

# Sangue



*Ignaz  
Caracelli*

1



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



# Sangue



Red Blood Cells



© 2007 MedicineNet, Inc.

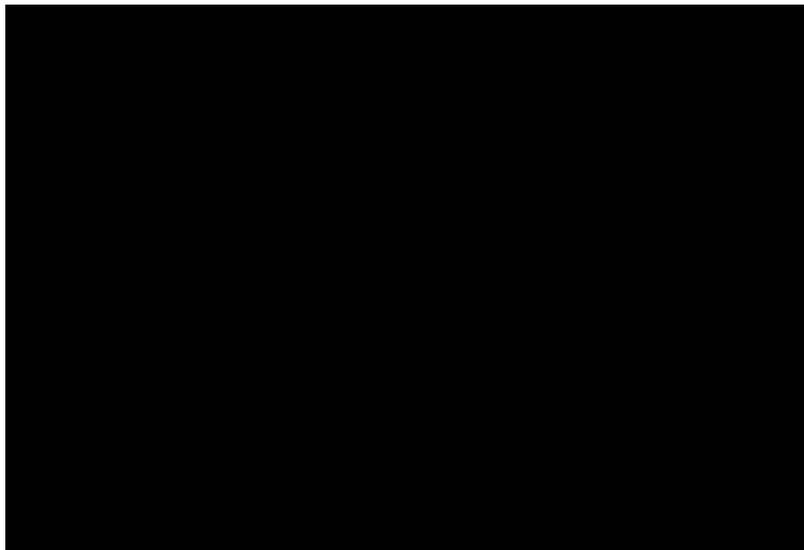
*Ignaz  
Caracelli*

2



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2





Ignez  
Caracelli

<https://www.youtube.com/watch?v=Qy90d0XvJIE>

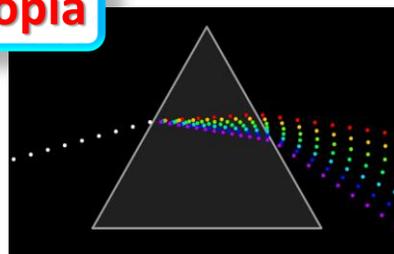
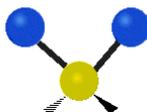
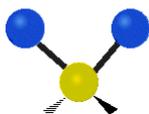
3



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Espectroscopia



**Ignez Caracelli**  
***ignez@ufscar.br***



Ignez  
Caracelli

São Carlos, 16de maio de 2016.

4



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Métodos Instrumentais

### O Processo de Medida



Ignaz  
Caracelli

5

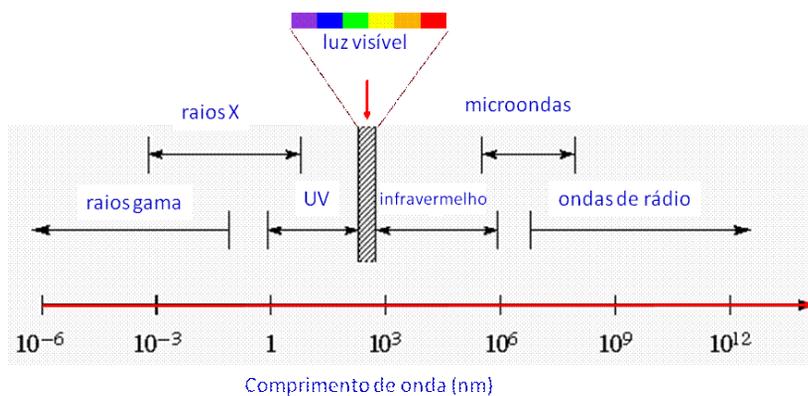


096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Estímulo

fonte de energia:  
OEM,  $\lambda$ , E



Ignaz  
Caracelli

## O Espectro Eletromagnético

6



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Espectroscopia

Define-se espectroscopia como a interação de qualquer tipo de radiação eletromagnética com a matéria.



Ignaz Caracelli

7



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## pergunta × método

Tipo de espectroscopia	Faixa de comprimento de onda usual	Faixa de número de onda usual, $\text{cm}^{-1}$	Tipo de transição quântica
Emissão de raios gama	0,005 – 1,4 Å	–	Nuclear
Absorção, emissão, fluorescência e difração de raios-x	0,1 – 100 Å	–	Elétrons internos
Absorção de <b>ultravioleta</b> de vácuo	10 – 180 nm	$1 \times 10^6$ a $5 \times 10^4$	Elétrons ligados
Absorção, emissão e fluorescência no <b>UV/Visível</b>	180 – 780 nm	$5 \times 10^4$ a $1,3 \times 10^4$	Elétrons ligados
Absorção no <b>IV</b> e espalhamento Raman	0,78 – 300 mm	$1,3 \times 10^4$ a 33	Rotação/vibração de moléculas
Absorção de microondas	0,75 – 375 mm	13 a 0,03	Rotação de moléculas
Ressonância de spin eletrônico	3 cm	0,33	Spin de elétrons em um campo magnético
Ressonância Magnética Nuclear	0,6 – 10 m	$1,7 \times 10^{-2}$ a $1 \times 10^{-3}$	Spin de núcleos em um campo magnético

Caracelli

8



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Espectroscopias

atômica

métodos para a identificação de elementos presentes em amostras e para a determinação de suas concentrações

espectrometria

- óptica
- de massa
- de raios X

*Ignaz Caracelli*

molecular

métodos que permitem obter informações relevantes sobre a estrutura molecular e o modo de interação entre moléculas

espectrometria

- UV/visível
- luminescência
- infravermelho
- outras

9



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



Parênteses:  
Números quânticos

*Ignaz Caracelli*

10



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Números Quânticos

Se resolvermos a equação de Schrödinger, teremos as funções de onda e as energias para as funções de onda.

Chamamos as funções de onda de *orbitais*.

A equação de Schrödinger necessita de três números quânticos:

**1. Número quântico principal,  $n$ .** Este é o mesmo  $n$  de Bohr. À medida que  $n$  aumenta, o orbital torna-se maior e o elétron passa mais tempo mais distante do núcleo.

Ignaz  
Caracelli

11



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2

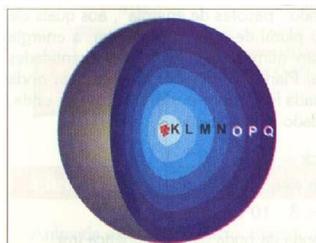
Física



## Números Quânticos

O **número quântico principal**, no domínio das configurações eletrônicas, caracteriza um orbital, isto é, a zona em volta do núcleo de um átomo, onde há maior probabilidade de se encontrarem elétrons.

<b><math>n</math></b>	1	2	3	4	5	6	7
<b>camada</b>	K	L	M	N	O	P	Q



Ignaz  
Caracelli

12



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2

Física



## Números Quânticos

2. O número quântico azimutal,  $l$ . Esse número quântico depende do valor de  $n$ . Os valores de  $l$  começam de 0 e aumentam até  $(n - 1)$ .

As letras para usadas para  $l$  são ( $s, p, d$  e  $f$  para  $l = 0, 1, 2,$  e  $3$ ). Geralmente nos referimos aos orbitais  $s, p, d$  e  $f$ .

Subnível do elétron	Número quântico secundário ( $l$ )
s	0
p	1
d	2
f	3

Ignez  
Caracelli

13



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Números Quânticos

		SUBNÍVEIS						
		Conhecidos			Teóricos			
1 ° nível	n = 1	1s						
2 ° nível	n = 2	2s	2p					
3 ° nível	n = 3	3s	3p	3d				
4 ° nível	n = 4	4s	4p	4d	4f			
5 ° nível	n = 5	5s	5p	5d	5f	5g		
6 ° nível	n = 6	6s	6p	6d	6f	6g	6h	
7 ° nível	n = 7	7s	7p	7d	7f	7g	7h	7i

Ignez  
Caracelli

14



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Números Quânticos

**3. O número quântico magnético,  $m_l$ .** Esse número quântico depende de  $l$ . O número quântico magnético tem valores inteiros entre  $-l$  e  $+l$ . Fornecem a orientação do orbital no espaço.

