser Flash Photolysis e por irradiação estacionária de soluções num reactor fotoquímico. Durante a execução experimental do trabalho foram também utilizadas várias técnicas analíticas instrumentais para a purificação e identificação dos fotoprodutos maioritários da fotólise (Cromatografia Líquida de Alta Pressão (HPLC) Analítica e Semipreparativa, Espectrometria de Absorção UV-VIS, Espectrometria de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) e Espectrometria de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)).



## 2. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

### 2.1. Laser Flash Photolysis

Durante a execução experimental deste trabalho procedeu-se à fotólise directa de pequenos volumes (cerca de 3 cm<sup>3</sup>) de solução aquosa de NFA (Sigma-Aldrich, 99%), 5BrFA (Sigma-Aldrich, 97%) / NaOH (Merck, ≥95%) e solução de NFA em propan-2-ol (Chem-Lab, ≥99,8%). As irradiações realizaram-se por incidência de impulsos de luz de 355 nm do terceiro harmónico do laser Nd-YAG (Quantel, Brilliant b) do sistema de laser flash photolysis (Applied Photophysics, LKS.60). Todas as amostras foram irradiadas numa couvette de quartzo de 1x1 cm. Antes de serem irradiadas as soluções foram previamente deaeradas por passagem de uma corrente gasosa de He durante cerca de 20 minutos (excepto indicação contrária na apresentação dos resultados). Após a irradiação de impulsos de luz, mediram-se os espectros de absorção das espécies transientes formadas a tempos diferentes após o fim do impulso do laser. Posteriormente mediram-se várias constantes de velocidade de decaimento e/ou formação das espécies transientes observadas.



Figura 2.1 – Sistema de Laser Flash Photolysis utilizado para a realização das experiências.

Foram também realizadas irradiações de soluções de NFA em diferentes solventes e na presença de vários substratos como os indicados na Tabela 2.1.

Tabela 2.1 - Solventes e substratos utilizados na preparação das soluções de NFA folotizadas no sistema de Laser Flash Photolysis.

Solvente	Marca	Substrato	Marca
metanol	Romil – Sps, 99,9%	NaBr	Sigma-Aldrich ≥99,99%
acetonitrilo	Romil – Sps, 99,9%	NaCl	Sigma-Aldrich ≥99,0%
etanol	Romil – Sps, 99,8%	ferroceno	Sigma-Aldrich, 98%
acetona	Labscan – HPLC, 99,8%	1-aminonaftaleno	Sigma-Aldrich ≥99,0%
1,4-dioxano	Romil – Sps, 99,9%	4-nitroanilina	Sigma-Aldrich ≥99%
		N-metil-4-nitroanilina	Sigma-Aldrich, 97%
		1-naftaldeído	Sigma-Aldrich, 95%
		2'-aminoacetofenona	Sigma-Aldrich, 98%
		1-fenilnaftaleno	Sigma-Aldrich, 96%
		p-terfenilo	Sigma-Aldrich ≥99,5%
		criseno	Sigma-Aldrich, 98%

## 2.2. Análise Quantitativa

Após a irradiação por impulsos do laser, efectuou-se a análise quantitativa dos fotoprodutos das soluções fotolisadas por HPLC analítico e a determinação espectrofotométrica de  $\text{HNO}_2$  libertado durante o processo de fotólise. No caso particular da fotólise da solução aquosa de BrFA/NaOH, neutralizou-se a solução com ácido clorídrico 1 M (HCl) (Fisher Scientific, 37% (p/p)) imediatamente antes da análise por cromatografia analítica de HPLC. No que diz respeito à análise de produtos da fotólise da solução de NFA em propan-2-ol, evaporou-se o solvente num banho quente (cerca de  $60^\circ\text{C}$ ) e redissolveu-se o resíduo obtido no mesmo volume de água desionizada, de forma a possibilitar a separação cromatográfica e detecção dos fotoprodutos formados.

Posteriormente à primeira análise no sistema de HPLC analítico das soluções aquosas de NFA e BrFA/NaOH fotolisadas, adicionaram-se 2 gotas de anidrido acético puro (Riedel-de Haën,  $\geq 99\%$ ) com pipeta de Pasteur (Sigma Aldrich, tamanho 9'') com o objectivo de acetilar um dos fotoprodutos. Após um curto período de agitação e repouso, efectuou-se uma nova análise por cromatografia analítica de HPLC e registaram-se os resultados obtidos.

### 2.2.1. Cromatografia Analítica de HPLC

A análise quantitativa por cromatografia analítica de HPLC dos produtos da fotólise realizou-se num sistema de HPLC Shimadzu LC-10AD vp equipado com forno Shimadzu CTO-20A, degaseificador Shimadzu DGU-14A, coluna Tracer Excel 120 ODSA  $5\ \mu\text{m}$   $15 \times 0,4$  (Teknokroma) e detector UV/VIS Shimadzu SPD-10AV vp (Figura 2.2). O sistema operou a uma temperatura de  $40^\circ\text{C}$ , caudal de  $0,6\ \text{cm}^3/\text{min}$  e composição de fase móvel de 75% de água desionizada e ultrapurificada, 25 % metanol (ROMIL – Gradient Quality, 99,9 %) e 0.25% ácido acético (J. T. Baker, 99-100% glacial). A detecção dos componentes realizou-se com luz de comprimento de onda 280 nm.



Figura 2.2 – Sistema de HPLC analítico utilizado na análise quantitativa dos fotoprodutos maioritários das soluções fotolisadas.

### 2.2.2. Determinação Espectrofotométrica de Nitrito

A determinação da concentração de  $\text{HNO}_2$  realizou-se através de um método de detecção directa de cor por espectrofotometria de UV/VIS (UV-2501PC/Shimadzu). O procedimento executado consistiu na adição de  $2 \text{ cm}^3$  de amostra a  $8 \text{ cm}^3$  de uma solução de reagente de cor com composição de 1% (V/V) de ácido clorídrico, 0.5% (P/V) de sulfanilamida (Sigma-Aldrich,  $\geq 99\%$ ) e 0.002% (P/V) de dicloridrato de N-(1-naftil)etilenodiamina (Sigma-Aldrich, 97%). Após agitação e repouso de cerca de 10 minutos foi obtido o espectro de absorção de 400 a 700 nm e registou-se o máximo de absorção da banda. Previamente construiu-se a curva de calibração do método através da adição de  $2 \text{ cm}^3$  de uma solução de  $\text{NaNO}_2$  (Merck,  $\geq 99\%$ ) de concentração conhecida a 8 mL da solução do reagente de cor conforme descrito em Anexos (6.1). Este procedimento foi realizado de acordo com Saltzman, 1954.

## 2.3. Irradiação Estacionária

Após a análise quantitativa primária dos produtos resultantes da fotólise no laser das soluções previamente descritas, efectuaram-se irradiações de luz a maiores volumes de solução com o objectivo de sintetizar, separar e posteriormente identificar os fotoprodutos maioritários.

### 2.3.1. Irradiação Estacionária no Reactor Fotoquímico

Foram realizadas irradiações de luz de comprimento de onda superior a 290 nm a volumes de  $0.75 \text{ dm}^3$  de solução num reactor fotoquímico (Ace Glass) durante cerca de 30 minutos (5 minutos correspondentes ao aquecimento da lâmpada e 25 minutos de irradiação máxima). O reactor fotoquímico era composto por um reactor tubular em pirex com duas camisas de arrefecimento (uma para a lâmpada e outra para a solução), uma fonte energia, uma lâmpada de alta pressão de Hg 450 W (maioritariamente luz de 366 e 313 nm), um sistema de refrigeração da lâmpada e uma válvula de cut off (12160Water-Flo Power Cut-off, 15 amps) que desliga todo o sistema no caso da refrigeração da lâmpada falhar (Figura 2.3). As soluções a fotolisar foram introduzidas na camisa de arrefecimento do reactor de forma a filtrar a luz incidente.



Figura 2.3 – 1) Fonte de energia do reactor fotoquímico; 2) Sistema de arrefecimento da lâmpada e válvula cutoff do sistema; 3) Reactor fotoquímico.

#### 2.3.1.1. Solução aquosa de NFA

Efectuaram-se irradiações estacionárias de luz no reactor fotoquímico a soluções aquosas de NFA ( $C_{\text{média}} = 7,8 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) durante 30 minutos.



Figura 2.4 – 1) Solução aquosa de NFA antes da irradiação de luz; 2) Solução aquosa de NFA após fotólise.

Concluída a irradiação, a solução fotolisada foi recolhida e adicionaram-se de imediato  $0.01 \text{ dm}^3$  de anidrido acético puro enquanto se agitava simultaneamente (com o objectivo de acetilar um dos fotoprodutos tornando-o mais apolar e estável). De seguida foi efectuada uma sequência de extracções com clorofórmio ( $\text{CHCl}_3$ ) (Fischer Scientific - Analytical reagent grade, 99,9%) e acetato de etilo (Fischer Scientific - Analytical reagent grade, 99,9%). A primeira extracção com  $\text{CHCl}_3$  garantiu a remoção do fotoproduto acetilado ao passo que a posterior, com acetato de etilo, teve como finalidade a extracção do outro fotoproduto maioritário com características polares. Na extracção com clorofórmio utilizaram-se  $0.40 \text{ dm}^3$  de  $\text{CHCl}_3$  por cada  $0.05 \text{ dm}^3$  de solução NFA fotolisada. Na extracção com acetato de etilo a

razão de volumes de solução/solvente extractor foi de 1:1. A escolha dos volumes de solvente extractor a utilizar por volume de solução NFA fotolisada teve como critério a facilidade de separação de fases após a extracção.

As soluções de clorofórmio e acetato de etilo obtidas após as respectivas extracções foram concentradas por evaporação de solvente (até à secura) num evaporador rotativo (461 Water Bath/Büchi) sob vácuo e os resíduos obtidos redissolvidos no mínimo volume possível de fase móvel. De seguida injectaram-se as soluções concentradas resultantes num sistema de HPLC com coluna semipreparativa e as fracções dos fotoprodutos de interesse foram separadas e recolhidas individualmente. Por fim extraiu-se o fotoproducto acetilado purificado com clorofórmio para este manter a estabilidade evitando o processo de hidrólise e armazenou-se no congelador para análise. As fracções recolhidas referentes ao fotoproducto proveniente da extracção com acetato de etilo foram igualmente armazenadas no congelador em fase móvel.

### **2.3.1.2. Solução NFA em propan-2-ol**

Para a síntese e separação dos fotoprodutos da solução de NFA em propan-2-ol efectuou-se um procedimento semelhante ao anteriormente descrito. Para o efeito irradiaram-se volumes de  $0.75 \text{ dm}^3$  de solução de NFA ( $C_{\text{média}} = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^3$ ) em propan-2-ol durante o mesmo intervalo de tempo no reactor fotoquímico. Após a fotólise efectuou-se a evaporação do isopropanol no evaporador rotativo sob vácuo e o resíduo obtido foi redissolvido no mínimo volume possível de fase móvel. De igual forma a solução concentrada foi injectada no sistema semipreparativo e as fracções de interesse recolhidas em fase móvel e armazenadas no congelador.

### **2.3.2. Irradiação Estacionária com lâmpada de Xenon**

Realizaram-se irradiações de luz durante cerca de 1 hora com lâmpada de Xenon de 150 W (espectro total da lâmpada filtrado abaixo de 290 nm) a porções de  $0.017 \text{ dm}^3$  de solução aquosa de BrFA/NaOH ( $5,48 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^3$  de BrFA e  $9,05 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^3$  de NaOH) até se obter um volume final de solução fotolisada de cerca de  $0.05 \text{ dm}^3$ . As irradiações de luz foram efectuadas na cavidade do espectrómetro de laser flash photolysis. Após fotólise neutralizou-se a solução para pH=5 com uma solução aquosa de HCl 1M e adicionaram-se 20 gotas de anidrido acético aos  $0.05 \text{ dm}^3$  de solução fotolisada agitando-se simultaneamente. De seguida extraiu-se o fotoproducto acetilado com clorofórmio ( $0.40 \text{ dm}^3$ ) numa ampola de decantação de  $0.50 \text{ dm}^3$ . A solução de clorofórmio obtida foi então concentrada por evaporação do solvente no evaporador rotativo sob vácuo e o resíduo recolhido redissolvido no mínimo volume possível de fase móvel. Por fim injectou-se a solução resultante no sistema de HPLC semipreparativo e recolheu-se a fracção de interesse. O fotoproducto acetilado purificado recolhido foi novamente extraído com clorofórmio e armazenado no congelador.

### **2.3.3. Cromatografia Semipreparativa de HPLC**

Todas as fracções de fotoprodutos recolhidas foram separadas num sistema de HPLC Shimadzu LC-9A equipado com forno Jones Chromatography Model 7981, coluna

semipreparativa Tracel Excel 120 ODSA 5  $\mu\text{m}$  25\*1,0 (Teknokroma) e detector UV/VIS Shimadzu SPD-10AV. O sistema operou a uma temperatura de 40°C, caudal de 3  $\text{cm}^3/\text{min}$  e composição de fase móvel igual à indicada para o sistema de HPLC analítico (2.2.1). A detecção dos componentes realizou-se com luz de comprimento de onda 280 nm.

## 2.4. Redução Química do NFA

Para além da fotólise do NFA, tanto no espectrómetro de laser flash photolysis como no reactor fotoquímico, efectuou-se a redução química do mesmo composto. A redução do NFA foi realizada de duas formas distintas, com hidrogénio gasoso e com ferro metálico. Em ambos os casos os produtos obtidos foram separados no sistema de HPLC semipreparativo segundo as condições descritas em 2.3.3.

### 2.4.1. Redução por Hidrogenação

Prepararam-se soluções de 0.025  $\text{dm}^3$  de NFA ( $C_{\text{média}} = 7,19 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) em etanol na presença de 5%Pd/C (%paládio/%carbono). Depois de preparadas, as soluções foram sujeitas à passagem de uma corrente gasosa de  $\text{H}_2$  (caudal  $\approx 1 \text{ dm}^3/\text{min}$ ) durante cerca de 2 minutos. Após a passagem da corrente de  $\text{H}_2$  as soluções foram filtradas com o auxílio de uma seringa e filtros de membranas de porosidade 0,22  $\mu\text{m}$  (OlimPeak). Depois de filtradas as soluções, o solvente (etanol) foi evaporado até à secura no evaporador rotativo sob vácuo e o resíduo obtido redissolvido no mínimo volume possível de fase móvel. O produto maioritário da redução do NFA com  $\text{H}_2$  foi então separado e purificado no sistema de HPLC semipreparativo e as fracções recolhidas guardadas no congelador para posterior análise.

### 2.4.2. Redução com Ferro Metálico

Foram preparadas soluções de 0.25  $\text{dm}^3$  de NFA ( $C_{\text{média}} = 1.73 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) às quais foi adicionado cerca de 1 gr de ferro metálico (Merck, 98%). As soluções foram rolhadas para evitar a entrada de ar e deixadas em repouso à temperatura ambiente cerca de 24 horas. Após esse período de tempo as soluções foram filtradas com filtros de membranas de porosidade 0,22  $\mu\text{m}$ . De seguida as soluções filtradas sofreram um processo de extracção com clorofórmio na proporção de 0.40  $\text{dm}^3$  de  $\text{CHCl}_3$  para 0.05  $\text{dm}^3$  de solução. A fase de clorofórmio da extracção foi evaporada até à secura por evaporação do solvente no evaporador rotativo sob vácuo. Os produtos maioritários da redução do NFA com ferro foram separados e purificados no sistema de HPLC semipreparativo e as fracções recolhidas armazenadas no congelador para análise.

## 2.5. Caracterização e Identificação

Os fotoprodutos e os produtos da redução do NFA previamente separados e purificados no sistema de HPLC semipreparativo foram caracterizados pelas seguintes técnicas de análise química instrumental:

### 2.5.1. Espectrofotometria UV/VIS

As soluções dos produtos de NFA purificados e recolhidos em fase móvel foram caracterizadas num espectrofotómetro UV/VIS (Shimadzu UV-2501pc). Desta forma



registrou-se o espectro na região espectral compreendida entre 200 e 500 nm de todos os produtos recolhidos.

### **2.5.2. Espectrometria de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)**

Os produtos de fotólise e redução de NFA recolhidos foram analisados num espectrômetro FTIR (Avatar 360/Nicolet) por Refletância Total Atenuada (ATR) e/ou com pastilha de brometo de potássio (KBr) na região espectral compreendida entre os números de onda 4000 e 500  $\text{cm}^{-1}$ .

### **2.5.3. Espectrometria de Ressonância Magnética Nuclear de Protões (H-RMN)**

As fracções recolhidas armazenadas no congelador foram posteriormente sujeitas a análise num espectrómetro de RMN de protões (Bruker Avance III 400 MHz) no Laboratório de RMN do Departamento de Química da Universidade de Coimbra. As amostras de fotoprodutos acetilados armazenados em clorofórmio foram concentradas no evaporador rotativo sob vácuo e redissolvidas em 0,5  $\text{cm}^3$  de clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ) (Aldrich; 99.8% átomo de D, 0,03% (v/v) TMS). As fracções relativas aos outros fotoprodutos armazenadas em fase móvel foram extraídas com clorofórmio e concentradas por evaporação do solvente no evaporador rotativo sob vácuo a temperatura moderada (cerca de 60°C). O resíduo obtido foi igualmente redissolvido em 0,5  $\text{cm}^3$  de  $\text{CDCl}_3$ . De referir ainda que, a um dos fotoprodutos analisados por espectrometria de RMN, registou-se também o espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  e o espectro 2D-HMQC.



### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A presente investigação envolveu a obtenção inicial de um conjunto de informação sobre as espécies transientes precursoras da fotodegradação da substância em estudo. Para isso, foi utilizada a técnica espectrocínética de laser flash photolysis, sendo as soluções fotolisadas submetidas a separação cromatográfica para detecção dos fotoprodutos maioritários. A subsequente separação cromatográfica (semipreparativa) das fracções correspondentes permitiu fazer a caracterização de alguns dos fotoprodutos. Nesse sentido procedeu-se também à obtenção dessas espécies e produtos por outras vias químicas e fotoquímicas. Nas secções seguintes encontram-se os resultados obtidos e a sua interpretação de forma a contribuir para o esclarecimento do mecanismo de fototransformação do 5-nitro-2-furaldeído em solução aquosa.

#### 3.1. Caracterização das Espécies Transientes Formadas na Fotólise por Impulsos de Luz (“Laser Flash Photolysis”) do 5-Nitro-2-furaldeído em Solução Aquosa

Após a irradiação por impulsos de luz, no espectrómetro de laser flash photolysis, mediram-se os espectros de absorção das espécies transientes formadas em tempos diferentes após o fim do impulso de luz. A Tabela 6.5 (Anexos 6.3) apresenta os resultados obtidos referentes à fotoquímica do NFA (irradiação com impulsos de luz de 355 nm)<sup>1</sup> em solução aquosa não tamponada (pH≈4.8) utilizados para a construção dos espectros de absorção transientes da Figura 3.1.

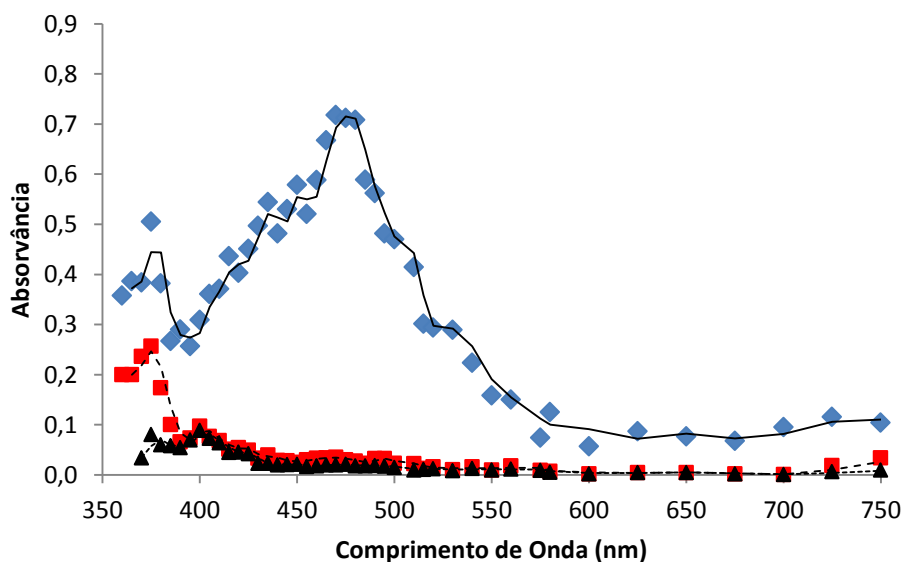


Figura 3.1 - Espectros de absorção transientes obtidos na fotólise por impulsos de luz de uma solução aquosa de NFA ( $9.04 \times 10^{-4}$  M), saturada de He, imediatamente (♦), 60 ns (■) e 350 ns (▲) após o fim do impulso do laser.

Como se pode observar (Figura 3.1), o espectro de absorção medido imediatamente após o fim do impulso do laser exibe dois máximos de absorção, a comprimento de onda  $\lambda = 475 (\pm 5)$  nm e  $\lambda = 375$  nm, que decaem ao longo do tempo. A espécie responsável por esta absorção de curto tempo de vida é o estado tripleto de menor energia do NFA ( $^3\text{NFA}^*$ ). Esta

<sup>1</sup> O mesmo espectro é obtido após a irradiação de impulsos de luz de 266 nm.

conclusão foi confirmada pelas experiências de transferência de energia tripleto-tripletto (T-T) efectuadas na presença de aceitadores de energia de tripleto, como o ferroceno, o 1-aminonaftaleno e a 2'-aminoacetofenona. Na presença destas substâncias verificou-se que o decaimento da espécie formada imediatamente após o fim do impulso do laser ocorre com uma constante de velocidade de segunda ordem controlada por difusão e foi detectada a formação do estado tripleto de menor energia característico do respectivo aceitador de energia. Nas experiências de transferência de energia T-T não se observou nenhum aumento da absorvância na região 390-400 nm, excluindo-se assim a formação do anião radical de NFA e, portanto, um mecanismo de transferência de electrão como explicação para a supressão do tripleto de NFA nas experiências indicadas. Acresce a analogia do espectro desta absorção de curto tempo de vida com o espectro de absorção do estado tripleto de menor energia de outros nitrofuranos (Luzhkov, et al., 1979; Kemp, et al., 1981).

Quando é seguido a  $\lambda \geq 390$  nm, o decaimento da espécie transiente de curto tempo de vida (observada em meio aquoso) é estritamente de primeira ordem com uma constante de velocidade  $k_{\text{obs}} = 8.47 (\pm 0.40) \times 10^7 \text{ s}^{-1}$ . Contudo, na gama espectral entre 360 e 385 nm, observa-se uma velocidade de decaimento mais lenta, notando-se uma dependência em relação à concentração inicial do NFA no estado fundamental. Nesta região espectral (370-375 nm) a constante de velocidade de primeira ordem mais elevada apresentou um valor de  $k_{\text{obs}} = 1.82 \times 10^7 \text{ s}^{-1}$  para concentrações de NFA iguais ou superiores a  $9.0 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ . Esta observação indica a existência de outra espécie absorvente a 375 nm, formada num processo de primeira ordem durante o decaimento do estado tripleto e que reage com o NFA. Em concordância com esta observação, o espectro medido 60 ns após o fim do impulso do laser (quando o decaimento do tripleto se encontra completo) apresenta um máximo de absorvância a 375 nm e outra banda próxima dos 400 nm. Além disso, o espectro da espécie absorvente residual de longo tempo de vida, medido 350 ns após o fim do impulso do laser, apresenta uma banda de absorção com um máximo próximo dos 400 nm (aproximadamente com a mesma absorvância que a que foi medida aos 60 ns) e outra com máximo a 375 nm com uma absorvância inferior à medida 60 ns depois do impulso.

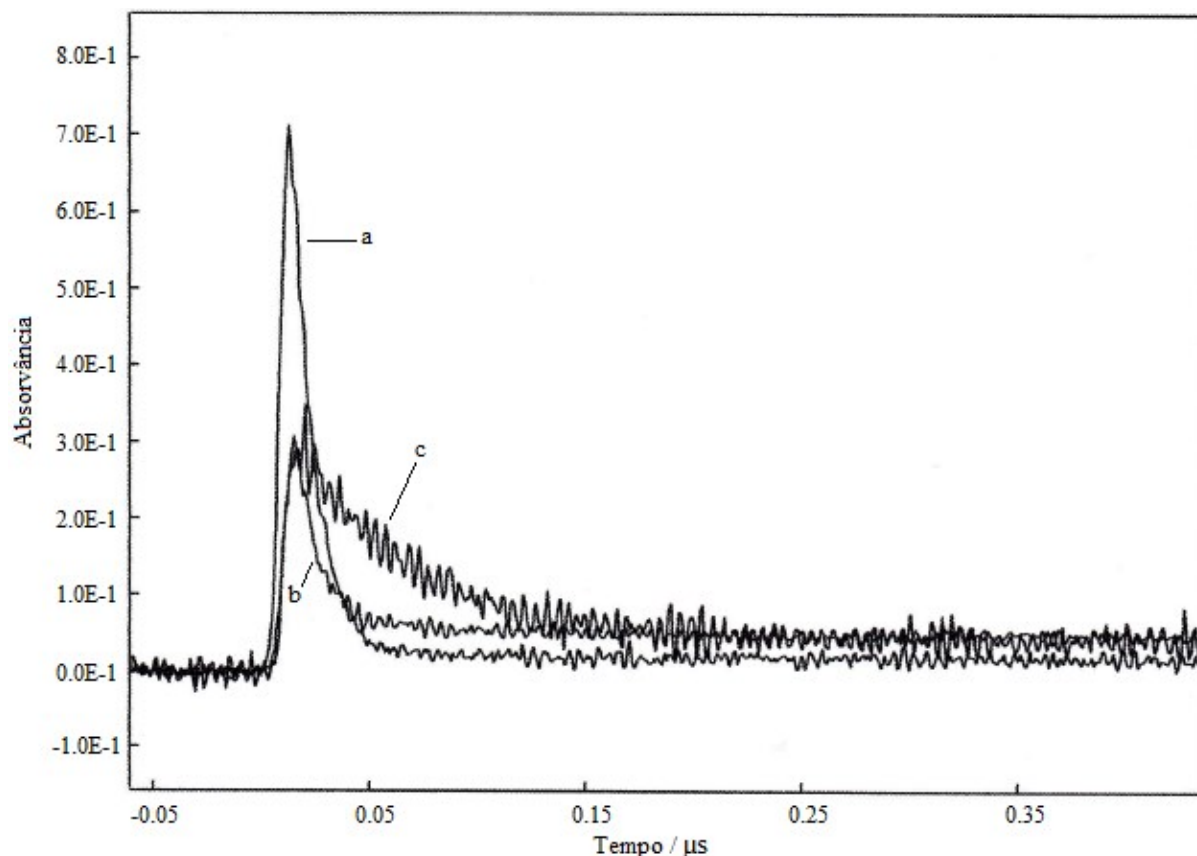


Figura 3.2 - Variação da Absorvância a 475 nm (a), 390 nm (b) e 375 nm (c) versus tempo observado na laser flash photolysis de uma solução aquosa de NFA ( $9.04 \times 10^{-4}$  M) sem tampão (pH = 4.8).

Quando a fotólise em meio aquoso do NFA é realizada na presença de um tampão (a pH = 6.9) o processo de formação de primeira ordem, da espécie responsável pela absorção de longa duração com  $\lambda_{\text{max}} = 375$ , torna-se mais evidente e dá origem a absorvâncias mais elevadas (Figura 3.3 e Figura 3.4).

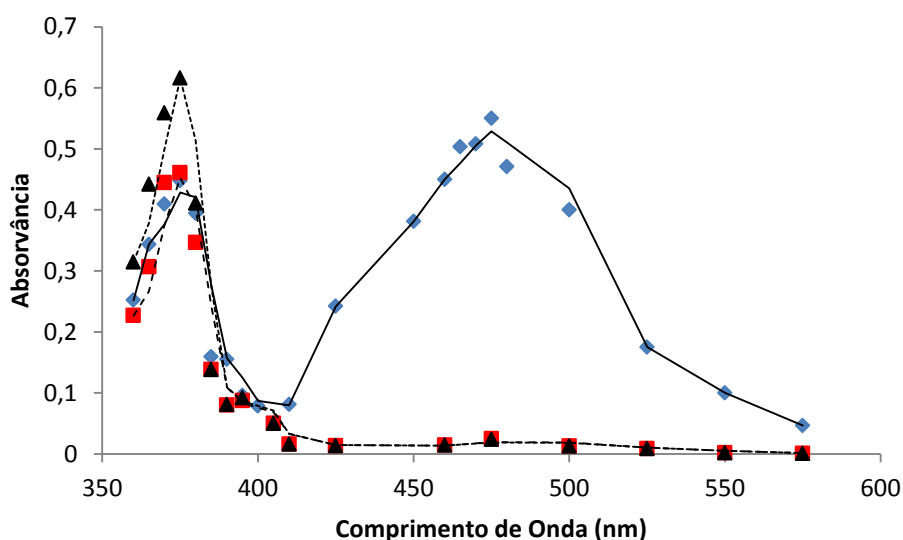


Figura 3.3 - Espectros de absorção transientes obtidos na fotólise por impulsos de luz de uma solução aquosa de NFA ( $9.04 \times 10^{-4}$  M) tamponada (pH = 6.9) e saturada de He imediatamente (♦), 60 ns (■) e 350 ns (▲) após o fim do impulso do laser.

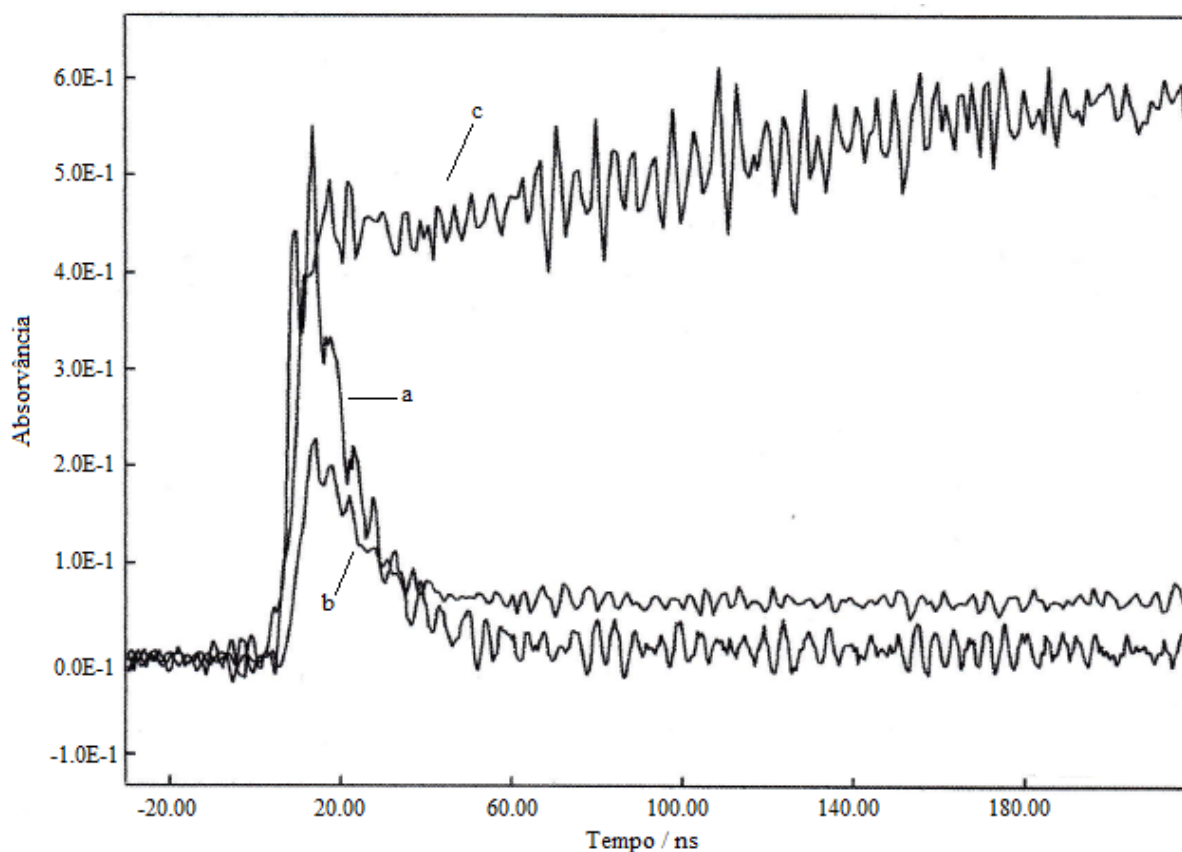


Figura 3.4 - Variação da Absorvância a 475 nm (a), 390 nm (b) e 375 nm (c) versus tempo observado na laser flash photolysis de uma solução aquosa de NFA ( $9.04 \times 10^{-4}$  M) tamponada (pH = 6.9).

Verificou-se ainda que nestas condições, variando a concentração de NFA (no estado fundamental) de um factor de 6 não altera o valor da constante de primeira ordem para a formação da espécie de longa duração responsável pela absorção a 375 nm (e para o qual se mediu uma constante de velocidade de  $7.53 (\pm 0.30) \times 10^6 \text{ s}^{-1}$ ). Esta espécie de longa duração decai com uma constante de velocidade de segunda ordem  $2k_2/\epsilon_{375} = 10.1 \text{ s}^{-1} \text{ cm}$  em meio aquoso tamponado (na ausência de tampão, pH  $\approx 4.8$ , mediu-se uma constante de primeira ordem  $k_{\text{obs}} = 1.84 \text{ s}^{-1}$  para uma concentração inicial de NFA  $1.09 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ). A absorção transiente de longa duração com máximo entre os 390-400 nm decai por um processo de segunda ordem em soluções tamponadas, e não tamponadas, tendo-se obtido para  $2k_2/\epsilon_{390}$  os valores de  $1.51 \times 10^3$  e  $9.44 \times 10^3 \text{ s}^{-1} \text{ cm}$ , respectivamente. Na presença de  $\text{O}_2$ , o decaimento torna-se de primeira ordem com uma constante de velocidade  $k_{\text{obs}} = 125 (\pm 23) \text{ s}^{-1}$  conforme medida em solução aquosa de NFA ( $9.03 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ , sem tampão) saturada com ar a 298K.

O espectro de absorção tripleto-tripletto do NFA foi obtido em solventes com diferentes polaridades. Na Figura 3.5 mostram-se os espectros construídos a partir dos resultados obtidos (Anexos 6.3, Tabela 6.7).

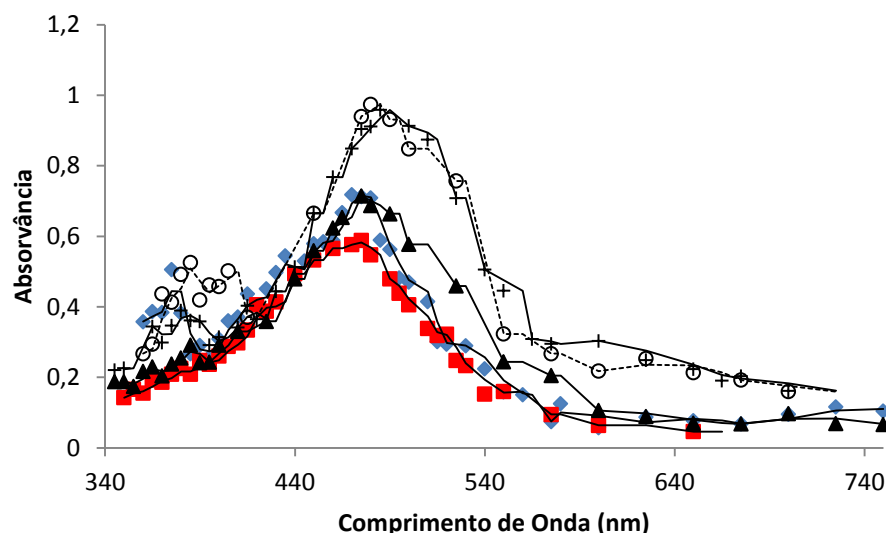


Figura 3.5 – Espectros de absorção transientes obtidos na fotólise por impulsos de luz de uma solução saturada de He de NFA ( $3.46 \times 10^{-3}$  M) em acetoneitrilo (o), ( $7.76 \times 10^{-4}$  M) em acetona (+), ( $9.04 \times 10^{-4}$  M) em água (♦), ( $7.45 \times 10^{-4}$  M) em etanol (▲) e ( $7.45 \times 10^{-4}$  M) em metanol (■) imediatamente após o fim do impulso do laser.

Como se pode observar (Figura 3.5) a variação do solvente não originou nenhum desvio na banda de absorção o que sugere uma natureza ( $n, \pi^*$ ) para o  $^3\text{NFA}^*$ . Outra evidência do carácter ( $n, \pi^*$ ) do estado tripleto de menor energia do NFA vem da sua propensão para reagir por abstração de átomo de hidrogénio com solventes dadores de hidrogénio. Assim, mediram-se constantes de velocidade de reacção de segunda ordem de  $1.0 \times 10^5$ ,  $1.2 \times 10^6$ ,  $1.8 \times 10^6$  e  $2.2 \times 10^6$   $\text{dm}^3 \text{mol}^{-1} \text{s}^{-1}$  para a reacção com 1,4-dioxano, hexano, propan-2-ol e etanol, respectivamente.

Quando a fotólise é realizada em propan-2-ol, a absorção atribuída ao tripleto ( $\lambda_{\text{max}} = 475$  nm) decai com o mesmo valor de constante de velocidade de primeira ordem em toda a gama espectral [ $k_{\text{obs}} = (2.45 \pm 0.10) \times 10^7 \text{ s}^{-1}$ ], dando origem a uma absorção transiente de longa duração com máximo de absorção a 380 nm (Figura 3.6).

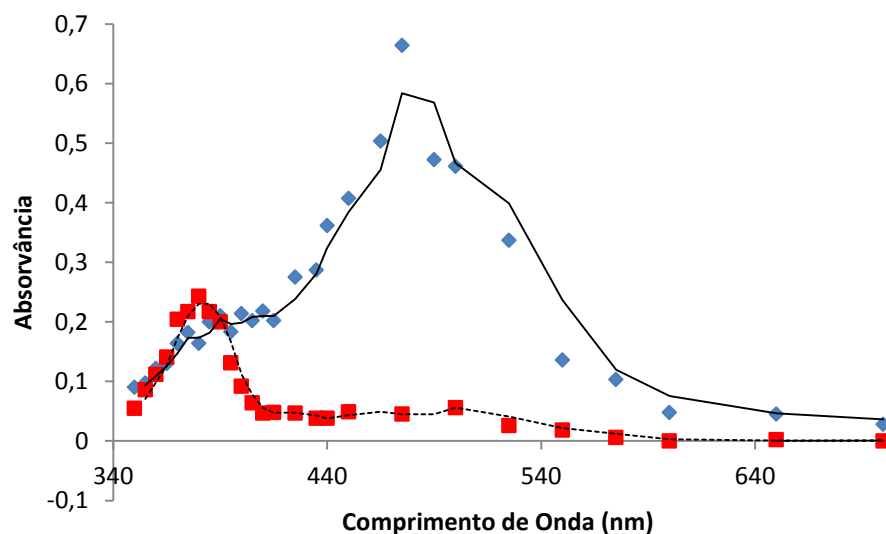
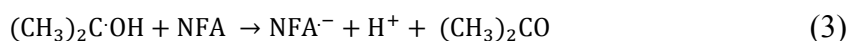
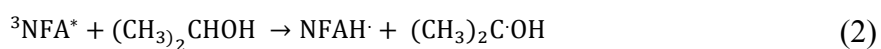


Figura 3.6 – Espectros de absorção transientes obtidos na fotólise por impulsos de luz de uma solução de NFA ( $1,01 \times 10^{-3}$  M) em propan-2-ol, saturada de He, imediatamente (♦) e  $3 \mu\text{s}$  (■) após o fim do impulso do laser.

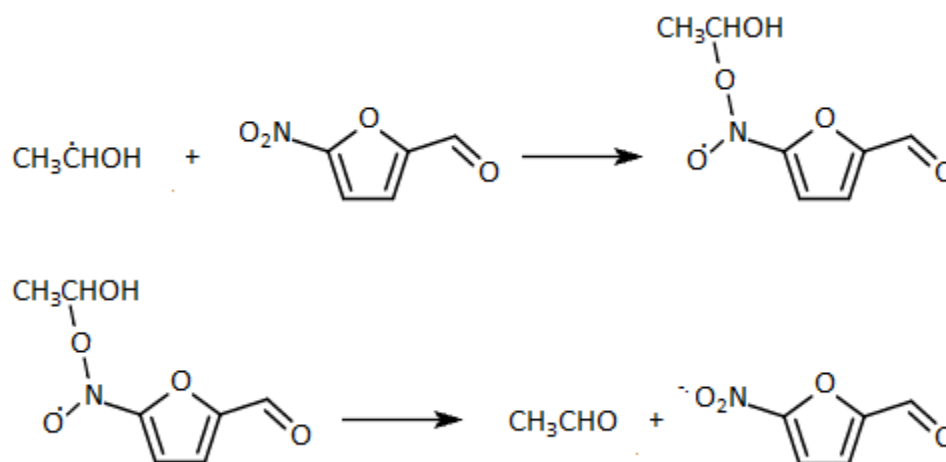
Este espectro de absorção transiente de longa duração é atribuído ao anião radical do 5-nitro-2-furaldeído (NFA<sup>-</sup>) por analogia com o anteriormente reportado para a mesma espécie em solução aquosa neutra (Greenstock, et al., 1973; Greenstock, et al., 1976). De facto, apresenta uma banda de absorção intensa com  $\lambda_{\text{max}} = 380 \text{ nm}$  que compara com o  $\lambda_{\text{max}} = 400 \text{ nm}$  medido em solução aquosa neutra. A banda larga de menor absorvância a  $500 \text{ nm}$  e a, ainda mais fraca, próxima dos  $650 \text{ nm}$  (Figura 3.6) apresentam igualmente uma boa concordância com o espectro medido em solução aquosa. O efeito hipsocrómico observado na banda mais intensa originado pela mudança de solvente (da água para propan-2-ol) foi também observado anteriormente tanto para o espectro do anião radical do ácido 5-nitro-2-furóico (Kemp, et al., 1981) como para o da N-(n-butil)-5-nitro-2-furamida (Martins, et al., 1984). De acordo com a reacção de abstracção de átomo de H do propan-2-ol pelo  $^3\text{NFA}^*$  (eq. 2), seguida da oxidação monoelectrónica do radical 2-hidroxi-propilo-2, a acetona (eq. 3) e produtos de redução foram identificados no fotolisado (Anexos 6.5.1).



Tendo atribuído a absorção de longa duração com  $\lambda_{\text{max}} = 390\text{-}400 \text{ nm}$  ao anião radical (NFA<sup>-</sup>), o uso do valor do coeficiente de extinção  $\epsilon_{390} = 2,7 \times 10^3 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  obtido em solução aquosa neutra (Greenstock, et al., 1976) permite calcular o valor de  $2k_2 = 4,08 \times 10^6 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$  para o decaimento de segunda ordem por desproporcionação do NFA<sup>-</sup> em solução aquosa tamponada (pH=6.9). Em solução aquosa saturada de ar os radicais NFA<sup>-</sup> decaem por um processo de primeira ordem que consiste na oxidação monoelectrónica do anião radical por parte do O<sub>2</sub> dissolvido. Na presença de uma  $[\text{O}_2] = 2.9 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$  em solução aquosa saturada de ar a  $293 \text{ K}$  (Montalti, et al., 2006) foi obtido um valor de  $k_2 = (4.31 \pm 0.80) \times 10^5 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$  para a oxidação monoelectrónica do NFA<sup>-</sup> pelo O<sub>2</sub> (em solução aquosa não tamponada, pH≈4.8). Este valor apresenta uma boa concordância com o valor esperado para a reacção (Wardman, et al., 1976; Wardman, 1985) tendo em conta o potencial de redução estimado ( $E_1^1 = -0.205 \text{ V vs. SHE}$ ) (Biaglow, et al., 1978; Greenstock, et al., 1976; Meisel, et al., 1975; Neta, et al., 1976) para o NFA (ver discussão abaixo 3.3), o que reforça a atribuição da absorção transiente de longa duração com  $\lambda_{\text{max}} = 390\text{-}400 \text{ nm}$  ao anião radical do NFA.