Subnível	$l$	Número de orbitais	Valores de $m_l$
s	0	1	0
p	1	3	-1, 0, +1
d	2	5	-2, -1, 0, +1, +2
f	3	7	-3, -2, -1, 0, +1, +2, +3

Ignaz  
Caracelli

15



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2

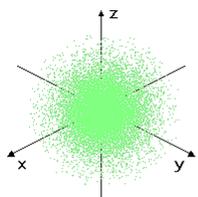
Física



## Números Quânticos

**3. O número quântico magnético,  $m_l$ .**

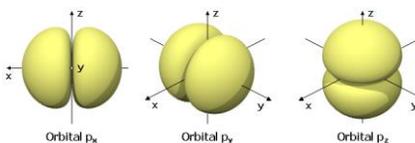
$l = 0$  : corresponde ao subnível **s**, onde existe somente uma orientação ( $m_l = 0$ ).



Orbital s ( $l = 0, m_l = 0$ )

*orbitais atômicos*

$l = 1$  : corresponde ao subnível **p**, onde existem três orientações permitidas, que surgem em decorrência dos três valores de  $m_l$  (+1, 0, -1). Os três orbitais **p** são denominados  $p_x$ ,  $p_y$  e  $p_z$  e são orientados de acordo com os três eixos cartesianos (x, y e z).



*Subníveis p: três orientações possíveis, que coincidem com os três eixos cartesianos orbitais atômicos*

Ignaz  
Caracelli

16



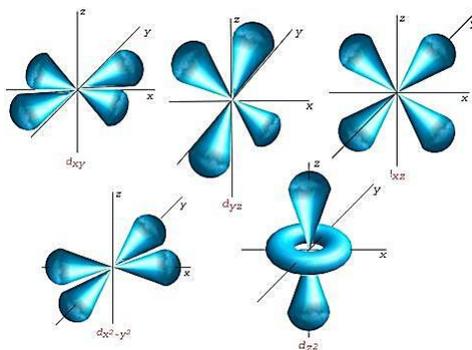
096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2

Física



## Números Quânticos

$l = 2$  : corresponde ao subnível **d** onde existem cinco orientações permitidas, ou seja, cinco valores de  $m_l$  (-2, -1, 0, +1, +2).



orbitais d: cinco orientações possíveis

orbitais atômicos

Ignaz  
Caracelli

17



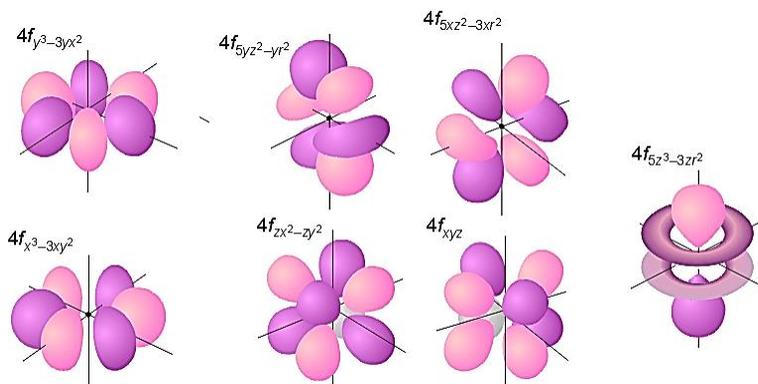
096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2

Física



## Números Quânticos

$l = 3$  : corresponde ao subnível **f** onde existem sete orientações permitidas, ou seja, sete valores de  $m_l$  (-3, -2, -1, 0, +1, +2, +3).



Ignaz  
Caracelli

18



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2

Física



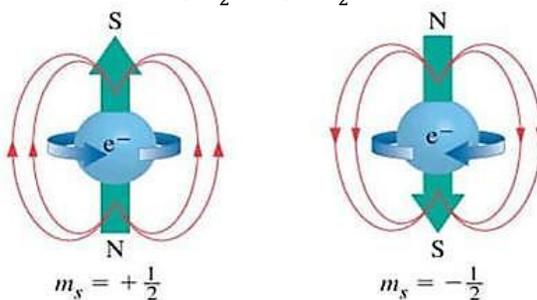
## Números Quânticos

Número quântico de spin,  $m_s$

Spin é o movimento de rotação do elétron em torno do seu eixo.

O movimento do elétron ao redor do núcleo atômico gera um campo magnético externo. Por outro lado, o movimento de rotação do elétron em torno do seu eixo gera outro campo magnético. A mecânica quântica estabelece que a interação desses dois campos magnéticos é quantizada e são

possíveis **apenas** dois estados:  $m_s = \frac{1}{2}$  e  $m_s = -\frac{1}{2}$



Ignaz  
Caracelli

19

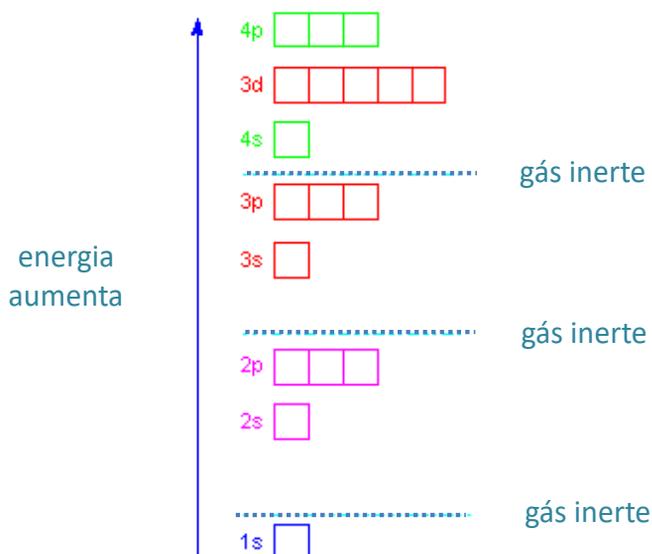


096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2

Física



## Números Quânticos



Ignaz  
Caracelli

20



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2

Física



## Mecânica Quântica

A energia para absorção:

$$E = hf = \frac{hc}{\lambda}$$

constante de Planck  $h = 6,63 \times 10^{-34}$  J·s

energia  $E$

constante de Planck  $h = 4,14 \times 10^{-15}$  eV·s

frequência  $f$

velocidade da luz  $c = 3 \times 10^8$  m/s)

comprimento de onda  $\lambda$

*Ignaz  
Caracelli*

21



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## A Energia

A luz é uma forma de energia.

A matéria, ao absorver luz tem um aumento de energia.