Em etanol e 1,4-dioxano, a oxidação monoelectrónica do radical 1-hidroxietilo e 1,4-dioxanilo-2 formado na reacção de abstracção de átomo de H do  $^3\text{NFA}^*$  com o solvente parece envolver a adição do radical ao NFA (Esquema 3.1). Espera-se que o produto de adição resultante do radical 1-hidroxietilo (um radical N-alcoxi-aminóxilo) apresente um máximo de absorvância deslocado de cerca de  $25 \text{ nm}$  para menor comprimento de onda em relação ao do radical NFA<sup>-</sup> (Jagannadham, et al., 1984).





Esquema 3.1 – Oxidação monoelctrónica do radical 1-hidroxiétilo pelo NFA através de adição (para formar o radical N-alcoxiainoxilo) e heterólise do radical N-alcoxiainoxilo.

De facto, quando a absorção do tripleto decai completamente em etanol, verifica-se o crescimento exponencial de uma absorção a 375 nm que permite determinar uma constante de velocidade de segunda ordem  $k_2 \approx 1.7 \times 10^9 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ . Apesar deste valor poder estar afectado pelo decaimento do anião radical, o valor compara favoravelmente com a constante de velocidade ( $k_2 = 2.4 \times 10^9 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ) medida para a formação do radical N-alcoxiainoxilo da adição do radical 1-hidroxiétilo ao 1,4-dinitrobenzeno em solução aquosa (Jagannadham, et al., 1984). A constante de velocidade de segunda ordem destas reacções apresenta uma correlação com o potencial de redução monoelctrónica do nitrocomposto. Como o 1,4-dinitrobenzeno tem um potencial de redução monoelctrónica de  $E_7^1 = -0.257 \text{ V}$  vs. SHE (Wardman, 1989) que é comparável com o estimado ( $-0.205 \text{ V}$ ) para o NFA (Biaglow, et al., 1978; Wardman, 1985), o valor obtido para a adição do radical 1-hidroxiétilo ao NFA é o que seria de esperar. Na presença de oxigénio molecular não se observou a formação da espécie absorvente de longa duração a 375 nm. Além disso, a absorção medida após o decaimento total do tripleto é simultaneamente mais fraca e a um  $\lambda_{\text{max}}$  ligeiramente mais elevado que a que se observa na ausência de O<sub>2</sub> (Figura 3.7). Estas observações podem ser explicadas pela competição do O<sub>2</sub> com o NFA para reagirem com os radicais 1-hidroxiétilo. De facto, sabe-se que estes radicais se adicionam ao O<sub>2</sub> com uma constante de velocidade  $k_2 = 4,6 \times 10^9 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$  para formarem radicais 1-hidroxiétilperoxilo (Adams, et al., 1969).

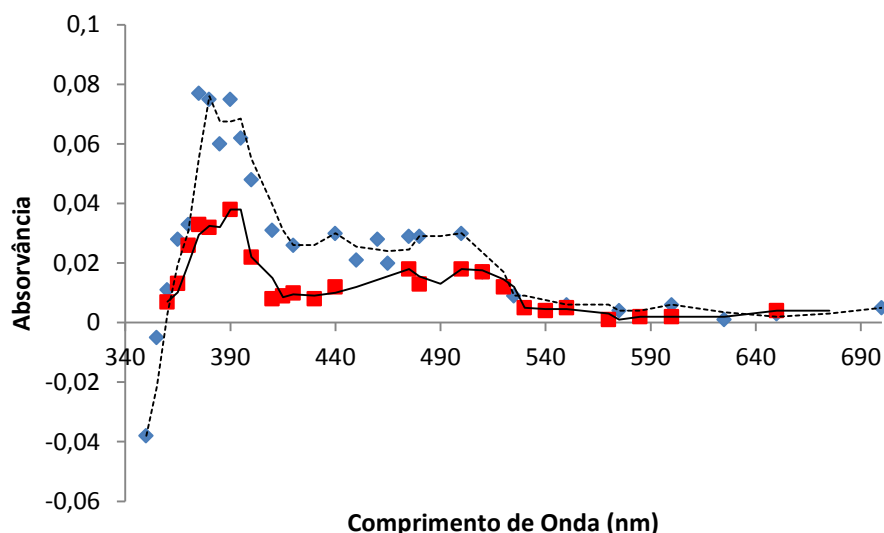


Figura 3.7 – Espectros de absorção transientes obtidos na fotólise por impulsos de luz de uma solução de NFA ( $7.45 \times 10^{-4}$  M) em etanol saturada de He (♦) e saturada de  $O_2$  (■) 15  $\mu$ s após o fim do impulso do laser.

De acordo com estudos anteriores (Nese, et al., 1995; Sharma, et al., 2009), verificou-se igualmente que a oxidação monoelectrónica do radical 1,4-dioxanilo-2 pelo NFA ocorre por adição-heterólise através da formação do correspondente radical N-alcoxiainoxilo. Durante o decaimento da absorção do tripleto de NFA, quando a fotólise por impulsos é realizada em 1,4-dioxano, observa-se um aumento de absorvância (entre 370-380 nm) com uma cinética de primeira ordem de uma espécie transiente de longa duração com  $\lambda_{\max} = 375$  nm (Figura 3.8). O valor deste  $\lambda_{\max}$  coincide com o anteriormente reportado para o radical N-alcoxiainoxilo formado na reacção do radical 1,4-dioxanilo-2 com o 5-nitro-2-furaldeído oxima (Sharma, et al., 2009) pelo que esta absorvância é atribuída ao radical N-alcoxiainoxilo do NFA. Embora a absorção de longa duração medida possa incluir alguma contribuição do anião radical de NFA, essa contribuição será pequena uma vez que se espera que o  $NFA^{\cdot-}$  seja rapidamente oxidado pelos radicais N-alcoxiainoxilo formados (Nese, et al., 1995). Observou-se também que a formação do radical de adição aumenta com o aumento da concentração do NFA (no estado fundamental) e que na presença de  $O_2$  numa solução saturada de ar não é detectada a sua formação. Estes resultados estão igualmente de acordo com a reacção do radical 1,4-dioxanilo-2 com  $O_2$  ( $k_2 \approx 2 \times 10^9 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ) para formar o radical 1,4-dioxano-2-peroxilo e com a dependência linear da constante de velocidade do radical de adição com a concentração de NFA (no estado fundamental) (Nese, et al., 1995).

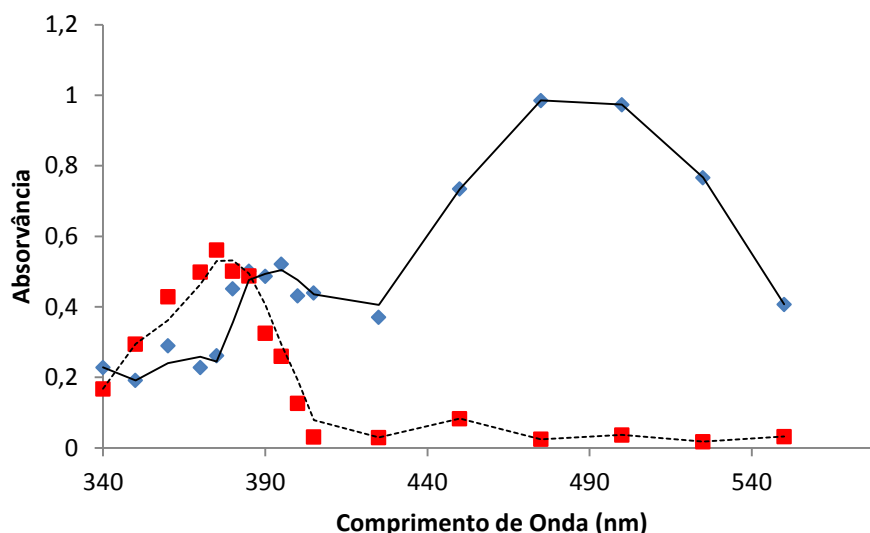


Figura 3.8 – Espectros de absorção transientes obtidos na fotólise por impulsos de luz de uma solução de NFA ( $1.55 \times 10^{-3}$  M) em 1,4-dioxano saturada de He imediatamente (♦) e  $5 \mu\text{s}$  (■) após o fim do impulso do laser.

A determinação da constante de velocidade de formação do radical de adição (do NFA com o radical 1,4-dioxanilo-2) não foi possível devido à sobreposição das absorvâncias do tripleto e do radical de adição, e do decaimento do tripleto e crescimento do radical de adição decorrerem na mesma escala de tempo. Todavia, o facto da formação da absorvância do radical de adição ocorrer na escala de tempo em que foi observada está de acordo com o valor da constante de velocidade medida anteriormente ( $k_2 = 1.4 \times 10^8 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ) para a adição do radical 1,4-dioxanilo-2 ao 5-nitro-furaldeído oxima (Sharma, et al., 2009). Como o valor da constante de velocidade de reacção de adição aumenta com a diminuição do potencial de redução monoeléctronica do nitrocomposto (Jagannadham, et al., 1984; Nese, et al., 1995; Sharma, et al., 2009) e, uma vez que o potencial de redução monoeléctronica do 5-nitro-2-furaldeído oxima ( $E_7^1 = -0.257 \text{ V vs. SHE}$  (Wardman, 1989)) é próximo do estimado para o NFA, é de esperar que o valor de  $k_2$  seja da mesma ordem de grandeza para o NFA como oxidante.

Em condições experimentais idênticas, a fotólise do NFA em metanol liberta mais ião nitrito que em qualquer outro solvente hidroxílico utilizado (Tabela 3.1).

**Tabela 3.1 – Concentração de ácido nitroso em soluções de NFA após fotólise com 8 impulsos de luz de 355 nm no sistema de laser flash photolysis<sup>a</sup>.**

Solvente	Concentração de NFA no estado fundamental (mol dm <sup>3</sup> )	Concentração do ião nitrito <sup>(b)</sup> (mol dm <sup>3</sup> )
água	9,05 x 10 <sup>-4</sup>	1,02 x 10 <sup>-4</sup>
	9,05 x 10 <sup>-4 c</sup>	7,73 x 10 <sup>-5</sup>
	9,10 x 10 <sup>-5</sup>	2,32 x 10 <sup>-5</sup>
propan-2-ol	1,00 x 10 <sup>-3</sup>	1,30 x 10 <sup>-5</sup>
	etanol	7,73 x 10 <sup>-4</sup>
metanol	7,17 x 10 <sup>-4</sup>	1,23 x 10 <sup>-4</sup>
	7,17 x 10 <sup>-5</sup>	1,67 x 10 <sup>-5</sup>
	7,17 x 10 <sup>-3</sup>	1,61 x 10 <sup>-4</sup>
acetona	7,76 x 10 <sup>-4</sup>	1,27 x 10 <sup>-5</sup>
	7,76 x 10 <sup>-4 d</sup>	7,73 x 10 <sup>-6</sup>
acetonitrilo	3,78 x 10 <sup>-3</sup>	1,03 x 10 <sup>-5</sup>
1,4-dioxano	1,43 x 10 <sup>-3</sup>	1,38 x 10 <sup>-5</sup>
hexano	6,77 x 10 <sup>-3</sup>	4,42 x 10 <sup>-6</sup>

<sup>a</sup> As soluções foram saturadas de He antes da fotólise, excepto indicação em contrário. <sup>b</sup> Valor médio baseado, no mínimo, em 6 determinações (com um desvio máximo de  $\pm 10\%$ ). <sup>c</sup> Solução aquosa tamponada (pH=6.9) com  $2.6 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3} \text{ KH}_2\text{PO}_4$  e  $2.6 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3} \text{ Na}_2\text{HPO}_4$ . <sup>d</sup> Solução saturada em O<sub>2</sub>.

Esta observação e as mudanças associadas no espectro de absorção no UV da solução fotolisada, em que tanto a banda de 307.6 nm e de 225.0 nm sofrem uma variação hipsocrômica e um aumento na intensidade, podem ser interpretadas em termos da substituição fotoinduzida do grupo nitro pelo grupo metoxi. Num estudo anteriormente publicado sobre a fotólise por irradiação estacionária da N-(n-butil)-5-nitro-2-furamida, em metanol em que foram identificados a N-(n-butil)-5-metoxi-2-furamida e ião nitrito como fotoprodutos estáveis, as mesmas alterações verificadas no espectro UV foram atribuídas à metoxifuramida (Powers, 1971). Tendo em conta a conhecida adição do metanol aos catiões radical de furanos (preferencialmente às posições 2 e 5) na adição foto-sensibilizada (por transferência de electrão) do metanol a furanos (Majima, et al., 1981), foi proposto que o catião radical gerado no mecanismo de auto-supressão, por transferência de electrão, do estado tripleto da nitrofuramida intervenha na reacção de foto-substituição nucleofílica (Martins, et al., 1984). A ausência da formação de uma nova absorção, ao contrário do que se verificou na fotólise do NFA em etanol, e a observação de uma absorção residual com  $\lambda_{\text{max}} = 390 \text{ nm}$  (atribuída ao NFA<sup>-</sup>) no seguimento do decaimento do tripleto, podem indicar uma outra origem para o anião radical do NFA em metanol, diferente da que resulta de abstracção de átomo de H.

Quando a fotólise do NFA em metanol é realizada na presença de NaOH, o aumento da concentração de ião hidróxido provoca inicialmente um decréscimo na concentração de nitrito. Porém, para concentrações de NaOH mais elevadas verifica-se que a concentração de ião nitrito também aumenta (Tabela 3.2).

Tabela 3.2 – Concentração de ácido nitroso numa solução de NFA ( $7,17 \times 10^{-4}$  M) e NaOH em metanol após fotólise com 8 impulsos de luz de 355 nm. Antes da fotólise todas as soluções foram saturadas de He.

Solvente	Concentração de NaOH (mol dm <sup>3</sup> )	Concentração de ião nitrito <sup>a</sup> (mol dm <sup>3</sup> )
metanol	0	$1,23 \times 10^{-4}$
	$2,54 \times 10^{-3}$	$8,33 \times 10^{-5}$
	$2,48 \times 10^{-2}$	$2,85 \times 10^{-4}$

<sup>a</sup>Média de, pelo menos, duas determinações.

Ao mesmo tempo, verifica-se a formação exponencial de uma absorção transiente de longa duração com  $\lambda_{\text{max}}$  a 375 nm (Figura 3.10). A constante de primeira ordem determinada ( $k_{\text{obs}} = (4.52 \pm 0.17) \times 10^5 \text{ s}^{-1}$ ) para a formação da espécie responsável por essa absorção, a baixa concentração de NaOH, é independente da concentração do NFA (no estado fundamental) e apresenta um valor próximo do obtido anteriormente ( $k_{\text{obs}} = (4.0 \pm 0.04) \times 10^5 \text{ s}^{-1}$ , em solução aquosa) (Kemp, et al., 1981) e atribuído à formação com cinética de primeira ordem do radical furiloxilo (I) (Figura 3.9) originado pela eliminação do ácido nitroso do radical de adição do OH<sup>•</sup> ao ácido 5-nitro-2-furóico. Para este último, verificou-se que a eliminação de ácido nitroso ocorre com o mesmo valor da constante de velocidade de primeira ordem em metanol ( $k_{\text{obs}} = 4.24 \times 10^5 \text{ s}^{-1}$ ).

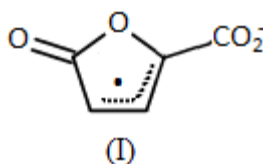


Figura 3.9 – Radical formado pela adição do radical OH<sup>•</sup> ao ácido 5-nitro-2-furóico e consequente eliminação do ácido nitroso.

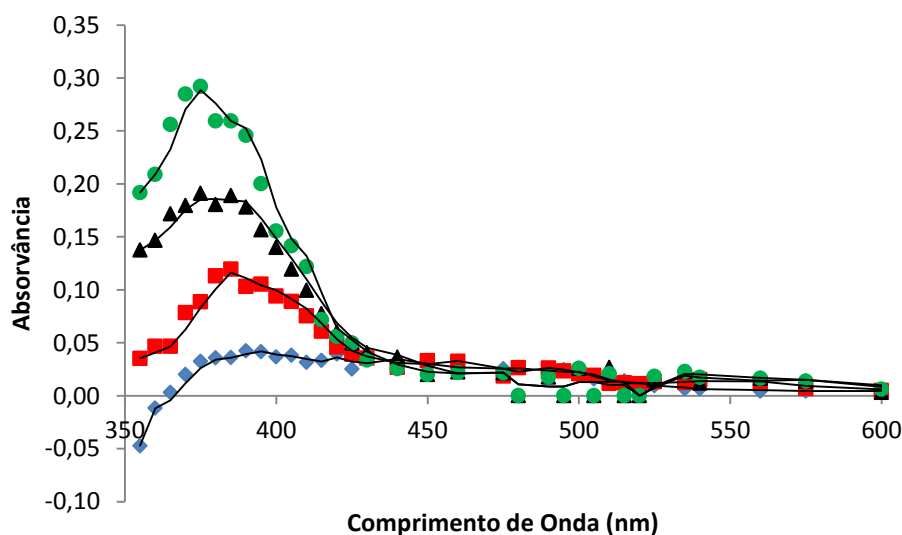
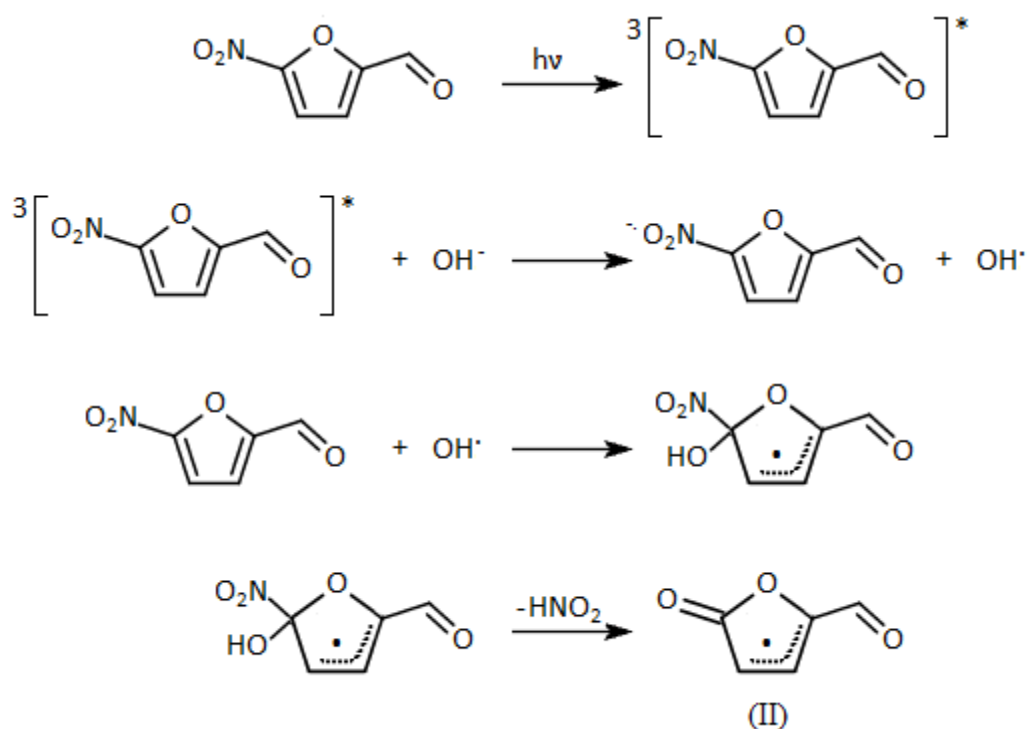


Figura 3.10 – Espectros de absorção transientes obtidos na fotólise por impulsos de luz de uma solução saturada de He contendo NFA ( $7.17 \times 10^{-4}$  M) (♦) e NaOH ( $2.54 \times 10^{-3}$  M) (■) em metanol 150 ns após o fim do impulso do laser e de uma solução contendo NFA ( $7.17 \times 10^{-4}$  M) e NaOH ( $2.48 \times 10^{-2}$  M) em metanol 150 ns (▲) e 10  $\mu$ s (●) após o fim do impulso do laser.

Em ambos os sistemas, a formação de radicais hidroxilo resulta da oxidação monoelectrónica do ião hidróxido por parte do estado de tripleto de menor energia do nitrofurano. Enquanto o tripleto de menor energia do ácido 5-nitro-2-furóico reage com o ião

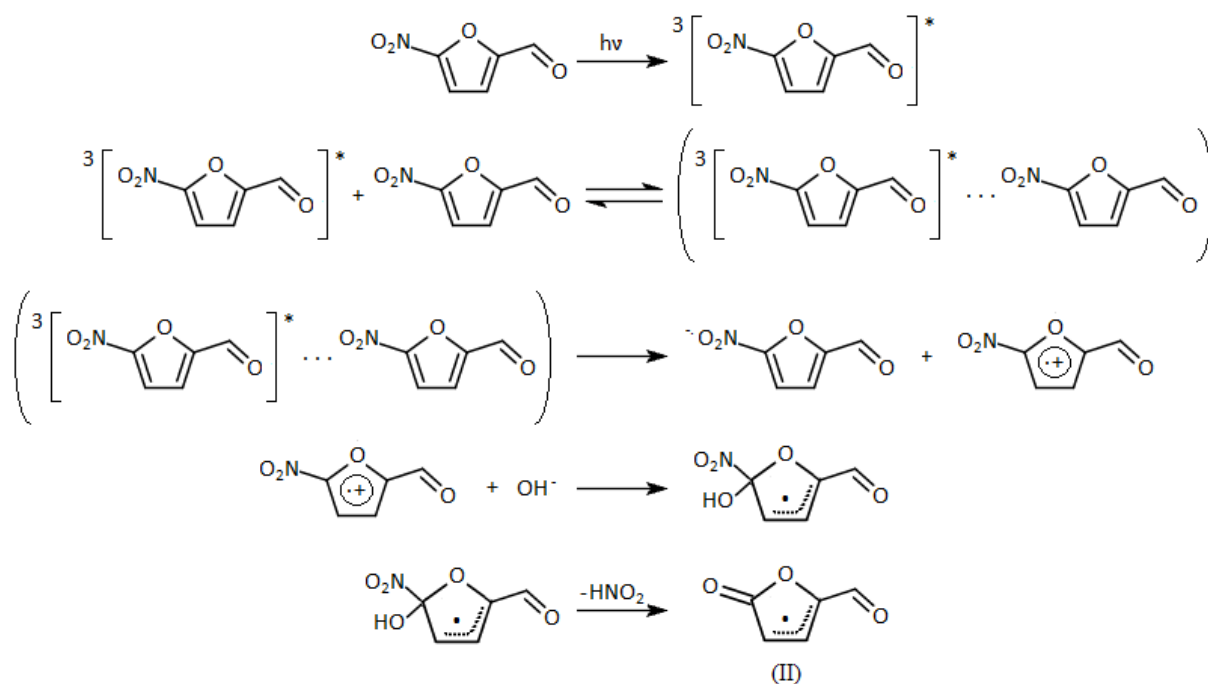
hidróxido com uma constante de segunda ordem  $k_2 = 1.82 \times 10^9 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$  ( $E_7^1 = -0.317 \text{ V}$  vs. SHE (Wardman, 1989)) em solução aquosa, para a mesma reacção do  $^3\text{NFA}^*$  em metanol mediu-se uma constante  $k_2 = 2,61 \times 10^9 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$  (2). Uma vez que a dissolução do NaOH em metanol envolve um equilíbrio protolítico com a formação do metóxido de sódio numa extensão dependente da razão molar NaOH/CH<sub>3</sub>OH (Platonov, et al., 2010), é de esperar que a constante de velocidade medida corresponda à oxidação monoelectrónica de OH<sup>-</sup> e de CH<sub>3</sub>O<sup>-</sup> pelo  $^3\text{NFA}^*$ . Na presença de uma concentração de  $1.27 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^3$  de NaOH mediu-se um ligeiro aumento na constante de velocidade para o decaimento do tripleto de NFA não se verificando, praticamente, nenhuma decréscima de concentração do estado tripleto. Neste sistema, a formação da absorção entre 360 e 380 nm é atribuída ao radical furiloxilo (II) que, por analogia com o radical (I), propõe-se que seja a espécie responsável pela absorção transiente de longa duração com  $\lambda_{\text{max}}$  próximo de 375 nm. O crescimento de absorvância observado a 375 nm corresponderá à eliminação unimolecular do HNO<sub>2</sub> como passo limitante da velocidade de formação do radical furiloxilo (II).



Esquema 3.2 – Mecanismo de formação do radical furiloxilo (II) a partir da adição do OH<sup>-</sup> ao NFA e subsequente perda de ácido nitroso.

Uma vez que a baixa concentração de radicais OH<sup>-</sup> formados é suprimida pelo metanol (por abstracção de átomo de H com  $k_2 = 9.7 \times 10^8 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$  (Buxton, et al., 1988)) propõe-se que o radical (II) formado neste sistema tenha origem na adição do ião hidróxido (em competição com a adição do metanol) ao catião radical formado no processo de auto-supressão (por transferência de electrão) do estado tripleto mais baixo do NFA (Esquema 3.3).

<sup>2</sup> Em solução aquosa alcalina o NFA sofre uma rápida reacção térmica com o ião hidróxido dando origem ao anião produzido pela desprotonação do carbono aldeídico do (5-nitro-furan-2-il)-metanodiol. Esta espécie é tida como responsável pela cor vermelha das soluções alcalinas de NFA (Cisak, et al., 2001).



**Esquema 3.3 – Mecanismo de formação do radical furiloxilo (II) a partir da adição de ião  $\text{OH}^-$  ao catião radical formado na auto-supressão (por transferência de electrão) do estado tripleto de menor energia do NFA.**

Duplicando a concentração de NaOH ( $2.54 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) verificou-se uma redução de 22% na concentração do estado tripleto o que explica a redução de ião nitrito observada, visto que os radicais  $\text{OH}^-$  gerados são suprimidos pelo metanol. No entanto grande parte do  $^3\text{NFA}^*$  formado após o final do impulso do laser decaí pelo mecanismo de auto-supressão proposto dando origem ao radical (II). O ombro que se observa próximo dos 355 nm no espectro de absorção UV da solução fotolisada (e que não aparece quando a fotólise é realizada em metanol puro) é indicativo da formação do tautómero enólico do 5-hidroxi-2-furaldeído ( $\lambda_{\text{max}}$  348 e 356 nm) a partir do radical (II). Porém, na solução fotolisada em metanol alcalino, não se procedeu à separação, purificação e identificação do produto mencionado. Para concentrações de NaOH iguais ou superiores a  $2.54 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ , existe a evidência de que se formam radicais hidroximetilo como decorre da observação do crescimento rápido de uma absorção transiente (de longa duração) entre 360 e 380 nm. Este efeito cinético apenas pode encontrar explicação na formação do radical N-alcoxiaminoxilo da adição do radical hidroximetilo ao NFA, processo este que se espera, com base no  $E_7^1 = -0.205 \text{ V vs. SHE}$  para o NFA, que ocorra a uma constante de velocidade estimada de  $k_2 \approx 6 \times 10^8 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$  (Jagannadham, et al., 1984; Sharma, et al., 2009).

O aumento da concentração de NaOH para  $2.48 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$  conduz a um decréscimo de 87% na concentração do estado tripleto devido à oxidação monoelectrónica dos iões metóxido e hidróxido pelo  $^3\text{NFA}^*$ . Este valor elevado da razão molar NaOH/ $\text{CH}_3\text{OH}$  (mas inferior a 0.018) produz uma elevada concentração do ião metóxido (Platonov, et al., 2010) que, através da oxidação monoelectrónica, origina predominantemente radicais metóxilo. Os radicais hidróxilo (e hidróxilo desprotonados) reagem com o metanol (com  $k_2 = 7.5 \times 10^8 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$  por abstracção de átomo de H pelo  $\text{O}^-$  (Buxton, et al., 1988)) para formar o radical hidroximetilo e, por fim, o radical N-alcoxiaminoxilo correspondente. Por outro lado, os radicais metóxilo reagem com o metanol por abstracção de átomo de H com

uma constante de velocidade muito mais baixa de  $k_2 = 2.63 \times 10^5 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$  (Ellison, et al., 1972), encontrando-se, assim disponíveis para participar em possíveis reacções de competição. Em solução aquosa neutra verificou-se que a adição dos radicais hidroxilo ao ácido 5-nitro-2-furóico (maioritariamente ao carbono 5) ocorre a uma constante de velocidade de segunda ordem de  $k_2 = 5 \times 10^9 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$  (Greenstock, et al., 1973), tendo sido estabelecido que a desnitração oxidativa do ácido 5-nitro-2-furóico é o passo limitante da velocidade de formação do radical (I). Embora sejam consideravelmente menos electrofilicos que os radicais hidroxilo, os radicais hidroxilo desprotonados ( $\text{pK}_a(\text{HO}^\cdot) = 11.9$  (Buxton, et al., 1988)) também se adicionam ao ácido 5-nitro-2-furóico em solução aquosa a pH 11.8-13 dando origem ao radical (I) e ao ácido nitroso (Greenstock, et al., 1973). Este resultado sugere a grande possibilidade de os radicais metoxilo (sendo radicais oxilo de electrofilicidade semelhante aos radicais hidroxilo (Houk, 1980)) também se adicionarem ao carbono 5 do 5-nitro-2-furaldeído (a uma velocidade igual ou próxima da controlada por difusão) libertando nitrito e finalmente originando o 5-metóxi-2-furaldeído. Apesar de, no presente trabalho, a presença do 5-metóxi-2-furaldeído não ter sido investigada, as alterações observadas no espectro de absorção UV da solução fotolisada (em relação ao da não fotolisada) são idênticas às encontradas quando a fotólise ocorre em metanol puro, e são coerentes com a substituição do grupo nitro pelo grupo metoxi. A elevada concentração de nitrito detectada, para esta concentração de NaOH, pode indicar a eficiência do mecanismo de foto-substituição do grupo nitro envolvendo a adição de  $\text{CH}_3\text{O}^\cdot/\text{CH}_3\text{O}^-$  quando a fotólise de NaOH é efectuada na solução mais alcalina de metanol.

Embora não se tenha detectado nenhuma variação no  $\lambda_{\text{max}}$  da absorção tripleto-tripletto, o tempo de vida desta espécie ( $\tau$ )<sup>3</sup> aumenta com a passagem de solventes hidroxílicos (ou não hidroxílicos com átomo de H abstraível) para não hidroxílicos (e sem átomo de hidrogénio abstraível) (Tabela 3.3).

**Tabela 3.3 – Tempo de Vida ( $\tau$ ) do <sup>3</sup>NFA\* em diferentes solventes. As soluções foram saturadas de He antes da fotólise.**

Solvente	$\tau$ / ns	$\epsilon^a$ at 293 K	[NFA] / $10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$
hexano	114	1,8863	0,44
1,4-dioxano	787	2,209	1,55
propan-2-ol	41	19,92	1,01
acetona	794	20,7	0,77
etanol	26	24,55	0,75
metanol	17	32,66	0,75
acetonitrilo	971	37,5	1,10
água	12	80,16	0,90

<sup>a</sup>  $\epsilon$  é a constante dieléctrica estática do solvente retirada da referência Montalti, et al., 2006.

Em solventes onde o tempo de vida do estado tripleto é mais longo verifica-se também uma dependência de  $\tau$  relativamente à concentração de NFA (no estado fundamental) conforme se pode observar na Tabela 3.4.

<sup>3</sup>  $k_{\text{obs}} = 1/\tau$ , em que  $\tau$  é o tempo de vida do estado tripleto nas condições experimentais em que se mediu esse valor de  $k_{\text{obs}}$ .



Tabela 3.4 – Dependência da constante de velocidade de primeira ordem ( $k_{obs}$ ) do decaimento do  $^3\text{NFA}^*$  relativamente à concentração de NFA (no estado fundamental).

acetonitrilo		1,4-dioxano		acetona		hexano	
[NFA] / $10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$	$k_{obs} /$ $10^5 \text{ s}^{-1}$	[NFA] / $10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$	$k_{obs} /$ $10^5 \text{ s}^{-1}$	[NFA] / $10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$	$k_{obs} /$ $10^5 \text{ s}^{-1}$	[NFA] / $10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$	$k_{obs} /$ $10^5 \text{ s}^{-1}$
0,37	2,56	0,16	5,22	0,29	3,08	4,35	87,50
0,38	3,44	1,55	8,06	0,58	3,43	43,50	153,0
0,55	3,20	15,5	12,7	1,55	5,01		
0,73	4,64			3,45	7,78		
0,76	4,61			5,75	10,20		
1,47	4,75			7,73	12,60		
3,02	8,57						
3,66	7,93						
7,33	9,34						
11,00	10,30						
34,60	11,70						
37,80	11,60						
43,20	11,50						

Enquanto que em acetona a dependência da constante de velocidade de decaimento do tripleto de NFA relativamente à concentração de NFA (no estado fundamental) é linear com um declive de  $1.50 \times 10^9 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$  (com  $R^2 = 0.999$ , excluindo os dois pontos de ordenada mais elevada), em acetonitrilo verifica-se que essa dependência sugere um rápido passo de pré-equilíbrio no decaimento não-radioactivo do estado tripleto (Figura 3.11).

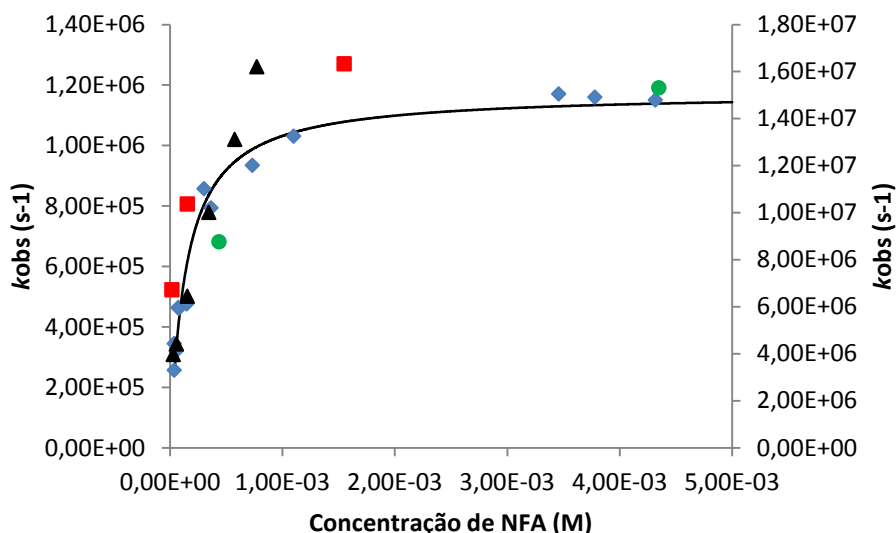
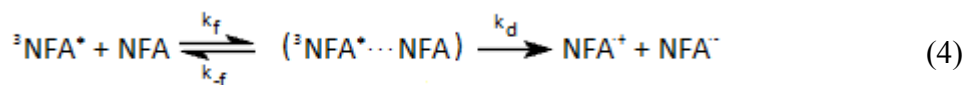


Figura 3.11 - Dependência da constante de velocidade de primeira ordem ( $k_{obs}$ ) para o decaimento do  $^3\text{NFA}^*$  relativamente à concentração de NFA (no estado fundamental) em acetonitrilo ( $\blacklozenge$ ), 1,4-dioxano ( $\blacksquare$ ), acetona ( $\blacktriangle$ ) e hexano ( $\bullet$ ). Ajuste não linear pelo método dos mínimos quadrados da eq. (5) aos pontos experimentais obtidos para a fotólise do NFA em acetonitrilo (Linha Preta). Os valores de  $k_{obs}$  em hexano encontram-se representados pelo eixo vertical do lado direito.

A adesão satisfatória dos pontos de valor mais baixo de  $k_{obs}$  (em acetonitrilo) à parte recta da linha (de regressão) obtida em acetona permite interpretar declive dessa recta como o valor aproximado de  $k_d K_f$ . Para se explicar a auto-supressão do  $^3\text{NFA}^*$  e a formação das absorções transientes de longa duração detectadas na sequência do decaimento do tripleto, adoptou-se

um mecanismo em que se presume a formação rápida, e reversível, de um excímero que posteriormente decai através de uma reacção unimolecular de transferência de electrão do  $^3\text{NFA}^*$  para o NFA.



Quando o decaimento do tripleto ocorre em condições de pseudo-primeira ordem (i.e. com  $[\text{NFA}] \gg [^3\text{NFA}^*]$ ), o pressuposto de pré-equilíbrio dá origem à eq. (4) para  $k_{\text{obs}}$ , em que  $K_f = (k_f / k_{-f})$  é a constante de equilíbrio para a formação do excímero.

$$k_{\text{obs}} = k_d K_f [\text{NFA}] / (1 + K_f [\text{NFA}]) \quad (5)$$

Um ajuste não-linear pelo método dos mínimos quadrados da eq. (5) aos pontos experimentais, obtidos para a fotólise do NFA em acetonitrilo, permitiu o cálculo de  $k_d = 1.18 \times 10^6 \text{ s}^{-1}$  e  $K_f = 7.20 \times 10^3 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1}$ . Este mecanismo de formação de um excímero tripleto que decai com produção de iões radicais foi proposto anteriormente para explicar a fotocianação nucleofílica de hidrocarbonetos aromáticos em solução (Lemmetyinen, 1983). Foi obtido um valor de  $K_f = 5.2 \times 10^2 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1}$  para a formação do excímero tripleto do fenantreno, em acetonitrilo (Lemmetyinen, 1983). Em particular, a formação de um excímero tripleto foi também invocada para explicar a distribuição de produtos (quando redução e substituição nucleofílica ocorrem simultaneamente) na foto-reacção do clorobenzeno (e de 3- e 4-cloroanisóis) em metanol (e em metanol na presença de ião cianeto) (Soumillion, et al., 1981). O anião radical e o catião radical, originados da transferência de electrão da molécula no estado tripleto para o estado fundamental do clorobenzeno (intermediada pela formação do excímero), foram considerados os precursores do produto final de redução e de substituição, respectivamente (Soumillion, et al., 1981). Por outro lado, na fotólise e radiólise *in situ* do ácido 5-bromo e ácido 5-nitro-2-furóico em solução aquosa (pH 2.0 – 13.5) tanto o radical (I) como o anião radical do ácido 5-nitro-2-furóico foram identificados (Maruthamuthu, et al., 1985), tendo sido demonstrado que o anião radical está envolvido na formação do radical (I) e que o precursor desta espécie é o catião radical supostamente formado por transferência de um electrão do  $^3\text{NFA}^*$  para uma molécula de NFA (no estado fundamental). A fotoionização da molécula a partir do estado tripleto na formação do catião radical foi experimentalmente excluída (Maruthamuthu, et al., 1985). O elevado valor obtido para  $K_f$  do excímero de NFA por comparação com o valor obtido para o fenantreno indicia a maior estabilidade do excímero tripleto do NFA. Outra evidência em favor da formação do excímero tripleto, na auto-supressão por transferência de electrão do  $^3\text{NFA}^*$ , é fornecido pelo efeito de acidade no tempo de vida do estado tripleto. Como se pode observar na Tabela 3.5 verificou-se que o tempo de vida do estado tripleto do NFA aumenta com o aumento da acidade exibindo uma dependência sigmoideal típica de uma curva de titulação ácido-base (Figura 3.12). Este resultado sugere a protonação do  $^3\text{NFA}^*$  (no grupo nitro) que é esperada ocorrer a uma

acuidade muito mais baixa que a que promove a protonação da molécula no estado fundamental<sup>4</sup>.

Tabela 3.5 – Dependência da constante de velocidade de primeira ordem ( $k_{\text{obs}}$ )<sup>a</sup> do decaimento do <sup>3</sup>NFA\* com a acuidade.

Concentração de HClO <sub>4</sub> / mol dm <sup>3</sup>	pH ou H <sub>o</sub> <sup>b</sup>	$k_{\text{obs}}$ / 10 <sup>7</sup> s <sup>-1</sup>
0,000	6,95	8,47
0,000	4,8	8,47
0,050	1,3	7,96
0,0236	0,63	7,46
0,472	0,33	7,13
0,531	0,27	7,09
0,708	-0,01	6,40
0,892	-0,14	5,84
1,027	-0,24	5,56
1,416	-0,48	4,91
1,770	-0,67	4,23
2,006	-0,78	3,24
2,054	-0,80	3,06
2,620	-1,06	2,63
2,998	-1,23	1,73
3,540	-1,49	1,70
4,001	-1,72	1,11
5,664	-2,62	0,85

<sup>a</sup> Medida para uma concentração de NFA (no estado fundamental) de  $9.0 \times 10^{-4}$  mol dm<sup>3</sup>. <sup>b</sup> Valores retirados da referência Paul, et al., 1957.

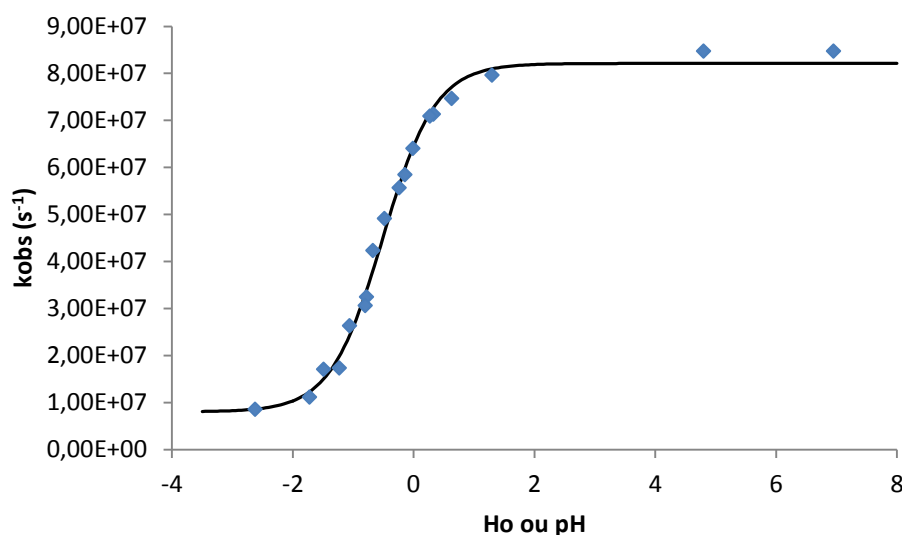


Figura 3.12 - Dependência da constante de velocidade de primeira ordem do decaimento do <sup>3</sup>NFA\* com a acuidade (♦); Ajuste não linear pelo método dos mínimos quadrados da eq. (3) aos dados experimentais (Linha Preta).

Recorrendo a um ajuste não-linear pelo método dos mínimos quadrados da eq. (6) aos valores experimentais obteve-se um valor de  $pK_a = -0.51$  que compara com o valor obtido de

<sup>4</sup> De facto, para concentrações de HClO<sub>4</sub> até 2.5 mol dm<sup>3</sup> observam-se apenas alterações mínimas no espectro de absorção uv de NFA em solução aquosa de HClO<sub>4</sub>.

-0.95 para o 2-nitrotiofeno (Martins, et al., 1988) e de -0.66 para o 1-nitronaftaleno (Martins, et al., 1991). O aumento do tempo de vida do tripleto com a acidez pode ser explicado por um aumento do potencial de redução electrónico do  ${}^3\text{NFA}^*\text{H}^+$  tornando a transferência de electrão para o NFA desprotonado mais lenta. Além disso, a provável formação de pares iónicos ( ${}^3\text{NFA}^*\text{H}^+$ )  $\text{ClO}_4^-$  pode impedir o  ${}^3\text{NFA}^*$  de se associar ao NFA, o que iria contribuir para a diminuição da velocidade de decaimento do tripleto. A fotólise (com impulsos de luz) de uma solução aquosa de NFA com  $0.53 \text{ mol dm}^{-3}$  de  $\text{HClO}_4$  não mostrou a absorção de longo tempo de vida que se observa na ausência daquela concentração de ácido, na região espectral 350 – 425 nm. A análise subsequente da solução fotolisada mostrou um decréscimo de 97% na concentração de ião nitrito libertado (em relação ao valor obtido na ausência do ácido) e a presença de 95% da concentração inicial de NFA por reagir.

$$k_{\text{obs}} = \frac{k_{\text{obs}} ({}^3\text{NFA}^*\text{H}^+)}{1 + 10^{\text{pH}-\text{p}K_a}} + \frac{k_{\text{obs}} ({}^3\text{NFA}^*)}{1 + 10^{\text{p}K_a-\text{pH}}} \quad (6)$$

Para se confirmar que o radical furiloxilo (II) é a espécie responsável pela absorção transiente de longa duração com  $\lambda_{\text{max}} = 375 \text{ nm}$  formada na fotólise do NFA em água, produziu-se a mesma absorção por irradiação (com impulsos do laser) a uma solução aquosa alcalina de 5-bromo-2-furaldeído (5BrFA). Nesse sentido, submeteu-se o 5BrFA a fotólise em solução aquosa saturada de He tendo-se observado uma absorção transiente de curto tempo de vida (Figura 3.13).

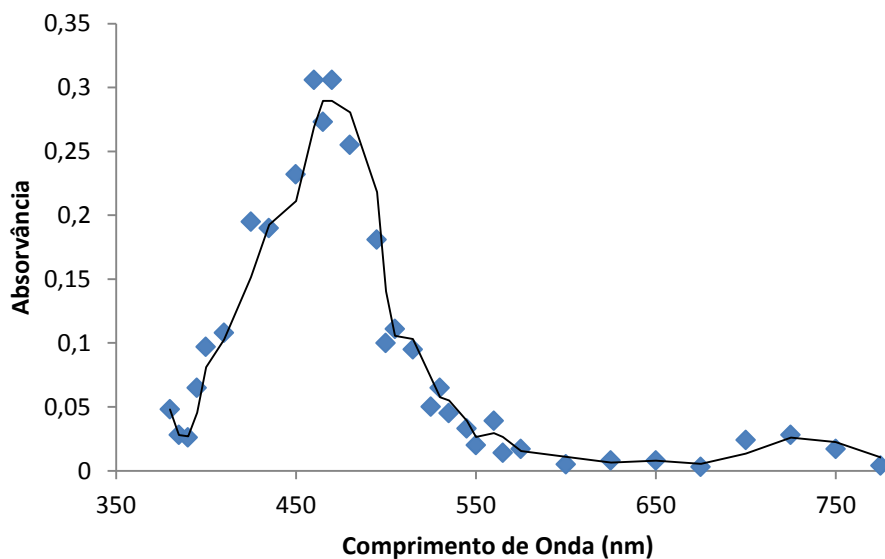


Figura 3.13 - Espectro de absorção transiente obtido na fotólise por irradiação com impulsos de luz de 355 nm de uma solução aquosa de 5BrFA ( $9.51 \times 10^{-4} \text{ M}$ ) saturada de He imediatamente após o fim do impulso do laser.

Essa absorção transiente, que apresenta um máximo a cerca de 470 nm, é atribuída ao estado tripleto de menor energia do 5-bromo-2-furaldeído ( ${}^3\text{5BrFA}^*$ ). Esta atribuição é baseada na supressão eficiente dessa absorção por  $\text{O}_2$  e na analogia com o espectro do estado tripleto de menor energia do NFA. Enquanto que na ausência de  $\text{O}_2$ , esta espécie decai totalmente 400  $\mu\text{s}$  após o fim do impulso de luz, seguindo uma cinética de segunda ordem com  $2k_2/\varepsilon_{470} = 1.87 \times 10^5 \text{ s}^{-1} \text{ cm}$ , na presença de  $[\text{O}_2] = 2.65 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$  o decaimento do estado tripleto de menor energia do 5BrFA torna-se de primeira ordem sendo possível calcular

uma constante de velocidade  $k_2 = 2.42 \times 10^9 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1}$  a partir do tempo de vida de  $1.56 \mu\text{s}$  medido para o  $^3\text{5BrFA}^*$  numa solução aquosa de 5BrFA saturada de ar a 298 K.

Observou-se que o ião hidróxido ( $\text{OH}^-$ ) reage com o  $^3\text{5BrFA}^*$  acelerando-lhe o decaimento em solução aquosa, sendo possível calcular uma constante de velocidade de segunda ordem de  $k_2 = 3.60 \times 10^6 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$  para esta reacção bimolecular. A supressão de  $^3\text{5BrFA}^*$  por reacção com o ião  $\text{OH}^-$  envolve a transferência de um electrão do  $\text{OH}^-$  para o  $^3\text{5BrFA}^*$ , como se pode concluir da química subsequente. Da oxidação monoeléctronica de  $\text{OH}^-$  geram-se radicais hidroxilo ( $\text{OH}^\cdot$ ), esperando-se que se adicionem preferencialmente ao carbono 5 do 5BrFA de maneira análoga à estabelecida para o ácido 5-bromo-2-furóico (Greenstock, et al., 1973). A eliminação do ácido bromídrico pelo produto de adição do radical  $\text{OH}^\cdot$  ao ácido 5-bromo-2-furóico (eliminação que a  $\text{pH} \leq 11.5$  predomina sobre a abertura do anel por hidrólise) origina o radical furiloxilo (I) (Greenstock, et al., 1973).

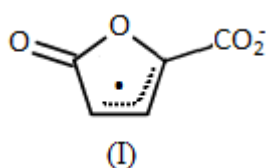
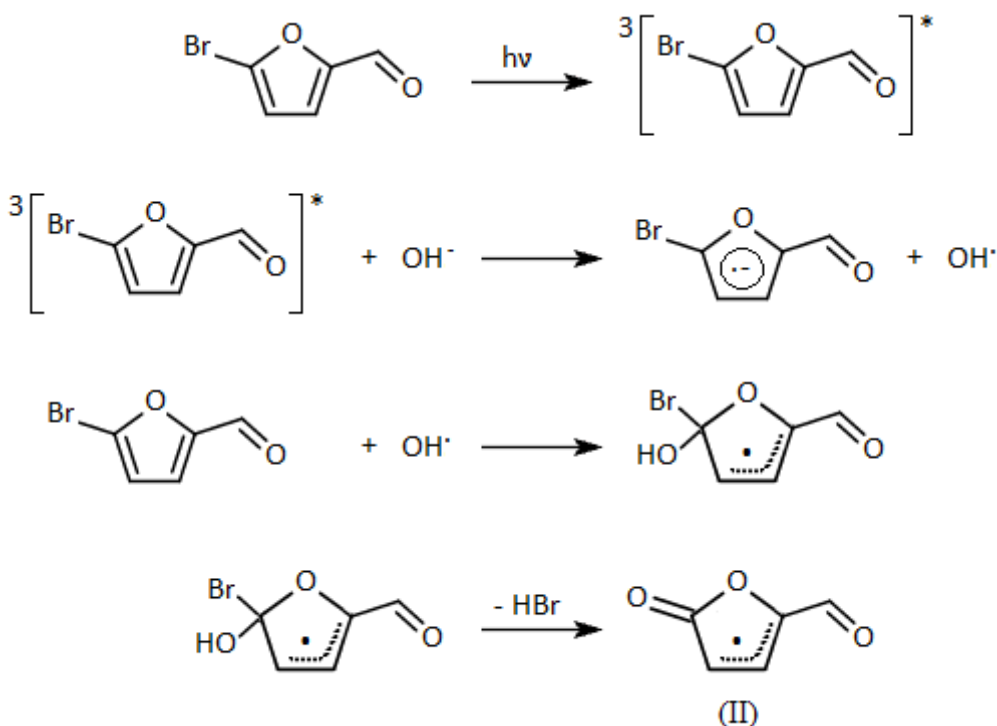


Figura 3.14 - Radical formado pela eliminação do ácido bromídrico por parte do radical resultante da adição do radical  $\text{OH}^\cdot$  ao ácido 5-bromo-2-furóico.

De maneira semelhante, a eliminação do ácido bromídrico pelo radical de adição do  $\text{OH}^\cdot$  ao 5BrFA deve originar o radical furiloxilo (II).



Esquema 3.4 – Mecanismo de formação do radical furiloxilo (II) a partir da adição do  $\text{OH}^\cdot$  ao 5BrFA e subsequente perda de ácido bromídrico.

A irradiação com impulsos de luz (de 355 nm) da solução aquosa saturada de He contendo 5BrFA ( $2.38 \times 10^{-4}$  ou  $9.51 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ ) e NaOH ( $5.40 \times 10^{-4}$  ou  $8.70 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ ) levou à substituição da absorção do estado tripleto por uma absorção transiente de longa duração com um máximo próximo dos 375 nm conforme se pode observar na Figura 3.15. É de assinalar a semelhança do espectro medido com os previamente reportados para o radical (I) (Greenstock, et al., 1973). Por esse motivo, e pela respectiva origem, atribuiu-se esta absorção transiente detectada (que permanece praticamente inalterada durante mais de 15 milisegundos após o final do impulso do laser) ao radical furiloxilo (II).

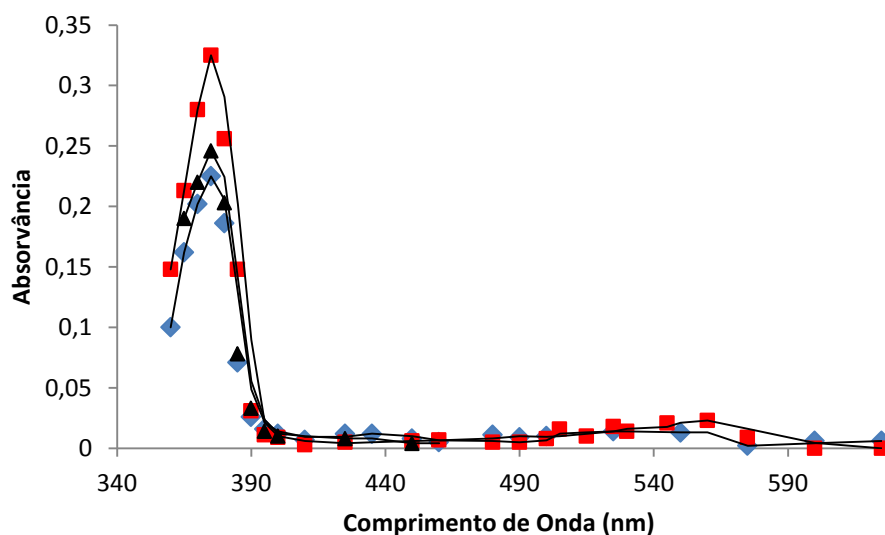


Figura 3.15 - Espectros de absorção transientes obtidos na fotólise por impulsos de luz de uma solução aquosa de 5BrFA ( $9,51 \times 10^{-4} \text{ M}$ ) e NaOH ( $5,40 \times 10^{-2} \text{ M}$ ) saturada de He  $60 \mu\text{s}$  ( $\blacklozenge$ ) e  $15 \text{ ms}$  ( $\blacktriangle$ ) após o fim do impulso do laser e de uma solução aquosa de 5BrFA ( $9,51 \times 10^{-4} \text{ M}$ ) e NaOH ( $8,70 \times 10^{-2} \text{ M}$ ) registado  $60 \mu\text{s}$  ( $\blacksquare$ ) após o fim do impulso do laser.

O uso de um substrato que reage com os radicais hidroxilo e que, por via da sua concentração e reactividade, pode consumir a maior parte dos radicais hidroxilo presentes, permitirá avaliar a interpretação proposta ao reduzir a concentração do radical (II) e, portanto, da absorção transiente correspondente. De facto, quando uma solução aquosa de 5BrFA ( $2.38 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ ) e NaOH ( $8.70 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$ ) foi irradiada com impulsos de luz de 355 nm, na presença *t*-butanol ( $0.52 \text{ mol dm}^{-3}$ ) a absorção transiente com  $\lambda_{\text{max}} = 375$  foi reduzida de um factor superior a 20 (Figura 3.16).

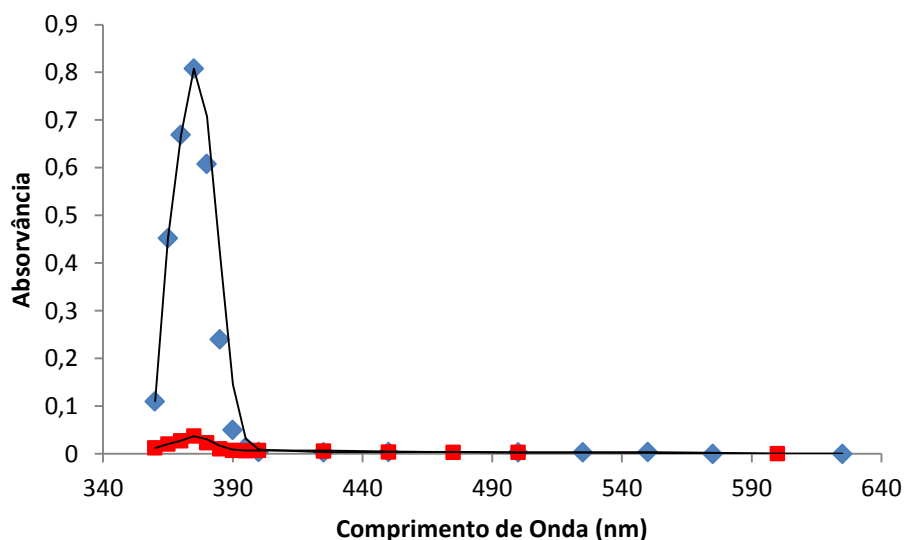


Figura 3.16 – Espectros de absorção transientes obtidos na fotólise por impulsos de luz de uma solução aquosa de 5BrFA ( $2.38 \times 10^{-4}$  M) e NaOH ( $8.70 \times 10^{-2}$  M) (♦) e na presença de 0.52 M de *t*-butanol (■) 60  $\mu$ s após o fim do impulso do laser.

Esta observação é coerente com a reacção conhecida do *t*-butanol com radicais OH $\cdot$  (com  $k_2 = 6.6 \times 10^8 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ), em que se formam radicais  $\cdot\text{CH}_2(\text{CH}_3)_2\text{COH}$  que em solução aquosa, na ausência de oxigénio, desaparecem por dimerização com uma constante de velocidade de  $2k_2 = 6 \times 10^8 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$  (Piechowski, et al., 1992; Elliot, et al., 1984). Na competição com o 5BrFA para reagir com radicais OH $\cdot$ , é de esperar que o *t*-butanol (na concentração usada) reduza a concentração do radical hidroxilo e, portanto, do radical (II), tal como foi observado.

### 3.2. Análise de Produtos

Após a irradiação de uma solução aquosa de NFA com impulsos de luz de 355 nm (do laser) procedeu-se à análise de alguns produtos da solução fotolisada. Nesse sentido realizou-se a separação cromatográfica, detecção e identificação dos principais fotoprodutos maioritários na fotólise. A separação cromatográfica realizada imediatamente a seguir à fotólise por impulsos de luz de uma solução de NFA em meio aquoso permitiu a detecção (a  $\lambda = 280$  nm) de quatro picos associados ao processo fotoquímico (Figura 3.17). A adição de anidrido acético à solução fotolisada resultou na acetilação maioritariamente de um dos fotoprodutos que originou um novo pico com tempo de retenção mais elevado ( $t_R = 9.19$  min). A hidrólise desta substância, depois de separada a correspondente fracção, deu origem ao aparecimento de um pico com tempo de retenção igual ao do fotoproduto 2 ( $t_R = 4.2$  min) (Anexos 6.4.6, Figura 6.7). A formação de um fotoproduto acetilado, em condições semelhantes, foi anteriormente reportada, tendo a substância sido identificada como 5-acetoximetileno-2-furanona (AMF) (Busker, et al., 1987). O espectro de RMN de prótons em fracção acetilada (Anexos 6.4.9, Espectro RMN 6.1) confirma a identidade da substância [dois prótons etilénicos (com  $\delta$  6.18 ppm (d, 1H,  $J = 5.00$  Hz) e 7.48 ppm (d, 1H,  $J = 5.00$  Hz)), um próton vinílico (com  $\delta$  7.23 ppm (s, 1H)) e três prótons de um grupo acetilo (com  $\delta$  2.3 ppm (s, 3H))]. A hidrólise deste composto resulta na formação da 5-hidroximetileno-2-furanona (HMF), tautómero estável a  $\text{pH} > 6$  do 5-hidroxi-2-furfural (HFA), um dos fotoprodutos maioritários da fotólise do NFA em meio aquoso.

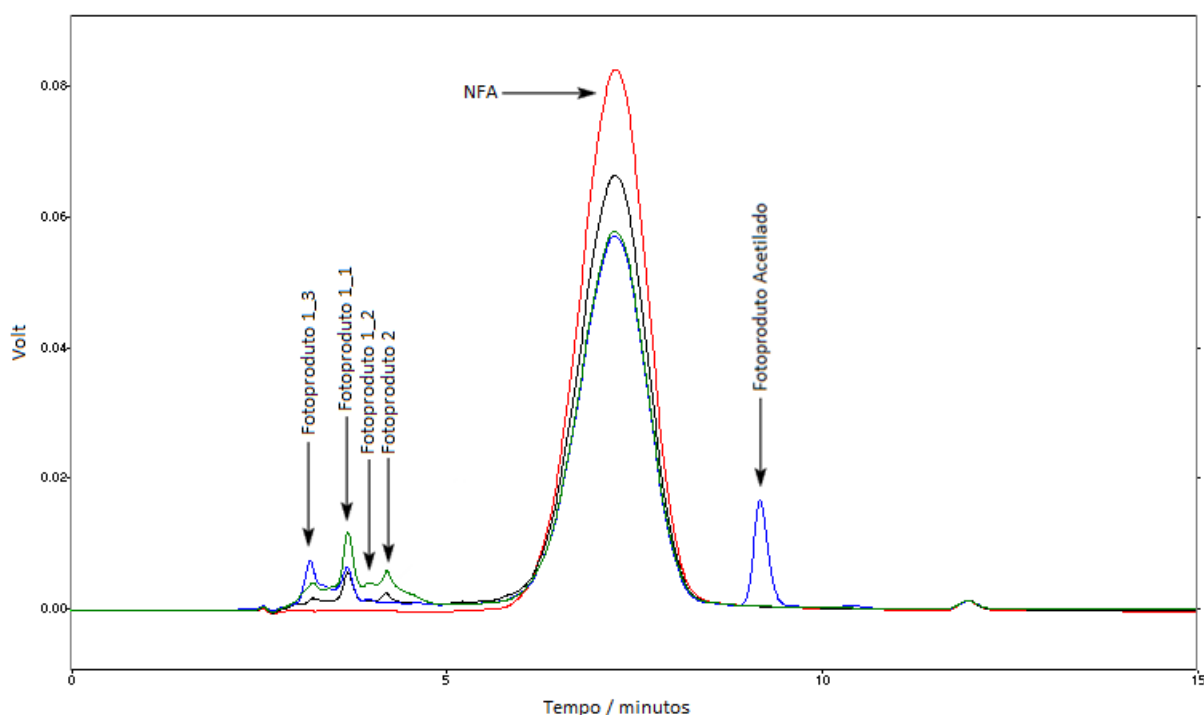


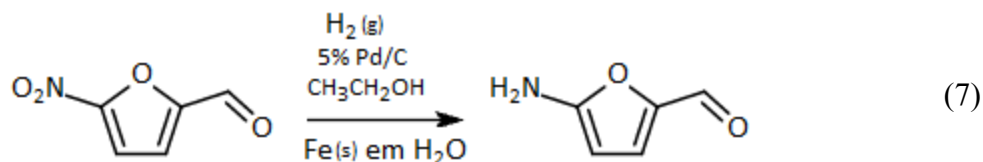
Figura 3.17 – Cromatograma de uma solução aquosa de NFA ( $9.637 \times 10^{-4}$  M) (Linha Vermelha), solução aquosa de NFA ( $9.637 \times 10^{-4}$  M) fotolisada com 15 impulsos de luz de 355 nm (Linha Preta), solução aquosa de NFA ( $9.637 \times 10^{-4}$  M) fotolisada com 30 impulsos de luz de 355 nm (Linha Verde) e solução aquosa de NFA ( $9.637 \times 10^{-4}$  M) fotolisada com 30 impulsos de luz de 355 nm após a adição de 1 gota de anidrido acético (Linha Azul).

Alguma compreensão sobre a natureza de outros fotoprodutos responsáveis pelos picos observados foi obtida procedendo à foto-redução do NFA, em condições em que se espera que



ocorra apenas foto-redução (Barltrop, et al., 1968; Sleight, et al., 1971), e também à produção do HFA (ou do seu tautómero estável HMF a  $\text{pH} > 6$ ) num sistema reaccional em que a foto-redução não ocorre.

Quando se procedeu à fotólise de NFA em propan-2-ol com impulsos de luz, observou-se a formação do anião radical de NFA e, na análise cromatográfica da solução fotolisada detectou-se acetona e 5-amino-2-furaldeído conjuntamente com outros fotoprodutos (minoritários ao  $\lambda$  de detecção) (Anexos 6.5). Aqui, a identificação do 5-amino-2-furaldeído foi feita apenas pelo espectro de absorção uv e pelo tempo de retenção ( $t_R = 3.83$  min, detectado a 350 nm) do 5-amino-2-furaldeído autêntico (produzido na redução química com ferro metálico em água ou com  $\text{H}_2$  (g) catalisado por 5% Pd sobre carbono activado em etanol (Eq. (7); Anexos 6.6). A identidade do 5-amino-2-furaldeído, obtido por redução química, foi confirmada pelo espectro de RMN de prótons ( $\delta$  9.14 ppm (s, 1H, aldeídico); 7.17 ppm (d, 1H,  $J = 2.5$  Hz, etilénico);  $\delta$  5.40 ppm (d, 1H,  $J = 3.6$  Hz, etilénico);  $\delta$  4.64 ppm (s, 2H,  $\text{NH}_2$ )) (Anexos 6.6.4, Espectro RMN 6.5).



Entre os fotoprodutos observados na fotólise do NFA em propan-2-ol, juntamente com o 5-amino-2-furaldeído, encontram-se três dos fotoprodutos observados na fotólise do NFA em meio aquoso (fotoproduto 1\_1 ( $t_R = 3.69$  min), 1\_2 ( $t_R = 3.99$  min) e 1\_3 ( $t_R = 3.28$  min)). Esta conclusão foi baseada na obtenção dos espectros de absorção uv idênticos nas fracções recolhidas (nos respectivos tempos de retenção) após a fotólise (por irradiação estacionária no reactor fotoquímico) nos dois solventes (Anexos 6.4.8, Figura 6.15; Anexos 6.5.2, Figura 6.22). A redução química do NFA por Fe (s) em água revelou a formação do fotoproduto maioritário observado na fotólise em propan-2-ol e que temperaturas mais baixas durante a redução favorecem a produção dessa mesma substância em detrimento do 5-amino-2-furaldeído (Figura 3.18).

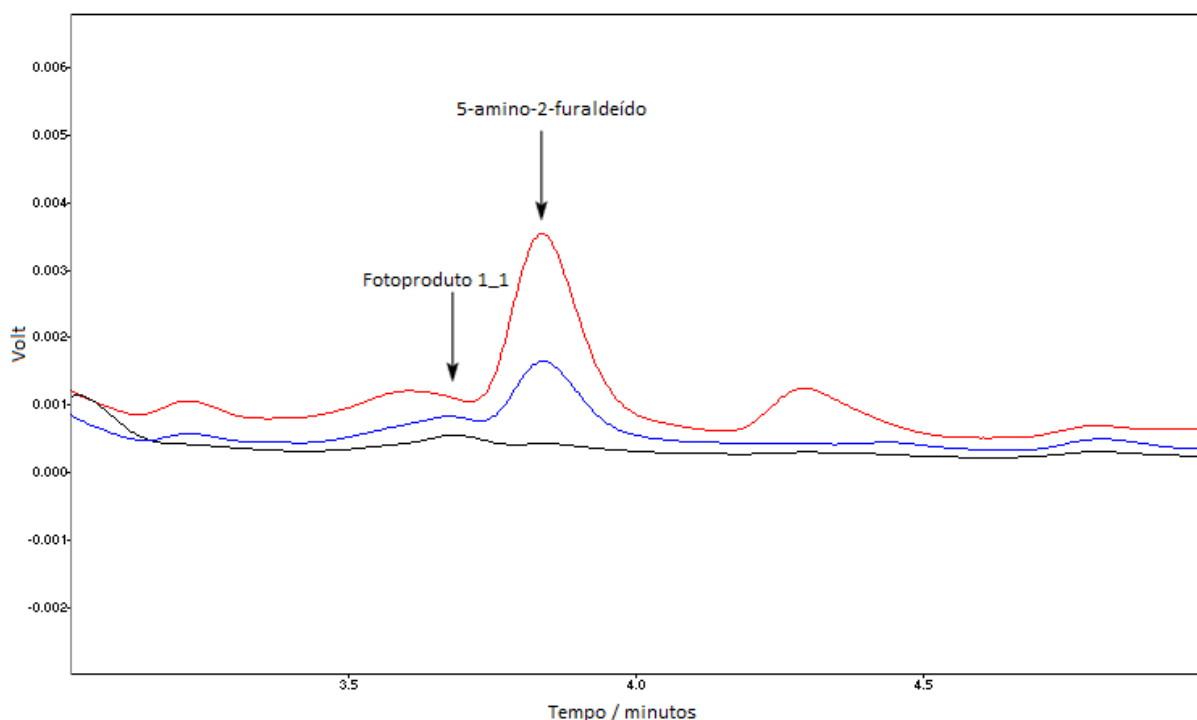


Figura 3.18 – Cromatograma da redução do NFA com Fe(s) em água em condições essencialmente anaeróbicas e na ausência de luz durante 24 horas à temperatura ambiente (Linha Vermelha), no frigorífico ( $\pm 9^{\circ}\text{C}$ ) (Linha Azul) e no congelador ( $\pm -20^{\circ}\text{C}$ ) (Linha Preta).

Enquanto que o 5-amino-2-furaldeído não foi detectado, os fotoprodutos com  $t_R$  3.69, 3.99 e 3.28 minutos foram obtidos na fotólise do NFA em água. A separação e isolamento do fotoproducto 1\_1 com  $t_R$  3.69 mostrou que este composto evolui térmica e fotoquimicamente para dar origem ao fotoproducto 1\_2 e 1\_3 mas não origina o 5-amino-2-furaldeído. Por outro lado, não foi possível obter o fotoproducto 1\_1 por oxidação do 5-amino-2-furaldeído que se revelou ser bastante estável<sup>5</sup>. Tendo em conta os resultados apresentados relativos à redução do NFA, tanto fotoquimicamente em isopropanol como termicamente por Fe (s) em água, a associação dos fotoprodutos com  $t_R$  3.69, 3.99 e 3.28 minutos à foto-redução do NFA em água parece justificada (Figura 3.19).

<sup>5</sup> Contudo, verificou-se que na ausência de luz o 5-amino-2-furaldeído reage prontamente com o ião nitrito dando origem a uma substância com tempo de retenção mais elevado.

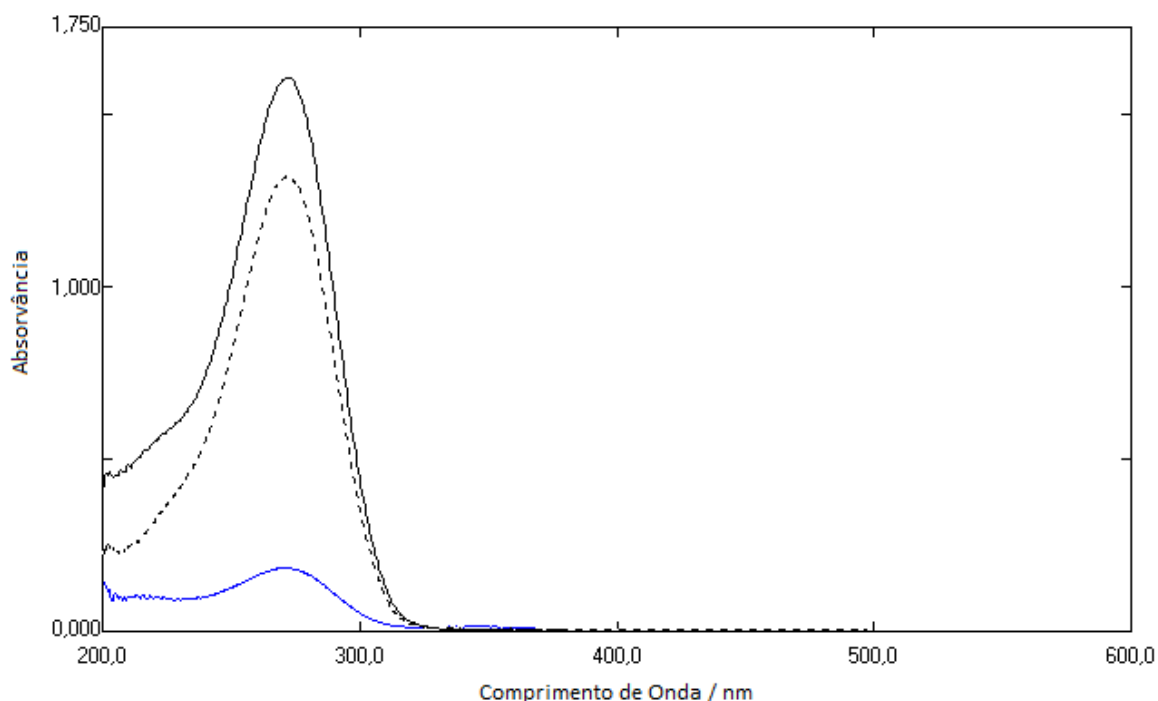
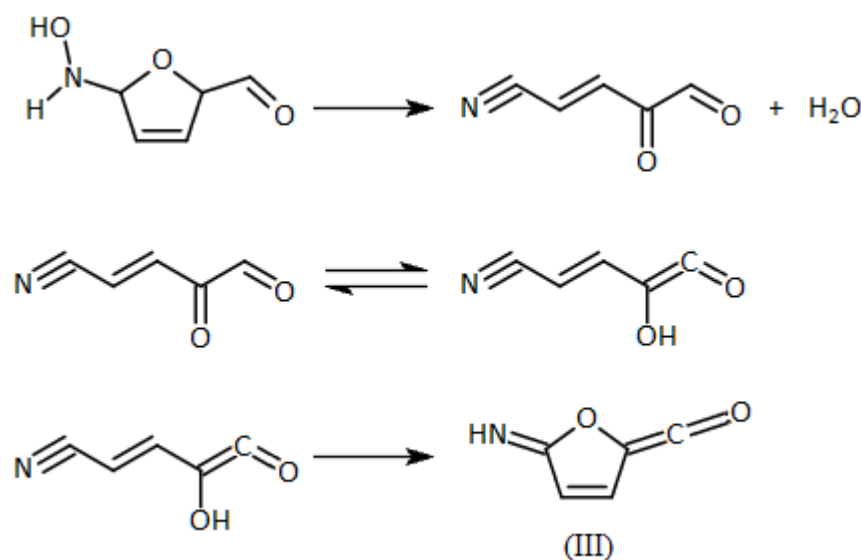


Figura 3.19 – Espectro de absorção uv da fracção com  $t_R = 3.69$  minutos obtida a partir da fotólise do NFA em água (Linha Preta) e propan-2-ol (Tracejado Preto) e por redução do NFA em água com Fe (s) (Linha Azul).

Tendo em vista a elucidação da natureza do fotoproduto com  $t_R = 3.69$  minutos procedeu-se ao isolamento da fracção apropriada e, subsequentemente, à sua análise espectroscópica. Todavia, a obtenção de uma amostra com concentração adequada sem comprometer a sua pureza revelou-se tarefa difícil, dada a falta de estabilidade térmica da substância. Não obstante, procedeu-se à medição dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  (e espectro 2D por HMQC) e do espectro vibracional no infravermelho médio (Anexos 6.5.3 e 6.5.4). A interpretação dos espectros obtidos sugere que o componente maioritário da fracção isolada (bem como dos seus contaminantes) deriva da 5-hidroxilamina-2-furaldeído. De facto, o espectro de RMN de  $^1\text{H}$  indica a existência de três tipos de protões (na proporção de 1:1:1). Dois desses tipos de protões são protões etilénicos de um anel de 2,5-di-hidrofurano ( $\delta$  6.49 ppm (d, 1H,  $J = 5.60$  Hz) e 7.37 ppm (d, 1H,  $J = 5.60$  Hz)) que, de acordo com o resultado da experiência 2D-HMQC, se encontram directamente ligados a átomos de carbono ( $\delta$  124.87 e 140.07 ppm, respectivamente). O terceiro tipo de protão observado não se encontra acoplado a nenhum carbono e apenas se pode encontrar ligado a um átomo de nitrogénio ( $\delta$  7.63 ppm (s, 1H)). O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  e a correlação 2D-HMQC mostram claramente dois tipos de átomos de carbono que não se encontram directamente ligados a protões ( $\delta$  151.78 e 165.37 ppm)<sup>6</sup>. A ausência de bandas vibracionais a 1348 e 1540  $\text{cm}^{-1}$  no espectro de infravermelho exclui o grupo nitro da estrutura molecular, enquanto que a observação das bandas a 3354, 1667 e 1334  $\text{cm}^{-1}$  está de acordo com a presença de um grupo imino. A presença do grupo etileno 1,2-dissubstituído é confirmada pela observação das bandas a 3100-3153 e 937  $\text{cm}^{-1}$  no espectro da fracção. As três bandas intensas entre 1110 and 1006  $\text{cm}^{-1}$  estão associadas a dois grupos C-H e às duas ligações C-O do anel de hidrofurano indicando a presença do mesmo na estrutura molecular da substância. As duas bandas intensas a 1795 e

<sup>6</sup> E, possivelmente, um terceiro tipo de átomo de carbono (não ligado a protões) com sinal fraco a  $\delta$  41 ppm.

1728  $\text{cm}^{-1}$  (juntamente com um ombro próximo do 1822  $\text{cm}^{-1}$ ) observada no espectro de infravermelho da fracção são bandas de diagnóstico do grupo carbonilo na estrutura da 2(5H)-furanona. Além dessas bandas, a banda forte a 1280  $\text{cm}^{-1}$  é coerente com a presença desta estrutura na fracção. Devido à elevada intensidade destas bandas, a concentração baixa de uma substância com esta estrutura produziria uma considerável contribuição para o espectro vibracional da fracção isolada. As bandas muito fracas a 2032-2000  $\text{cm}^{-1}$  são atribuídas a um grupo ceteno. Com base nestes resultados, propõe-se uma estrutura, sem carácter definitivo, para o que parece ser o componente maioritário da fracção recolhida com  $t_R$  3.69 minutos e que poderia formar-se como se segue. Uma vez formada a 5-hidroxilamina-2-furaldeído, presume-se que por desidratação ocorra abertura do anel tal como se observou na redução do nifurtimox (um 2-nitrofurano 5-substituído) pelo anião radical  $\text{CO}_2^-$  em solução aquosa (Filali-Mouhim, et al., 1991), dando origem ao 4-ciano-2-oxo-3-butenal. À semelhança do que acontece na síntese de alguns 2-aminofuranos substituídos a partir de  $\gamma$ -cetonitrilos (Ramsden, et al., 2006), pode esperar-se que a ciclização do tautómero enólico do 4-ciano-2-oxo-3-butenal (o 4-ciano-2-hidroxi-1,3-butadien-1-ona) ocorra com a formação do 2-imino-2,5-dihidrofuranilceteno (III) (Esquema 3.5). O aquecimento da solução do iminoceteno recolhido em fase móvel, realizado durante a preparação da amostra, pode promover alguma hidrólise do grupo imino a carbonilo (Karapetyan, 2012) e explicar assim a contaminação da amostra do iminoceteno (III), que é proposto ser o produto de redução com  $t_R = 3.69$  minutos <sup>7</sup>.



**Esquema 3.5 – Desidratação e abertura do anel da 5-hidroxilamina-2-furaldeído seguida da ciclização e formação do iminoceteno (III).**

A foto-reacção do 5-bromo-2-furaldeído com ião hidróxido, em solução aquosa, foi utilizada para a produção da 5-hidroxi-2-furanona. A identificação deste composto foi feita com base no espectro de absorção característico da substância, com dois máximos de elevada absorvância (a 348 nm e 346 nm) e um de menor intensidade a 434 nm, e pelo seu tempo de retenção ( $t_R = 4.2$  minutos, o mesmo do fotoproducto 2 observado na fotólise do NFA em água). Esta identificação foi confirmada pelo efeito da acidificação da solução para

<sup>7</sup> Em favor desta estrutura é a observação de alguma semelhança entre o espectro de absorção de uv-vis da fracção de  $t_R = 3.99$  minutos e o espectro de absorção de uv-vis da 2,5-furanodiona.

pH < 6, o que converte o HMF em 5-hidroxi-2-furaldeído ( $\lambda_{\text{max}} = 305 \text{ nm}$ ) (Anexos 6.7.2, Figura 6.35), como se espera do valor de  $\text{pK}_a \approx 6$  reportado por Busker, et al., 1987 para o equilíbrio tautomérico em causa. A adição de anidrido acético à solução produziu o 5-acetoximetileno-2-furaldeído, o mesmo produto acetilado observado a partir da fotólise do NFA em água com  $t_R = 9.19$  minutos e  $\lambda_{\text{max}} = 286 \text{ nm}$ . Este composto foi produzido em maior quantidade no reactor fotoquímico e purificado no sistema de HPLC semipreparativo, tanto pela fotólise do NFA em água como pela fotólise do 5BrFA em meio aquoso alcalino, e a sua identificação foi confirmada por espectroscopia de RMN de prótons (Anexos 6.7.3, Espectro RMN 6.6).

Nas experiências realizadas, verificou-se que a extensão da degradação fotoinduzida de 5BrFA na presença de NaOH aumenta com o aumento da concentração de NaOH e com o aumento do número de impulsos de laser na irradiação. Quando a fotólise do 5BrFA foi efectuada na presença do *t*-butanol observou-se uma diminuição de 87% na absorvância a 348 e 356 nm juntamente com a diminuição da extensão da destruição fotoinduzida de 5BrFA (Figura 3.20). Para além do HMF, a fotoreacção do 5BrFA com  $\text{OH}^-$  produz outros componentes minoritários (a  $\lambda = 280 \text{ nm}$ ), com tempos de retenção superiores, mas nenhum deles corresponde ao fotoproducto 1\_1 (nem aos fotoproductos 1\_2 e 1\_3 formados térmica e fotoquimicamente a partir do 1\_1). Quando uma solução aquosa de NFA fotolisada com impulsos de luz de 355 nm é armazenada no escuro (a 298 K) durante um período de tempo suficiente para garantir o desaparecimento de 80% do HFA formado, a concentração de fotoproducto 1\_1 e de NFA permanece praticamente inalterada em relação aos valores medidos imediatamente após a fotólise (Anexos 6.4.4., Figura 6.4). A transformação térmica foi acompanhada de uma redução de cerca de 25% na concentração de ião nitrito em solução.

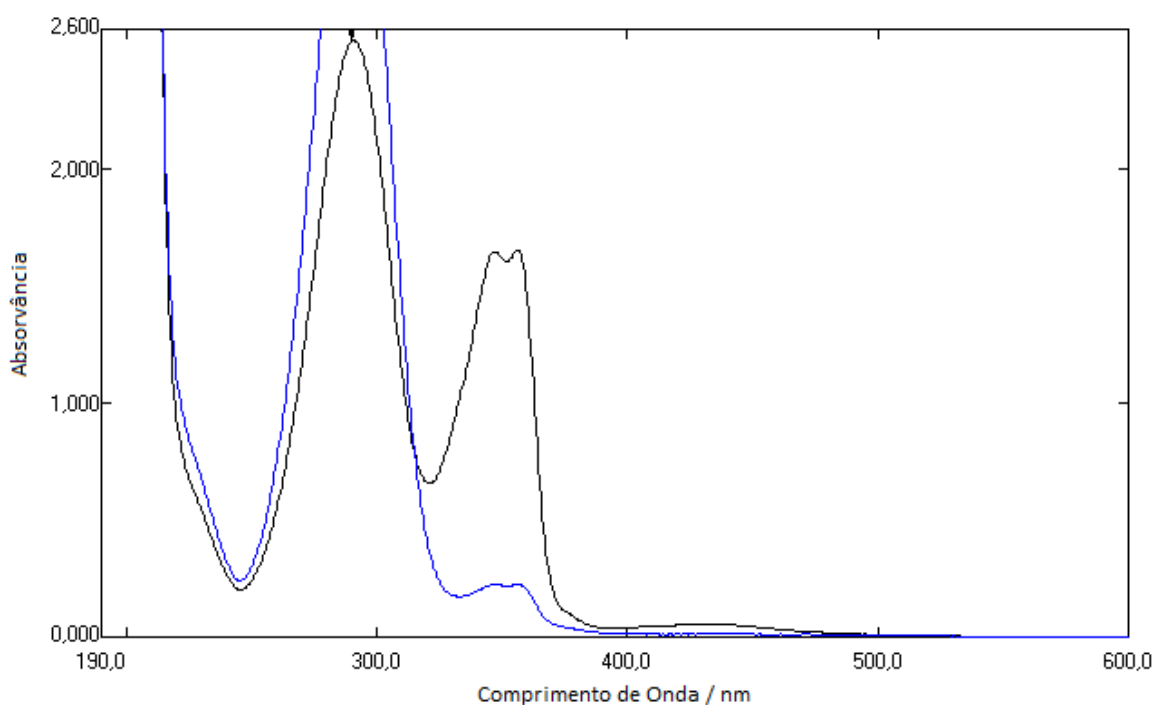
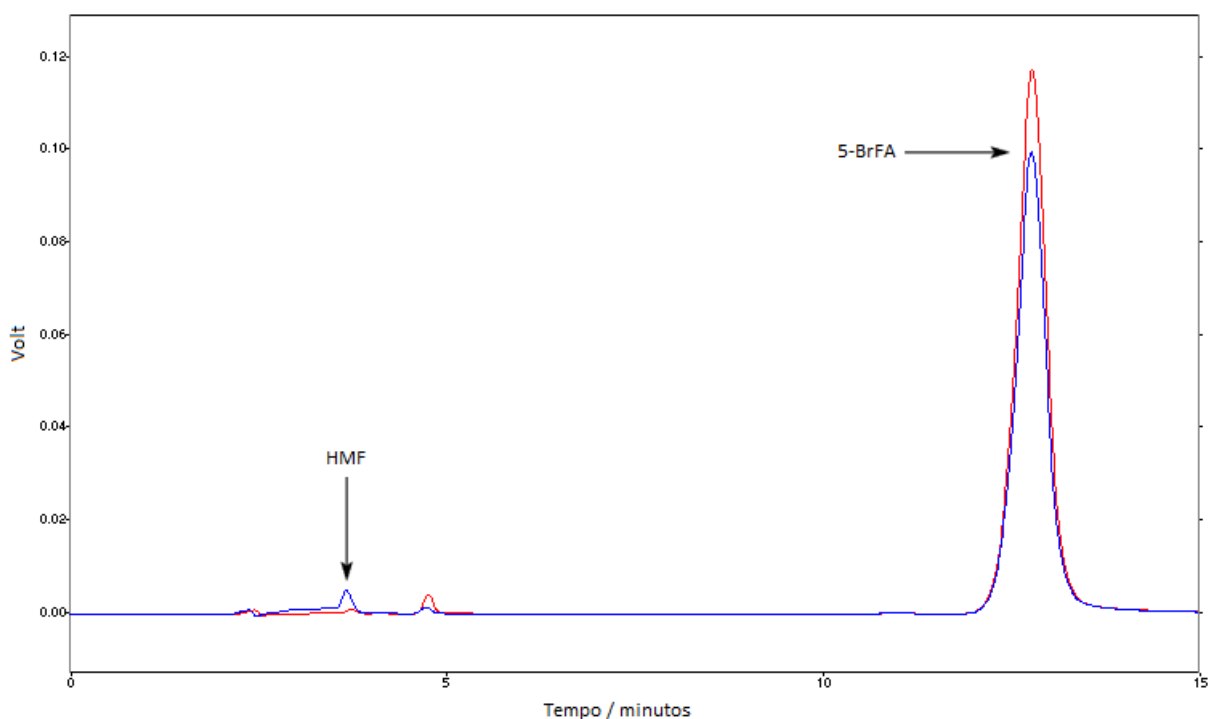


Figura 3.20 – Espectros de absorção medidos após a irradiação com 15 impulsos de luz de 355 nm de uma solução aquosa (saturada de He) contendo 5BrFA ( $2.38 \times 10^{-4} \text{ M}$ ) e NaOH ( $8.70 \times 10^{-2} \text{ M}$ ) na ausência de *t*-butanol (Linha Preta) e na presença de *t*-butanol (0.52 M) (Linha Azul).

A comparação dos cromatogramas das soluções fotolisadas (Figura 3.21) mostra que a presença do t-butanol reduziu a altura do pico da 5-hidroximetileno-2-furanona em cerca de 80%, o que está em bom acordo com o valor obtido a partir do espectro de absorção das soluções fotolisadas em condições idênticas (Figura 3.20).