A energia potencial de uma molécula geralmente é representada como a soma das energias eletrônica, vibracional e rotacional.

$$E_{\text{total}} = E_{\text{eletrônica}} + E_{\text{vibracional}} + E_{\text{rotacional}}$$

A quantidade de energia que uma molécula possui está na forma de estados ou níveis discretos de energia e:

$$E_{\text{eletrônica}} > E_{\text{vibracional}} > E_{\text{rotacional}}$$

*Ignaz  
Caracelli*

22



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Fecha Parênteses Orbitais Moleculares

Ignaz  
Caracelli

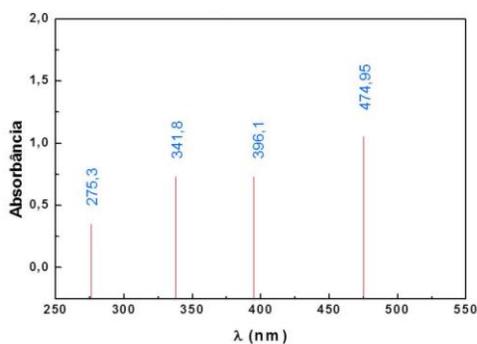
23



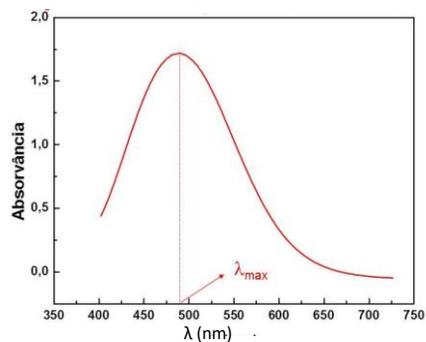
096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Atômico × Molecular



**Absorção Atômica:** O espectro é caracterizado por linhas finas devido aos níveis atômicos sem subníveis energéticos.



**Absorção Molecular:** O espectro de absorção é caracterizado por bandas largas devido aos vários níveis e subníveis energéticos dos orbitais moleculares.

Ignaz  
Caracelli

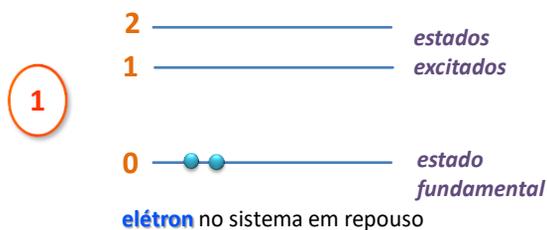
24



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Emissão da radiação



Ignaz  
Caracelli

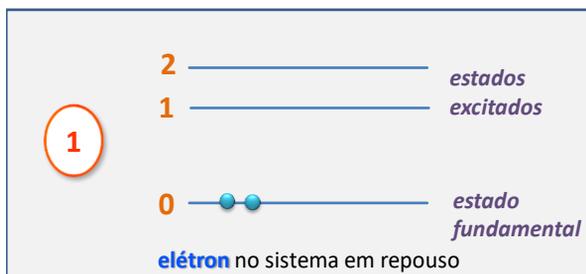
25



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Emissão da radiação

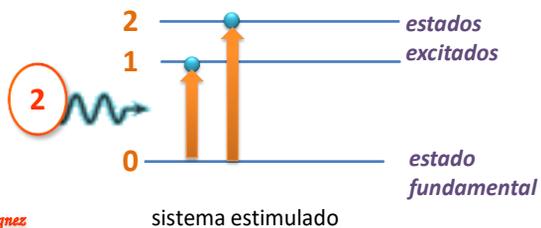


Ignaz  
Caracelli

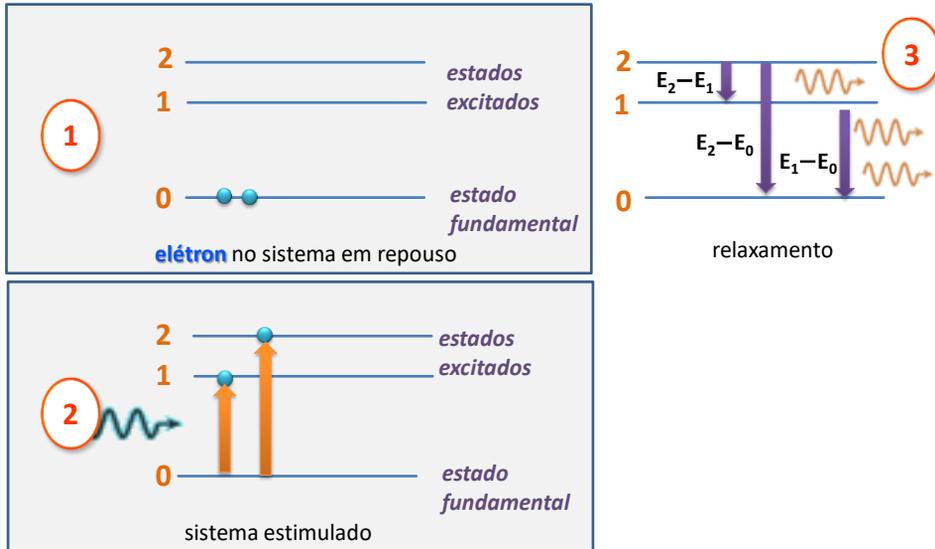
26



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Emissão da radiação



Caraculá

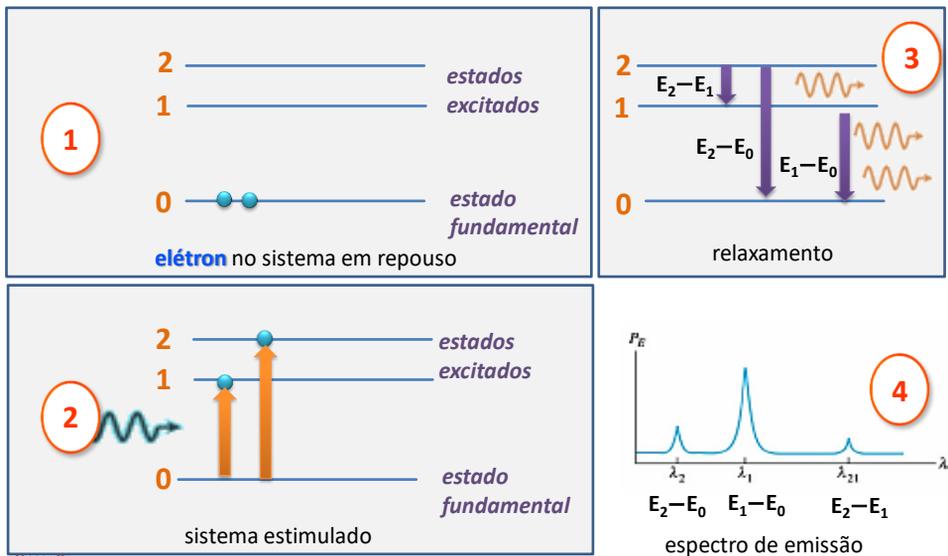
27



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Emissão da radiação



Caraculá

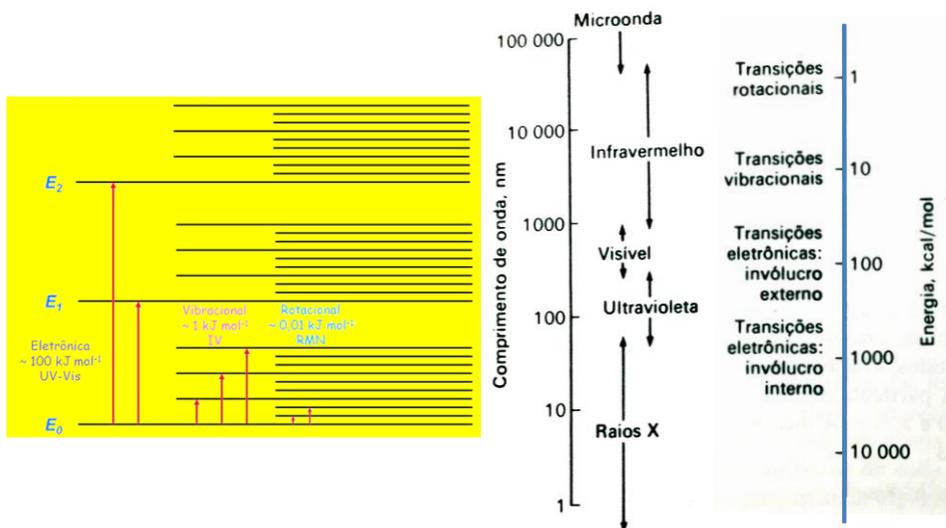
28



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Espectro eletromagnético & Transições eletrônicas