**Figura 3.21 - Cromatogramas obtidos no sistema de HPLC analítico após a irradiação com 15 impulsos de luz de 355 nm de uma solução aquosa (saturada de He) contendo 5BrFA ( $2.38 \times 10^{-4}$  M) e NaOH ( $8.70 \times 10^{-2}$  M) na ausência de t-butanol (Linha Azul) e na presença de t-butanol (0.52 M) (Linha Vermelha).**

A correlação entre a concentração do radical (II) e da HMF formada na mesma solução (Figura 3.16 e Figura 3.20) sugere que o radical (II) é o precursor deste fotoproduto. De facto, a redução monoelectrónica e protonação do radical (II) (ou abstracção de átomo de H) origina o 5-hidroximetileno-2-furaldeído (ou o seu tautómero HFA, dependendo do pH). Quando uma solução aquosa de NFA fotolisada com impulsos de luz de 355 nm é armazenada no escuro (a 298 K) durante um período de tempo suficiente para garantir o desaparecimento de 80 a 95% do HFA formado (ou do seu tautómero HMF), a concentração de fotoproduto 1\_1 e de NFA diminui, no máximo, 30 e 18% respectivamente<sup>8</sup>. Parece pois, com base nos resultados apresentados, que a conversão térmica do anião radical de NFA e do radical (II) em produtos finais seguem caminhos essencialmente separados. Uma vez que tanto o anião radical NFA<sup>-</sup> como o radical (II) são detectados na fotólise com impulsos de luz do NFA em solução aquosa (Figura 3.1), é de esperar que os fotoprodutos de redução e o 5-hidroxi-2-furaldeído (ou o seu tautómero) se formem a partir da fotólise do NFA em água, como foi observado.

<sup>8</sup> O desaparecimento do HFA (ou do tautómero HMF) em solução aquosa tamponada (pH = 6.9) é mais rápido e acompanhado pela libertação de ião nitrito, ao passo que, em solução aquosa não tamponada (pH ≈ 4.8) se verifica o consumo de ião nitrito. Adicionalmente, verifica-se a formação de diferentes produtos em cada caso conforme se pode observar nos cromatogramas das soluções (Anexos 6.4.4.; Figura 6.4 e Figura 6.5).

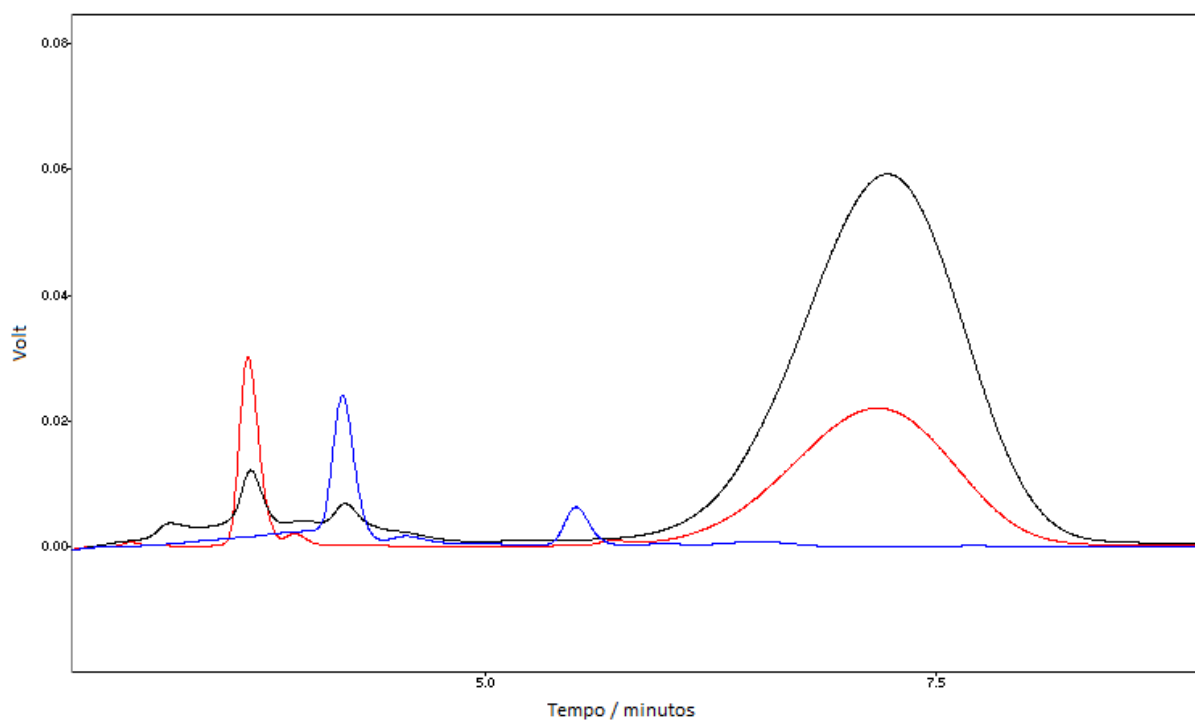
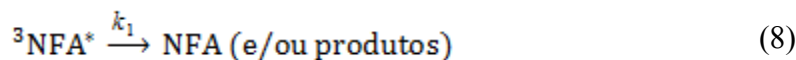


Figura 3.22 – Cromatograma de uma solução de NFA ( $9.64 \times 10^{-4}$  M) saturada de He fotolisada em água (Linha Preta), em propan-2-ol (Linha Vermelha) e de uma solução de 5BrFA ( $9.94 \times 10^{-4}$  M) e NaOH ( $5.01 \times 10^{-2}$  M) fotolisada em água (Linha Azul).

### 3.3. Energia e Potencial de Redução Monoeléctronica do Estado Tripleto de Menor Energia do 5-Nitro-2-furaldeído

Todas as constantes de velocidade de segunda ordem ( $k_2$ ) para a reacção bimolecular de  $^3\text{NFA}^*$  com os substratos adicionados (S) foram obtidas a partir do esquema cinético abaixo (onde estão contempladas as possíveis vias de desaparecimento do  $^3\text{NFA}^*$ ).



A reacção (8) representa todos os possíveis processos de primeira ordem que concorrem para desactivar o  $^3\text{NFA}^*$  (num dado solvente). De acordo com este esquema, a expressão diferencial para a velocidade de desaparecimento do  $^3\text{NFA}^*$  (cuja formação se considera completa no fim do impulso) é dada pela eq. (10).

$$-\frac{d [^3\text{NFA}^*]}{dt} = k_1[^3\text{NFA}^*] + k_2[\text{S}][^3\text{NFA}^*] \quad (10)$$

Nas condições experimentais usadas na medição destas constantes de velocidade,  $[\text{S}] \gg [^3\text{NFA}^*]_0$ , (em que  $[^3\text{NFA}^*]_0$  é a concentração de  $^3\text{NFA}^*$  no início do decaimento do estado tripleto), a reacção (9) torna-se de pseudo-primeira ordem em relação ao  $^3\text{NFA}^*$ . Assim, a integração da eq. (10) conduz à solução (depois da substituição  $[^3\text{NFA}^*]_t = A_t/\varepsilon_\lambda l$ , em que  $A_t$  é a absorvância do  $^3\text{NFA}^*$  a  $\lambda$  no instante  $t$  depois do início do decaimento do estado tripleto)  $-\ln A_t = (k_1 + k_2[\text{S}])t + \text{constante}$ . Da representação gráfica de  $-\ln A_t$  vs  $t$  obtém-se  $k_{\text{obs}} = k_1 + k_2[\text{S}]$ . A partir do conjunto de valores de  $k_{\text{obs}}$  para um intervalo de valores de S é possível obter  $k_2$  como o declive da recta  $k_{\text{obs}}$  vs  $[\text{S}]$ . Como exemplo, mostra-se a representação gráfica de  $k_{\text{obs}}$  em relação à concentração do substrato para a supressão de  $^3\text{NFA}^*$  pela 2'-aminoacetofenona (Figura 3.23).

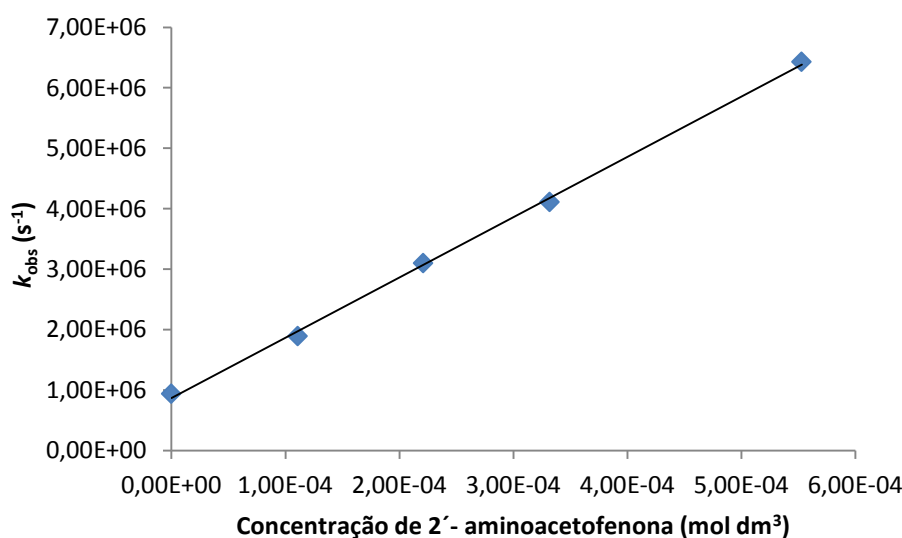


Figura 3.23 – Dependência de  $k_{\text{obs}}$  (medida para o decaimento de  $^3\text{NFA}^*$  a 475 nm) em relação à concentração da 2'-aminoacetofenona, na supressão de  $^3\text{NFA}^*$  por 2'-aminoacetofenona em acetona.



De modo a determinar a energia de excitação ( $E_T$ ) do estado tripleto de menor energia de NFA, mediu-se um conjunto de constantes de velocidade de segunda ordem para a transferência de energia tripleto-tripletto (Tabela 3.6). Uma vez que tanto a supressão do tripleto do criseno pelo NFA como a supressão do  $^3\text{NFA}^*$  pela 2'-aminoacetofenona ocorrem com velocidades praticamente controladas por difusão, concluiu-se que não ocorre transferência inversa de energia do tripleto (Sandros, 1964). Assim, pode presumir-se que a energia do estado tripleto do NFA se encontra equidistante das energias dos estados tripleto da 2'-aminoacetofenona e do criseno, obtendo-se um valor para a energia do estado tripleto mais baixo do NFA de  $238 \pm 2 \text{ kJ mol}^{-1}$ . É de esperar uma incerteza maior do que a indicada neste tipo de determinação de  $E_T$ . Contudo, dentro da exatidão do método, o valor obtido para a energia do estado tripleto mais baixo do NFA é igual aos anteriormente estimados para o ácido 5-nitro-2-furóico (Kemp, et al., 1981) e para a N-(N-butil)-5-nitro-2-furamida (Martins, et al., 1984).

Tabela 3.6 – Dados obtidos sobre a transferência de energia<sup>(a)</sup> do  $^3\text{NFA}^*$  em solução<sup>(b)</sup> a 298 K.

(a) Redução do  $^3\text{NFA}^*$  por aceitadores de energia do tripleto

Aceitador	$k_2 / 10^9 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$	$E_{T,\text{aceitador}} / \text{kJ mol}^{-1}$	$\lambda_{\text{observado}} / \text{nm}$
oxigénio	0,77 <sup>c</sup>	94 <sup>d</sup>	475
	0,89 <sup>e,c</sup>		475
	22,32 <sup>f,c</sup>		475
ferroceno <sup>e</sup>	17,54	159	475
	16,92		375
1-aminonaftaleno	17,87	229	475
4-nitroanilina	7,44	232	475
N-metil-4-nitroanilina	8,41	235	475
1-naftaldeído	>1,04 <sup>g</sup>	235	475
2'-aminoacetofenona	9,98	236	475

(b) Redução dos dadores de energia do tripleto pelo NFA

Dador	$k_2 / 10^9 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$	$E_{T,\text{dador}} / \text{kJ mol}^{-1}$	$\lambda_{\text{observado}} / \text{nm}$
criseno	8,30	239	570
p-terfenilo	6,55	244	450
1-fenilnaftaleno	7,26	246	470

<sup>a</sup> Energia do estado tripleto ( $E_T$ ) da referência Montalti, et al., 2006, excepto outra indicação. <sup>b</sup> Medição em acetona, excepto outra indicação. <sup>c</sup> Corrigido para o tempo de vida no solvente e usando a concentração de  $\text{O}_2$  reportada para solvente saturado de ar a 298 K (Montalti, et al., 2006). <sup>d</sup> Valor retirado da referência Herzberg, 1950. <sup>e</sup> Medição em acetonitrilo. <sup>f</sup> Medição em hexano. <sup>g</sup> Espectro de absorção  $T_n - T_1$  do 1-naftaldeído possui uma ampla banda com  $\lambda_{\text{max}} = 490 \text{ nm}$  que torna difícil a medição de  $k_2$  para este substrato.

Usando a correlação linear<sup>9</sup> anteriormente reportada por Meisel, et al., 1975, entre o potencial de redução monoelectrónica em solução aquosa a pH 7 (versus o eléctrodo padrão de hidrogénio, SHE) e a constante de desdobramento hiperfino  $a^{\text{N}}_{\text{NO}_2}$ , atendendo ao valor medido de  $a^{\text{N}}_{\text{NO}_2} = 9.73 \times 10^{-4} \text{ T}$  para o anião radical de NFA (Greenstock, et al., 1976), é possível obter uma estimativa de  $E_7^1 = -0.205 \text{ V vs. SHE}$  para o NFA. Partindo do

<sup>9</sup> Após a adição de alguns valores à correlação, a equação torna-se  $E_7^1$  (em Volt vs SHE) =  $0.03102 - 0.0529 \times 10^4 \times a^{\text{N}}_{\text{NO}_2}$ , com  $a^{\text{N}}_{\text{NO}_2}$  em unidades Tesla.

pressuposto que a variação de entropia na excitação é desprezável, o potencial de redução monoelectrónica estimado para o estado tripleto de menor energia do NFA em solução aquosa neutra é de  $E_7^1(^3\text{NFA}^*/\text{NFA}^-) = 2.26 \text{ V vs. SHE}$ .

### 3.4. Oxidação Monoeléctronica de Nucleófilos Inorgânicos pelo Estado Tripleto de Menor Energia do 5-Nitro-2-furaldeído.

A interacção do estado tripleto de menor energia do NFA com aniões inorgânicos fornece evidência adicional em favor do mecanismo de auto-supressão (por transferência de electrão) do  $^3\text{NFA}^*$ . Estes aniões, usados como nucleófilos, aceleram o decaimento do  $^3\text{NFA}^*$  com constantes de velocidade de segunda ordem  $k_2 \geq 1 \times 10^9 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ , que correlacionam com o potencial de redução monoeléctronica do radical do nucleófilo (Tabela 3.7). A reacção do  $^3\text{NFA}^*$  com este tipo de substrato envolve a transferência de um electrão do anião inorgânico para o  $^3\text{NFA}^*$ . Esta conclusão foi confirmada pela observação tanto do radical  $\text{NFA}^{\cdot-}$  como do radical formado pela oxidação monoeléctronica do anião inorgânico (ou dos seus derivados) em soluções em que o  $^3\text{NFA}^*$  é fortemente suprimido (na presença de uma concentração elevada do anião inorgânico). Uma vez separados, estes radicais transferem de volta o electrão regenerando o NFA inicial e o anião inorgânico, conforme se concluiu a partir da medição da absorvância transiente e da análise de produtos.

**Tabela 3.7 – Constantes de velocidade de segunda ordem ( $k_2$ ) para a reacção do  $^3\text{NFA}^*$  com aniões inorgânicos (D) em solução aquosa (medidas a 293 K)**

D	(numeração)	$k_2 / \text{dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$	$E_7^1 (\text{D}^+ / \text{D}) / \text{V}$ vs. SHE <sup>a</sup>	$E_7^1 (\text{D}_2^{\cdot-} / 2\text{D}^-) / \text{V}$ vs. SHE <sup>a</sup>
$\text{Cl}^-$	(1)	$1,06 \times 10^9$ $2,09 \times 10^{9b,d}$	$2,20^c$	2,300
$\text{HO}^-$	(2)	$2,60 \times 10^{9b,e}$	$2,11^c$	0,6 to 0,7 <sup>f</sup>
$\text{OCN}^-$	(3)	$2,33 \times 10^9$ $2,29 \times 10^{9b}$	$2,18^c$	
$\text{Br}^-$	(4)	$4,13 \times 10^{9b}$ $4,15 \times 10^9$	$1,904^c$	1,660
$\text{SCN}^-$	(5)	$5,14 \times 10^9$	1,620	1,330
$\text{N}_3^-$	(6)	$3,79 \times 10^{9b}$	1,330	1,903
$\text{I}^-$	(7)	$6,32 \times 10^9$	1,270	1,040
$\text{NO}_2^-$	(8)	$2,26 \times 10^9$	1,030	

<sup>a</sup> Valores retirados da referência Wardman, 1989. <sup>b</sup> Solução tamponada <sup>c</sup> Valores retirados da referência Martins, et al., 1984. <sup>d</sup> Medição em solução aquosa com  $\text{HClO}_4$   $3.54 \text{ mol dm}^{-3}$ . <sup>e</sup> Medição em metanol. <sup>f</sup> Potencial de redução monoeléctronica do par  $(\text{O}_2\text{NHNCO}^{\cdot-}) / 2\text{NCO}^-$ ,  $\text{HO}^-$  retirado da referência Alfassi, et al., 1987.

Assim, quando o  $^3\text{NFA}^*$  é completamente reduzido pelo anião de tiocianato ( $\text{SCN}^-$ ) e a absorção é medida imediatamente após o fim do impulso de luz do laser, apenas se observam duas espécies transientes, o radical anião  $\text{NFA}^{\cdot-}$  ( $\lambda_{\text{max}} = 400 \text{ nm}$ ) e o radical anião dimérico do tiocianato  $(\text{SCN})_2^{\cdot-}$  ( $\lambda_{\text{max}} \approx 495 \text{ nm}$  (Hug, 1981)) (Figura 3.24).

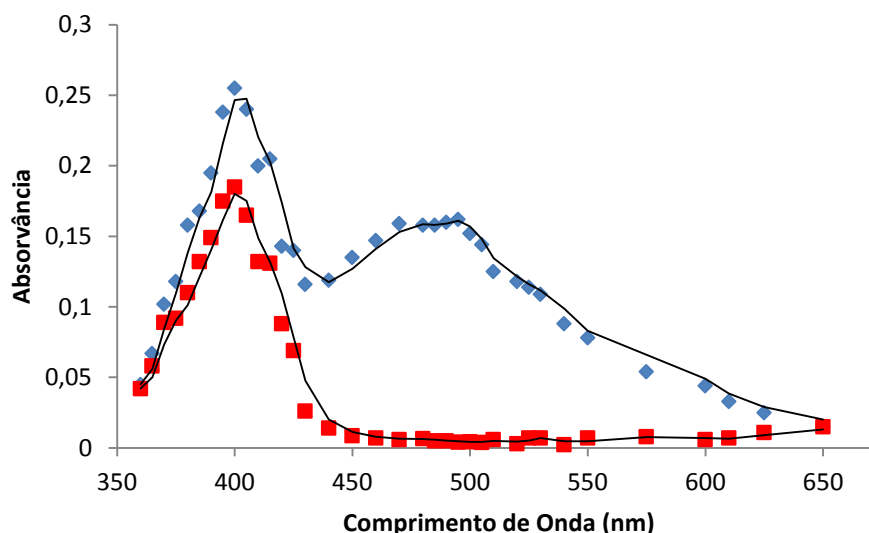
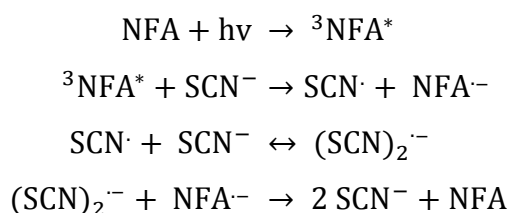


Figura 3.24 - Espectros de absorção transientes obtidos na fotólise por impulsos de luz de uma solução aquosa de NFA ( $9.47 \times 10^{-4}$  M) e KSCN (2.685 M), saturada de He, imediatamente (♦) e 100  $\mu$ s (■) após o fim do pulso do laser.

A formação do radical dimérico  $(\text{SCN})_2^{\cdot-}$  num equilíbrio (com  $K = 2 \times 10^5 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1}$ ) a partir da reacção do radical  $\text{SCN}^{\cdot}$  com o anião  $\text{SCN}^-$  ( $k_2 = 9 \times 10^9 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ), e subsequente desproporção de segunda ordem, está bem estudada (Milosavljevic, et al., 2005 e suas referências). Contudo, no sistema em estudo, verificou-se que o decaimento do  $(\text{SCN})_2^{\cdot-}$  segue uma cinética estritamente de primeira ordem com  $k_{\text{obs}} = (6.62 \pm 0.56) \times 10^4 \text{ s}^{-1}$ . Para verificar este resultado, presume-se que o decaimento do radical  $(\text{SCN})_2^{\cdot-}$  (envolvendo a reoxidação do  $\text{NFA}^{\cdot-}$  a NFA) ocorre ao mesmo tempo que a sua desproporção, à semelhança do que acontece no sistema  $\text{SCN}^- / \text{UO}_2^{2+}$  (Burrows, et al., 1976). Esta interpretação é coerente com a existência de  $\text{NFA}^{\cdot-}$  após o decaimento completo dos radicais  $(\text{SCN})_2^{\cdot-}$  (como se mostra na Figura 3.24) e explica a cinética de pseudo-primeira ordem observada para o decaimento do radical dimérico.



Esquema 3.6 – Formação e decaimento do radical dímero de tiocianato  $(\text{SCN})_2^{\cdot-}$ , no sistema em estudo.

A partir do valor  $\epsilon_{400} = 3.6 \times 10^3 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  do NFA (Greenstock, et al., 1976) é possível estimar a concentração de  $\text{NFA}^{\cdot-}$  existente durante o decaimento do radical  $(\text{SCN})_2^{\cdot-}$  e obter uma constante de velocidade de segunda ordem de  $k_2 = 1.29 \times 10^9 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$  para a reoxidação do  $\text{NFA}^{\cdot-}$  a NFA por parte do radical dimérico. Este valor parece termodinamicamente razoável tendo em conta os potenciais de redução dos pares  $(\text{SCN})_2^{\cdot-} / 2 \text{SCN}^-$  ( $E_7^1 = 1.330 \text{ V vs SHE}$ ) (Wardman, 1989) e  $\text{NFA} / \text{NFA}^{\cdot-}$  ( $E_7^1 = -0.205 \text{ V vs SHE}$ ). A reoxidação do  $\text{NFA}^{\cdot-}$  a NFA é confirmada pela análise cromatográfica que mostra que, nas condições da experiência, cerca de 87% do NFA foto-reagido em água é regenerado quando a irradiação de luz é efectuada na presença de KSCN (nas mesmas condições de fotólise). A análise da solução fotolisada de NFA e KSCN fornece uma importante informação adicional sobre a substituição nucleofílica do grupo nitro em solução aquosa revelando que, quando a

supressão completa do  $^3\text{NFA}^*$  é obtida na presença de elevada concentração de KSCN, praticamente não ocorre formação de HFA (redução de cerca de 99%) e de ião nitrito (redução de cerca de 94%). Ao mesmo tempo, verifica-se uma redução de aproximadamente 87% na concentração do fotoproduto de redução 1\_1 por comparação com a concentração medida na ausência de KSCN (Figura 3.25). Estes resultados estão de acordo com o que se espera do mecanismo proposto, em que a supressão completa do estado tripleto de menor energia do NFA apenas dá origem à formação de  $\text{NFA}^{\cdot-}$ , evitando assim a formação dos fotoprodutos derivados do catião radical (HFA e ião nitrito). Como seria de esperar, de acordo com aquele mecanismo, a formação da absorção transiente de longa duração, com  $\lambda_{\text{max}} = 375$  nm, atribuída ao radical (II) não foi observada. Além disso, a regeneração de NFA na presença do KSCN devido à reoxidação do  $\text{NFA}^{\cdot-}$  a NFA, por parte do  $(\text{SCN})_2^{\cdot-}$ , como se disse atrás, apenas pode ser obtida em detrimento da formação de fotoproduto 1\_1 (Figura 3.25).

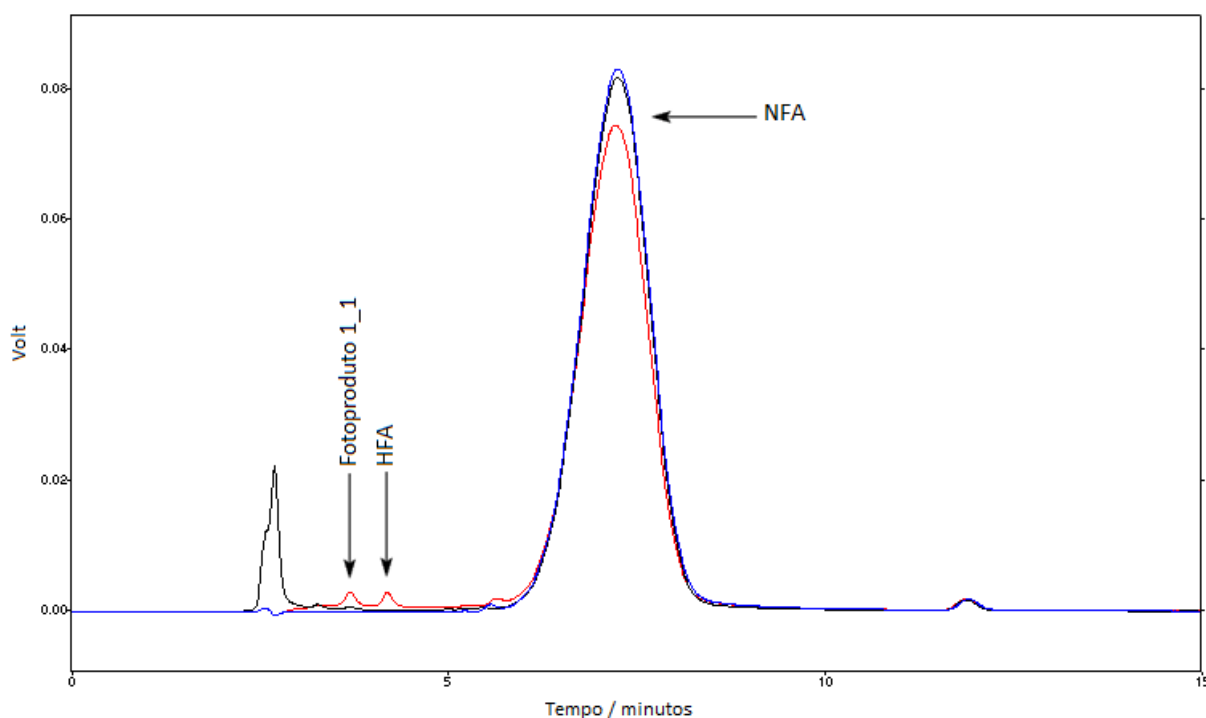


Figura 3.25 – Cromatograma de uma solução aquosa de NFA ( $9.53 \times 10^{-4}$  M) (Linha Azul) fotolisada com 9 impulsos de luz de 355 nm (Linha Vermelha) e solução aquosa de NFA ( $9.53 \times 10^{-4}$  M) e KSCN (2.148 M) fotolisada com 9 impulsos de luz de 355 nm do laser (Linha Preta).

Na fotólise do NFA na presença do ião azeto e iodeto os resultados obtidos são semelhantes aos da fotólise na presença de ião KSCN. Deste modo, quando se obteve a supressão completa do estado tripleto, verificou-se uma regeneração de 99 e 90% do NFA acompanhada de uma redução total e de 89% do fotoproduto 1\_1 na presença de azeto e iodeto, respectivamente. De notar ainda que nestas condições não foi detectada a formação de HFA nem de ião nitrito (ou de apenas 2% deste). Quando se obtém a supressão completa do estado pelo ião iodeto, a absorção do estado tripleto é substituída por uma absorção transiente de longa duração que pode ser atribuída a iões radicais  $\text{I}_2^{\cdot-}$  ( $\lambda_{\text{max}} = 375$  nm) e ao  $\text{NFA}^{\cdot-}$  ( $\lambda_{\text{max}} = 400$  nm) (Greenstock, et al., 1976; Hug, 1981) (Figura 3.26). Quando o substrato presente na fotólise é o ião cianato, em condições comparáveis de irradiação e medição, observou-se apenas uma regeneração de 31% do NFA juntamente com uma redução de 33% na concentração do fotoproduto com  $t_R = 3.69$  minutos, provavelmente refletindo a menor

capacidade oxidante do radical cianato (*cf.* Tabela 3.7). A menor redução observada para a concentração do ião nitrito (50%) em relação à diminuição da concentração do HFA (85%) pode ser explicada pela substituição fotoinduzida do grupo nitro pelo cianato. Embora não se tenha detectado outro produto dessa foto-substituição, o ião cianato é conhecido por ser um forte nucleófilo que substituiu o grupo nitro do 2-nitrotiofeno (Groen, et al., 1974).

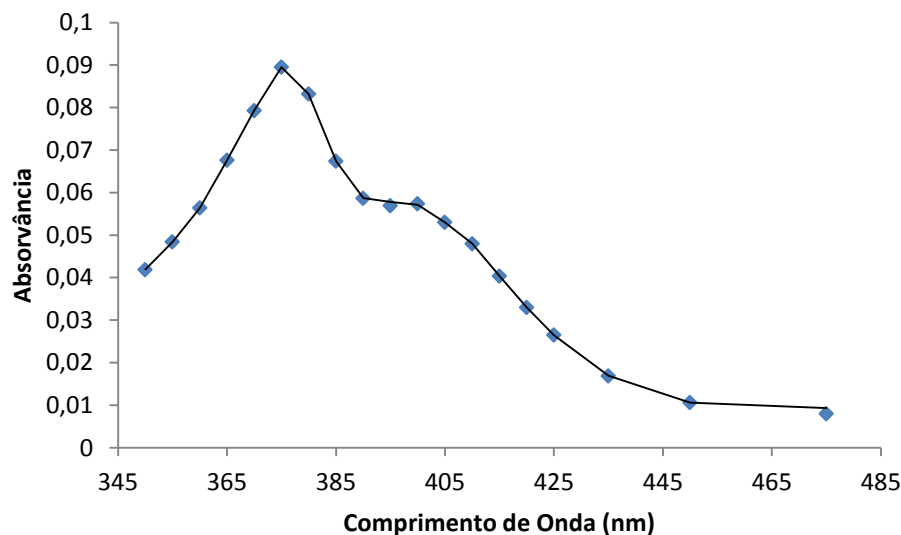


Figura 3.26 – Espectro de absorção transiente obtido na fotólise por impulso de luz de uma solução aquosa de NFA ( $9.55 \times 10^{-4}$  M) e KI (1.03 M), saturada de He, imediatamente e 100 ns (♦) após o fim do impulso do laser.

Contrariamente ao que se observou com outros aniões, quando o  ${}^3\text{NFA}^*$  é totalmente suprimido por iões cloreto e iões brometo, a extensão de regeneração do NFA é menor do que seria de esperar tendo em conta a redução observada para o HFA (Figura 3.27). Este resultado pode ser explicado pela reacção do  $\text{Cl}^\bullet$  com o NFA (provavelmente por adição à ligação dupla carbono-carbono) em competição com o  $\text{Cl}^-$  que ao gerar menos  $\text{Cl}_2^{\bullet-}$  promoveria a reoxidação do  $\text{NFA}^{\bullet-}$  a NFA numa extensão menor.

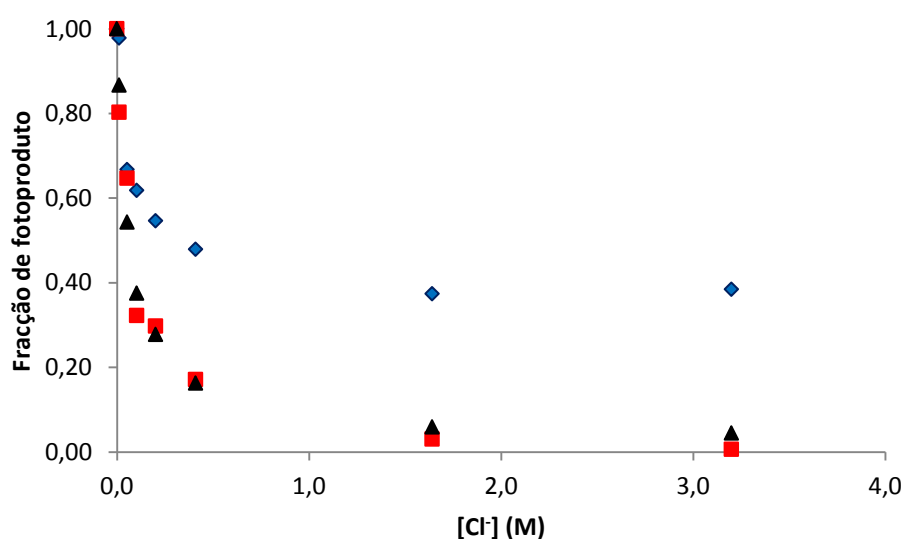


Figura 3.27 – Dependência da fracção de fotoproductos, formada na irradiação com 9 impulsos de luz de 355 nm de uma solução aquosa de NFA ( $9.14 \times 10^{-4}$  M) e NaCl/KCl, com a concentração de  $\text{Cl}^-$ . Fotoproducto 1\_1 (♦), HFA (■) e ião nitrito (▲). A concentração de nitrito foi corrigida para a concentração de nitrito na solução antes da fotólise ( $[\text{HNO}_2]_i = 4.35 \times 10^{-6}$  M).

Em condições de fotólise em que a concentração do íon  $\text{Cl}^-$  é suficiente para assegurar que todo o estado tripleto de menor energia do NFA formado é suprimido, verificou-se uma diminuição de mais de 90% na absorvância a 375 nm, maioritariamente atribuída ao radical (II). Foi demonstrado, num trabalho anterior, que o íon cloreto foto-substitui o grupo nitro do NFA, dando origem ao 5-cloro-2-furaldeído juntamente com íon nitrito e HFA na fotólise do NFA na presença de NaCl (Busker, et al., 1987). No presente trabalho, verificou-se que a concentração de CFA aumenta com o aumento da concentração de íon  $\text{Cl}^-$  mas que o seu valor é sempre inferior à concentração de íon nitrito. Além disso, observou-se que a razão entre a concentração de CFA formada e de íon nitrito libertado aumenta com o aumento da concentração do íon cloreto e à medida que a concentração de HFA diminui (Figura 3.28).

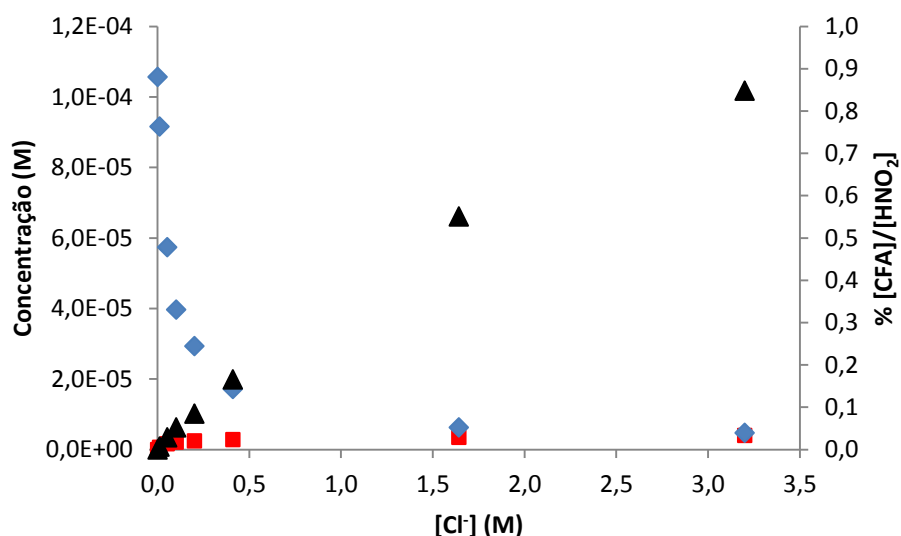


Figura 3.28 – Dependência da concentração de nitrito (◆), CFA formado (■) e da razão  $[\text{CFA}]/[\text{HNO}_2]$  (▲) com a concentração de íon cloreto presente na irradiação com 9 impulsos de luz de 355 nm de uma solução aquosa de NFA ( $9,14 \times 10^{-3}$  M) e NaCl, saturada de He. A concentração de nitrito foi corrigida para a concentração de nitrito na solução antes da fotólise ( $[\text{HNO}_2]_i = 4,35 \times 10^{-6}$  M).

Resultados semelhantes foram obtidos na fotólise do NFA na presença de íon brometo. Contudo, em condições comparáveis, a extensão da regeneração do NFA é maior na presença de íon brometo do que na de íon cloreto, o que pode reflectir a maior reactividade do íon cloreto relativamente à adição a ligações duplas carbono-carbono. Os resultados mencionados conformam-se com a intermediação, anteriormente proposta, do catião radical do 2-nitrofurano na foto-substituição nucleofílica do grupo nitro na medida em que se presumiu a competição entre a água e o nucleófilo adicionado pelo catião radical do nitrofurano (Groen, et al., 1974). Neste ponto da discussão, é importante mencionar a supressão do  $^3\text{NFA}^*$  pelo íon nitrito. Quando a fotólise foi realizada na presença de concentrações de  $\text{NO}_2^-$  inferiores a  $5 \times 10^{-3}$  mol  $\text{dm}^{-3}$ , que têm um efeito desprezável na supressão do  $^3\text{NFA}^*$ , não foi detectado HFA (Anexos – 6.4.5.). Porém, o fotoproducto 1\_1 (associado ao anião radical do NFA) foi detectado na solução fotolisada e a sua concentração aumentou com o aumento da concentração de nitrito presente na fotólise. Como seria de esperar, a absorção transiente quer do radical  $\text{NO}_2^*$  quer do radical  $\text{NFA}^{\bullet-}$  (que se sobrepõe a  $\lambda_{\text{max}} = 400$  nm) foi observada (Figura 3.28).

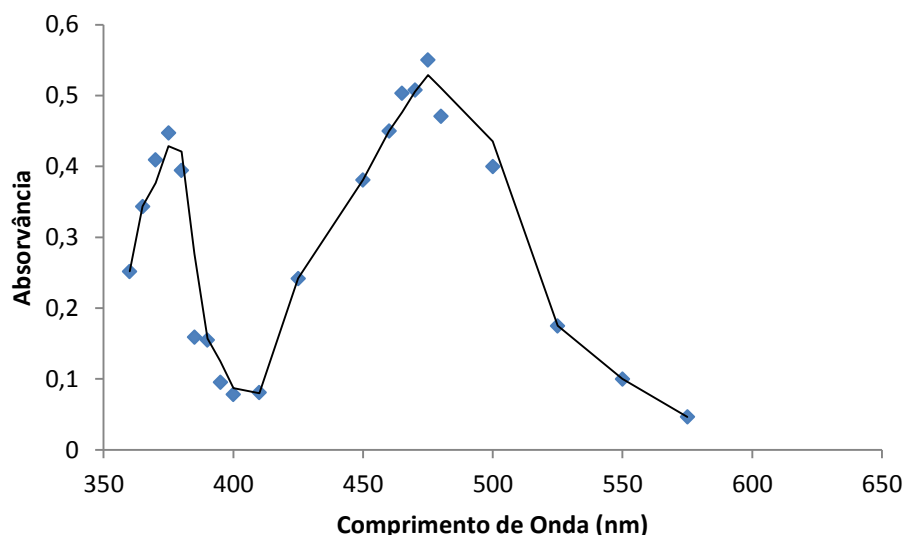


Figura 3.29 - Espectros de absorção transientes obtidos na fotólise por impulsos de luz de uma solução aquosa de NFA ( $9.05 \times 10^{-4}$  M) e  $\text{NaNO}_2$  ( $1.54 \times 10^{-2}$  M), saturada de He, imediatamente ( $\blacklozenge$ ) e 350 ns ( $\blacksquare$ ) após o fim do impulso do laser.

O catião radical não pode ser originado através de fotoionização da molécula por excitação para o estado tripleto, uma vez que a fotólise por impulsos de luz de uma solução aquosa de NFA saturada com  $\text{NO}_2$  não mostrou alterações nem no tempo de vida do tripleto, nem na absorção transiente. A composição dos fotoprodutos também permaneceu inalterada. Pelo contrário, a composição dos fotoprodutos exhibe uma elevada dependência da concentração inicial de NFA (Tabela 3.1 e Anexos 6.4.1.). Assim, verificou-se que a concentração dos fotoprodutos analisados aumentou, pelo menos, de um factor de dois com o aumento de uma ordem de grandeza da concentração de NFA. Embora a fotoeliminação do ião nitrito (por dissociação heterolítica) tenha sido sugerida (Havinga, et al., 1976; Groen, et al., 1974), os resultados da presente investigação parecem apoiar o trabalho anterior que propõe o mecanismo de auto-supressão do estado tripleto (por transferência de electrão) para explicar a formação do catião radical e do anião radical do NFA (e de 2-nitrofuranos em geral). Assim, desviando o decaimento do  $^3\text{NFA}^*$  da via da auto-supressão para a reacção com um supressor de tripleto eficiente, impedir-se-à a formação do catião radical (e dos produtos dele derivados) conforme foi verificado.



#### 4. CONCLUSÃO

Da discussão dos resultados concluiu-se que o estado tripleto de menor energia do 5-nitro-2-furaldeído é a espécie foto-reactiva primária, responsável pela degradação fotolítica do NFA em solução. Os resultados obtidos conformam-se com o mecanismo, proposto anteriormente, que explica o decaimento do estado tripleto através de transferência de um electrão do estado tripleto mais baixo para a molécula no estado fundamental, mediada por um excímero, e originando o catião radical e o anião radical do NFA. O radical furiloxilo (II) (derivado do catião radical) e o anião radical do NFA foram observados em solução aquosa após fotólise do NFA com impulsos de luz (de curta duração). Esta observação foi confirmada pela obtenção dos mesmos espectros a partir da fotólise (com impulsos de luz) de sistemas reaccionais onde se espera que se forme apenas um ou o outro daqueles radicais. Foi obtida evidência que sugere a associação do radical furiloxilo (II) ao fotoproduto 5-hidroximetileno-2-furanona, e que relaciona o anião radical com um fotoproduto de redução do 5-nitro-2-furaldeído que (não sendo o 5-amino-2-furaldeído) pode ser obtido conjuntamente com o 5-amino-2-furaldeído na redução química do 5-nitro-2-furaldeído com ferro metálico em solução aquosa. A partir da informação estrutural reunida para este fotoproduto de redução foi possível (ainda que sem carácter definitivo) identificá-lo como o 2-imino-2,5-dihidrofuranilceteno.

Mostrou-se que a interacção do estado tripleto mais baixo do 5-nitro-2-furaldeído com iões inorgânicos (nucleofílicos) envolve a redução monoelectrónica do estado tripleto, verificando-se a dependência da constante de velocidade de segunda ordem dessa reacção em relação ao potencial de redução monoelectrónica do radical inorgânico. Os resultados da supressão do estado tripleto pelos iões inorgânicos (nucleofílicos) forneceram evidência adicional quanto à proposta intermediação do catião radical na foto-substituição nucleofílica do grupo nitro.