Ignez  
Caracelli

29

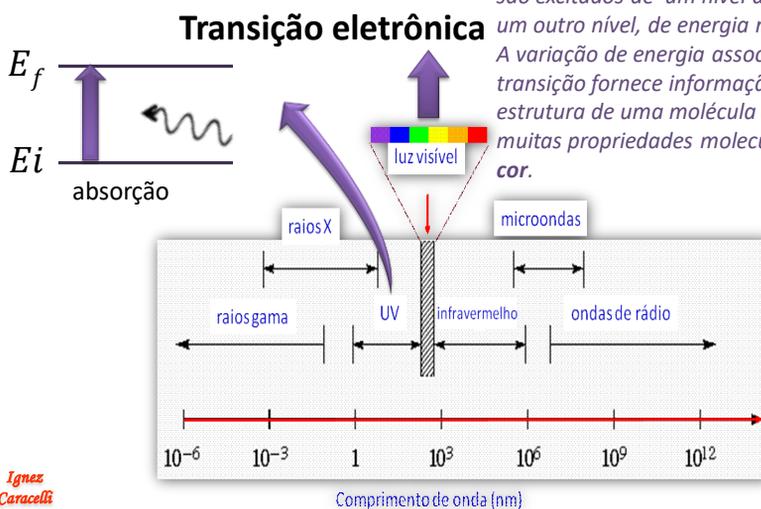


096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Espectroscopia

As transições eletrônicas moleculares ocorrem quando elétrons em uma molécula são excitados de um nível de energia para um outro nível, de energia maior. A variação de energia associada com esta transição fornece informação sobre a estrutura de uma molécula e determina muitas propriedades moleculares tais como cor.



Ignez  
Caracelli

30

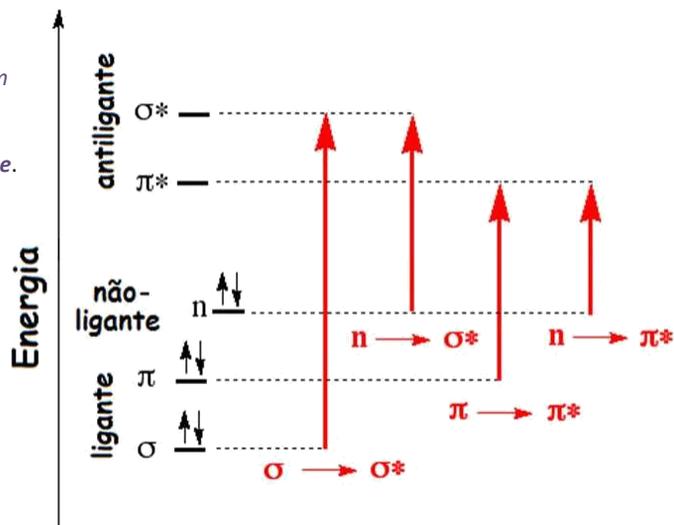


096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Níveis de energia eletrônico molecular

Em alguns casos é possível a geração de orbitais moleculares com a mesma energia de um orbital atômico. Este orbital é dito *não-ligante*.



Ignez  
Caracelli

31

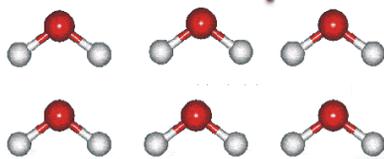


096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2

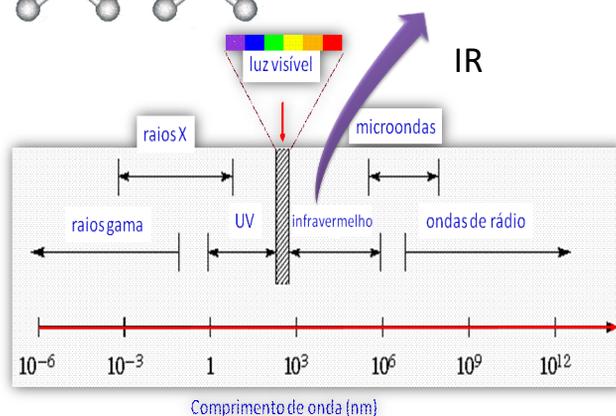
Física



## Espectroscopia



Modos vibracionais



Ignez  
Caracelli

32



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2

Física



## Espectroscopia UV-Visível

Ignaz  
Caracelli

33



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



### Absorção da luz (energia)

A espectroscopia de absorção molecular esta baseada na medida da transmitância **T** ou da absorbância **A** contidas em células transparentes tendo um caminho óptico de tamanho **b** (em cm).

A concentração de um **analito** absorvente está relacionada linearmente à absorbância:

$$A = -\log T = \log \frac{P_0}{P}$$

**analito** é um componente (elemento, composto ou íon) de interesse analítico de uma amostra. É uma espécie química cuja presença ou conteúdo se deseja conhecer, identificar e quantificar, mediante um processo de medição química.

Ignaz  
Caracelli

34



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Lei de Beer-Lambert

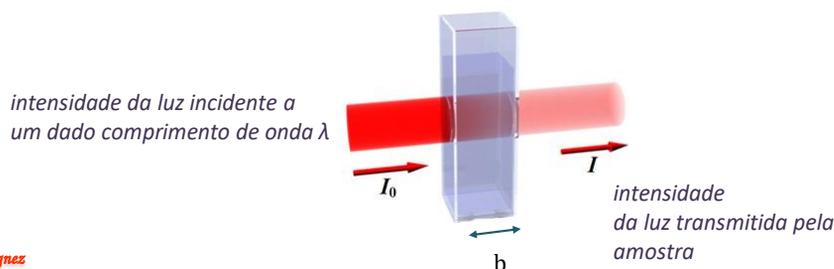
$$A = -\log T = \log \frac{I_0}{I} = \epsilon b C$$

**A** → absorvância medida

**$\epsilon$**  → é uma constante conhecida como absorvidade molar (a qual varia de substância para substância)

**b** → caminho óptico pela amostra (distância que a luz percorreu por ela)

**C** → concentração da substância em mol/L.



Ignaz  
Caracelli

35



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



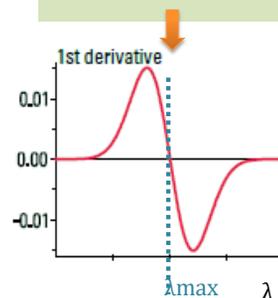
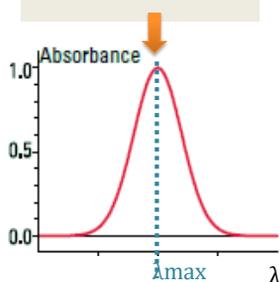
## Espectros

Se um espectro é expresso como absorvância  $A$  como função do comprimento de onda  $\lambda$ , o espectro pode ser representado como

$$A = f(\lambda)$$

ou

$$\frac{dA}{d\lambda} = f'(\lambda)$$



Ignaz  
Caracelli

36



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Espectroscopia UV-Visível

- Absorção da radiação eletromagnética de comprimentos de onda na faixa de 160 a 780 nm.
- Comprimentos de onda inferiores a 150 nm são altamente energéticos que levam à ruptura de ligações químicas.
- Acima de 780 nm atinge-se o **IV próximo**, onde a energia, já relativamente baixa, começa apenas a promover a vibração molecular e não mais transições eletrônicas.
- Devido ao grande número de estados vibracionais e rotacionais, um espectro de absorção no UV/Vis apresenta um formato alargado (banda).