## 5. BIBLIOGRAFIA

- Adams, G. E. e Willson, R. L. 1969.** Pulse Radiolysis Studies on the Oxidation of Organic Radicals in Aqueous Solution. *Transactions of the Faraday Society*. 1969, Vol. 65, pp. 2981-2987.
- Alfassi, Z. B., et al. 1987.** Kinetics of One-Electron Oxidation by the Cyanate Radical. *The Journal of Physical Chemistry*. 1987, Vol. 91, pp. 3888-3891.
- Antunes, P., Machado, J. e Peixe, L. 2006.** Illegal use of nitrofurans in food animals: contribution to human salmonellosis? *Clinical Microbiology and Infection*. 2006, Vol. 12, pp. 1047-1049.
- Balcioğlu, I. A. e Ötker, M. 2003.** Treatment of pharmaceutical wastewater containing antibiotics by O<sub>3</sub> and O<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> processes. *Chemosphere*. 2003, Vol. 50, pp. 85-95.
- Barbosa, J., Freitas, A. e Moura, S. 2011.** Detection, Accumulation, Distribution, and Depletion of Furaltadone and Nifursol Residues in Poultry Muscle, Liver, and Gizzard. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2011, Vol. 59, pp. 11927-11934.
- Barltrop, J. A. e Bunce, N. J. 1968.** Organic Photochemistry. Part VIII. The Photochemical Reduction of Nitro-compounds. *Journal of the Chemical Society C: Organic*. 1968, pp. 1467-1474.
- Barton, B. A. e Iwama, G. K. 1991.** Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. *Annual Review of Fish Diseases*. 1991, Vol. 1, pp. 3-26.
- Biaglow, J. E., et al. 1978.** The Oxidation of Ascorbate by Electron Affinic Drugs and Carcinogens. *Photochemistry and Photobiology*. 1978, Vol. 28, pp. 869-876.
- Boxall, A. B. A., et al. 2006.** Uptake of veterinary medicines from soils into plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2006, Vol. 54, pp. 2288-2297.
- Bryant, D. W. e McCalla, D. R. 1980.** Nitrofurantoin induced mutagenesis and error prone repair in *Escherichia coli*. *Chemico-Biological Interactions*. 1980, Vol. 31, pp. 151-166.
- Burrows, H. D. e Pedrosa de Jesus, J. D. 1976.** A flash photolytic study of the photo-oxidation of some inorganic anions by the uranyl ion. *Journal of Photochemistry*. 1976, Vol. 5, pp. 265-275.
- Busker, R. W. e Beijersbergen van Henegouwen, G. M. J. 1987.** Cytotoxicity and induction of repairable DNA damage by photoactivated 5-nitrofurfural. *Toxicology*. 1987, Vol. 45, pp. 103-112.
- Busker, R. W. e Beijersbergen van Henegouwen, G. M. J. 1987.** The Photolysis of 5-NitroFurfural in Aqueous Solution - Nucleophilic Substitution of the Nitro Group. *Photochemistry and Photobiology*. 1987, Vol. 45, pp. 331-335.
- Busker, R. W., et al. 1988.** Formation of Methemoglobin by Photoactivation of Nitrofurantoin or of 5-Nitrofurfural in Rats Exposed to UV-A Light. *Toxicology*. 1988, Vol. 51, pp. 255-266.
- Buxton, G. V., et al. 1988.** Critical Review of rate constants for reactions of hydrated electrons, hydrogen atoms and hydroxyl radicals ( $\cdot\text{OH}/\cdot\text{O}^-$ ) in Aqueous Solution. *Journal of Physical and Chemical Reference Data*. 1988, Vol. 17, pp. 513-886.
- Cabello, F. C. 2006.** Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. *Environmental Microbiology*. 2006, Vol. 8, pp. 1137-1144.
- Casewell, M., et al. 2003.** The European ban on growth-promoting antibiotics and emerging consequences for human and animal health. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2003, Vol. 52, pp. 159-161.
- Castanon, J. I. R. 2007.** History of the use of Antibiotic as Growth Promoters in European Poultry Feeds. *Poultry Science*. 2007, Vol. 86, pp. 2466-2471.
- Chapman, O. L., Heckert, D. C. e Reasoner, J. W. 1966.** Photochemical Studies on 9-NitroAnthracene. *Journal of the American Chemical Society*. 1966, Vol. 88, pp. 5550-&

- Cisak, A., Rzeszowska-Modzelewska, K. e Brzezinska, E. 2001.** Reactivity of 5-nitro-2-furaldehyde in alkaline and acidic solutions. *Acta Poloniae Pharmaceutica*. 2001, Vol. 58, pp. 427-434.
- Crespo-Hernández, C. E., Vogt, R. A. e Sealey, B. 2013.** On the Primary Reaction Pathways in the Photochemistry of Nitro Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Modern Chemistry & Applications*. 2013, Vol. 1.
- Cromwell, G. L. 2002.** Why and how antibiotics are used in swine production. *Animals Biotechnology*. 2002, Vol. 13, pp. 7-27.
- Dibner, J. J. e Richards, J. D. 2005.** Antibiotic Growth Promoters in Agriculture: History and Mode of Action. *Poultry Science*. 2005, Vol. 84, pp. 634-643.
- Dodd, M. C. e Stillmann, W. B. 1944.** The in vitro bacteriostatic action of some simple furan derivatives. *JOURNAL OF PHARMACOLOGY AND EXPERIMENTAL THERAPEUTICS*. 1944, Vol. 82, pp. 11-18.
- Dolliver, H. A., Kumar, K. e Gupta, S. C. 2007.** Sulfamethazine uptake by plants from manure-amended soil. *Journal of Environmental Quality*. 2007, Vol. 36, pp. 1224-1230.
- Ebetino, F. F., Carroll, J. J. e Gever, G. 1962.** Reduction of Nitrofurans. I. Aminofurans. *Journal of Medicinal Chemistry*. 1962, Vol. 5 (3), pp. 513-524.
- Edlund, B. L., Arnold, W. A. e McNeill, K. 2006.** Aquatic photochemistry of nitrofurantoin antibiotics. *Environmental Science & Technology*. 2006, Vol. 40, pp. 5422-5427.
- Elliot, A. J. e Simons, A. S. 1984.** Rate constants for reactions of hydroxyl radicals as a function of temperature. *Radiation Physics and Chemistry*. 1984, Vol. 24, pp. 229-231.
- Ellison, D. H., Salmon, G. A. e Wilkinson, F. 1972.** Nanosecond Pulse Radiolysis of Methanolic and Aqueous Solutions of Readily Oxidizable Solutes. *Proceedings of the Royal Society of London. Series A*. 1972, Vol. 328, pp. 23-36.
- Filali-Mouhim, A., et al. 1991.** Réduction radiolytique du nifurtimox par les radicaux libres CO<sub>2</sub><sup>-</sup>. *Journal de Chimie Physique et de Physico-Chimie Biologique*. 1991, Vol. 88, pp. 937-943.
- Grave, K., et al. 2008.** Prescription of antimicrobial drugs in Norwegian aquaculture with an emphasis on “new” fish species. *Preventive Veterinary Medicine*. 2008, Vol. 83, pp. 156-169.
- Greenstock, C. L., Ruddock, G. W. e Neta, P. 1976.** Pulse Radiolysis and ESR Studies of the Electron-Affinic Properties of Nitroheterocyclic Radiosensitizers. *Radiation Research*. 1976, Vol. 66, pp. 472-484.
- Greenstock, C.L., Dunlop, I. e Neta, P. 1973.** Radiation Chemical Studies of the Oxidation and Reduction of Nitrofurans - Oxidative Denitration by OH Radicals. *Journal of Physical Chemistry*. 1973, Vol. 77, pp. 1187-1190.
- Groen, M. B. e Havinga, E. 1974.** Photoreactions of Aromatic Compounds. XXXIII. Nucleophilic Photosubstitution of Some Heteroaromatic Compounds. *Molecular Photochemistry*. 1974, Vol. 6, pp. 9-21.
- Halling-Sørensen, B. e Lanzky, P. F. 1997.** The toxic effect of the antibiotic metronidazole on aquatic organisms. *Chemosphere*. 1997, Vol. 35, pp. 2553-2561.
- Halling-Sørensen, B., et al. 1998.** Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment – A review. *Chemosphere*. 1998, Vol. 36, pp. 357-393.
- Havinga, E. e Cornelisse, J. 1976.** Aromatic Photosubstitution Reactions. *Pure and Applied Chemistry*. 1976, Vol. 47, pp. 1-10.
- Hektoen, H., et al. 1995.** Persistence of antibacterial agents in marine sediments. *Aquaculture*. 1995, Vol. 133, pp. 175-184.
- Herzberg, G. 1950.** *Molecular Spectra and Molecular Structure I. Electronic Spectra and Electronic Structure of Diatomic Molecules*. 2nd Edition. New York : Van Nostrand, 1950. p. 560.
- Hirsh, R., et al. 1999.** Occurrence of antibiotics in the aquatic environment. *The Science of Total Environment*. 1999, Vol. 225, pp. 109-118.

- Homem, V. e Santos, L. 2011.** Degradation and Removal methods of antibiotics from aqueous matrices – A review. *Journal of Environmental Management*. 2011, Vol. 92, pp. 2304-2347.
- Houk, K. N. 1980.** Molecular Distortions and Organic Reactivity: Additions, Cycloadditions, and Free Radical Reactions. [autor do livro] W. Pryor. *Frontiers of Free Radical Chemistry*. London : Academic Press, 1980, pp. 43-71.
- Hug, G. L. 1981.** Optical Spectra of Non-metallic Inorganic Transient Species in Aqueous Solution. *NSRDS-NBS 69*. 1981.
- Hughes, P. e Heritage, J. 2004.** Antibiotics growth-promoters in food animals. [autor do livro] S. Jutzi. *Assessing quality and safety of animal feeds*. Rome : Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2004, pp. 129-152.
- Inotsume, N. e Nakamo, M. 1987.** Reversible azomethine bond cleavage of nitrofurantoin in acidic solutions at body temperature. *International Journal of Pharmaceutics*. 1987, Vol. 8, pp. 111-119.
- Jagannadham, V. e Steenken, S. 1984.** One-Electron Reduction of Nitrobenzenes by  $\alpha$ -Hydroxyalkyl Radicals via Addition/Elimination. An Example of an Organic Inner-Sphere Electron-Transfer Reaction. *Journal of the American Chemical Society*. 1984, Vol. 106, pp. 6542-6551.
- Karapetyan, L. 2012.** Synthesis of novel N-aryl-2,5-dihydro-2-iminofuran-3-carboxamides and their chemical transformations. *Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly*. 2012, Vol. 143, pp. 687-694.
- Kemp, T. e Martins, L. J. A. 1981.** Triplet State of 5-Nitro-2-furoic acid by Laser Flash Photolysis: Spectrum, Lifetime and Reactivity. *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions I*. 1981, Vol. 77, pp. 1425-1435.
- Kinsella, K. G. 1992.** Changes in life expectancy 1900- 1990. *American Journal of Clinical Nutrition*. 1992, Vol. 55, pp. 1196-1202.
- Kümmerer, K. 2009.** Antibiotics in the aquatic environment – A review – Part 2. *Chemosphere*. 2009, Vol. 75, pp. 435-441.
- . 2009. Antibiotics in the aquatic environment: A review - Part 1. *Chemosphere*. 2009, Vol. 75, pp. 417-434.
- . 2003. Significance of antibiotics in the environment. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2003, Vol. 52, pp. 5-7.
- Kuz'min, V. A., et al. 1988.** Triplet Exciplexes of Nitrofurantoin Derivatives with Aromatic Amines. *Russian Chemical Bulletin*. 1988, Vol. 37, pp. 1333-1337.
- Larsson, D. G., de Pedro, C. e Paxeus, N. 2007.** Effluent from drug manufactures contains extremely high levels of pharmaceuticals. *Journal of Hazardous Materials*. 2007, Vol. 148, pp. 751-755.
- Lemmetyinen, H. J. 1983.** Kinetic analysis of aromatic photocyanation: naphthalene, biphenyl, and phenanthrene. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2*. 1983, pp. 1269-1274.
- Li, D., et al. 2008.** Determination and fate of oxytetracycline and related compounds in oxytetracycline production wastewater and the receiving river. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2008, Vol. 27, pp. 80-86.
- Li, D., et al. 2008.** Determination of penicillin G and its degradation products in a penicillin production wastewater treatment plant and the receiving river. *Water Research*. 2008, Vol. 42, pp. 307-317.
- Luzhkov, V. B. e Khudyakov, I. V. 1979.** Mechanism for photoreduction of 2-[2'-(5"-Nitrofuryl-2")-Vinyl]Quinoline. *Russian Chemical Bulletin*. 1979, Vol. 28, pp. 608-611.
- Majima, T., et al. 1981.** Redox-photosensitized reactions. 7. Aromatic hydrocarbon-photosensitized electron-transfer reactions of furan, methylated furans, 1,1-diphenylethylene, and indene with p-dicyanobenzene. *Journal of the American Chemical Society*. 1981, Vol. 103, pp. 4499-4508.
- Markel, Dr. Howard. 2013.** The Real Story Behind Penicillin. *PBS NewsHour website*. [Online] 2013. <http://www.pbs.org/newshour/rundown/the-real-story-behind-the-worlds-first-antibiotic/>.

- Martins, L. J. A. e Kemp, T. J. 1988.** Effect of acidity on the reactivity of the triplet state of 2-nitrothiophen. *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions I.* 1988, Vol. 87, pp. 2027-2033.
- **1984.** The Triplet State of N-(n-Butyl)-5-nitro-2-furamide by Laser Flash Photolysis. *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions I.* 1984, Vol. 80, pp. 2509-2524.
- Martins, L. J. A., et al. 1991.** Interaction of halide and pseudohalide ions with the triplet state of 1-nitronaphthalene. Effect of acidity: A flash photolysis study. *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions I.* 1991, Vol. 84, pp. 3617-3624.
- Maruthamuthu, P. e Steenken, S. 1985.** An In situ photolysis-e.s.r. investigation of 5-bromo- and 5-nitro-2-furoic acid. *Journal of the Chemical Society - Chemical Communications.* 1985, pp. 1019-1021.
- McCalla, DR. 1983.** Mutagenicity of Nitrofurans Derivatives - Review. *Environmental Mutagenesis.* 1983, Vol. 5, pp. 745-765.
- McManus, P. S., et al. 2002.** Antibiotic use in plant agriculture. *Annual Review of Phytopathology.* 2002, Vol. 40, pp. 443-465.
- Meisel, D. e Neta, P. 1975.** One-electron redox potentials of nitro compounds and radiosensitizers. Correlation with spin densities of their radical anions. *Journal of the American Chemical Society.* 1975, Vol. 97, pp. 5198–5203.
- Migliore, L., et al. 1997.** Toxicity of several important antibiotics to Artemia. *Water research.* 1997, Vol. 31, pp. 1801-1806.
- Milosavljevic, B. H. e LaVerne, J. A. 2005.** Pulse Radiolysis of Aqueous Thiocyanate Solution. *The Journal of Physical Chemistry A.* 2005, Vol. 109, pp. 165-168.
- Montalti, M., et al. 2006.** *Handbook of Photochemistry.* 3rd Edition. Boca Raton : CRC Press, 2006.
- Moore, P. R., et al. 1946.** Use of Sulfasuxidine, Streptothricin, and Streptomycin in Nutricional Studies with the Chick. *Journal of Biological Chemistry.* 1946, Vol. 165, pp. 437-441.
- Naylor, R. e Burke, M. 2005.** Aquaculture and ocean resources: raising tigers of the sea. *Annual Review of Environment and Resources.* 2005, Vol. 30, pp. 185-218.
- Nese, C., et al. 1995.** Oxidation vs. fragmentation in radiosensitization. Reactions of  $\alpha$ -alkoxyalkyl radicals with 4-nitrobenzonitrile and oxygen. A pulse radiolysis and product analysis study. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2.* 1995, pp. 1037-1044.
- Neta, P., Simic, M. G. e Hoffman, M. Z. 1976.** Pulse radiolysis and electron spin resonance studies of nitroaromatic radical anions. Optical absorption spectra, kinetics, and one-electron redox potentials. *The Journal of Physical Chemistry.* 1976, Vol. 80, pp. 2018–2023.
- Niewold, T. A. 2007.** The Nonantibiotic Anti-Inflammatory Effect of Antimicrobial Growth Promoters, the Real Mode of Action? A Hypothesis. *Poultry Science.* 2007, Vol. 86, pp. 605–609.
- Palmer, A. C., Angelino, E. e Kishony, R. 2010.** Chemical decay of an antibiotic inverts selection resistance. *Nature Chemical Biology.* 2010, Vol. 6, pp. 105-107.
- Paul, M. A. e Long, F. A. 1957.** H<sub>0</sub> And Related Indicator Acidity Function. *Chemical Reviews.* 1957, Vol. 57, pp. 1-45.
- Piechowski, M. V., et al. 1992.** tert-Butanol as an OH-Scavenger in the Pulse Radiolysis of Oxygenated Aqueous Systems. *Berichte der Bunsengesellschaft für physikalische Chemie.* 1992, Vol. 96, pp. 1448-1454.
- Platonov, A. Y., Kurzin, A. V. e Evdokimov, A. N. 2010.** Composition of Vapor and Liquid Phases in the Potassium Hydroxide + Methanol Reaction System at 25 °C. *Journal of Solution Chemistry.* 2010, Vol. 39, pp. 335-342.
- Povazanec, F., Kovac, J. e Heseck, D. 1988.** Reactions of 5-azido-2-furaldehyde with 2-substituted. *Chemical Papers.* 1988, Vol. 42 (5), pp. 677–682.

- Powers, L. J. 1971.** Photolysis of 5-Nitrofuramides in Methanol. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1971, Vol. 60, pp. 1425-1426.
- Ramsden, C. A. e Milata, V. 2006.** 2-Aminofurans and 3-Aminofurans. *Advances in Heterocyclic Chemistry*. 2006, Vol. 92, pp. 1-54.
- Rosenkranz, H. S. e Speck, W. T. 1976.** Activation of nitrofurantoin to a mutagen by rat liver nitroreductase. *Biochemical Pharmacology*. 1976, Vol. 25, pp. 1555–1556.
- Salomon, J. A., et al. 2012.** Healthy life expectancy for 187 countries, 1990—2010: a systematic analysis for the Global Burden Disease Study 2010. *The Lancet*. 2012, Vol. 380, pp. 2144-2162.
- Saltzman, Bernard E. 1954.** Colorimetric Microdetermination of Nitrogen Dioxide in the Atmosphere. *Analytical Chemistry*. 1954, Vol. 26, pp. 1949–1955.
- Sandros, K. 1964.** Transfer of Triplet State Energy in Fluid Solutions. III. Reversible Energy Transfer. *Acta Chemica Scandinavica*. 1964, Vol. 18, pp. 2355-2374.
- Sarmah, A. K., Meyer, M. T. e Boxall, A. B. A. 2006.** A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment. *Chemosphere*. 2006, Vol. 65, pp. 725-759.
- Sharma, G. K., Rao, B. S. M. e O'Neill, P. 2009.** Redox Dependence of the Reaction of  $\alpha$ -Alkoxyalkyl Radicals with a Series of Oxidants. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2009, Vol. 113, pp. 2207-2211.
- Sleight, R. B. e Sutcliffe, L. H. 1971.** E.s.r. investigation of alkoxy nitroxide free radicals from the photolysis of nitrobenzenes and of heterocyclic nitro compounds. *Transactions of the Faraday Society*. 1971, Vol. 67, pp. 2195-2204.
- Soumillion, J. Ph. e De Wolf, B. 1981.** A Link Between Photoreduction and Photosubstitution of Chloroaromatic Compounds. *Journal of the Chemical Society - Chemical Communications*. 1981, Vols. 436-437.
- Thrush, B. A. 2003.** The genesis of flash photolysis. *Photochemical & Photobiological Sciences*. 2003, Vol. 2, pp. 453-454.
- Van Houten, J. 2002.** A Century of Chemical Dynamics Traced through the Nobel Prizes. 1967: Eigen, Norrish, and Porter. *Journal of Chemical Education*. 2002, Vol. 79, pp. 548-550.
- Vass, M., Hruska, K. e Franek, M. 2008.** Nitrofurans antibiotics: a review on the application. *Veterinarni Medicina*. 2008, Vol. 53, pp. 469-500.
- Wang, C. Y., Muraoka, K. e Bryan, G. T. 1975.** Mutagenicity of Nitrofurans, Nitrothiophenes, Nitropyrroles, Nitroimidazole, Aminothiophenes, and Aminothiazoles in *Salmonella typhimurium*. *Cancer Research*. 1975, Vol. 35, pp. 3611-3617.
- Wardman, P. e Clarke, E. D. 1976.** Oxygen inhibition of nitroreductase: Electron transfer from nitro radical-anions to oxygen. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 1976, Vol. 69, pp. 942–949.
- Wardman, P. 1989.** Reduction potentials of one-electron couples involving free radicals in aqueous solution. *Journal of Physical and Chemical Reference Data*. 1989, Vol. 18, pp. 1637-1723.
- . **1985.** Some Reactions and Properties of Nitro Radical-Anions Important in Biology and Medicine. *Environmental Health Perspectives*. 1985, Vol. 64, pp. 309-320.
- Xu, W., et al. 2007.** Determination of selected antibiotics in the Victoria Harbour and Pearl River, South China using high-performance liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Environmental Pollution*. 2007, Vol. 145, pp. 672-679.
- Yiruhan, et al. 2010.** Determination of four fluoroquinolone antibiotics in tap water in Guangzhou and Macao. *Environmental Pollution*. 2010, Vol. 158, pp. 2350-2358.





## 6. ANEXOS

### 6.1. Construção da curva de calibração do nitrito

As Tabela 6.1 e 6.2 apresentam os dados obtidos para a construção da curva de calibração utilizada para a quantificação de Nitrito em solução. O procedimento para a construção da curva de calibração realizou-se de acordo com Saltzman, 1954.

Tabela 6.1 – Massas pesadas e dados utilizados para o cálculo da concentração da solução stock preparada para a construção da curva de calibração do método espectrofotométrico de determinação de nitrito. A solução stock 2 foi preparada por diluição 1:50 da solução stock 1.

NaNO <sub>2</sub>	
MM (g/mol)	69
Pureza	0,99
massa funil (g)	0,59253
massa funil + NaNO <sub>2</sub> (g)	0,63262
massa NaNO <sub>2</sub> (g)	0,04009
Volume solução (l)	0,1
Conc. Stock 1 (mol dm <sup>3</sup> )	5,75E-03
Conc. Stock 2 (Diluição 1:50) (mol dm <sup>3</sup> )	1,15E-04

Tabela 6.2 – Dados utilizados para a construção da curva de calibração do Nitrito.

Vol. Stock 2 adicionado (x10 <sup>-3</sup> dm <sup>3</sup> )	[NaNO <sub>2</sub> ] (mol dm <sup>3</sup> )	λ max	Abs
0,5	5,75E-06	540,4	0,3078
1	1,15E-05	541	0,5886
0,1	1,15E-06	544,6	0,0629
0,3	3,45E-06	542	0,1826
0,8	9,20E-06	539,6	0,4896
1,3	1,50E-05	539,6	0,7704
1,6	1,84E-05	539	0,9354
1,9	2,19E-05	538,2	1,1050
0	0	540	0

O Gráfico 6.1 foi construído a partir dos valores recolhidos experimentalmente e apresentados na Tabela 6.2. A partir do ajuste de uma regressão linear aos pontos experimentais obteve-se a equação da curva de calibração utilizada para a determinação da concentração de nitrito ( $y=50489 \times [\text{HNO}_2] + 0.0096$ ;  $R^2=0.9996$ ).

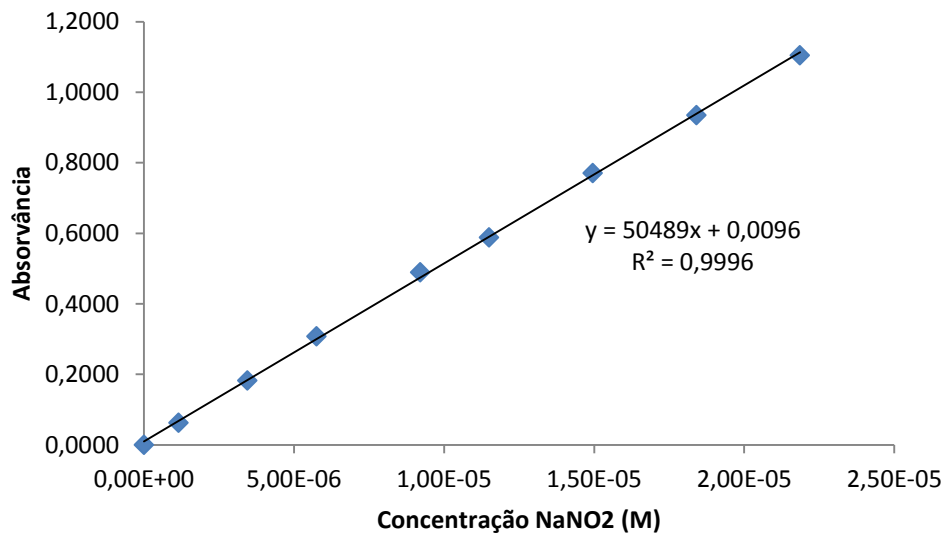


Gráfico 6.1 - Absorvância da banda a 540 nm medida no espectrofotômetro UV/VIS vs Concentração de Nitrito.

## 6.2. Construção da curva de calibração do 5-cloro-2-furaldeído

As Tabela 6.3 e 6.4 apresentam os dados utilizados para a construção das curvas de calibração do CFA.

Tabela 6.3 – Concentração e Volume da solução Stock de CFA preparada para a construção da curva de calibração.

Conc. Stock (mol dm <sup>3</sup> )	1,80E-04
Volume (dm <sup>3</sup> )	0,025

Tabela 6.4 – Áreas e Alturas obtidos para a construção das curvas de calibração do CFA.

Volume final (x10 <sup>-3</sup> dm <sup>3</sup> )	Volume Stock adicionado (x10 <sup>-3</sup> dm <sup>3</sup> )	[CFA] (mol dm <sup>3</sup> )	Altura	Área
50	0,3	1,08E-06	831	20923
50	0,5	1,80E-06	1305	32114
50	1,0	3,60E-06	2683	65769
25	1,0	7,20E-06	5115	125948
25	1,5	1,08E-05	7651	189338
25	2,0	1,44E-05	10164	250586
25	3,0	2,16E-05	15579	385467
25	0	0	0	0

As várias soluções aquosas preparadas com diferentes concentrações de CFA foram injectadas no sistema de HPLC analítico. A área e altura do pico correspondente ao tempo de retenção do CFA foram registadas (Tabela 6.4) e os dados obtidos utilizados para a construção dos Gráfico 6.2 e 6.3. Através de um ajuste por regressão linear aos pontos experimentais foram obtidas as equações das curvas de calibração relativas à área ( $y = 1.77E10 \times [CFA] + 178.48$ ;  $R^2 = 0.9997$ ) e altura ( $y = 7.15E8 \times [CFA] + 13.27$ ;  $R^2 = 0.9997$ ) do pico.

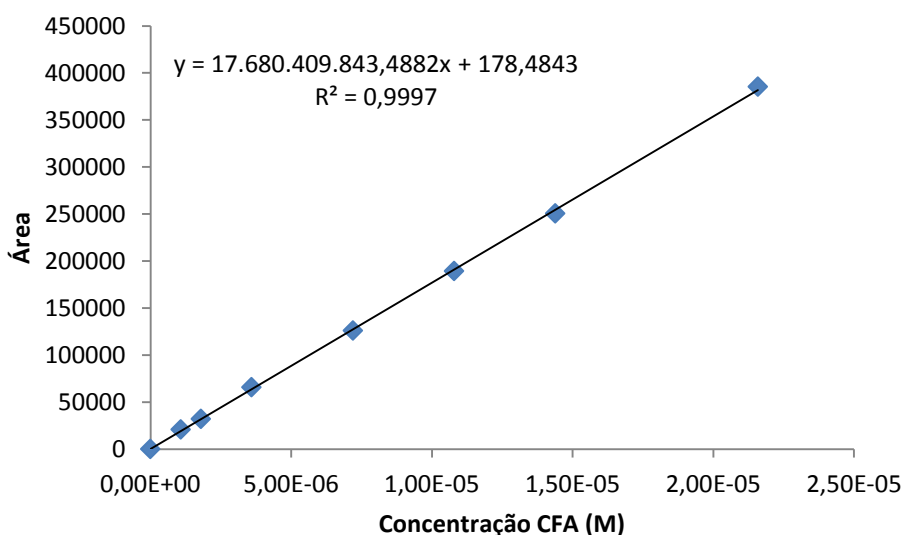


Gráfico 6.2 – Área do pico de CFA medido no sistema de HPLC analítico vs Concentração de CFA.

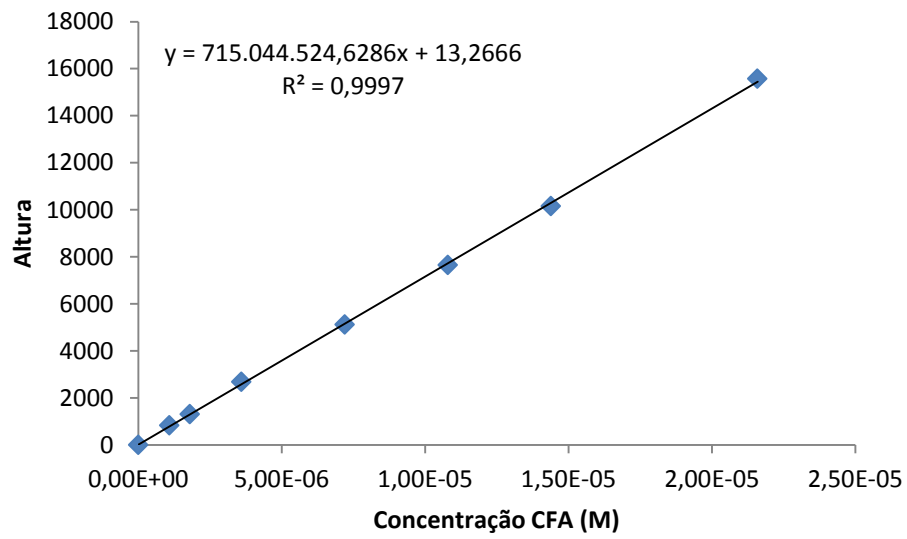


Gráfico 6.3 – Altura do pico de CFA medido no sistema de HPLC analítico vs Concentração de CFA.

### 6.3. Resultados experimentais obtidos na fotólise por impulsos de luz do laser

Durante a execução experimental do trabalho irradiaram-se várias soluções no sistema de laser flash photolysis e, após cada impulso de luz irradiado, mediui-se a variação da absorvância detectada a diferentes intervalos de tempo. As tabelas a seguir representadas (Tabela 6.5 à Tabela 6.17) apresentam os resultados experimentais obtidos.

Tabela 6.5 – Dados obtidos no sistema de laser flash photolysis utilizados para a construção dos espectros de absorção das espécies transientes formadas na fotólise por impulsos de luz de uma solução aquosa de NFA ( $9.04 \times 10^{-4}$  M) não tamponada (pH=4.8) saturada de He. A medição das absorvâncias aos diferentes comprimentos de onda efectuou-se 15 ns, 60 ns e 350 ns após o fim do impulso do laser.

$\lambda$ /nm	Abs/15ns	Abs/60ns	Abs/350ns	$\lambda$ /nm	Abs/15ns	Abs/60ns	Abs/350ns
360	0,3577	0,2000	-	475	0,7122	0,0306	0,0213
365	0,3869	0,2000	-	480	0,7086	0,0277	0,0185
370	0,3841	0,2364	0,0343	485	0,5891	0,0234	0,0185
375	0,5052	0,2568	0,0807	490	0,5625	0,0327	0,0187
380	0,3821	0,1742	0,0604	495	0,4817	0,0327	0,0178
385	0,2673	0,1008	0,0587	500	0,4700	0,0236	0,0149
390	0,2904	0,0664	0,0545	510	0,4145	0,0230	0,0096
395	0,2573	0,0740	0,0700	515	0,3014	0,0134	0,0110
400	0,3091	0,0976	0,0890	520	0,2939	0,0162	0,0127
405	0,3608	0,0768	0,0734	530	0,2897	0,0106	0,0088
410	0,3714	0,0687	0,0642	540	0,2239	0,0166	0,0134
415	0,4365	0,0512	0,0453	550	0,1585	0,0097	0,0097
420	0,4035	0,0547	0,0456	560	0,1503	0,0181	0,0119
425	0,4512	0,0497	0,0427	575	0,0747	0,0095	0,0095
430	0,4970	0,0335	0,0235	580	0,1255	0,0075	0,0053
435	0,5442	0,0402	0,0235	600	0,0572	0,0025	0,0025
440	0,4820	0,0290	0,0203	625	0,0873	0,0049	0,0049
445	0,5300	0,0286	0,0206	650	0,0772	0,0048	0,0048
450	0,5787	0,0254	0,0217	675	0,0683	0,0022	0,0022
455	0,5208	0,0302	0,0167	700	0,0957	0,0008	0,0008
460	0,5886	0,0338	0,0185	725	0,1161	0,0191	0,0067
465	0,6674	0,0341	0,0204	750	0,1044	0,0339	0,0099
470	0,7182	0,0352	0,0200	-	-	-	-

**Tabela 6.6 - Dados obtidos no sistema de laser flash photolysis utilizados para a construção dos espectros de absorção das espécies transientes formadas na fotólise por impulsos de luz de uma solução aquosa de NFA ( $9.06 \times 10^{-4}$  M) tamponada (pH=6.9), saturada de He. A medição das absorvâncias aos diferentes comprimentos de onda efectuou-se 13 ns, 60 ns e 350 ns após o fim do impulso do laser.**

$\lambda$ /nm	Abs/13ns	Abs/60ns	Abs/350ns
360	0,2518	0,2267	0,3145
365	0,3435	0,3064	0,4417
370	0,4095	0,4445	0,5588
375	0,4475	0,4606	0,616
380	0,3944	0,3466	0,4111
385	0,159	0,138	0,138
390	0,1549	0,08	0,0811
395	0,0956	0,0873	0,0922
400	0,0783	-	-
405	-	0,05	0,05
410	0,0812	0,0161	0,0161
425	0,242	0,0132	0,0132
450	0,381	-	-
460	0,45	0,0143	0,0143
465	0,5032	-	-
470	0,5078	-	-
475	0,5502	0,0249	0,0239
480	0,471	-	-
500	0,4	0,0127	0,0127
525	0,175	0,0086	0,0086
550	0,1	0,0018	0,0018
575	0,0466	0,001	0,001

Tabela 6.7 - Dados obtidos no sistema de laser flash photolysis utilizados para a construção dos espectros de absorção das espécies transientes formadas na fotólise por impulsos de luz de uma solução de NFA ( $9.04 \times 10^{-4}$  M) em água, ( $7.45 \times 10^{-4}$  M) em metanol, ( $7.45 \times 10^{-4}$  M) em etanol, ( $7.76 \times 10^{-4}$  M) em acetona e ( $3.46 \times 10^{-3}$  M) em acetonitrilo. A medição das absorvâncias aos diferentes comprimentos de onda efectuou-se 15 ns (em água, metanol e etanol) e 50 ns (em acetona e acetonitrilo) após o fim do impulso do laser.

$\lambda/\text{nm}$	H <sub>2</sub> O	MeOH	EtOH	Me <sub>2</sub> CO	MeCN
	Abs/15ns	Abs/15ns	Abs/15ns	Abs/50 ns	Abs/50ns
345	-	-	0,188	0,2204	-
350	-	0,1424	0,188	0,2259	-
355	-	0,1659	0,174	-	-
360	0,3577	0,1549	0,217	-	0,2671
365	0,3869	0,1921	0,23	0,3442	0,294
370	0,3841	0,186	0,204	0,2986	0,4365
375	0,5052	0,2085	0,2379	0,3465	0,413
380	0,3821	0,2249	0,255	0,3893	0,4922
385	0,2673	0,2088	0,291	0,361	0,5257
390	0,2904	0,2474	0,2412	0,3588	0,4196
395	0,2573	0,2365	0,2436	0,2918	0,4617
400	0,3091	0,2603	0,291	0,3138	0,4571
405	0,3608	0,2882	-	-	0,5021
410	0,3714	0,298	0,33	0,3412	-
415	0,4365	0,3341	-	0,4029	0,3708
420	0,4035	0,4059	-	0,3649	-
425	0,4512	0,3876	0,359	-	-
430	0,497	0,414	-	0,4438	-
435	0,5442	-	-	-	-
440	0,482	0,4937	0,479	0,5127	-
445	0,53	-	-	-	-
450	0,5787	0,5328	0,559	0,6653	0,6655
455	0,5844	-	-	-	-
460	0,5886	0,5659	0,624	0,7678	-
465	0,6674	-	0,654	-	-
470	0,7182	0,5761	-	0,8483	-
475	0,7122	0,5882	0,714	0,9037	0,9397
480	0,7086	0,5473	0,6872	0,9113	0,9737
485	0,5891	-	-	0,9585	-
490	0,5625	0,4795	0,664	-	0,9313
495	0,4817	0,4384	-	-	-
500	0,47	0,4062	0,577	0,9128	0,8482
510	0,4145	0,3386	-	0,8744	-
515	0,3014	0,3185	-	-	-
520	0,2939	0,322	-	-	-
525	-	0,2477	0,459	0,7083	0,7568
530	0,2897	0,2333	-	-	-
540	0,2239	0,1529	-	0,5054	-
550	0,1585	0,1596	0,244	0,4456	0,323
560	0,1503	-	-	-	-

565	-	-	-	0,3087	-
575	0,0747	0,0947	0,205	0,2949	0,2669
580	0,1255	-	-	-	-
600	0,0572	0,0637	0,106	0,3033	0,2178
625	0,0873	-	0,089	0,2484	0,2537
650	0,0772	0,0462	0,070	0,2234	0,2134
665	-	-	-	0,1904	-
675	0,0683	-	0,068	0,2034	0,1922
700	0,0957	-	0,097	0,1616	0,1597
725	0,1161	-	0,069	-	-
750	0,1044	-	0,066	-	-



Tabela 6.8 - Dados obtidos no sistema de laser flash photolysis utilizados para a construção dos espectros de absorção das espécies transientes formadas na fotólise por impulsos de luz de uma solução de NFA ( $1.01 \times 10^{-3}$  M) em propan-2-ol saturada de He. A medição das absorvâncias aos diferentes comprimentos de onda efectuou-se 13 ns e 3  $\mu$ s após o fim do impulso do laser.

$\lambda$ /nm	Abs/13ns	Abs/3 $\mu$ s
350	0,090	0,055
355	0,097	0,086
360	0,122	0,112
365	0,130	0,141
370	0,164	0,204
375	0,182	0,217
380	0,164	0,243
385	0,200	0,217
390	0,210	0,200
395	0,183	0,131
400	0,214	0,092
405	0,202	0,064
410	0,218	0,047
415	0,202	0,048
425	0,275	0,047
435	0,287	0,038
440	0,362	0,038
450	0,407	0,049
465	0,503	-
475	0,664	0,045
490	0,472	-
500	0,461	0,056
525	0,337	0,026
550	0,136	0,018
575	0,103	0,006
600	0,048	0
650	0,045	0,002
700	0,028	0

Tabela 6.9 - Dados obtidos no sistema de laser flash photolysis utilizados para a construção dos espectros de absorção das espécies transientes formadas na fotólise por impulsos de luz de uma solução de NFA ( $7.45 \times 10^{-4}$  M) em etanol saturada de He ou O<sub>2</sub>. A medição das absorvâncias aos diferentes comprimentos de onda efectuou-se 15  $\mu$ s após o fim do impulso do laser.

$\lambda$ /nm	He	O <sub>2</sub>	$\lambda$ /nm	He	O <sub>2</sub>
	Abs/15 $\mu$ s	Abs/15 $\mu$ s		Abs/15 $\mu$ s	Abs/15 $\mu$ s
350	-0,038	-	465	0,02	
355	-0,005	-	475	0,029	0,018
360	0,011	0,007	480	0,029	0,013
365	0,028	0,0132	500	0,03	0,018
370	0,033	0,026	510	0,017	0,017
375	0,077	0,033	520	-	0,012
380	0,075	0,032	525	0,009	-
385	0,06	-	530	-	0,005
390	0,075	0,038	540	-	0,004
395	0,062	-	550	0,006	0,005
400	0,048	0,022	570	-	0,001
410	0,031	0,008	575	0,004	-
415	-	0,009	585	-	0,002
420	0,026	0,01	600	0,006	0,002
430	-	0,008	625	0,001	-
440	0,03	0,012	650	0,003	0,004
450	0,021	-	700	0,005	-
460	0,028	-	-	-	-

Tabela 6.10 - Dados obtidos no sistema de laser flash photolysis utilizados para a construção dos espectros de absorção das espécies transientes formadas na fotólise por impulsos de luz de uma solução de NFA ( $1.55 \times 10^{-3}$  M) em 1,4-dioxano. A medição das absorvâncias aos diferentes comprimentos de onda efectuou-se 50 ns e 15  $\mu$ s após o fim do impulso do laser.

$\lambda$ /nm	Abs/50ns	Abs/5 $\mu$ s
340	0,2279	0,1673
350	0,1913	0,2945
360	0,2896	0,4281
370	0,2275	0,4981
375	0,2614	0,5609
380	0,4511	0,5012
385	0,501	0,4878
390	0,4863	0,3251
395	0,5215	0,2594
400	0,4315	0,1261
405	0,4391	0,0306
425	0,3707	0,0289
450	0,7343	0,0829
475	0,9852	0,0241
500	0,9733	0,0364
525	0,7665	0,0175
550	0,407	0,0321

**Tabela 6.11 - Dados obtidos no sistema de laser flash photolysis utilizados para a construção do espectro de absorção da espécie transiente formada na fotólise por impulsos de luz de uma solução aquosa de 5BrFA ( $9.51 \times 10^{-4}$  M), saturada de He, imediatamente após o fim do impulso do laser.**

$\lambda/\text{nm}$	Abs	$\lambda/\text{nm}$	Abs
380	0,048	525	0,050
385	0,028	530	0,065
390	0,026	535	0,045
395	0,065	545	0,033
400	0,097	550	0,020
410	0,108	560	0,039
425	0,195	565	0,014
435	0,190	575	0,017
450	0,232	600	0,005
460	0,306	625	0,008
465	0,273	650	0,008
470	0,306	675	0,003
480	0,255	700	0,024
495	0,181	725	0,028
500	0,100	750	0,017
505	0,111	775	0,004
515	0,095	-	-

Tabela 6.12 - Dados obtidos no sistema de laser flash photolysis utilizados para a construção do espectro de absorção transiente da espécie formada na fotólise por impulsos de luz de uma solução aquosa, saturada de He, de 5BrFA ( $9.51 \times 10^{-4}$  M) e NaOH ( $5.4 \times 10^{-4}$  M) (1) (medição a 60  $\mu$ s e 15 ms após fim do impulso do laser) e de 5BrFA ( $9.51 \times 10^{-4}$  M) e NaOH ( $8.7 \times 10^{-4}$  M) (2) (medição 60  $\mu$ s após o fim do impulso do laser).

$\lambda$ /nm	Abs/60 $\mu$ s <sup>(1)</sup>	Abs/15ms <sup>(1)</sup>	Abs/60 $\mu$ s <sup>(2)</sup>
360	0,1	-	0,148
365	0,162	0,19	0,213
370	0,202	0,22	0,28
375	0,225	0,246	0,325
380	0,186	0,203	0,256
385	0,071	0,078	0,148
390	0,026	0,033	0,031
395	0,016	0,014	0,011
400	0,012	0,01	0,009
410	0,007	-	0,003
425	0,012	0,008	0,005
435	0,012	-	-
450	0,008	0,004	0,006
460	0,005	-	0,007
480	0,011	-	0,005
490	0,009	-	0,005
500	0,01	-	0,008
505	-	-	0,016
515	-	-	0,01
525	0,014	-	0,018
530	-	-	0,014
545	-	-	0,021
550	0,013	-	-
560	-	-	0,023
575	0,002	-	0,009
600	0,006	-	0
625	0,006	-	0

Tabela 6.13 - Dados obtidos no sistema de laser flash photolysis utilizados para a construção do espectro de absorção da espécie formada na fotólise por impulsos de luz de uma solução aquosa, saturada de He, de 5BrFA ( $9.51 \times 10^{-4}$  M) e NaOH ( $8.7 \times 10^{-4}$  M) (1) e de 5BrFA ( $9.51 \times 10^{-4}$  M), NaOH ( $8.7 \times 10^{-4}$  M) e *t*-butanol (0.52 M) (2). As medições de absorvância efectuaram-se 60  $\mu$ s após o fim do impulso do laser.

$\lambda/\text{nm}$	Abs <sup>(1)</sup>	Abs <sup>(2)</sup>
360	0,11	0,0123
365	0,452	0,0205
370	0,669	0,0275
375	0,808	0,0372
380	0,608	0,0235
385	0,24	0,0109
390	0,05	0,0072
395	0,014	0,0063
400	0,004	0,007
425	0,003	0,0062
450	0,004	0,004
475	-	0,0031
500	0,003	0,003
525	0,003	-
550	0,004	-
575	0	-
600	-	0,0004
625	0	-

**Tabela 6.14 - Dados obtidos no sistema de laser flash photolysis utilizados para a construção do espectro de absorção da espécie formada na fotólise por impulsos de luz de uma solução saturada de He de NFA ( $7.17 \times 10^{-4}$  M) (1) e NaOH ( $2.54 \times 10^{-3}$  M) (2), e ( $2.48 \times 10^{-2}$  M) (3) em metanol. As medições da absorvância foram efectuadas 150 ns (1,2 e 3) e 10 (3)  $\mu$ s após o fim do impulso do laser.**

$\lambda$ /nm	Abs/150ns <sup>(1)</sup>	Abs/150ns <sup>(2)</sup>	Abs/150ns <sup>(3)</sup>	Abs/10 $\mu$ s <sup>(3)</sup>
355	-0,0473	0,0352	0,1375	0,1917
360	-0,0118	0,0465	0,1465	0,2090
365	0,0031	0,0465	0,1716	0,2560
370	0,0200	0,0782	0,1795	0,2847
375	0,0325	0,0887	0,1912	0,2921
380	0,0356	0,1131	0,1805	0,2594
385	0,0360	0,1194	0,1888	0,2594
390	0,0424	0,1030	0,1780	0,2456
395	0,0414	0,1052	0,1566	0,2000
400	0,0365	0,0940	0,1401	0,1554
405	0,0380	0,0889	0,1194	0,1414
410	0,0314	0,0753	0,0996	0,1219
415	0,0333	0,0609	0,0775	0,0717
420	0,0392	0,0461	0,0600	0,0560
425	0,0250	0,0391	0,0497	0,0497
430	0,0366	0,0353	0,0405	0,0337
440	0,0327	0,0268	0,0364	0,0253
450	0,0278	0,0330	0,0201	0,0201
460	0,0257	0,0325	0,0223	0,0218
475	0,0253	0,0186	0,0216	0,0216
480	0,0266	0,0265	-	-
490	0,0208	0,0261	0,0176	0,0176
495	0,0244	0,0233	-	-
500	0,0206	0,0205	0,0256	0,0256
505	0,0158	0,0190	-	-
510	0,0122	0,0116	0,0267	0,0205
515	0,0139	0,0123	-	-
520	0,0100	0,0111	-	-
525	0,0094	0,0132	0,0149	0,0181
535	0,0063	0,0124	0,0228	0,0227
540	0,0064	0,0152	0,0117	0,0174
560	0,0044	0,0120	0,0165	0,0165
575	0,0042	0,0067	0,0137	0,0137
600	0,0045	0,0050	0,0031	0,0060

Tabela 6.15 - Dados obtidos no sistema de laser flash photolysis utilizados para a construção do espectro de absorção das espécies transientes formadas na fotólise por impulsos de luz de uma solução aquosa de (NFA  $9.47 \times 10^{-4}$  M) e KSCN (2.685 M). A medição das absorvâncias aos diferentes comprimentos de onda efectuou-se 25 ns e 100 ms após o fim do impulso do laser.

$\lambda/\text{nm}$	Abs/25ns	Abs/100ms
360	0,045	0,042
365	0,067	0,058
370	0,102	0,089
375	0,118	0,092
380	0,158	0,110
385	0,168	0,132
390	0,195	0,149
395	0,238	0,175
400	0,255	0,185
405	0,240	0,165
410	0,200	0,132
415	0,205	0,131
420	0,143	0,088
425	0,140	0,069
430	0,116	0,026
440	0,119	0,014
450	0,135	0,0086
460	0,147	0,007
470	0,159	0,006
480	0,158	0,0065
485	0,158	0,005
490	0,160	0,005
495	0,162	0,0042
500	0,152	0,0044
505	0,144	0,0038
510	0,125	0,006
520	0,118	0,003
525	0,114	0,007
530	0,109	0,007
540	0,088	0,0023
550	0,078	0,007
575	0,054	0,008
600	0,044	0,006
610	0,033	0,007
625	0,025	0,011
650	0,015	0,015

Tabela 6.16 - Dados obtidos no sistema de laser flash photolysis utilizados para a construção do espectro de absorção das espécies transientes formadas na fotólise por impulsos de luz de uma solução aquosa de NFA ( $9.55 \times 10^{-4}$  M) e KI (1.03 M). A medição das absorvâncias aos diferentes comprimentos de onda efectuou-se 100 ns após o fim do impulso do laser.

$\lambda/\text{nm}$	Abs/100ns
350	0,0419
355	0,0484
360	0,0564
365	0,0676
370	0,0793
375	0,0895
380	0,0832
385	0,0674
390	0,0587
395	0,0569
400	0,0574
405	0,053
410	0,048
415	0,0404
420	0,033
425	0,0265
435	0,0169
450	0,0106
475	0,008



Tabela 6.17 - Dados obtidos no sistema de laser flash photolysis utilizados para a construção do espectro de absorção das espécies transientes formadas na fotólise por impulsos de luz de uma solução aquosa de NFA ( $9.05 \times 10^{-4}$  M) e  $\text{NaNO}_2$  ( $1.54 \times 10^{-2}$  M). A medição das absorvâncias aos diferentes comprimentos de onda efectuou-se 13 e 350 ns após o fim do impulso do laser.

$\lambda/\text{nm}$	Abs/13ns	Abs/350ns
360	0,107	0,2022
365	0,2644	0,2933
370	0,3777	0,4037
375	0,431	0,4331
380	0,4343	0,4641
385	0,4406	0,4773
390	0,4767	0,4919
395	0,4684	0,4934
400	0,4597	0,4781
405	0,4347	0,4741
410	0,486	0,4391
415	0,4744	0,4092
420	0,3612	0,2556
425	0,37	0,1765
435	0,168	0,0436
450	0,2012	0,0302
465	0,241	0,0289
475	0,3262	0,0424
480	0,3883	0,0255
485	0,3307	0,0306
500	0,2013	0,0411
510	0,154	0,0164
520	0,1303	0,0111
525	0,1287	0,0136
550	0,076	0,0151
575	0,0413	0,0164
580	0,053	0,0213
600	0,056	0,0165
625	0,037	0,0157
650	0,028	0,0075

## 6.4. Fotólise do NFA em meio aquoso

Após a fotólise do NFA em meio aquoso, tanto no sistema de laser flash photolysis como no reactor fotoquímico, as soluções fotolisadas foram sujeitas a separação cromatográfica e caracterização dos seus fotoprodutos maioritários. As figuras apresentadas nas secções seguintes apresentam os resultados obtidos relativos ao efeito de diversas variações efectuadas experimentalmente na fotólise do NFA em meio aquoso ([NFA], efeito da presença de tampão e diferentes substratos) e à caracterização dos fotoprodutos maioritários por diferentes técnicas analíticas instrumentais.

### 6.4.1. Efeito da Concentração inicial de NFA na fotólise no sistema de laser flash photolysis

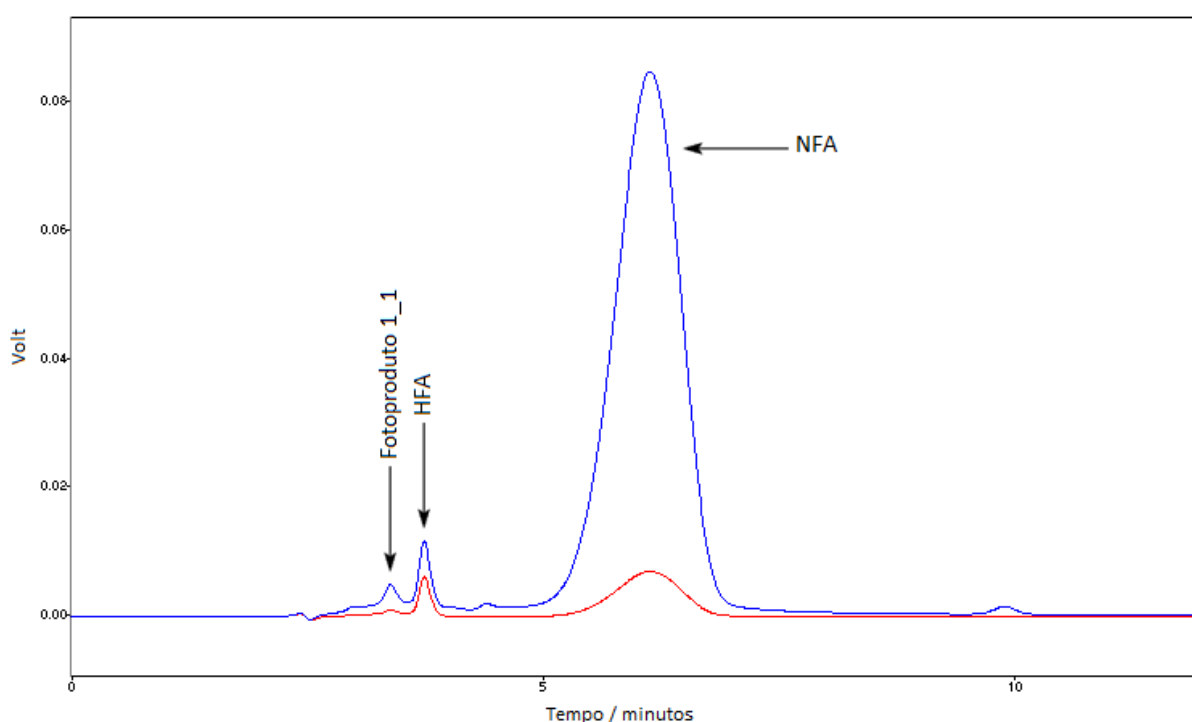


Figura 6.1 – Cromatograma de solução aquosa de NFA ( $9.17 \times 10^{-5}$  M) fotolisada com 10 impulsos de luz de 355 nm (Linha Vermelha) e de uma solução aquosa de NFA ( $9.12 \times 10^{-4}$  M) fotolisada com 9 impulsos de luz de 355 nm (Linha Azul).

#### 6.4.2. Efeito da presença de NaCl na fotólise do NFA em meio aquoso

Tabela 6.18 – Resultados obtidos após a irradiação de 9 impulsos de luz de 355 nm de uma solução de NFA ( $9.14 \times 10^{-4}$  M) na presença de Cl<sup>-</sup>. A concentração de CFA corresponde ao valor médio calculado através da área e altura do pico correspondente detectado no sistema de HPLC analítico. [NaCl/KCl], [CFA] e [HNO<sub>2</sub>] expressas em M.

[NaCl/KCl]	[CFA]	[HNO <sub>2</sub> ]	Fotoproducto 1		Fotoproducto 2	
			Área	Altura	Área	Altura
0,00	0	1,10E-04	26877	3185	31358	3724
0,01	6,54E-07	9,60E-05	26207	3127	25299	2974
0,05	1,66E-06	6,17E-05	17877	2132	20269	2409
0,10	2,07E-06	4,40E-05	16624	1965	10079	1206
0,20	2,49E-06	3,37E-05	14890	1714	9207	1124
0,41	2,84E-06	2,15E-05	12921	1520	5256	647
1,64	3,44E-06	1,06E-05	9905	1206	880	119
3,20	3,98E-06	9,04E-06	10511	1205	168	23

Tabela 6.19 – Tratamento dos dados obtidos após a irradiação de 9 impulsos de luz de 355 nm de uma solução de NFA ( $9.14 \times 10^{-4}$  M) na presença de Cl<sup>-</sup> para a construção da Figura 3.27 e Figura 3.28. A  $\Delta$ [HNO<sub>2</sub>] e [CFA]/[HNO<sub>2</sub>] foram corrigidas tendo em conta a concentração inicial de nitrito da solução não fotolisada de NFA ( $4.35 \times 10^{-6}$  M).

[NaCl/KCl]	[CFA]	[HNO <sub>2</sub> ]	$\Delta$ Fotoproducto 1	$\Delta$ Fotoproducto 2	$\Delta$ [HNO <sub>2</sub> ]	[CFA]/[HNO <sub>2</sub> ]
0	0	1,10E-04	100%	100%	100%	0%
0,01	6,54E-07	9,60E-05	98%	80%	87%	1%
0,05	1,66E-06	6,17E-05	67%	65%	54%	3%
0,10	2,07E-06	4,40E-05	62%	32%	38%	5%
0,20	2,49E-06	3,37E-05	55%	30%	28%	8%
0,41	2,84E-06	2,15E-05	48%	17%	16%	17%
1,64	3,44E-06	1,06E-05	37%	3%	6%	55%
3,20	3,98E-06	9,04E-06	38%	1%	4%	85%

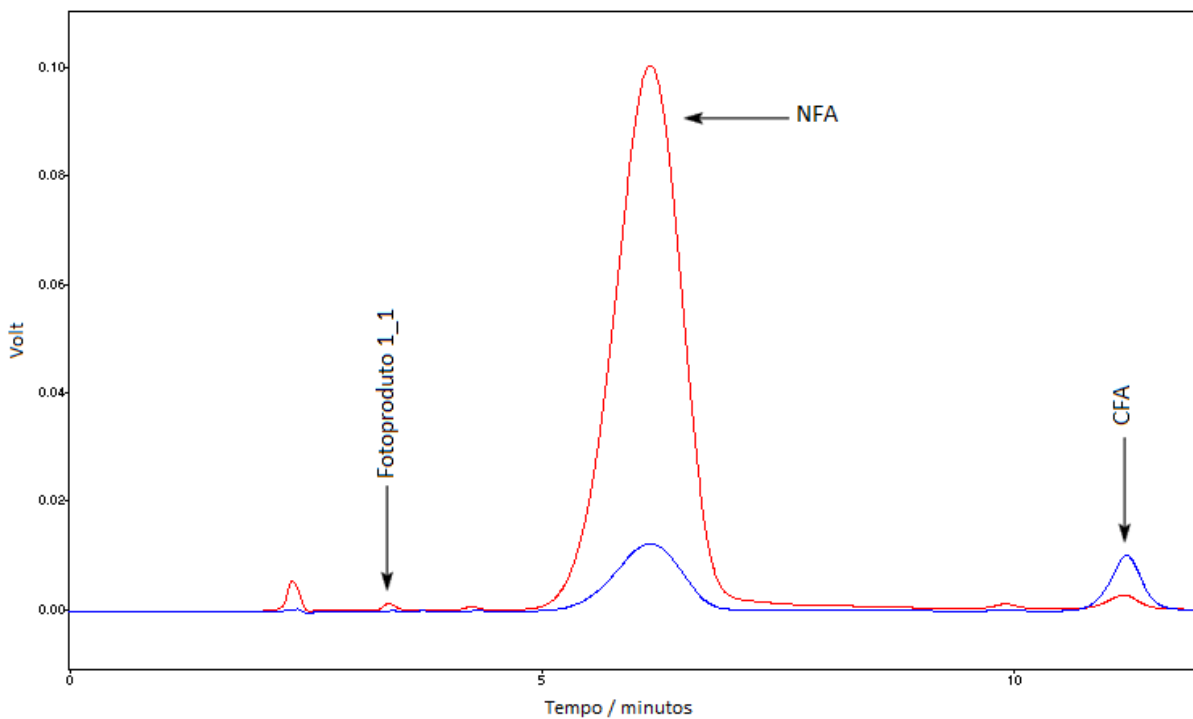


Figura 6.2 – Cromatograma de solução aquosa de NFA ( $1.15 \times 10^{-4}$  M) e CFA ( $1.44 \times 10^{-5}$  M) (Linha Azul) e de solução aquosa de NFA ( $9.14 \times 10^{-4}$  M) e NaCl (1.6414 M) fotolisada com 9 impulsos de luz de 355 nm (Linha Vermelha).

#### 6.4.3. Regeneração de NFA na presença de concentração elevada de KCl

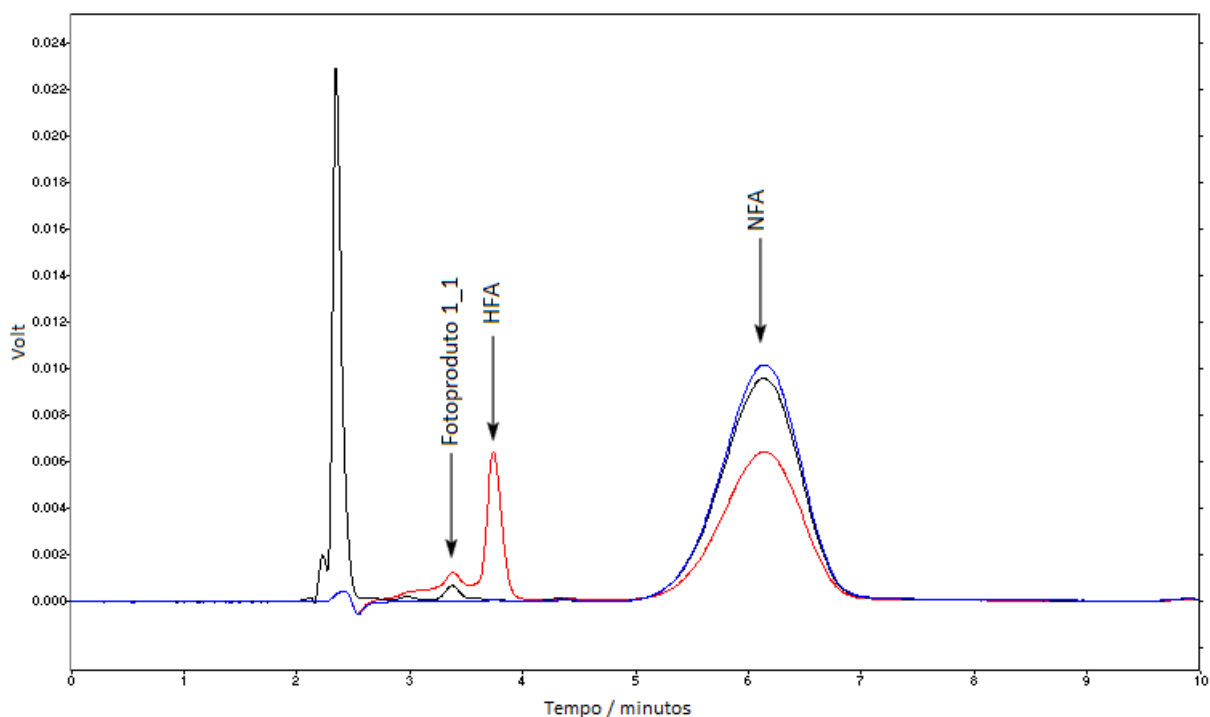


Figura 6.3 – Cromatograma de uma solução aquosa de NFA ( $9.17 \times 10^{-5}$  M) (Linha Azul) fotolisada com 15 impulsos de luz de 355 nm (Linha Vermelha) e de solução aquosa de NFA ( $9.17 \times 10^{-5}$  M) e KCl (3.4138 M) fotolisada com 15 impulsos de luz (Linha Preta).

#### 6.4.4. Degradação térmica dos fotoprodutos da fotólise do NFA em solução aquosa

A Figura 6.4 e Figura 6.5 apresentam o efeito do pH na evolução térmica dos primeiros fotoprodutos finais da fotólise do NFA em meio aquoso.

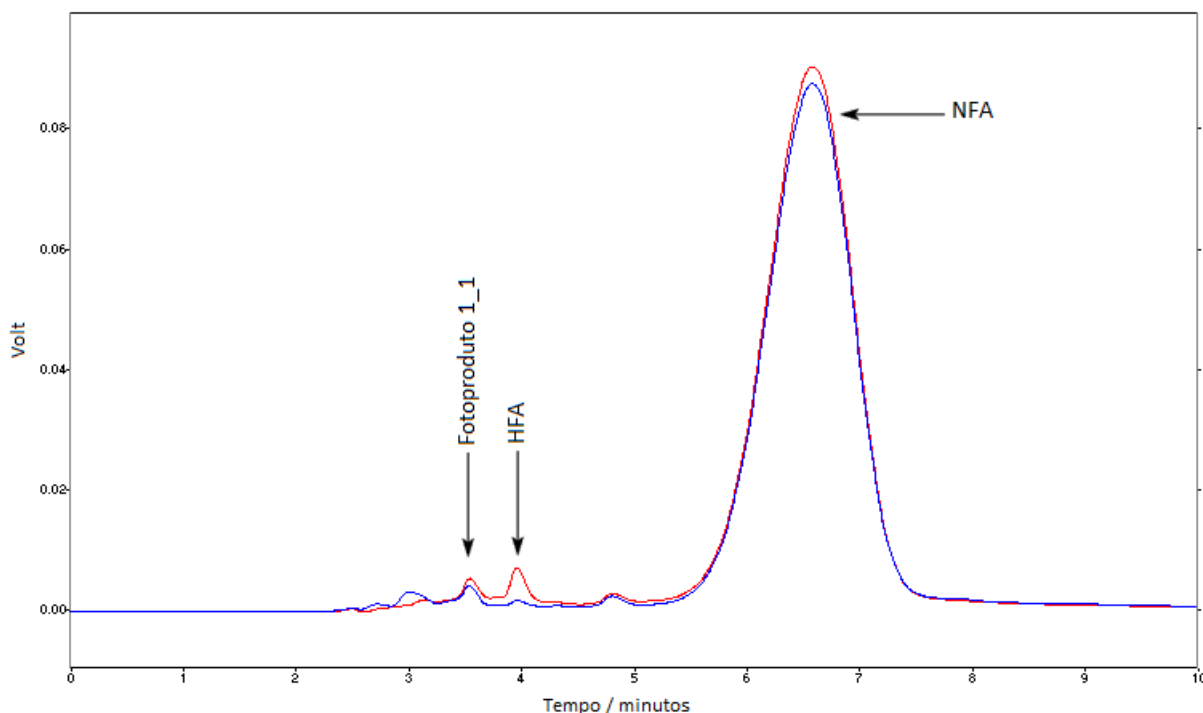


Figura 6.4 – Cromatograma de uma solução aquosa de (NFA  $1.09 \times 10^{-3}$  M) fotolisada com 8 impulsos de luz de 355 nm (Linha Vermelha) e após o seu armazenamento no escuro à temperatura ambiente durante 4,5 horas (Linha Azul).

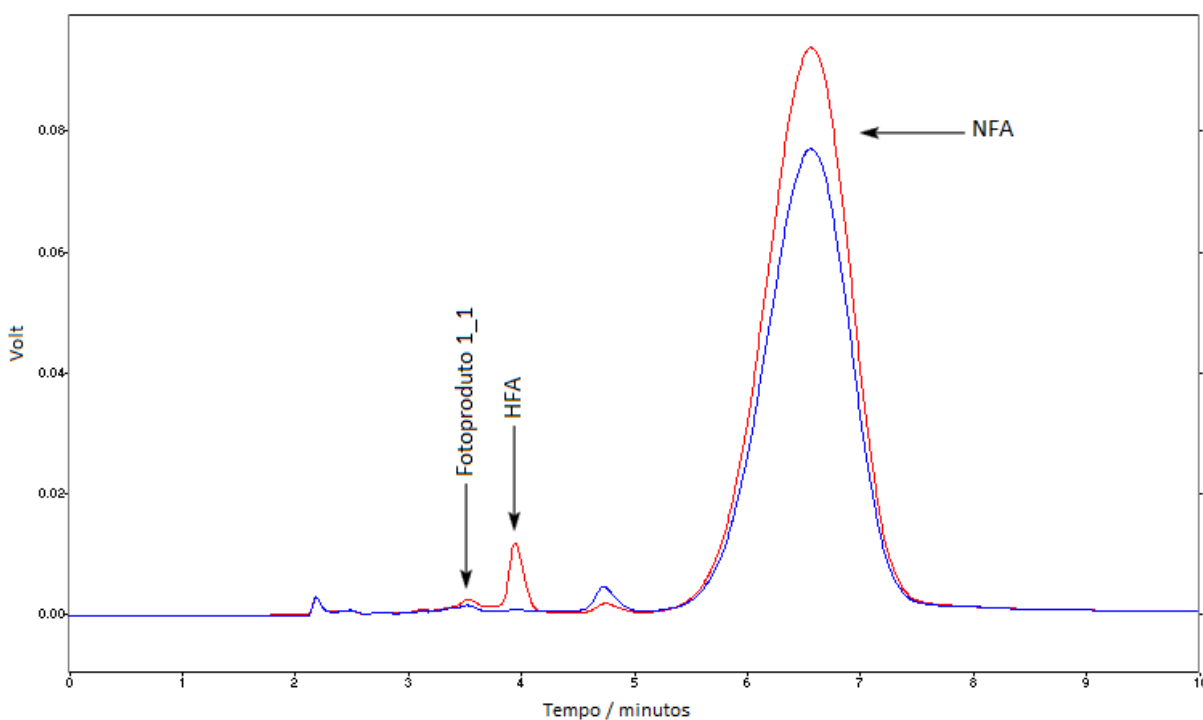


Figura 6.5 - Cromatograma de uma solução aquosa de NFA ( $1.09 \times 10^{-3}$  M) tamponada e fotolisada com 8 impulsos de luz de 355 nm (Linha Vermelha) e após o seu armazenamento no escuro à temperatura ambiente durante 4,5 horas (Linha Azul).

#### 6.4.5. Efeito da presença de $\text{NaNO}_2$ na fotólise do NFA em meio aquoso

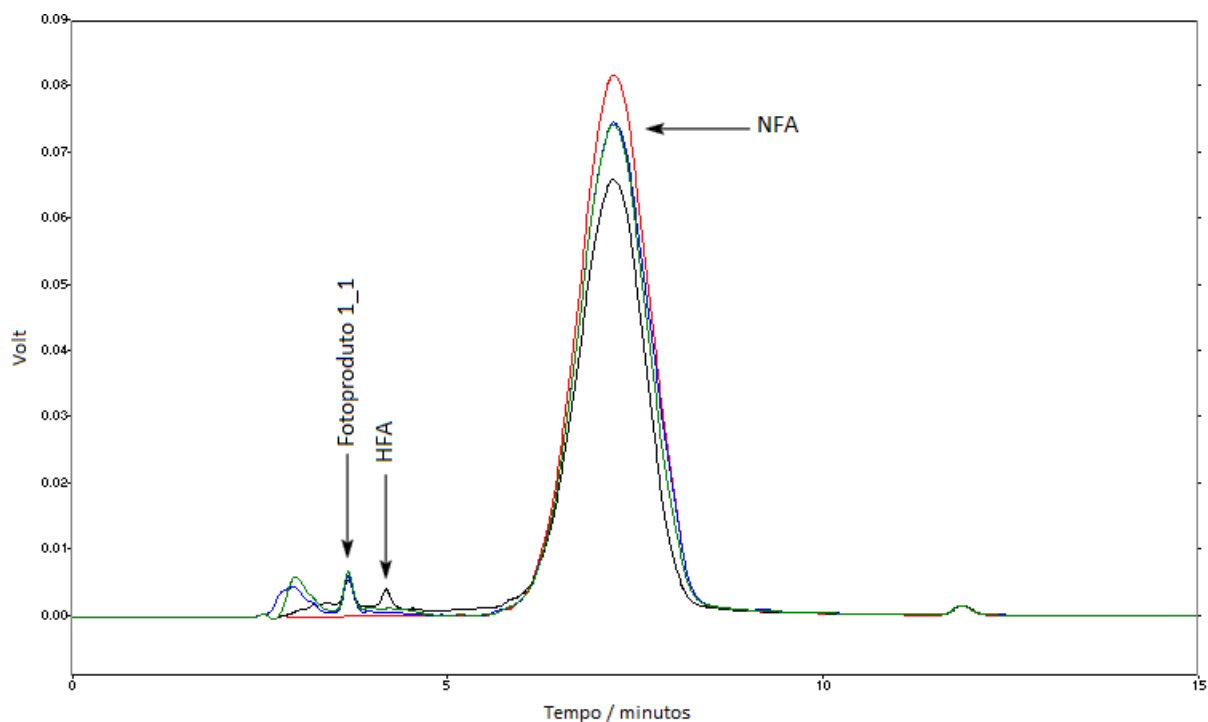


Figura 6.6 – Cromatograma de uma solução aquosa de NFA ( $9.52 \times 10^{-4}$  M) e  $\text{NaNO}_2$  ( $4.5 \times 10^{-3}$  M) (Linha Vermelha) fotolisada com 15 impulsos de luz de 355 nm (Linha Azul), de uma solução aquosa de NFA ( $9.52 \times 10^{-4}$  M) fotolisada com 15 impulsos de luz 355 nm (Linha Preta) e de uma solução aquosa de NFA ( $9.52 \times 10^{-4}$  M) e  $\text{NaNO}_2$  ( $2.25 \times 10^{-3}$  M) fotolisada com 15 impulsos de luz 355 nm (Linha Verde).

#### 6.4.6. Hidrólise do AMF em meio ácido e temperatura elevada

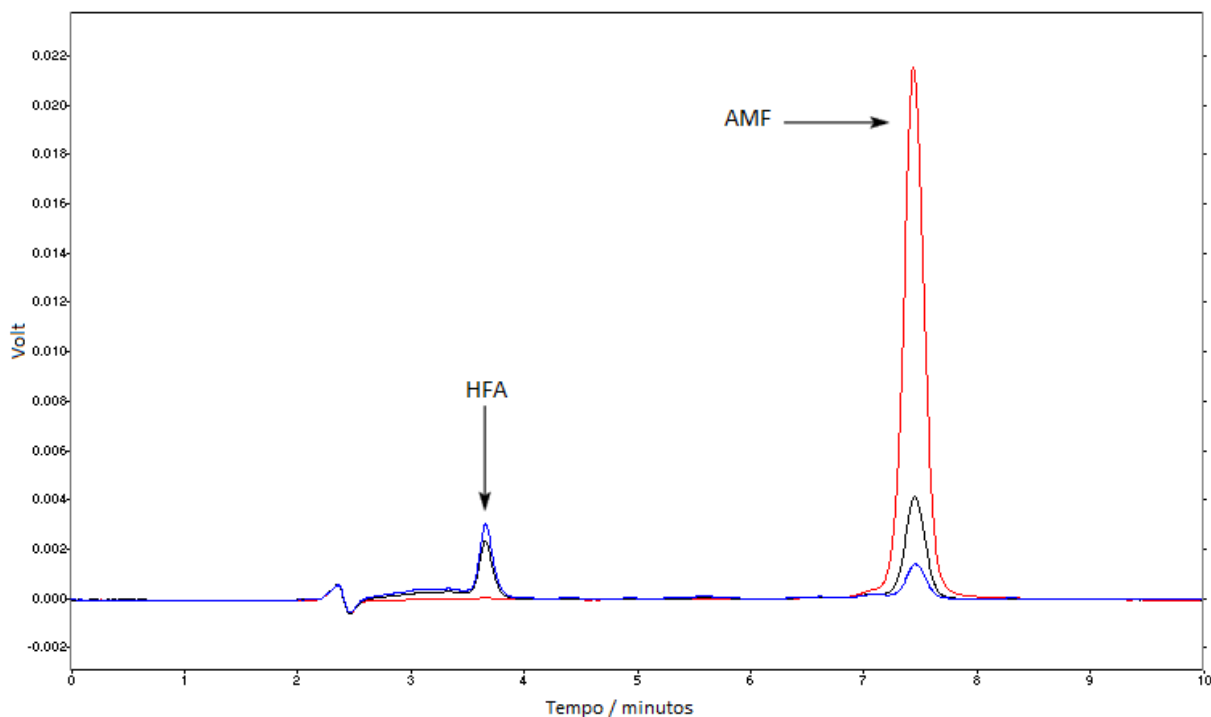


Figura 6.7 - Cromatograma da fracção de AMF recolhida no sistema HPLC semipreparativo (Linha Vermelha) após aquecimento num banho térmico a  $80^\circ\text{C}$  durante 30 minutos (Linha Preta) e 60 minutos (Linha Azul). Os tempos de retenção nos cromatogramas apresentados não correspondem aos indicados na discussão de resultados devido ao desgaste da coluna cromatográfica utilizada nesta separação de componentes.

#### 6.4.7. Espectros de absorção uv dos produtos de foto-substituição originados na fotólise do NFA em meio aquoso

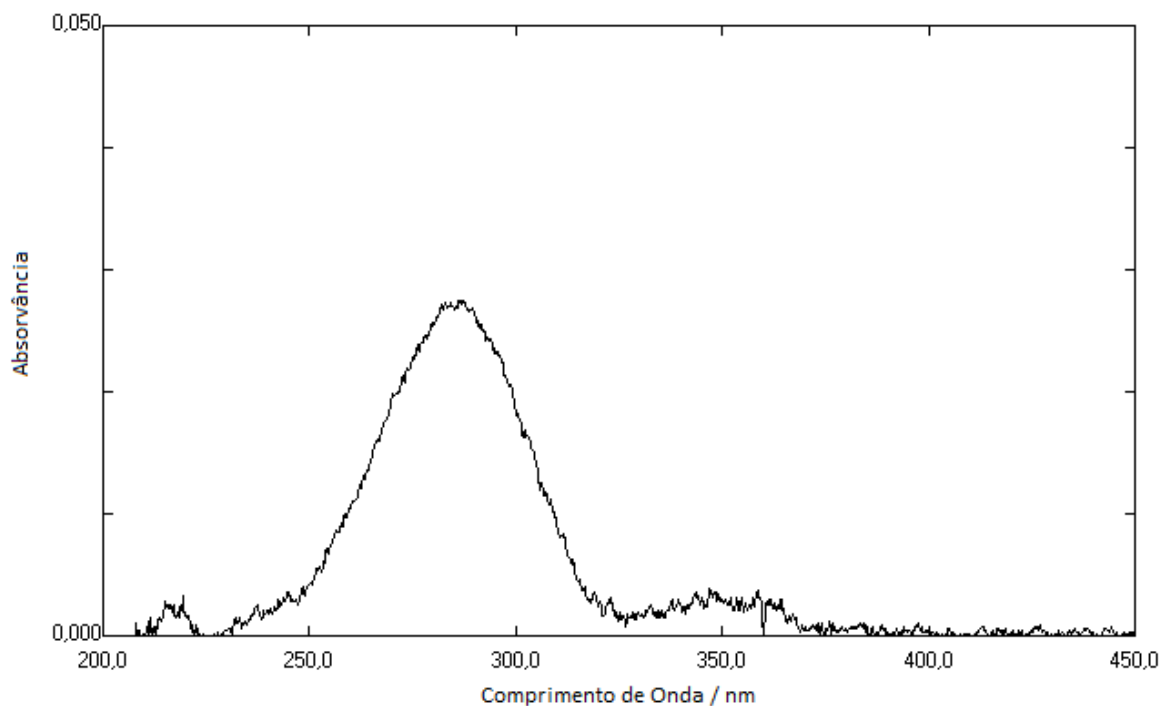


Figura 6.8 – Espectro de absorção uv do AMF ( $\lambda_{\text{max}} = 286.0$  nm) formado por acetilação, com anidrido acético, do HFA proveniente da fotólise de uma solução aquosa de NFA ( $1.03 \times 10^{-3}$  M) no reactor fotoquímico. O AMF foi isolado por separação cromatográfica no sistema HPLC semipreparativo e o seu espectro medido em solução aquosa neutra com 25% (v/v) de metanol.

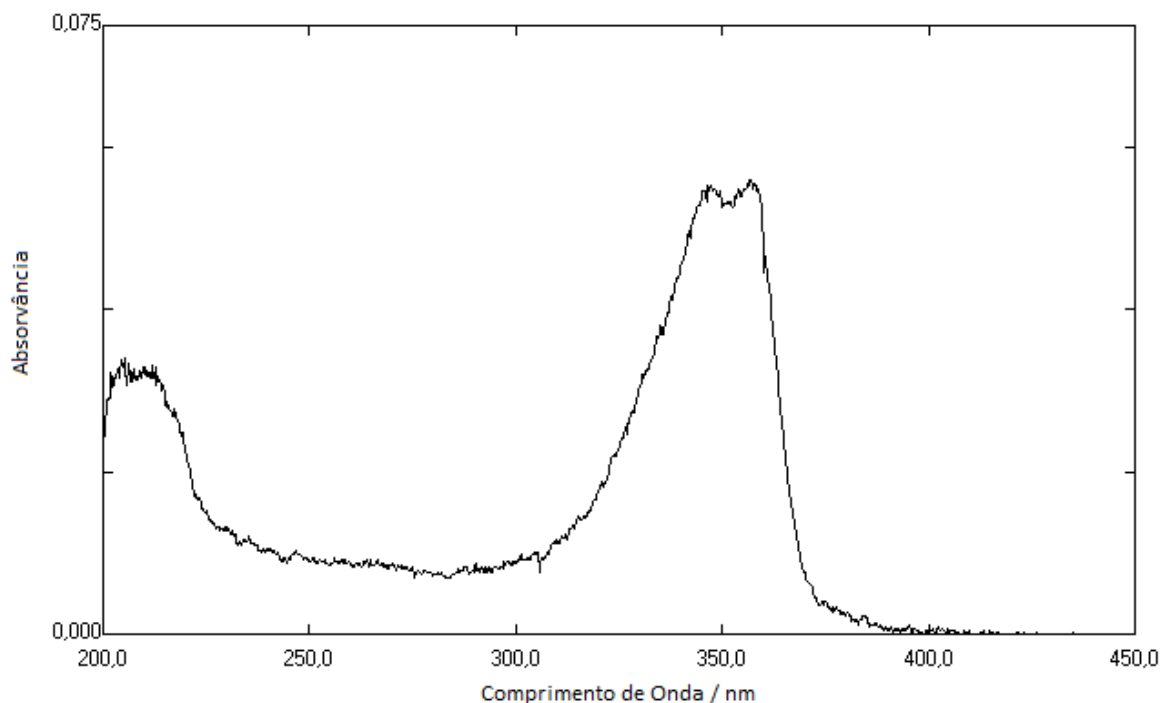


Figura 6.9 – Espectro de absorção uv do HMF ( $\lambda_{\text{max}} = 348.0$  e  $357.0$  nm) formado a partir de uma fracção de AMF recolhida no sistema de HPLC semipreparativo e deixada a hidrolisar durante 48 horas em solução aquosa neutra com 25% (v/v) de metanol.

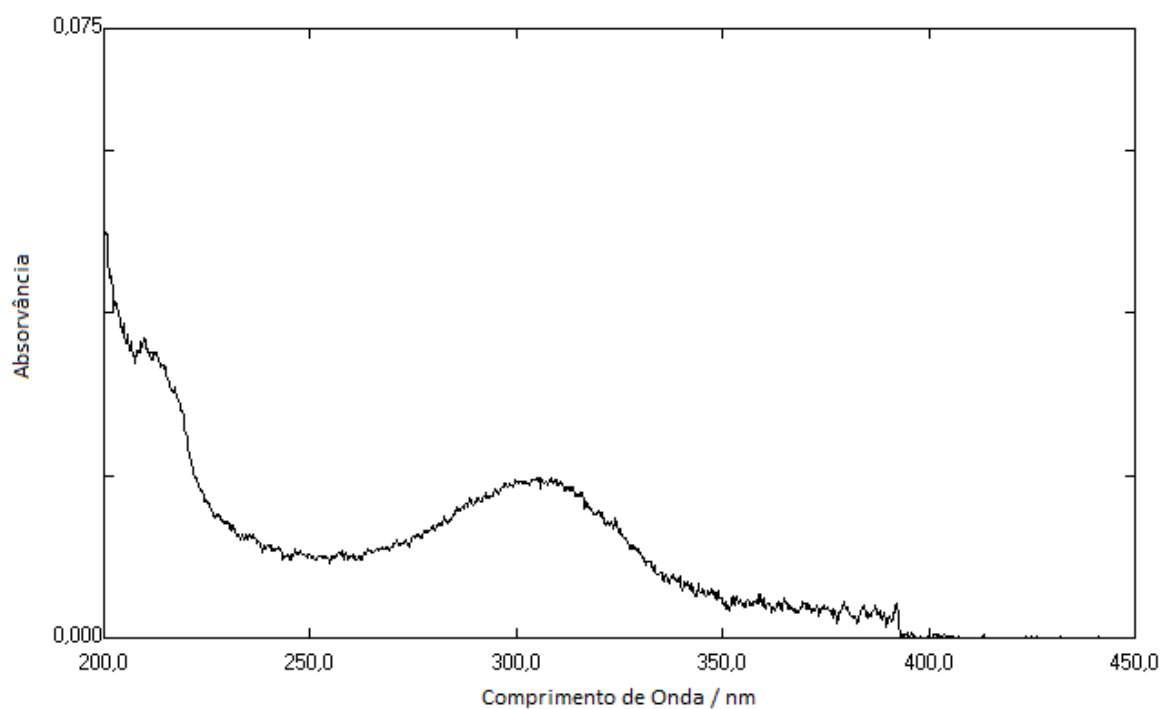


Figura 6.10 – Espectro de absorção uv do HFA ( $\lambda_{\max} = 305.0$  nm) formado a partir da acidificação para pH=3 de uma fração de AMF recolhida no sistema de HPLC semipreparativo e deixada a hidrolisar durante 48 horas em solução aquosa neutra com 25% (v/v) de metanol.

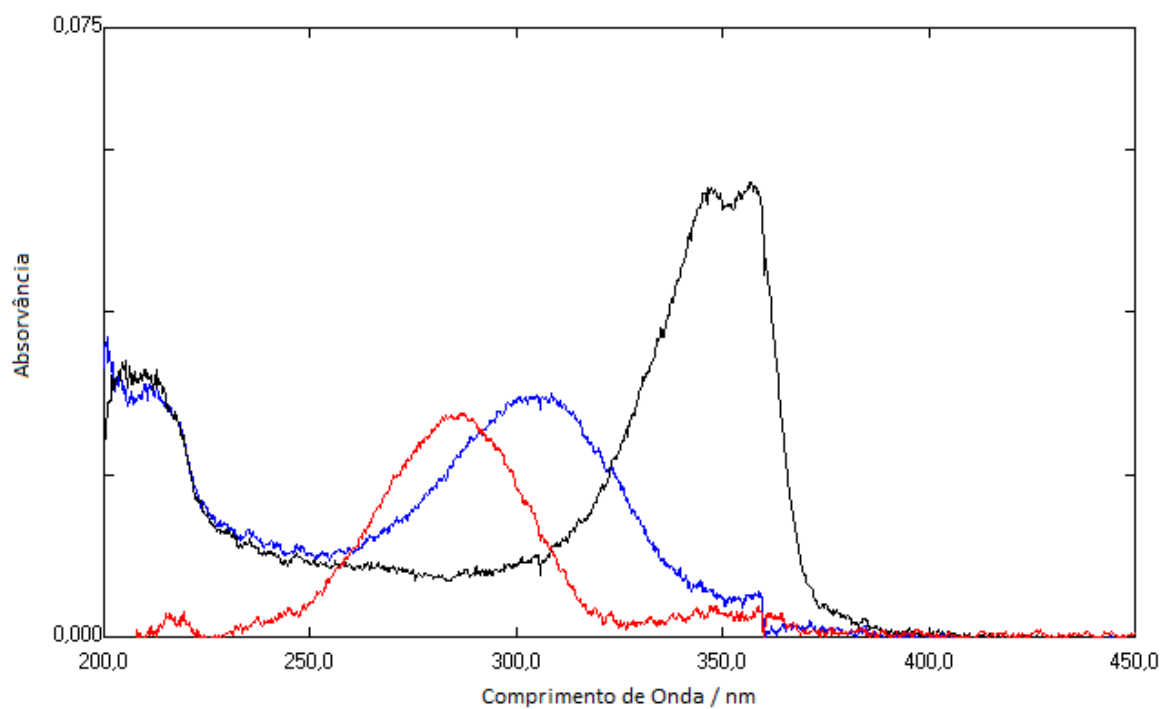


Figura 6.11 – Sobreposição dos espectros de absorção uv do 5-acetoximetileno-2-furanona (AMF;  $\lambda_{\max} = 286.0$  nm) (Linha Vermelha), do 5-hidroximetileno-2-furanona (HMF;  $\lambda_{\max} = 348.0$  e  $357.0$  nm) (Linha Preta) e do 5-hidroxi-2-furaldeído (HFA;  $\lambda_{\max} = 305.0$  nm) (Linha Azul).