Ignaz  
Caracelli

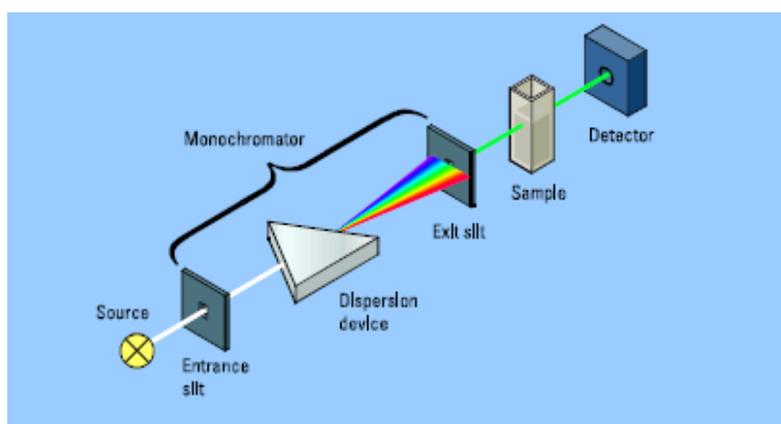
37



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Absorção Molecular no UV/Vis



Esquema de um espectrômetro UV- visível – feixe simples

Ignaz  
Caracelli

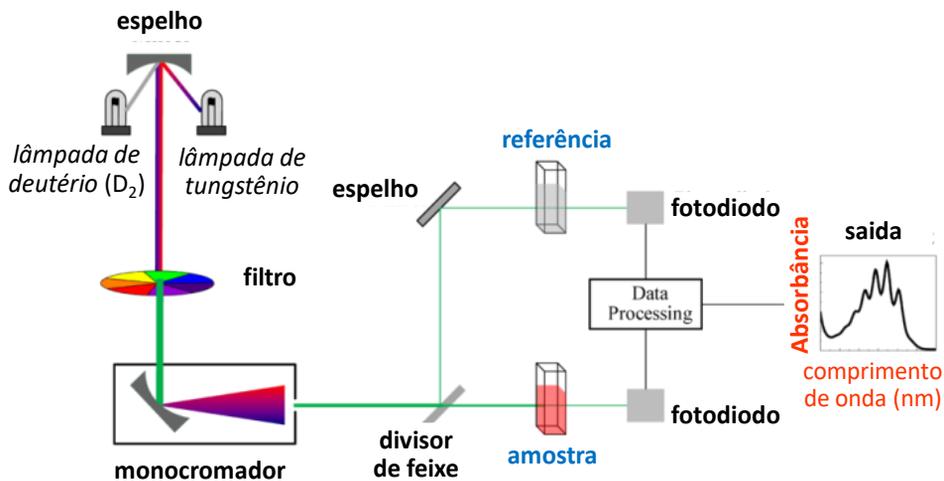
38



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Absorção Molecular no UV/Vis



Ignez  
Caracelli

Esquema de um espectrômetro UV- visível -- feixe duplo

39



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2

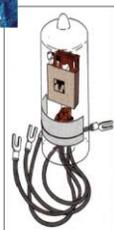


## Absorção Molecular no UV/Vis

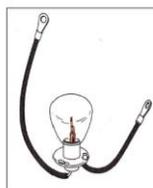
Instrumentação:

Região Visível: 380 a 780 nm

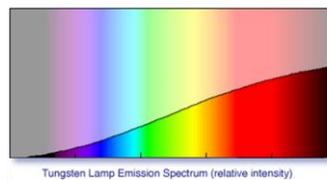
**Fonte de radiação:** lâmpadas de deutério (UV) e tungstênio (vis) ou de arco de xenônio para toda a faixa de comprimentos de onda UV/Vis.



Lâmpada de Deutério  
( $\lambda$ : 160 – 380 nm)



Lâmpada de Tungstênio  
( $\lambda$ : 350 – 2200 nm)



Ignez  
Caracelli

40



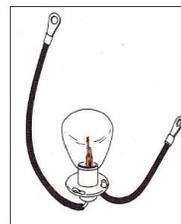
096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



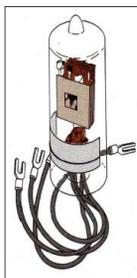
## Absorção Molecular no UV/Vis

### Fontes de radiação UV-VIS

**Lâmpada de Tungstênio e Tungstênio-Halogênio:**  
O filamento da lâmpada de tungstênio vaporiza-se e esses vapores fixam-se na face interna do bulbo da lâmpada.



Lâmpada de Tungstênio  
( $\lambda$ : 350 – 2200 nm)



Lâmpada de Deutério  
( $\lambda$ : 160 – 380 nm)

Ignaz  
Caracelli

**Lâmpada de Deutério:**

Normalmente usa-se a lâmpada de deutério para comprimentos de onda entre 180 a 370nm.

41



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2

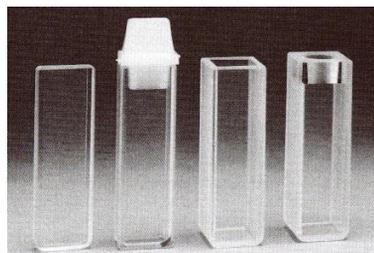
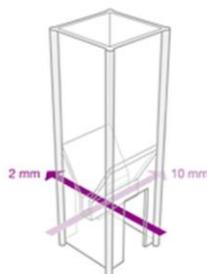
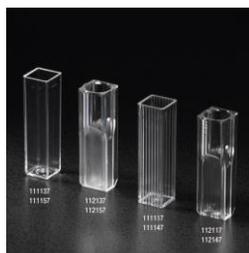


## Absorção Molecular no UV/Vis

### Instrumentação:

#### Compartimento para amostra (célula ou cubeta):

- Deve ter paredes perfeitamente normais ( $90^\circ$ ) à direção do feixe.
- Quartzo (transparente em toda a faixa UV/Vis)
- Vidro (somente visível, absorve muito a radiação UV).
  - Muito frequentemente utilizam-se tubos cilíndricos por questões de economia, mas deve-se ter o cuidado de repetir a posição do tubo em relação ao feixe.



Ignaz  
Caracelli

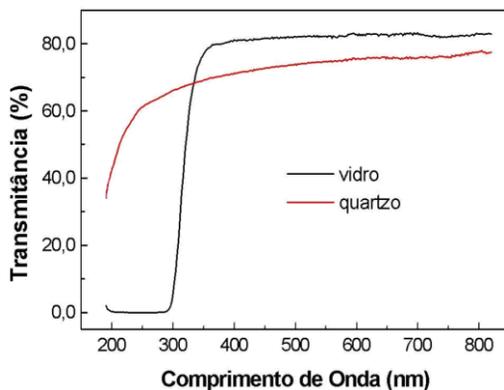
42



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Absorção Molecular no UV/Vis



O **vidro** absorve fortemente os comprimentos de onda da região do UV. Abaixo de 300 nm toda a radiação é absorvida.

O **quartzo** começa absorver fortemente somente abaixo de 200 nm.

Ignaz  
Caracelli

43



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Absorção Molecular no UV/Vis

### Instrumentação:

#### Detectores → Transdutores

- Dispositivos capazes de converter luz para o domínio elétrico

- Transdutores de radiação:

- Fotônicos monocanais
  - Células fotovoltaicas
  - Fototubos
  - Fotomultiplicadores
  - Fotodiodos
- Fotônicos multicanais
  - Arranjo de fotodiodos (PDA)
  - Dispositivos de transferência de cargas
  - CID e CCD (bidimensionais)

Ignaz  
Caracelli

44



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Absorção Molecular no UV/Vis

### Instrumentação:

#### Detectores → Transdutores

- Dispositivos capazes de converter luz para o domínio elétrico



#### **Tubo fotomultiplicador**

*Muito sensível. Consegue detectar níveis muito baixos de luminosidade.*



#### **Arranjo linear de fotodiodos**

(PDA - photodiode array)

*Permite detectar simultaneamente vários comprimentos de onda.*

*Ignaz  
Caracelli*

45



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2

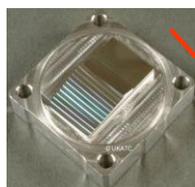


## Absorção Molecular no UV/Vis

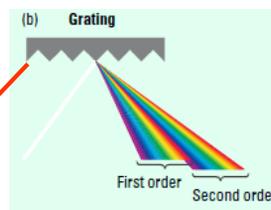
### Monocromador

→ O principal elemento dispersante é a rede de difração. Essa rede consiste de uma placa transparente ou refletora com muitas ranhuras paralelas e equidistantes.