#### 6.4.8. Espectros de absorção uv dos fotoprodutos de redução originados na fotólise do NFA em meio aquoso

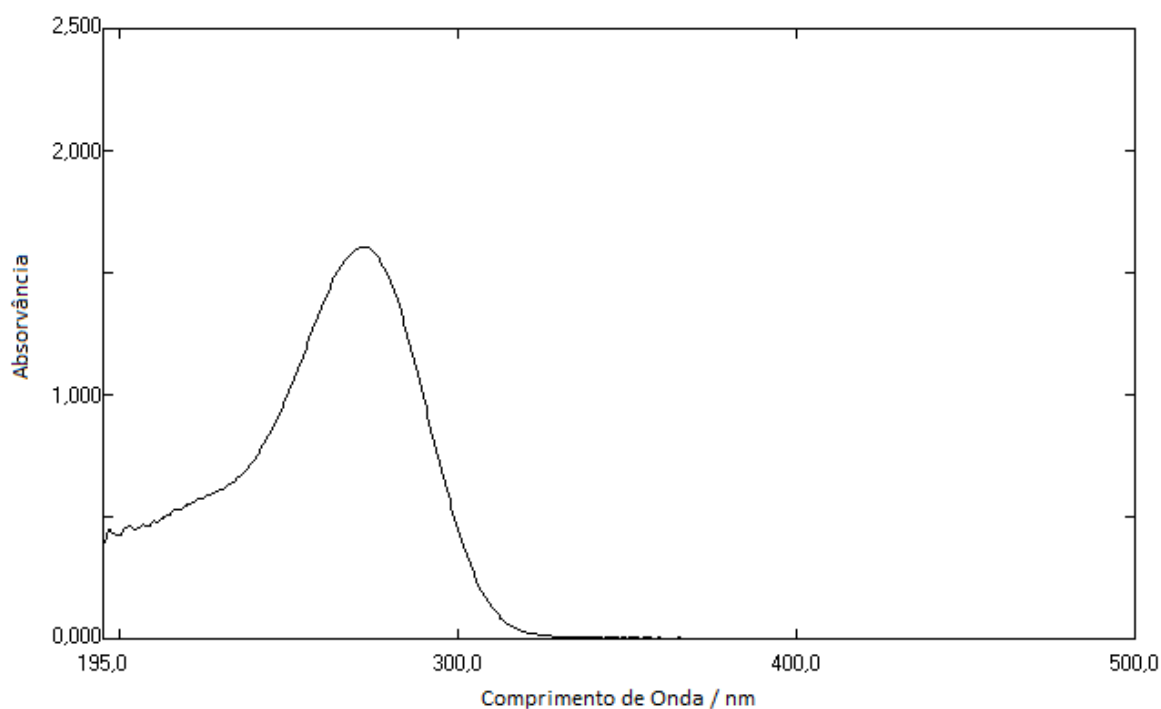


Figura 6.12 - Espectro de absorção uv do fotoproduto 1\_1 ( $t_R = 3.69$  min e  $\lambda_{max} = 271.5$  nm) isolado e purificado a partir de uma solução aquosa de NFA fotolisada no reactor fotoquímico.

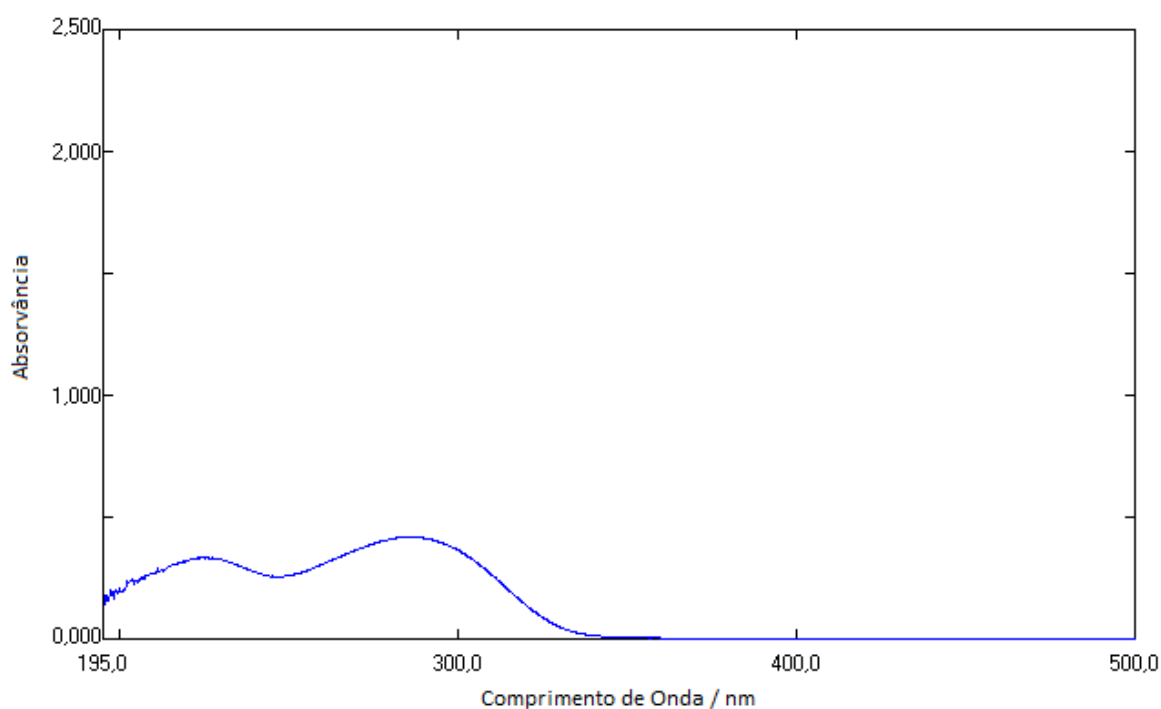


Figura 6.13 - Espectro de absorção uv do fotoproduto 1\_2 ( $t_R = 3.99$  min e  $\lambda_{max} = 285.6$  e  $224,6$  nm) isolado e purificado a partir de uma solução aquosa de NFA fotolisada no reactor fotoquímico.

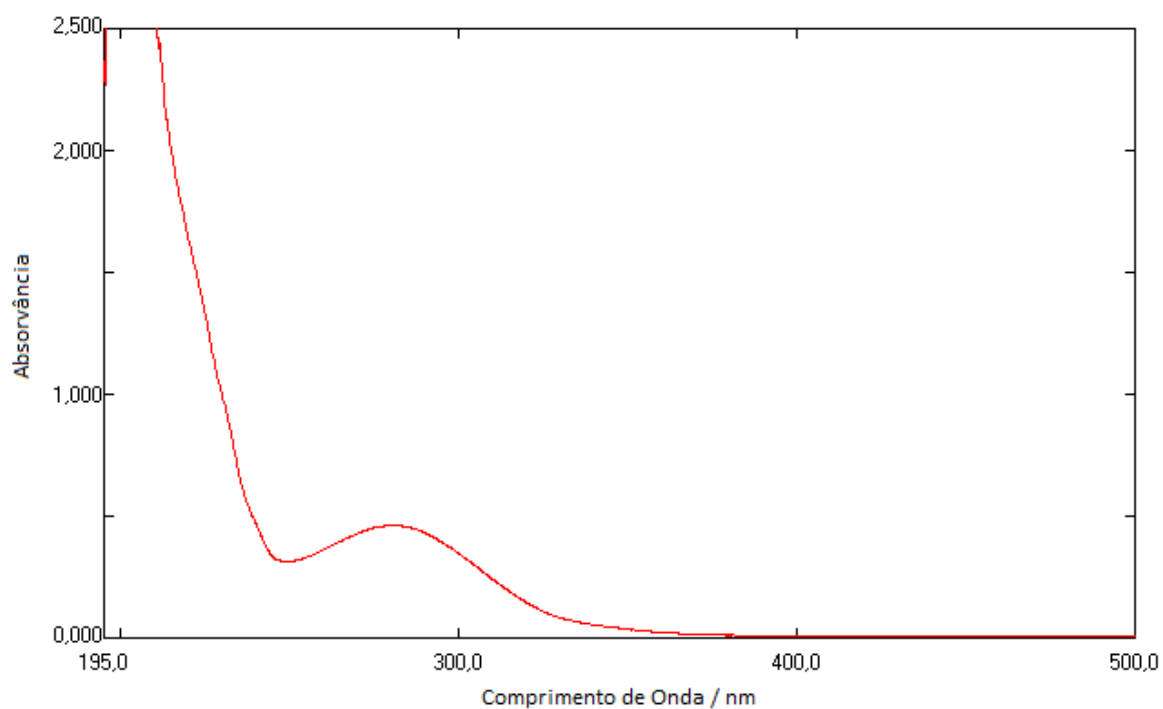


Figura 6.14 - Espectro de absorção uv do fotoproduto 1\_3 ( $t_R = 3.28$  min e  $\lambda_{max} = 281.6$  nm) isolado e purificado a partir de uma solução aquosa de NFA fotolisada no reactor fotoquímico.

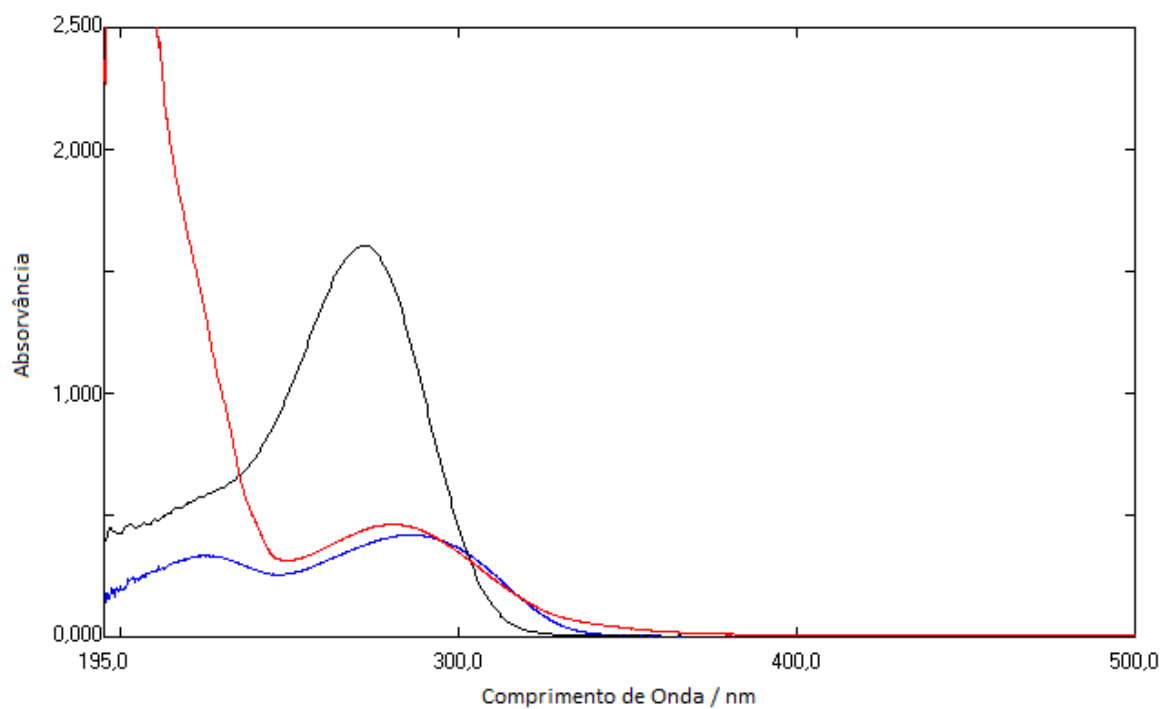
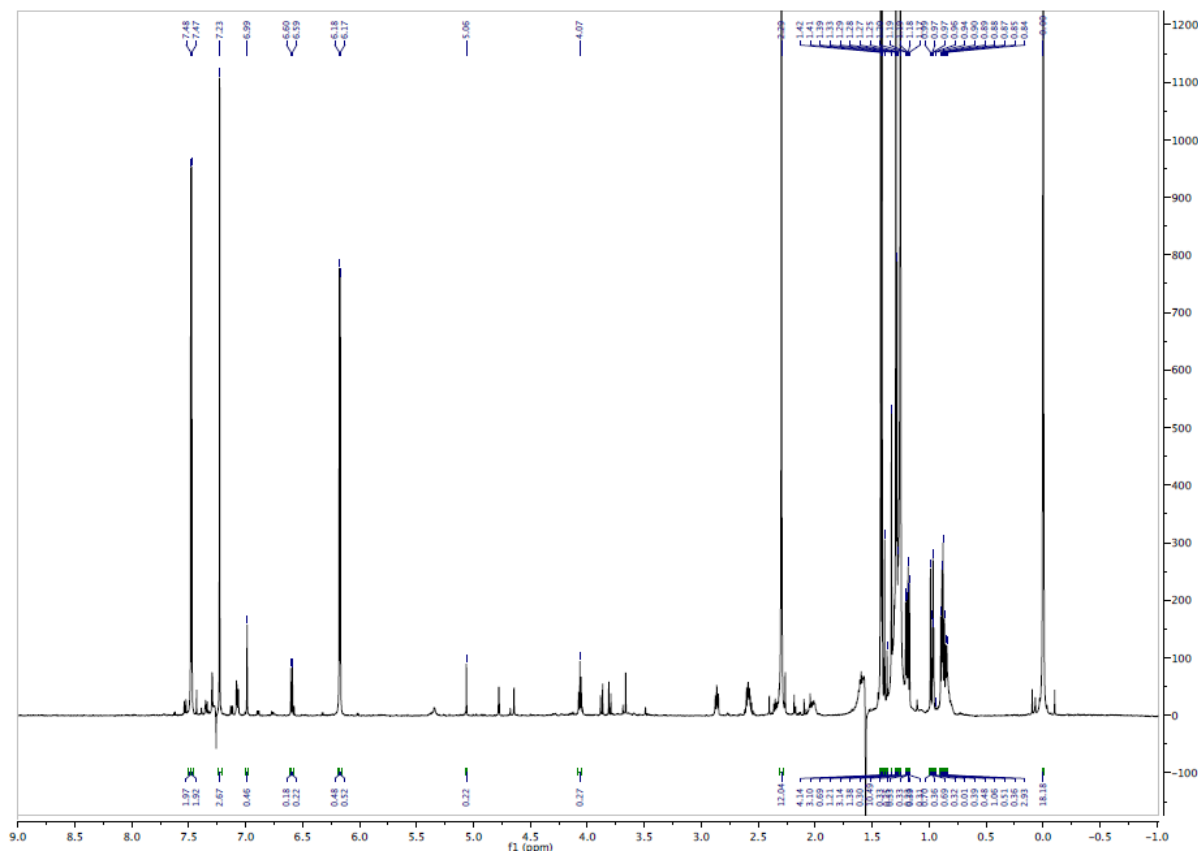


Figura 6.15 - Sobreposição dos espectros de absorção uv dos fotoprodutos 1\_1 (Linha Preta), 1\_2 (Linha Azul) e 1\_3 (Linha Vermelha) isolados e purificados a partir da fotólise do NFA em água no reactor fotoquímico.

### 6.4.9. Espectro de RMN de prótons do AMF originado por acetilação do HFA formado na fotólise do NFA em água

Espectro RMN 6.1 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do AMF obtido a partir da acetilação, com anidrido acético, do HFA formado na fotólise de uma solução aquosa de NFA no reactor fotoquímico.



## 6.5. Fotólise do NFA em propan-2-ol

Durante a realização da parte experimental do trabalho irradiaram-se várias soluções de NFA em propan-2-ol. Inicialmente, as soluções fotolisadas por impulsos de luz foram analisadas no sistema HPLC analítico e os fotoprodutos maioritários observados. Posteriormente, efectuou-se a fotólise no reactor fotoquímico (em condições idênticas) de forma a produzir maior quantidade dos fotoprodutos maioritários. Após várias etapas de separação cromatográfica, purificação e concentração, os fotoprodutos recolhidos foram caracterizados por várias técnicas analíticas instrumentais. As secções seguintes apresentam os resultados obtidos.

### 6.5.1. Análise no sistema HPLC analítico dos fotoprodutos originados na fotólise do NFA em propan-2-ol

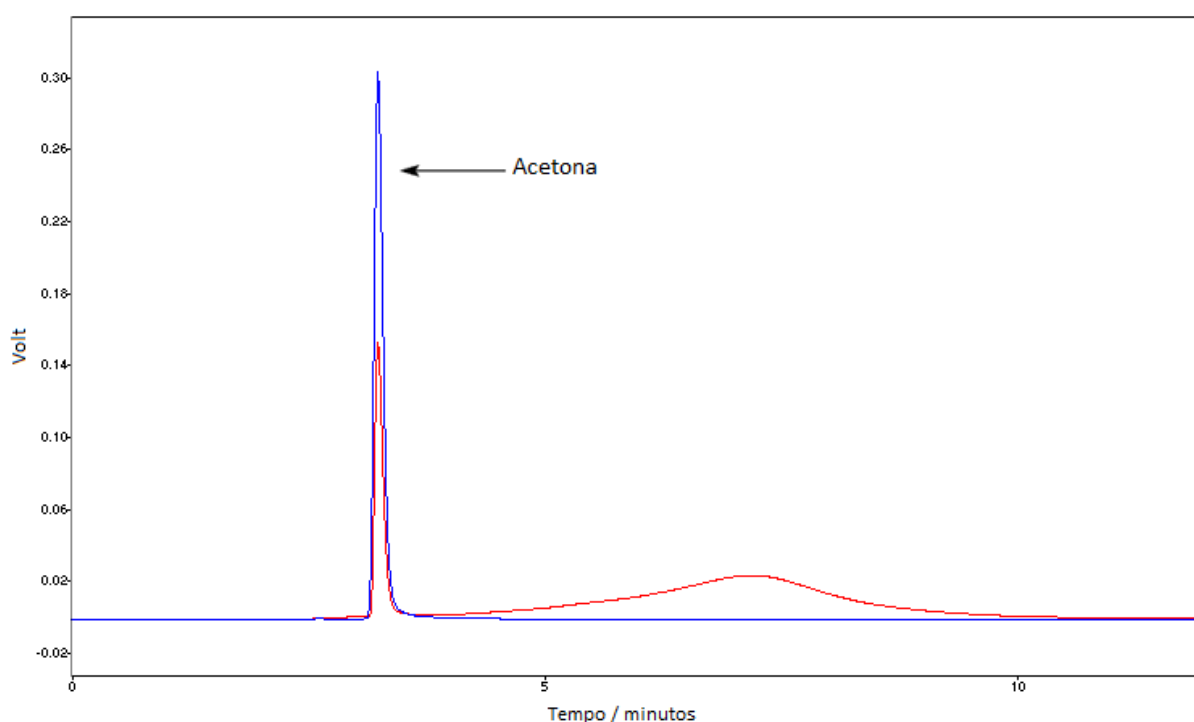


Figura 6.16 – Cromatograma de uma solução contendo 1% (v/v) de acetona em propan-2-ol (Linha Azul) e de uma solução de NFA ( $9.80 \times 10^{-4}$  M) em propan-2-ol fotolisada com 30 impulsos de luz de 355 nm (Linha Vermelha).

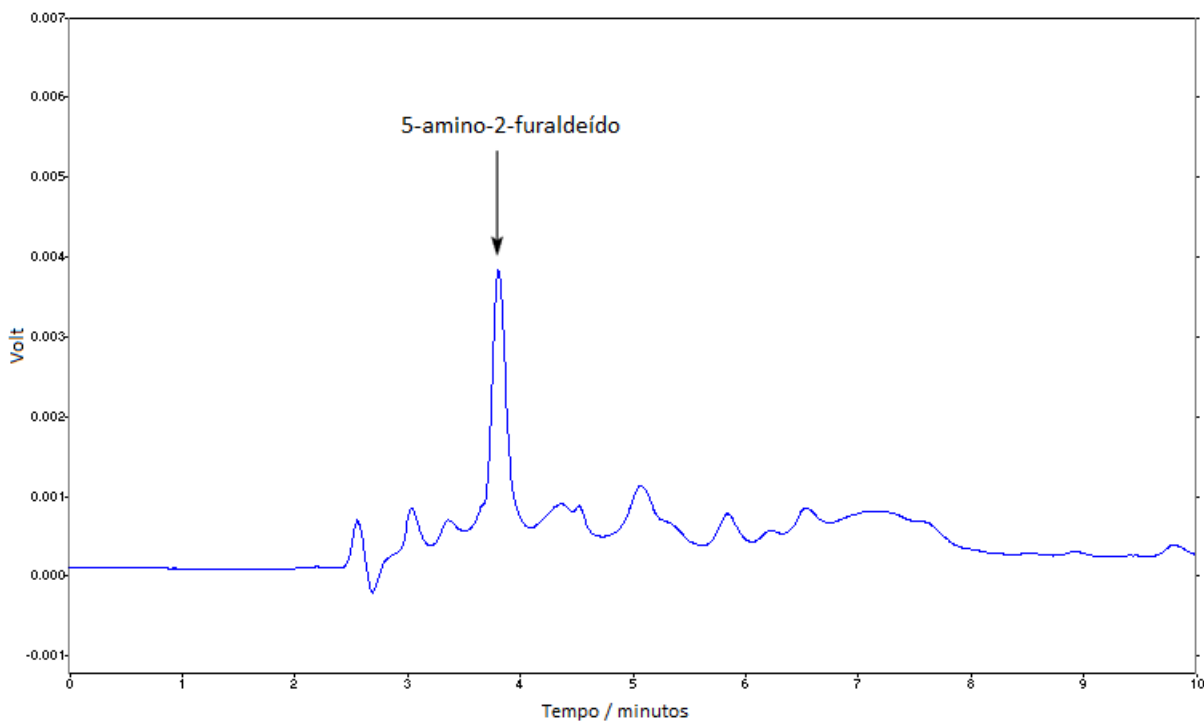


Figura 6.17 – Cromatograma obtido na fotólise prolongada com lâmpada de Xenon, durante 60 minutos, de uma solução de NFA em propan-2-ol. Para a análise cromatográfica evaporou-se o propan-2-ol no evaporador rotativo sob vácuo a temperatura moderada e redissolveu-se o resíduo obtido em água desionizada. A detecção de componentes foi realizada a 350 nm.

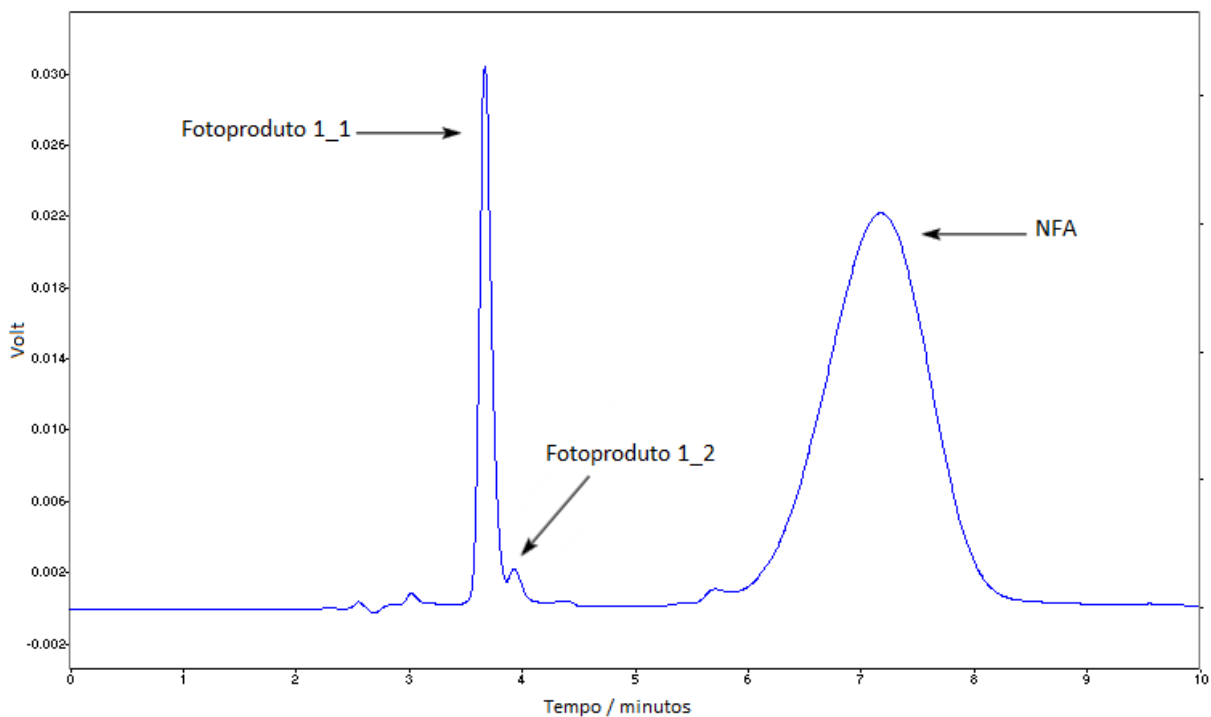


Figura 6.18 – Cromatograma de uma solução obtida pela dissolução em água do resíduo formado na evaporação do solvente até à secura de uma solução de NFA ( $9.46 \times 10^{-4}$  M) em propan-2-ol, saturada de He, fotolisada com 15 impulsos de luz de 355 nm.

### 6.5.2. Espectros de absorção uv dos fotoprodutos de redução originados na fotólise do NFA em propan-2-ol

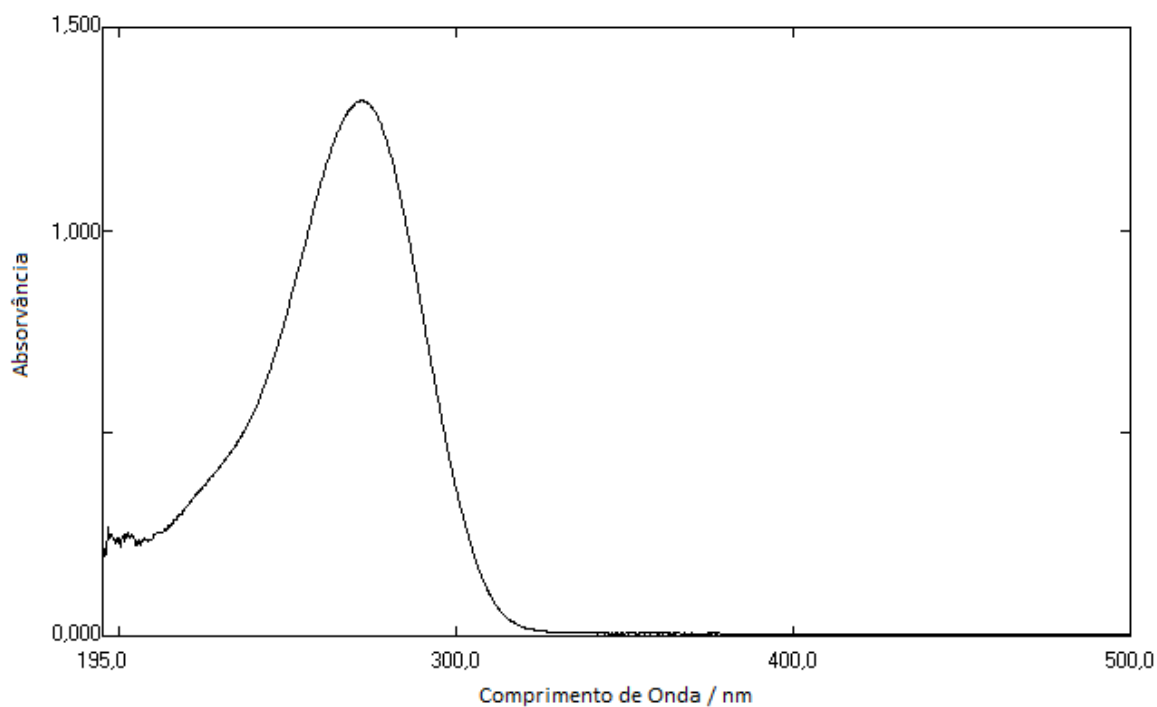


Figura 6.19 – Espectro de absorção uv do fotoproducto 1\_1 ( $t_R = 3.69$  min e  $\lambda_{max} = 272.2$  nm) isolado e purificado a partir de uma solução de NFA em propan-2-ol fotolisada no reactor fotoquímico.

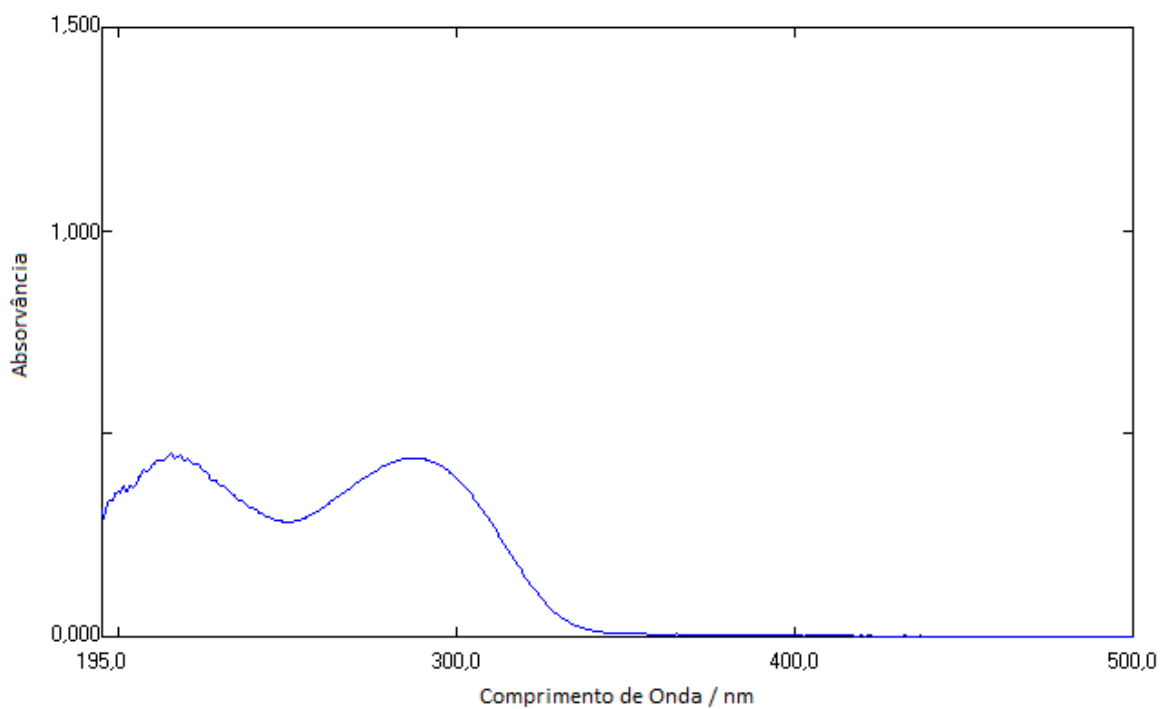


Figura 6.20 - Espectro de absorção uv do fotoproducto 1\_2 ( $t_R = 3.99$  min e  $\lambda_{max} = 288.5$  e 215.5 nm) isolado e purificado a partir de uma solução de NFA em propan-2-ol fotolisada no reactor fotoquímico.

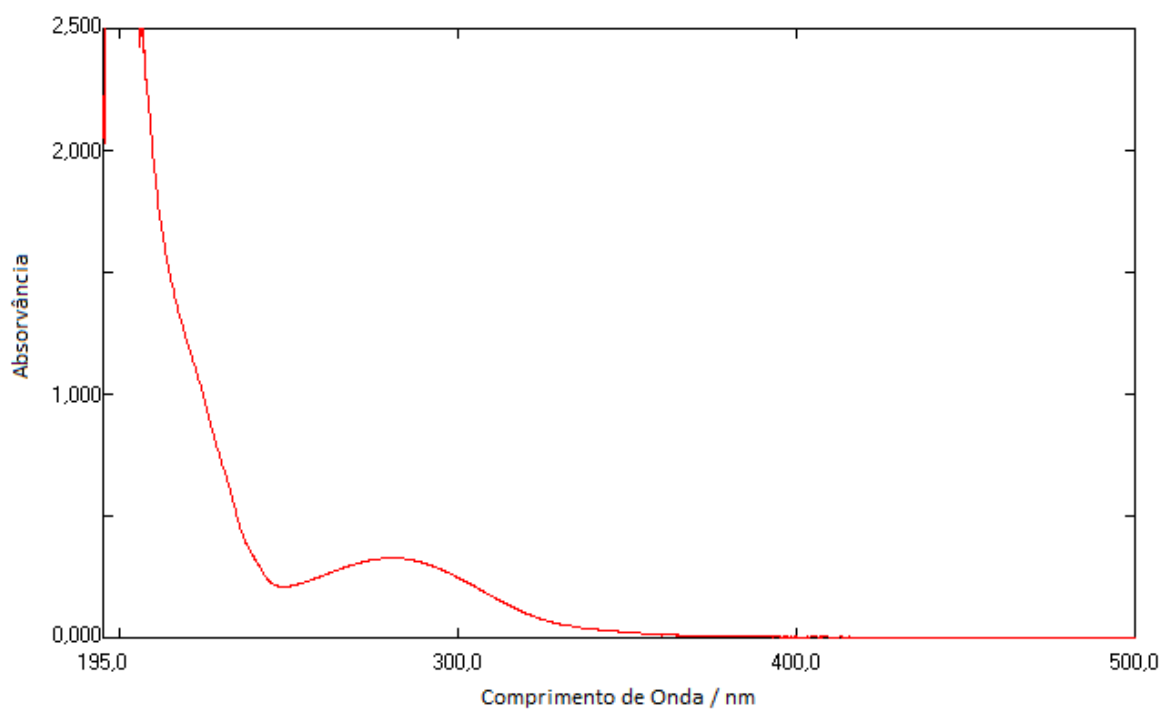


Figura 6.21 - Espectro de absorção uv do fotoproduto 1\_3 ( $t_R = 3.28$  min e  $\lambda_{max} = 281.8$  nm) isolado e purificado a partir de uma solução de NFA em propan-2-ol fotolisada no reactor fotoquímico.

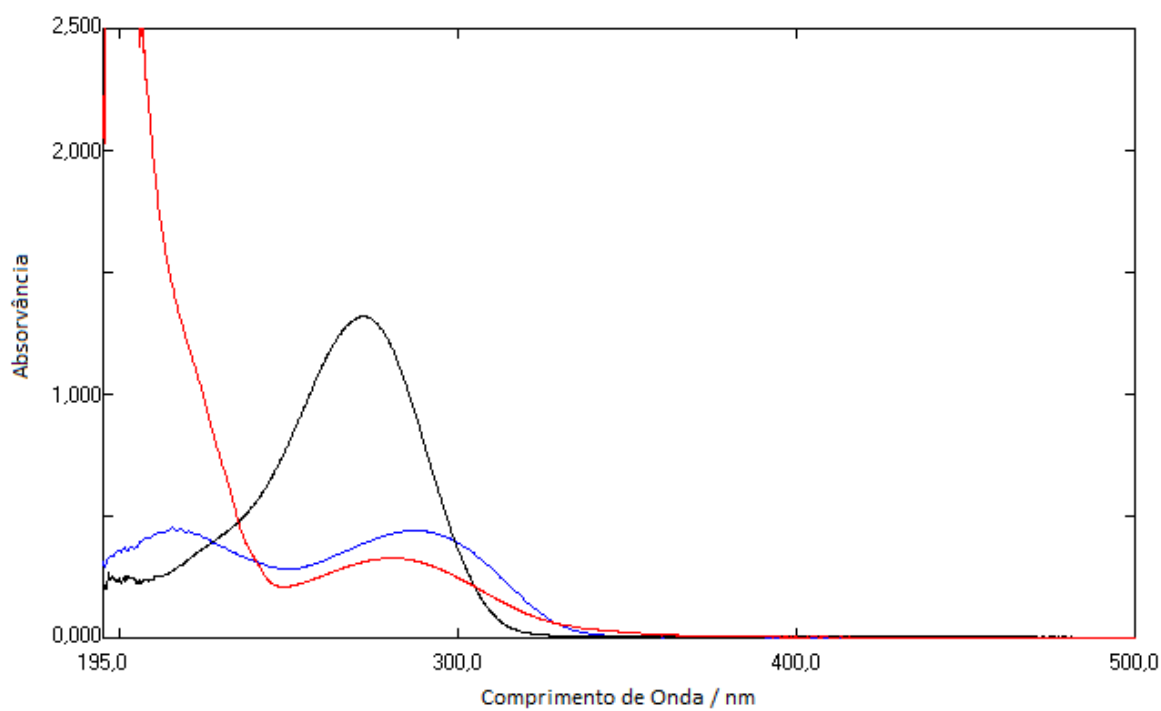


Figura 6.22 – Sobreposição dos espectros de absorção uv dos fotoprodutos 1\_1 (Linha Preta), 1\_2 (Linha Azul) e 1\_3 (Linha Vermelha) isolados e purificados a partir da fotólise do NFA em propan-2-ol no reactor fotoquímico.

### 6.5.3. Espectro de absorção vibracional no infravermelho médio do fotoproduto 1\_1 formado na fotólise do NFA em propan-2-ol

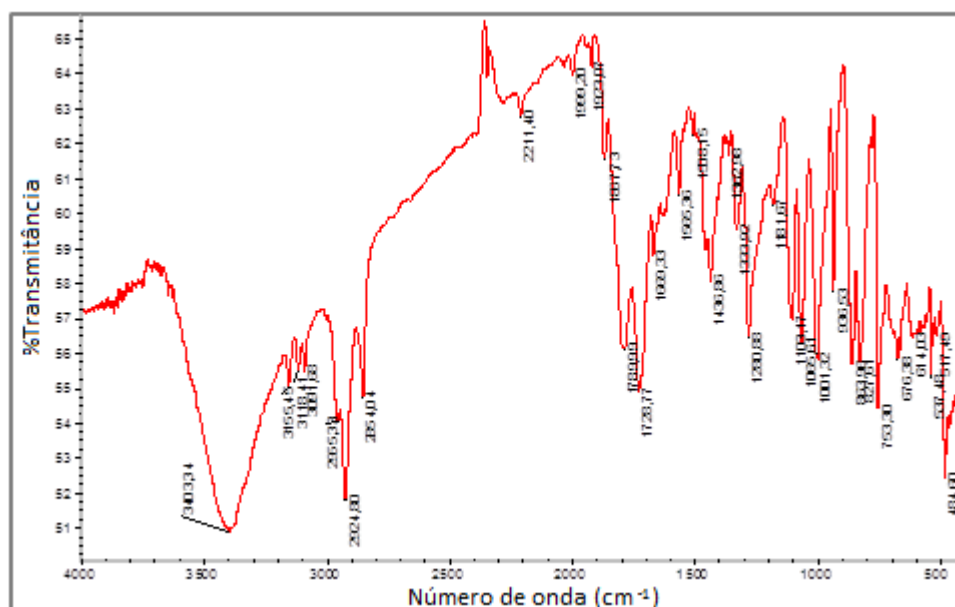
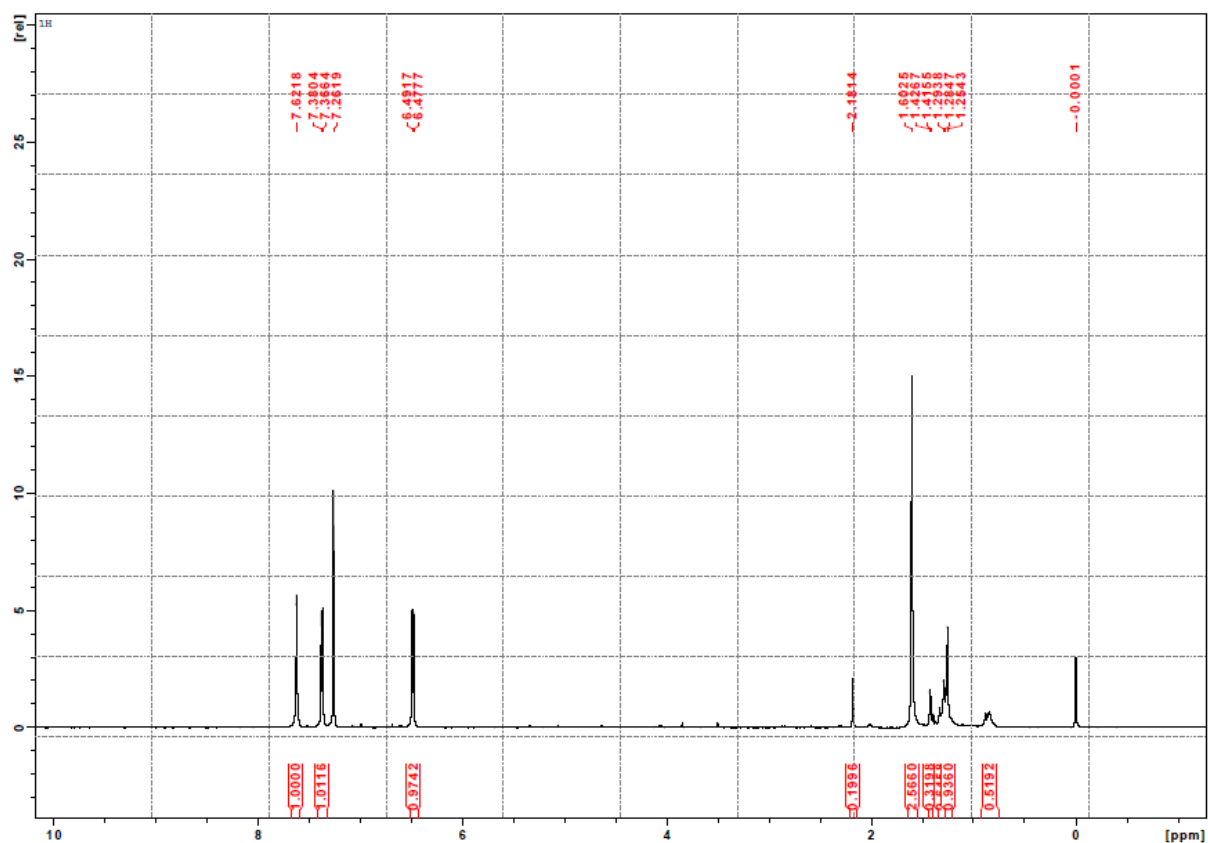


Figura 6.23 - Espectro de absorção vibracional no infravermelho médio do fotoproduto 1\_1 isolado e purificado a partir da fotólise do NFA em propan-2-ol no reactor fotoquímico. Medição do espectro em pastilha de KBr.

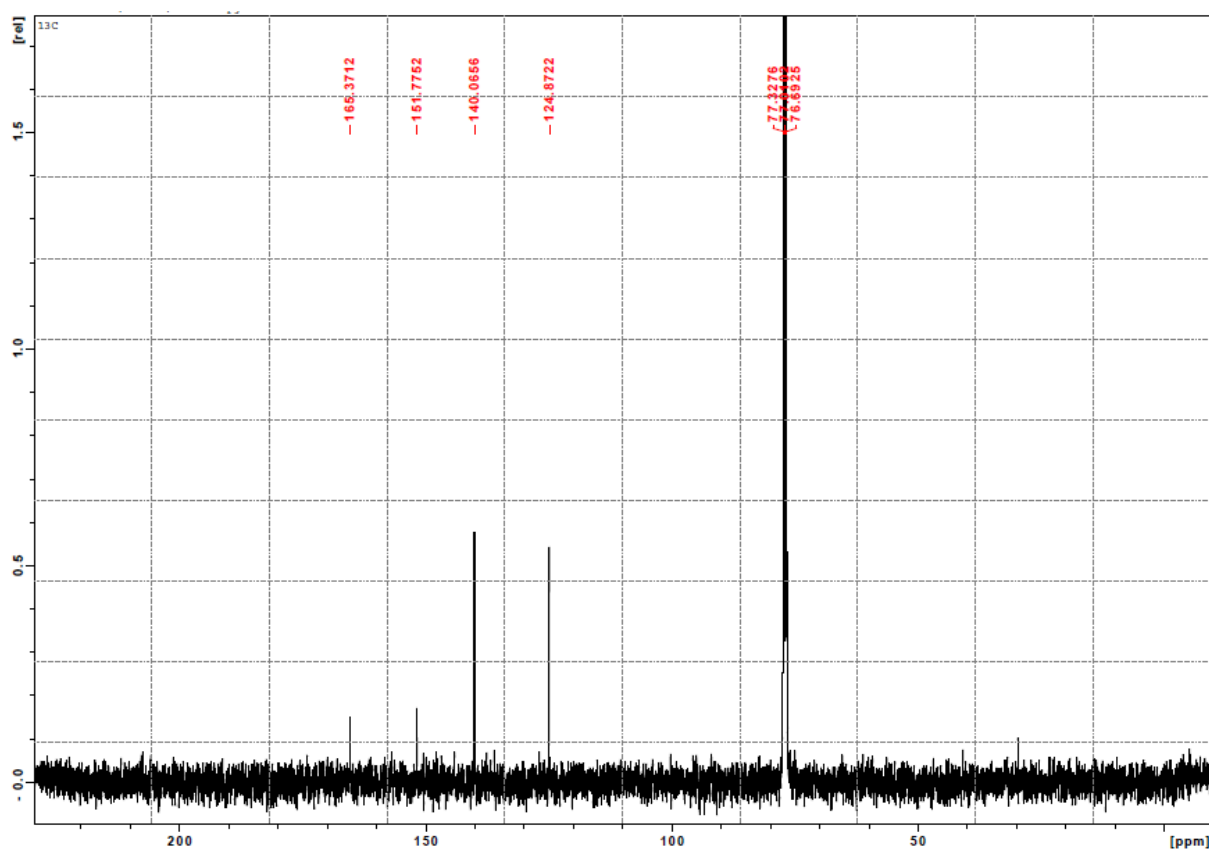
### 6.5.4. Espectro de RMN do fotoproduto 1\_1 formado na fotólise do NFA em propan-2-ol

Espectro RMN 6.2 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do fotoproduto 1\_1 obtido na fotólise do NFA em propan-2-ol no reactor fotoquímico.

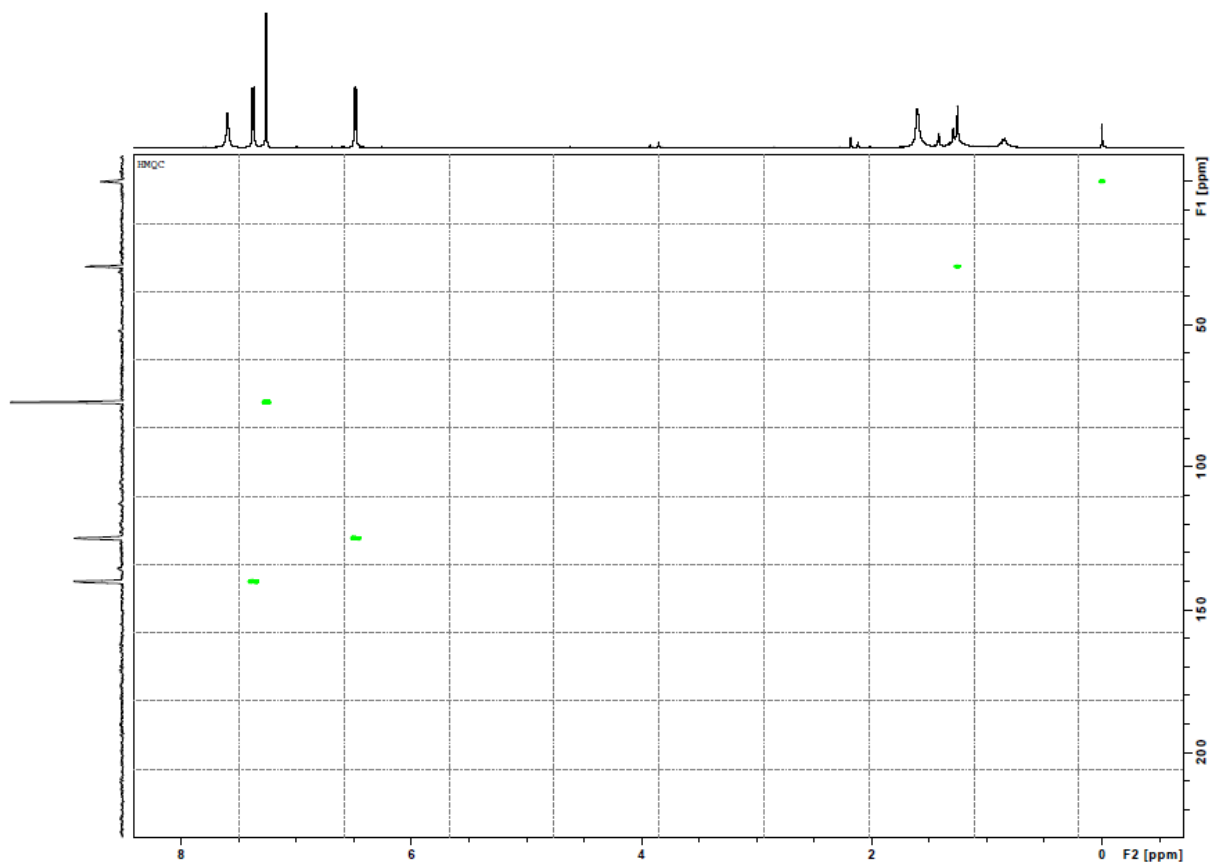




Espectro RMN 6.3 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do fotoproduto 1\_1 obtido na fotólise do NFA em propan-2-ol no reactor fotoquímico.



Espectro RMN 6.4 – Espectro de RMN 2D-HMQC do fotoproduto 1\_1 formado na fotólise do NFA em propan-2-ol.



## 6.6. Redução química do NFA

Além da fotólise do NFA foram também realizadas experiências em que se promoveu a sua redução química. Estas experiências foram realizadas através da redução em etanol com  $H_2$  e em água na presença de ferro metálico. As secções seguintes apresentam os resultados obtidos.

### 6.6.1. Análise no sistema de HPLC analítico dos produtos da redução química do NFA em Etanol com $H_2$ (g) sobre 5% Pd/C

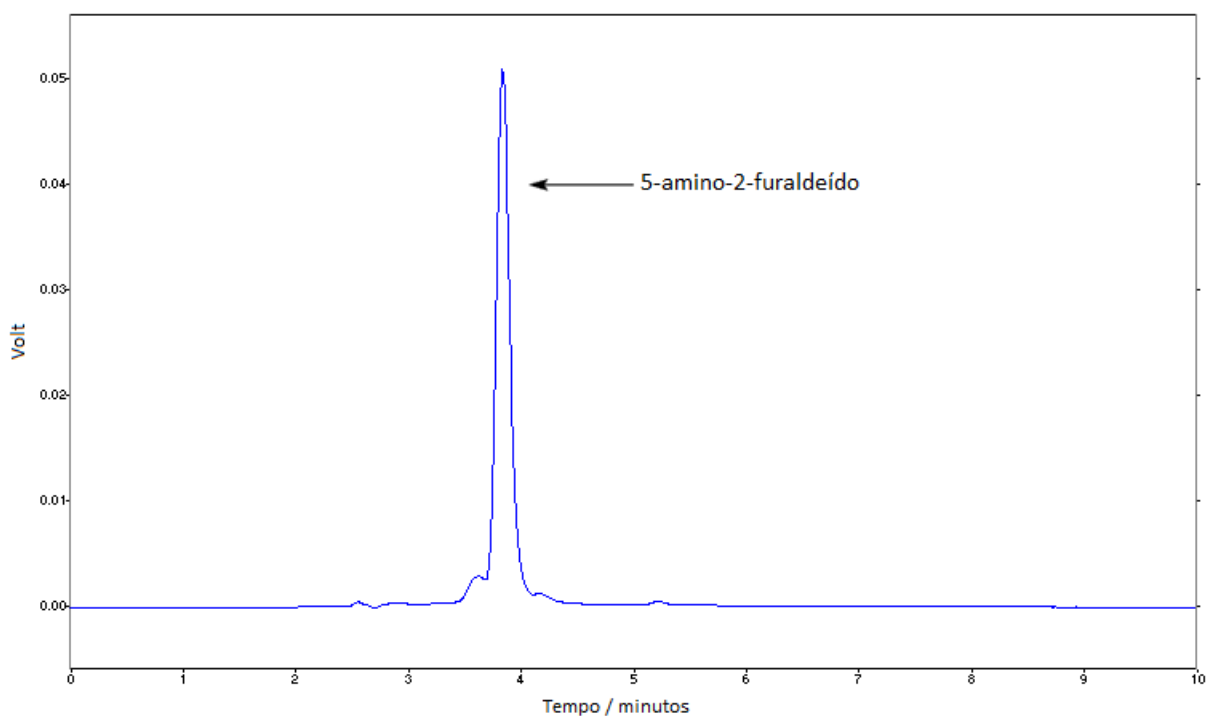


Figura 6.24 – Cromatograma da fracção de 5-amino-2-furaldeído ( $t_R = 3.83$  min) recolhida na separação cromatográfica da mistura preparada por redução química do NFA em etanol com  $H_2$  (g) catalisada por 5% Pd sob carbono activado.

### 6.6.2. Espectro de absorção uv do 5-amino-2-furaldeído formado na redução química do NFA em Etanol com H<sub>2</sub> (g) sobre 5% Pd/C

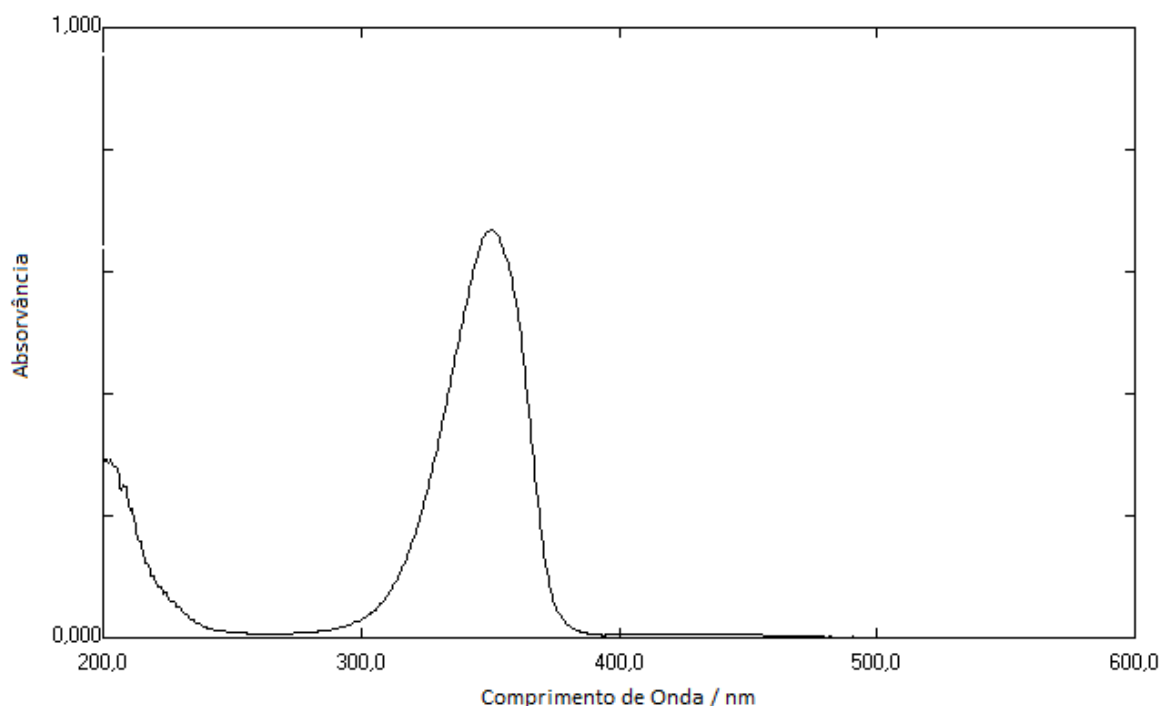


Figura 6.25 – Espectro de absorção uv do 5-amino-2-furaldeído ( $\lambda_{\text{max}} = 350,5 \text{ nm}$ ) recolhido na separação cromatográfica da mistura preparada por redução química do NFA em etanol com H<sub>2</sub> (g) catalisada por 5% Pd sob carbono ativado.

### 6.6.3. Espectro de absorção vibracional no infravermelho médio do 5-amino-2-furaldeído formado na redução química do NFA em Etanol com H<sub>2</sub> (g) sobre 5% Pd/C

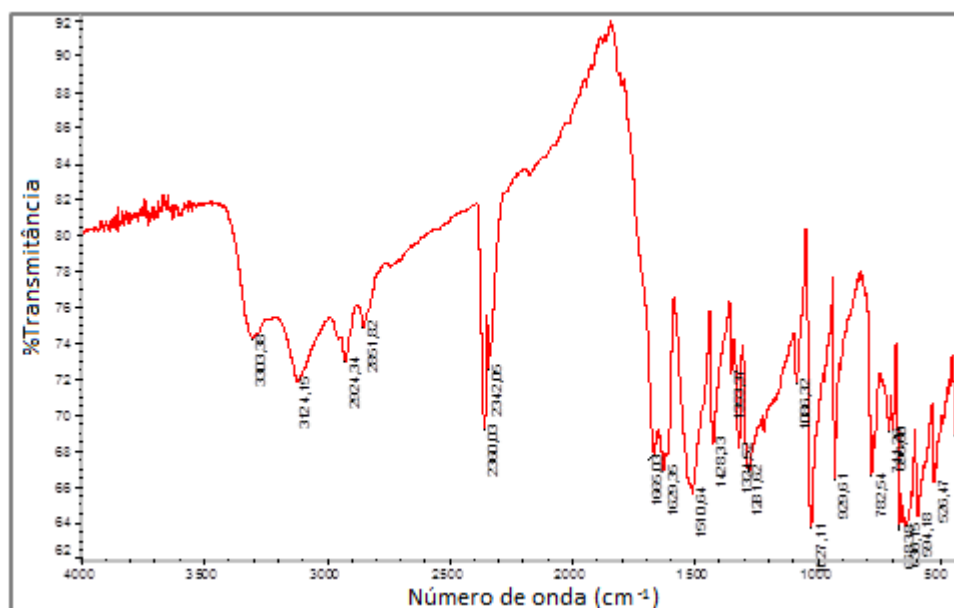
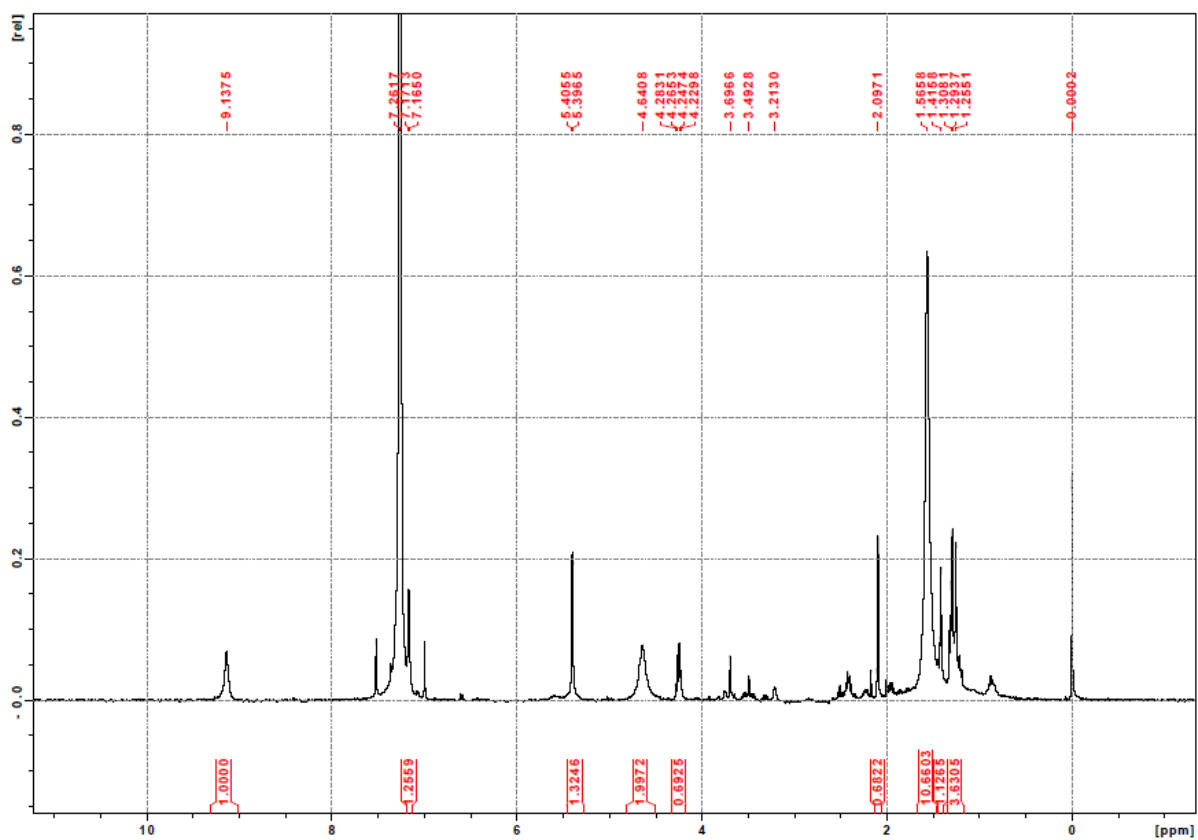


Figura 6.26 - Espectro de absorção vibracional no infravermelho médio do 5-amino-2-furaldeído isolado e purificado a partir da redução química do NFA em etanol com H<sub>2</sub> (g) sobre 5%Pd/C. Medição do espectro em pastilha de KBr.

### 6.6.4. Espectro de RMN de prótons do 5-amino-2-furaldeído formado na redução química do NFA em Etanol com H<sub>2</sub> (g) sobre 5% Pd/C

Espectro RMN 6.5 - Espectro RMN de <sup>1</sup>H do 5-amino-2-furaldeído obtido na separação cromatográfica da mistura preparada por redução química do NFA em etanol com H<sub>2</sub> (g) catalisada por 5% Pd/C.



**6.6.5. Espectro de absorção uv do fotoproducto 1\_1 formado na redução química do NFA em água com Fe (s) na ausência de luz e em condições essencialmente anaeróbias.**

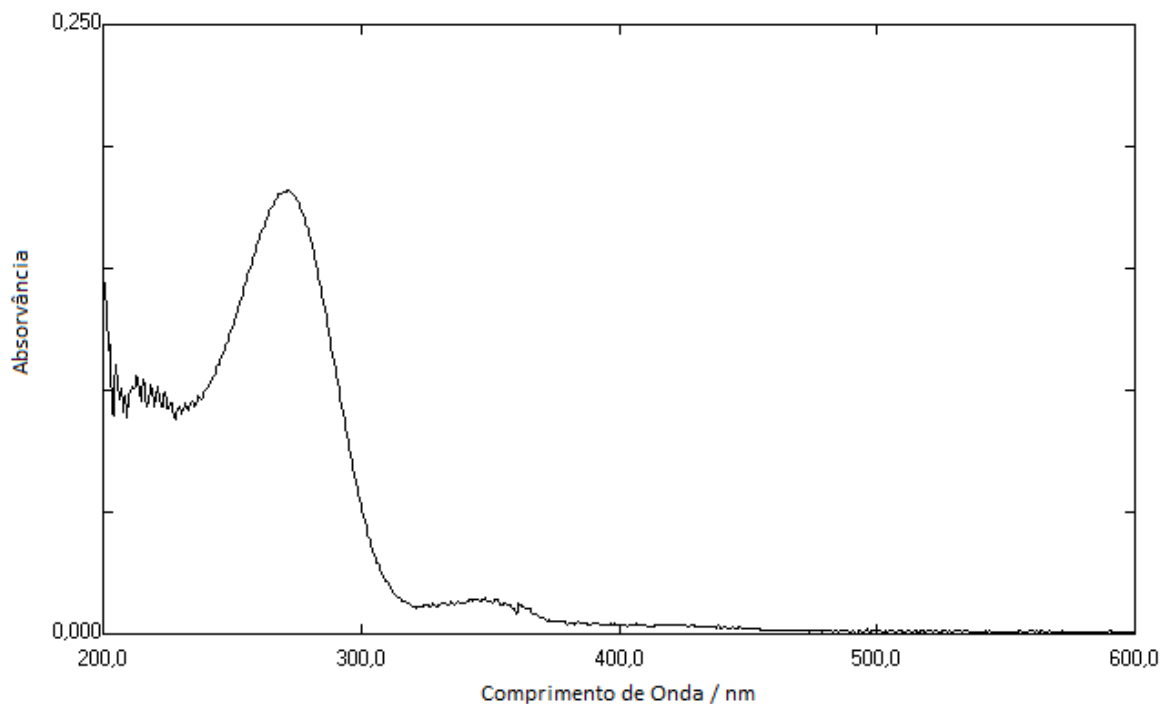


Figura 6.27 – Espectro de absorção uv da fracção do fotoproducto 1\_1 ( $\lambda_{\max} = 372.0$  nm) obtido na separação cromatográfica da mistura preparada por redução química do NFA com Fe (s) em água.

**6.6.6. Espectro de absorção uv do 5-amino-2-furaldeído formado na redução química do NFA em água com Fe (s) na ausência de luz e em condições essencialmente anaeróbias.**

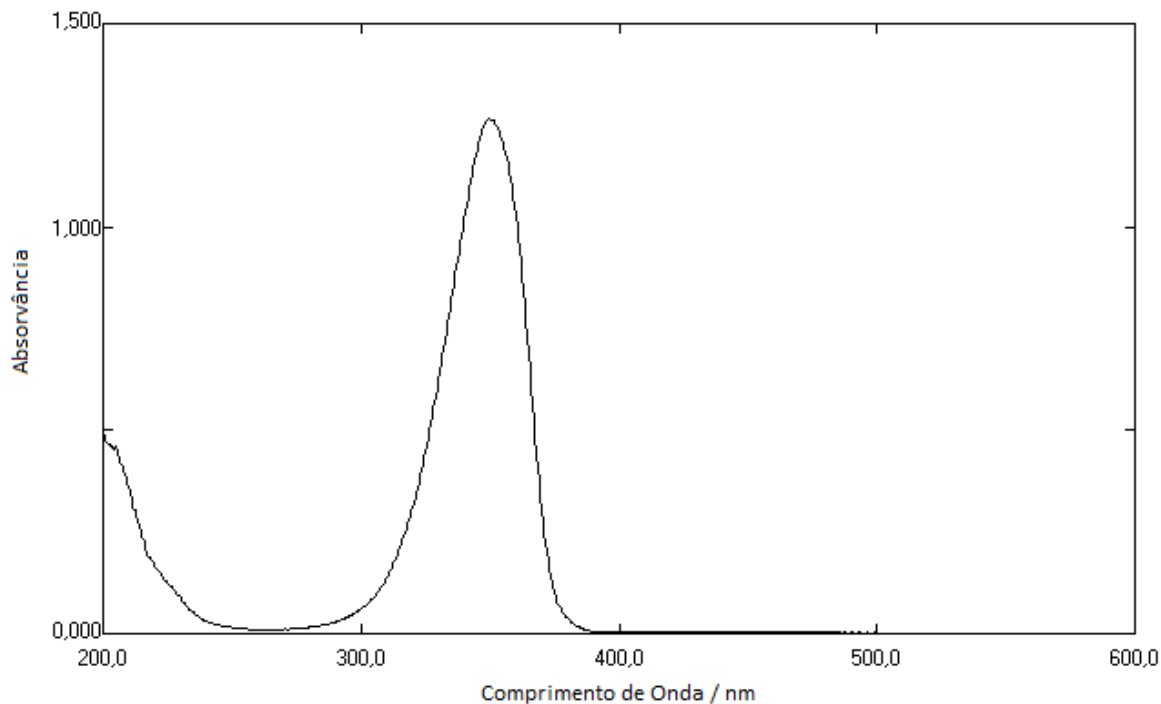


Figura 6.28 – Espectro de absorção uv da fracção de 5-amino-2-furaldeído ( $\lambda_{\max} = 349.5$  nm) obtido na separação cromatográfica da mistura preparada por redução química do NFA com Fe (s) em água.

### 6.6.7. Comparação dos espectros de absorção uv do 5-amino-2-furaldeído formado nas diferentes reduções químicas do NFA

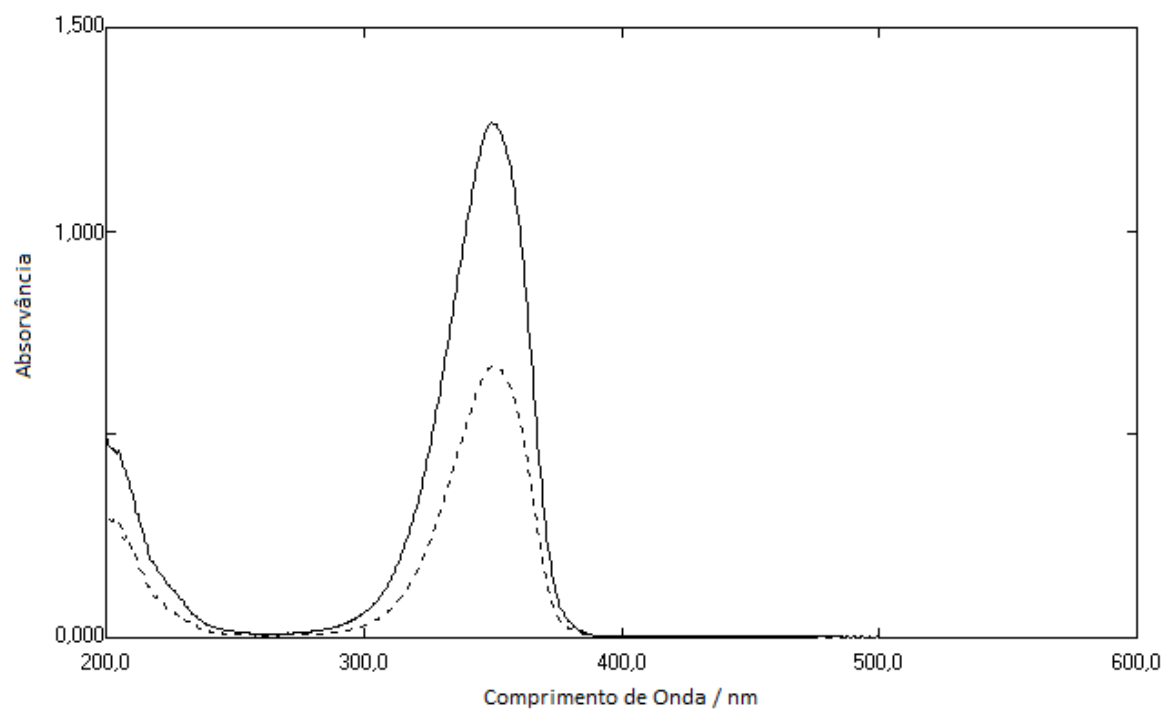


Figura 6.29 – Comparação do espectro de absorção uv do 5-amino-2-furaldeído obtido por redução química do NFA com Fe(s) em água (Linha Contínua) e com H<sub>2</sub> (g) em etanol catalisado por 5% Pd/C (Linha Tracejada).

## 6.7. Fotólise do 5BrFA em meio aquoso alcalino

Durante o execução experimental do trabalho realizaram-se irradiações de luz a soluções aquosas alcalinas de 5BrFA. As secções a seguir apresentadas mostram os resultados recolhidos.

### 6.7.1. Análise no sistema de HPLC analítico dos fotoprodutos da fotólise do 5BrFA em meio aquoso alcalino

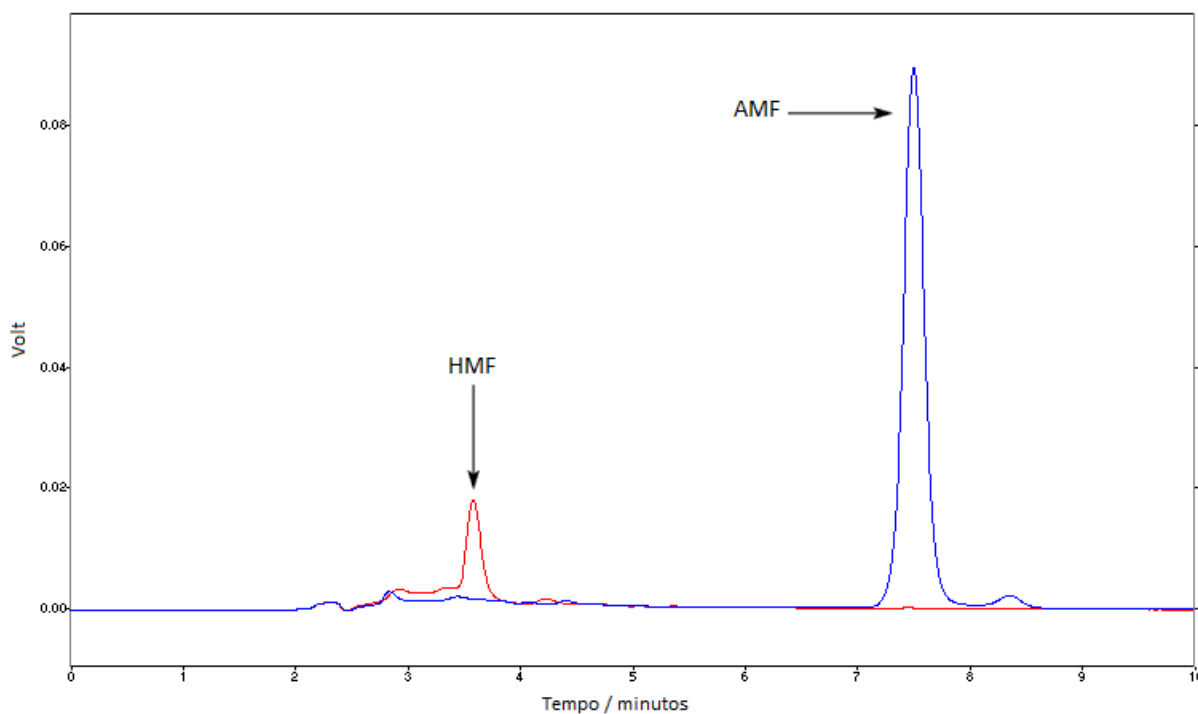


Figura 6.30 – Cromatograma de uma solução de 5BrFA ( $5.48 \times 10^{-4}$  M) e NaOH ( $9.05 \times 10^{-2}$  M) em meio aquoso fotolisada durante 1 hora com lâmpada de Xenon neutralizada com uma solução de HCl 1 M para pH = 5 (Linha Vermelha) e após a adição de 20 gotas de anidrido acético a  $0.05 \text{ dm}^3$  de solução fotolisada e neutralizada (Linha Azul).

### 6.7.2. Espectros de absorção uv dos produtos de foto-substituição originados na fotólise do NFA em meio aquoso

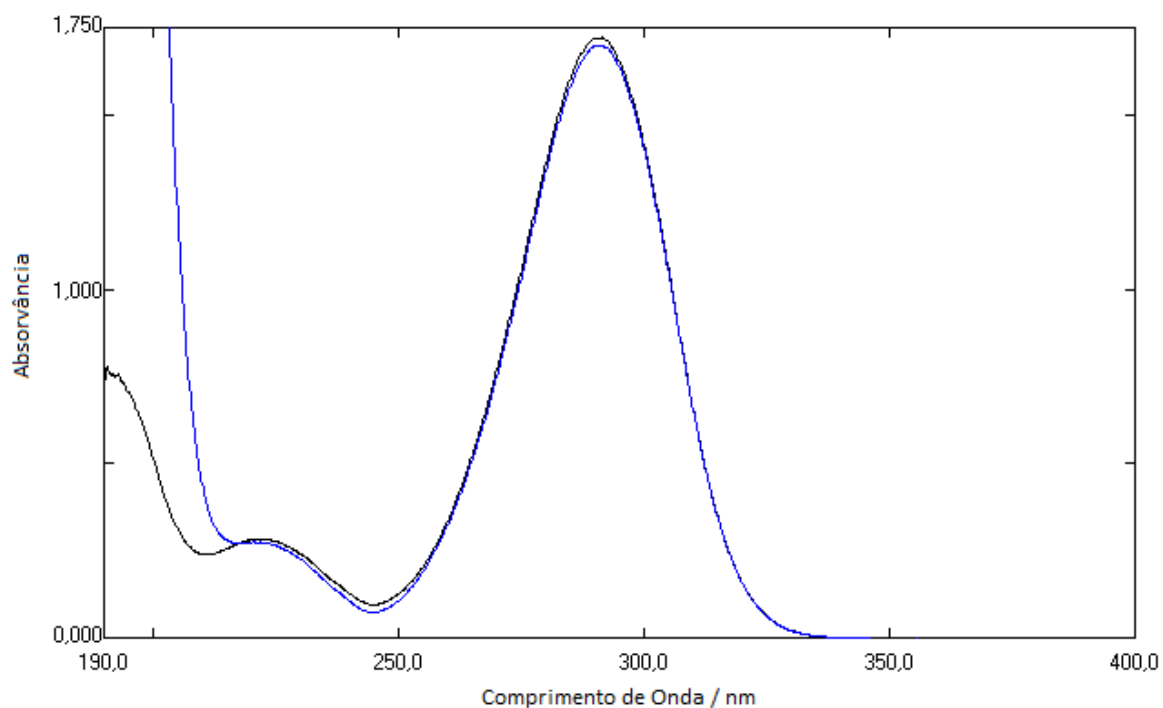


Figura 6.31 – Espectro de absorção uv de uma solução aquosa de 5BrFA ( $9.51 \times 10^{-5}$  M) (Linha Preta) e NaOH ( $2.70 \times 10^{-2}$  M) ( $\lambda_{\max} = 290.6$  nm) (Linha Azul).

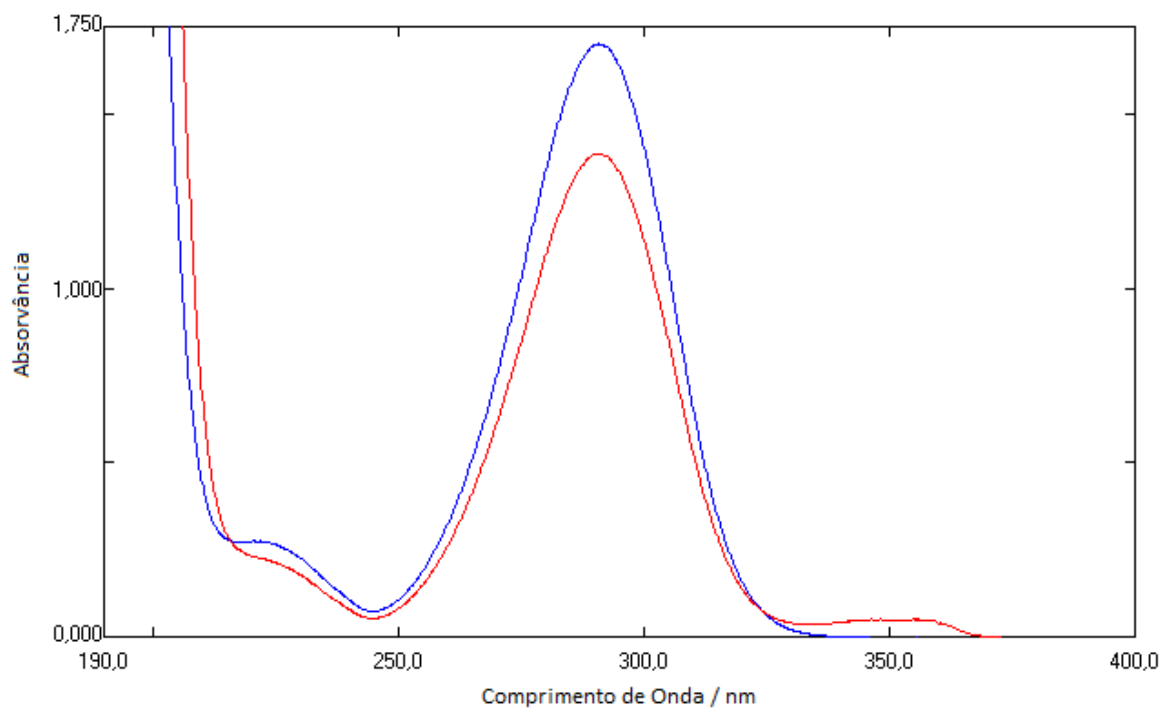


Figura 6.32 - Espectro de absorção uv de uma solução aquosa de 5BrFA ( $9.51 \times 10^{-4}$  M) e NaOH ( $2.70 \times 10^{-2}$  M) ( $\lambda_{\max} = 290.0$  nm) (Linha Azul) fotolisada com 15 impulsos de luz de 355 nm ( $\lambda_{\max} = 291.0$  e 355.0 nm) (Linha Vermelha). As soluções foram sujeitas a uma diluição de 1:10.



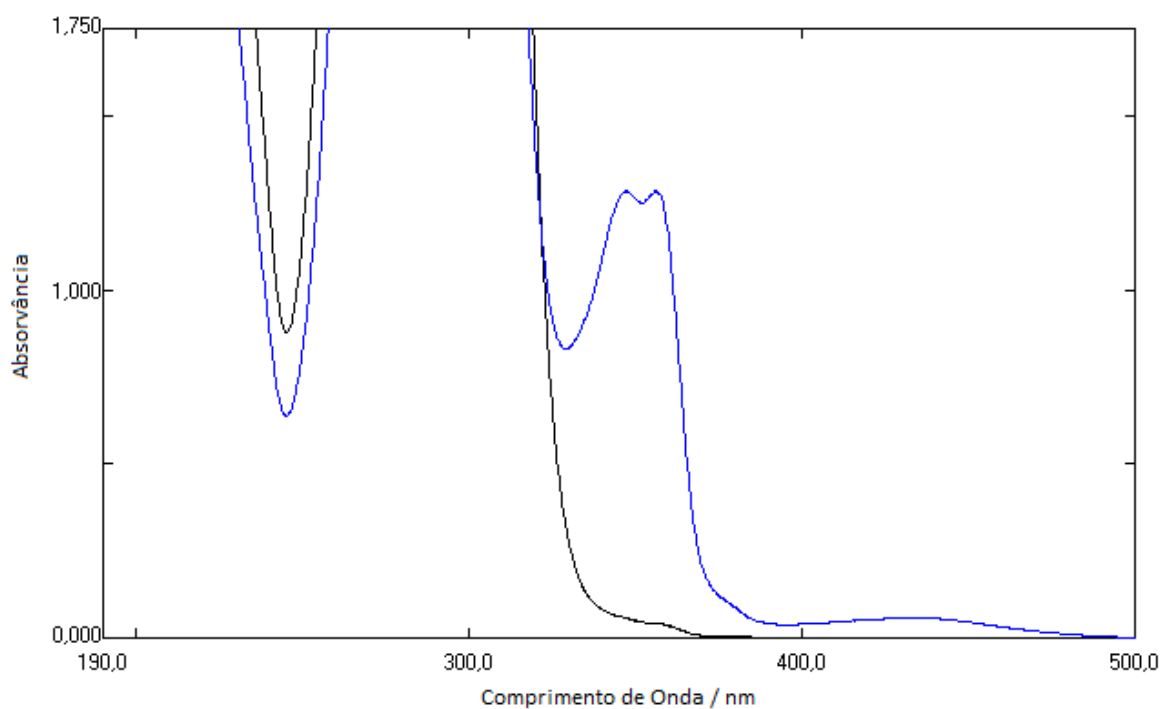


Figura 6.33 - Espectro de absorção uv de uma solução aquosa de 5BrFA ( $9.51 \times 10^{-4}$  M) e NaOH ( $5.40 \times 10^{-2}$  M) (Linha Preta) fotolisada com 15 impulsos de luz de 355 nm no sistema de Laser Flash Photolysis ( $\lambda_{\max} = 347.0$  e  $356.2$  nm) (Linha Azul).

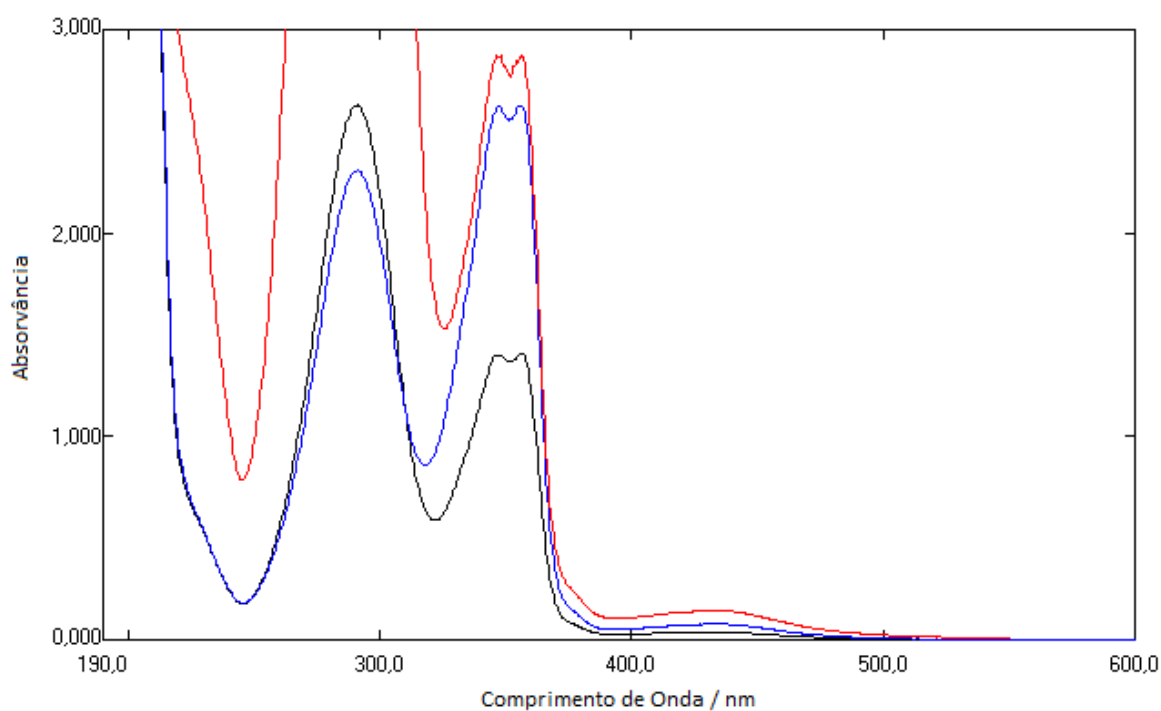


Figura 6.34 - Espectro de absorção uv de uma solução aquosa de 5BrFA ( $9.51 \times 10^{-4}$  M) e NaOH ( $8.70 \times 10^{-2}$  M) fotolisada com 30 impulsos de luz (Linha Vermelha) e de uma solução aquosa de 5BrFA ( $2.34 \times 10^{-4}$  M) e NaOH ( $8.70 \times 10^{-2}$  M) fotolisada com 15 (Linha Preta) e 30 (Linha Azul) impulsos de luz de 355 nm.

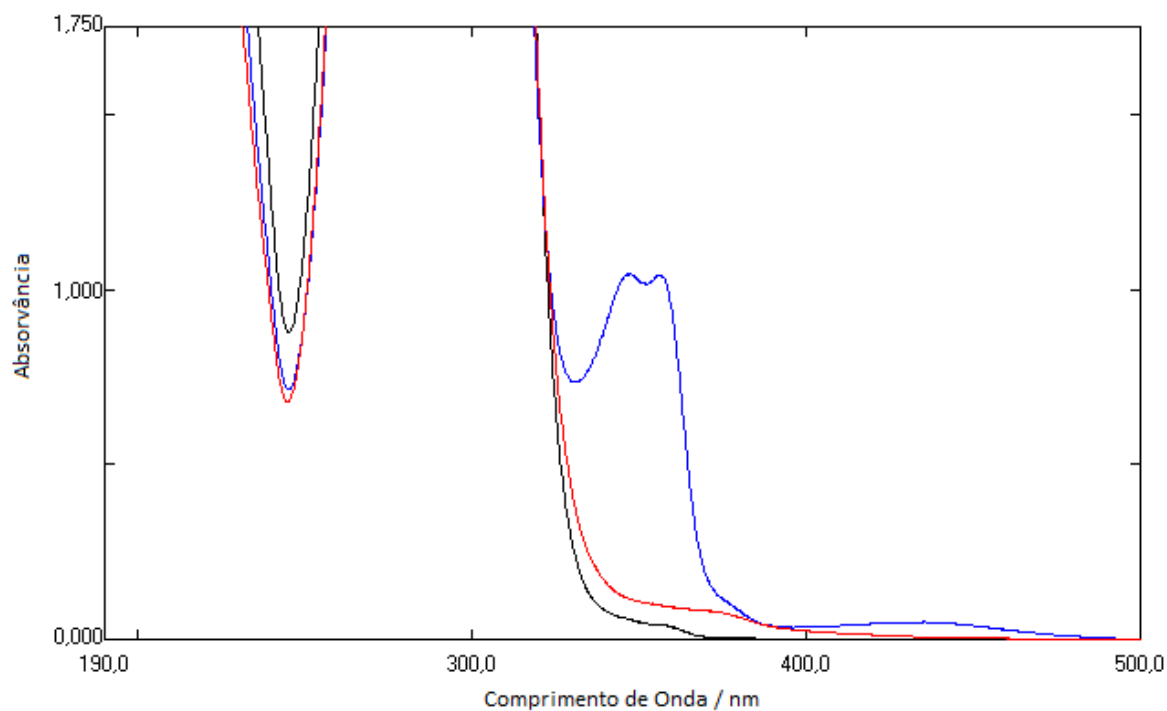


Figura 6.35 - Espectro de absorção uv de uma solução aquosa de 5BrFA ( $9.51 \times 10^{-4}$  M) e NaOH ( $5.40 \times 10^{-2}$  M) (Linha Preta) fotolisada com 15 impulsos de luz a pH=12.7 (Linha Azul) e a pH=1.5 (Linha Vermelha).

### 6.7.3. Espectro de RMN de prótons do AMF originado por acetilação do HFA formado na fotólise do 5BrFA em meio aquoso alcalino

Espectro RMN 6.6 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do AMF obtido a partir da acetilação, com anidrido acético, do HMF formado na fotólise de 5BrFA em meio aquoso alcalino.