→ A dispersão resultante desta rede é linear. Os vários comprimentos de onda dispersos são igualmente espaçados, por isso a fenda de saída isolará uma banda de radiação de largura constante.



rede de difração



*Ignaz  
Caracelli*

46



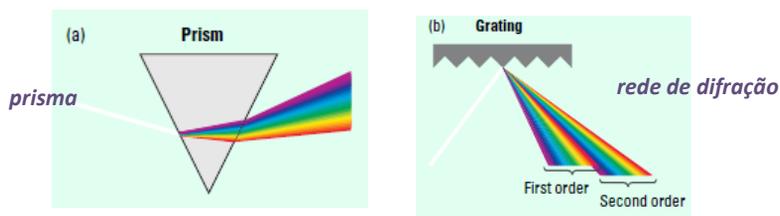
096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Absorção Molecular no UV/Vis

### Monocromador

→ A resolução é muito mais elevada que a dos prismas.



Ignaz  
Caracelli

47



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2

Física



## Absorção Molecular no UV/Vis

Em sistema multicomponentes, as absorbâncias são aditivas se as espécies não interagem entre si:

$$A_{\text{total}} = A_1 + A_2 + \dots + A_n$$

Ignaz  
Caracelli

48

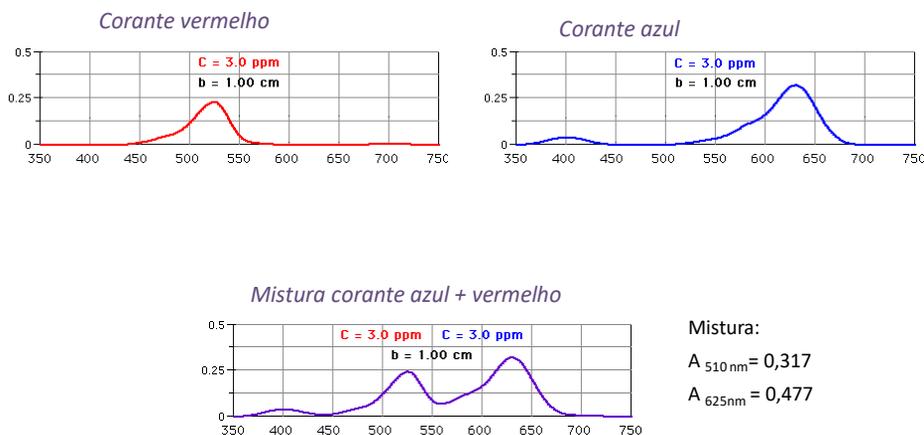


096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2

Física



## Absorção Molecular no UV/Vis



Ignez  
Caracelli

49



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Absorção Molecular no UV/Vis

Quando estimulada com esse tipo radiação, a molécula do composto pode sofrer transições eletrônicas por ocasião da absorção de energia quantizada.

O espectro eletrônico de absorção é o registro gráfico da resposta do sistema ao estímulo.

A absorção da região UV-vis depende, do número e do arranjo dos elétrons nas moléculas ou íons absorventes.

Ignez  
Caracelli

50



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



Parênteses:  
**Hemoglobina x**  
**Hemocianina**

Ignaz  
 Caracelli

51

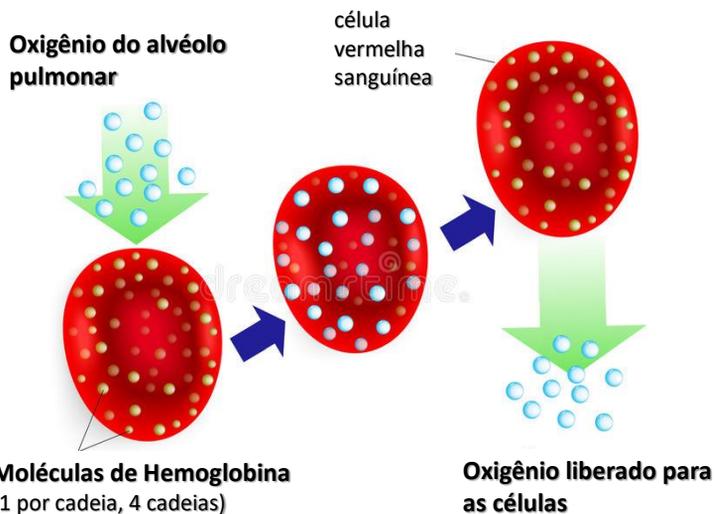


096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Hemoglobina

Proteína transportadora de  $O_2$  no sangue



<https://es.dreamstime.com/foto-de-archivo-hemoglobina-y-respiratorio-image34888190>

Ignaz  
 Caracelli

52

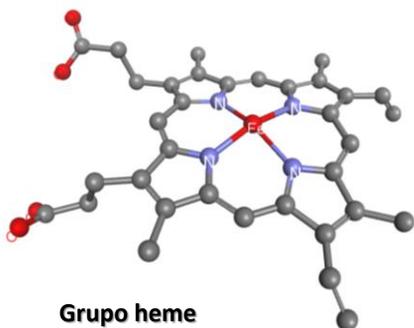


096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2

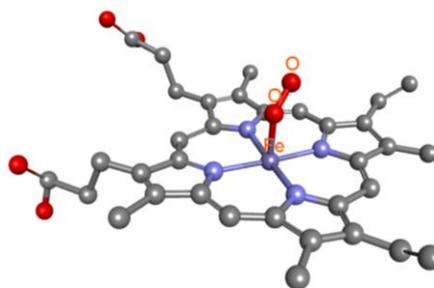


## Hemoglobina

Proteína transportadora de  $O_2$  no sangue



Grupo heme  
Fe, 4 N, 4 O



Grupo heme  
 $O_2$  ligado ao Fe

*Ignez  
Caracelli*

53

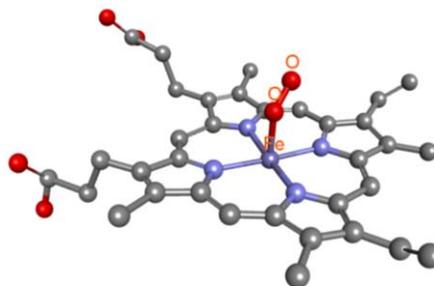
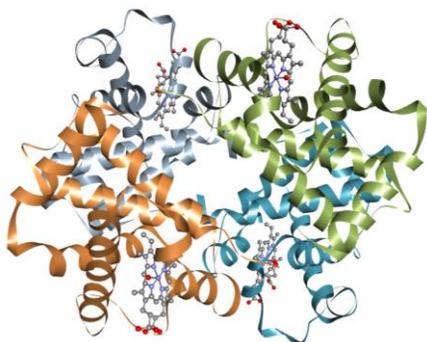


096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Hemoglobina

Proteína transportadora de  $O_2$  no sangue



Grupo heme  
 $O_2$  ligado ao Fe

*Ignez  
Caracelli*

54



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Hemocianina

Proteína transportadora de  $O_2$  no sangue

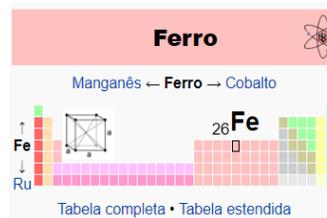
Em baixas pressões de  $O_2$



## Hemoglobina

Proteína transportadora de  $O_2$  no sangue

Em altas pressões de  $O_2$



*Ignês  
Caracelli*

55

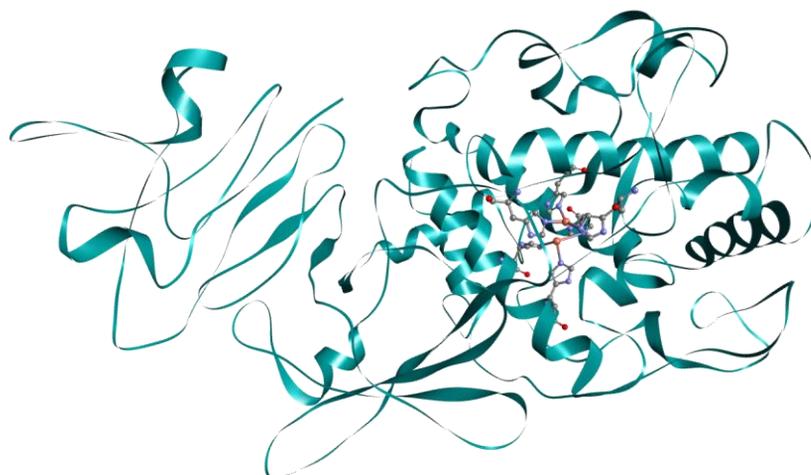


096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Hemocianina

Proteína transportadora de  $O_2$  no sangue



*Ignês  
Caracelli*

56

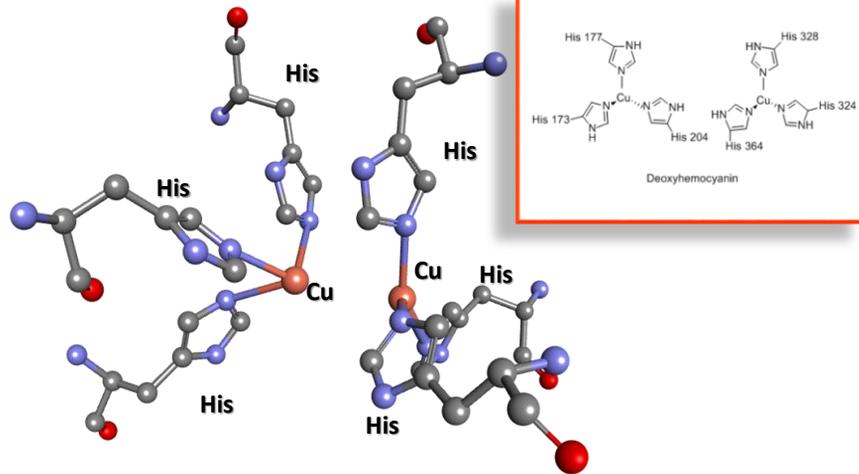


096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Hemocianina

Proteína transportadora de O<sub>2</sub> no sangue



*Ignez  
Caracelli*

57

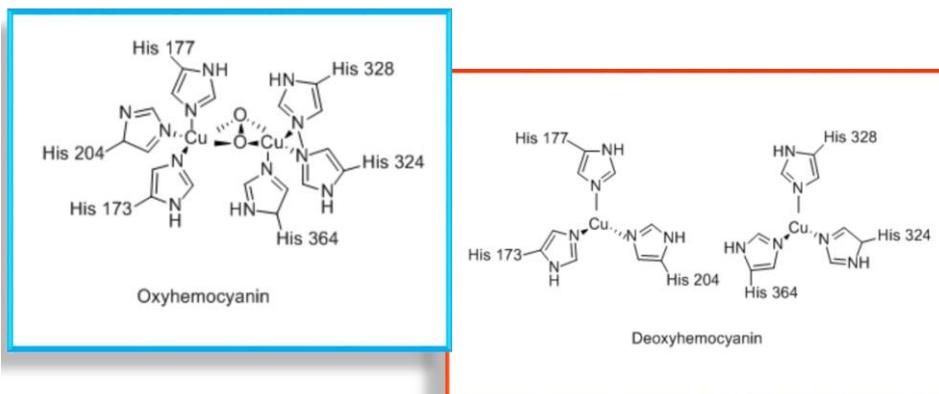


096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Hemocianina

Proteína transportadora de O<sub>2</sub> no sangue



*Ignez  
Caracelli*

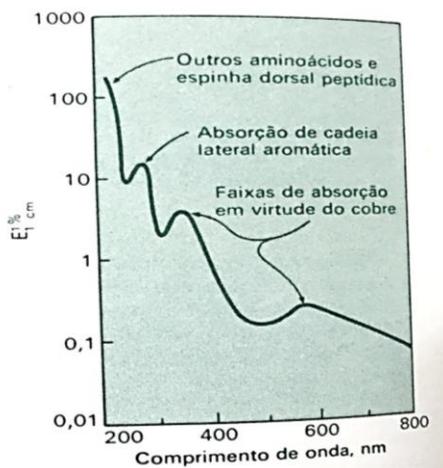
58



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Absorção Molecular no UV/Vis



UV-visível para hemocianina (Cobre)

Ignaz  
Caracelli

59

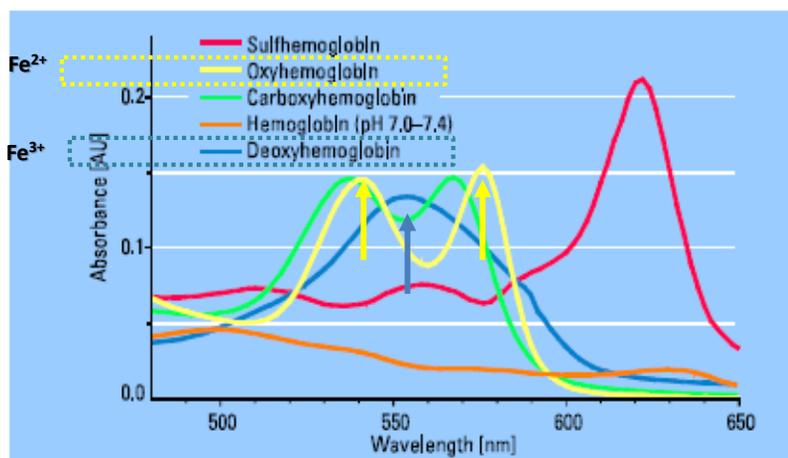


096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2

Física



## Absorção Molecular no UV/Vis Espectros de Absorção de Hemoglobinas



Ignaz  
Caracelli

Fundamentals of modern UV-visible spectroscopy - Agilent

60



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2

Física



## Sangue

### RED

#### Humans and most other vertebrates.

The iron in our blood proteins is responsible for the red color. Blood in our veins is a deep red, but when that iron is exposed to oxygen, through an open wound, it turns the blood into that iconic, bright red color.



Ignaz  
Caracelli

61



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Sangue

### BLUE

#### Spiders, crustaceans, octopuses and squids, some mollusks.

These animals contain higher concentrations of copper in their blood proteins. Normally, the blood is colorless, but when that copper is oxygenated it turns blue.



### PURPLE

#### Brachiopods, penis worms, peanut worms, and some other types of marine worms.

Many marine invertebrates rely on the blood protein hemerythrin to transport oxygen throughout their bodies. When oxygenated, hemerythrin turns a violet-pink color.



Ignaz <https://www.businessinsider.com/animal-blood-comes-in-5-crazy-colors-but-you-have-to-do-something-gruesome-to-determine-which-2016-1>  
Caracelli

62



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Sangue

### YELLOW

#### Beetles, sea squirts, sea cucumber.

These animals have a relatively high concentration of vanabin in their blood, which contains the chemical vanadium, which turns yellow when oxygenated. Vanabin does not aid in the transport of oxygen through the body, and its purpose is still a mystery to scientists.



### GREEN

#### Many annelids, including marine worms, segmented worms, and leeches.

These animals contain a chemical in their blood protein called chlorocruorin, which turns green when oxygenated but will sometimes turn a light red in higher concentrations.



*Ignaz  
Caracelli*

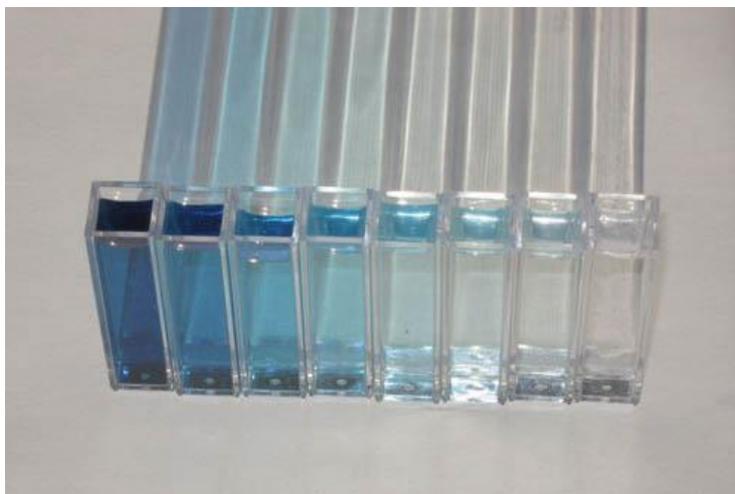
63



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Curva de Calibração



*Ignaz  
Caracelli*

[http://www.lightboxkit.com/Science\\_1\\_BeersLaw.html](http://www.lightboxkit.com/Science_1_BeersLaw.html)

64

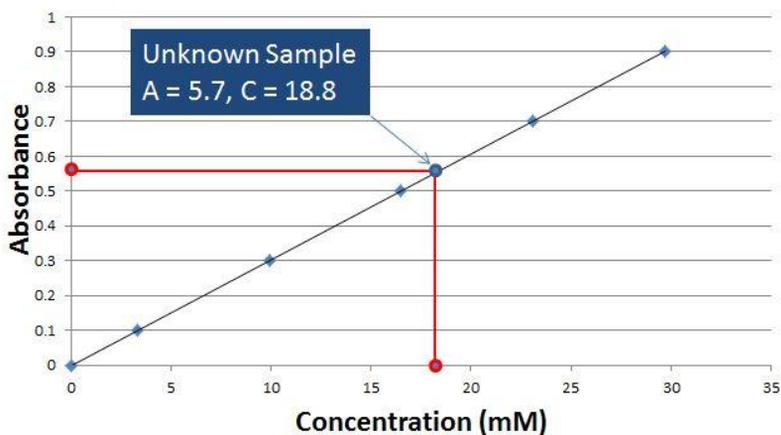


096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Curva de Calibração

### Standard Curve



Ignaz  
Caracelli

[http://www.lightboxkit.com/Science\\_1\\_BeersLaw.html](http://www.lightboxkit.com/Science_1_BeersLaw.html)

65



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Precisão × Exatidão



precisão



(a)

exatidão



precisão



(b)

exatidão



precisão



(c)

exatidão



precisão



(d)

exatidão



Ignaz  
Caracelli

66



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Espectroscopia no Infravermelho

Ignaz  
Caracelli

67



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Espectros Infravermelhos

- A região do infravermelho se dá entre  $4000$  e  $400\text{ cm}^{-1}$
- Energia varia de  $4,8\text{ kJ/mol}$  a  $48,0\text{ kJ/mol}$
- Há interação entre a radiação e as moléculas

Ignaz  
Caracelli

68

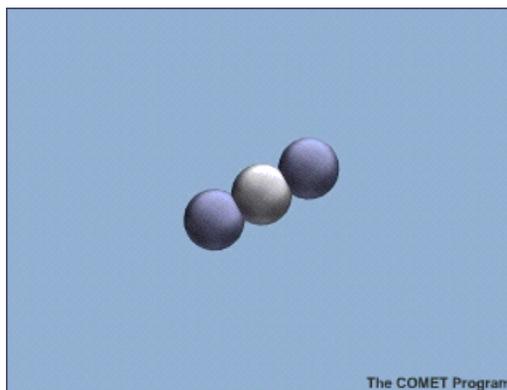


096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Efeito da Absorção no IV

→ A radiação infravermelha quando absorvida, fornece energia suficiente apenas para alterar as **vibrações** entre os átomos em uma molécula.



Ignez  
Caracelli

69



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2

Física



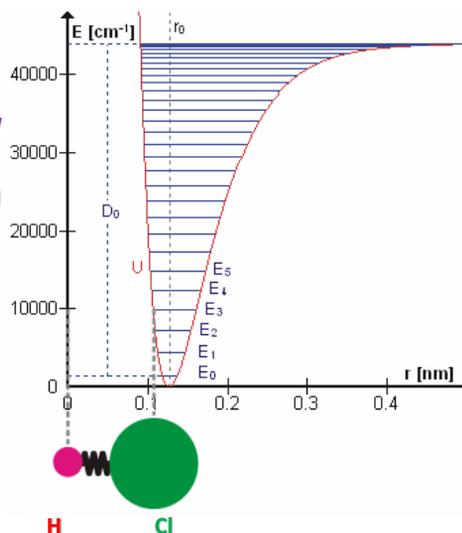
## Efeito da Absorção no IV

→ Exemplo: **H—Cl**

A molécula **HCl** atua como um oscilador anarmônico que vibra no nível de energia  $E_3$ .

$r_0$  é o comprimento da ligação,  $U$  é a energia potencial. A energia está expressa em número de onda ( $k$ ).

A molécula de **HCl** está fixa à coordenada do sistema para mostrar as variações do comprimento de ligação.



Ignez  
Caracelli

70



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2

Física



## Tipos de Vibração

Existem um grande número de vibrações possíveis.

As mais comuns são:

### Estiramentos axiais:

- Estiramento simétrico
- Estiramento assimétrico

### Deformação angular:

- Angular simétrica no plano (tesoura)
- Angular assimétrica no plano (balanço)
- Angular simétrica fora do plano (torção)
- Angular assimétrica fora do plano (abano)

Ignaz  
Caracelli

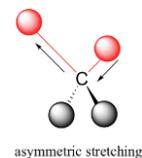
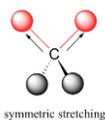
71



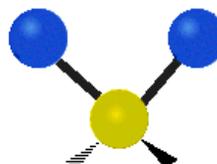
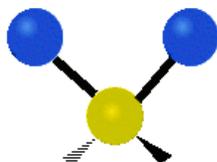
096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Estiramento simétrico/assimétrico



### Deformações Axiais



Ignaz  
Caracelli

72

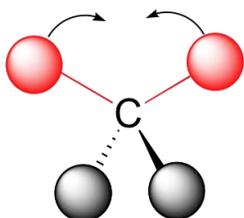


096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2

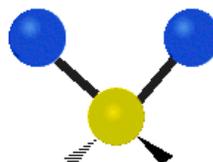
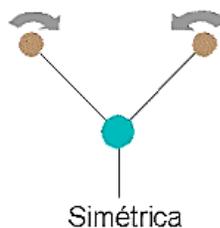


## Angular simétrica no plano (tesoura)

deformação angular



scissoring



Ignaz  
Caracelli

Tesoura (ou dobramento angular)

73



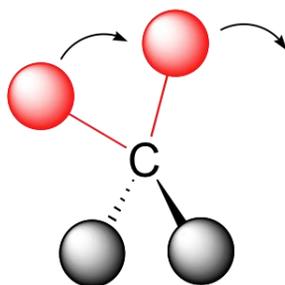
096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2

Física

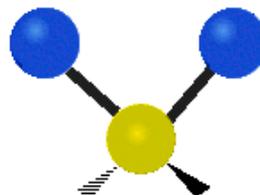
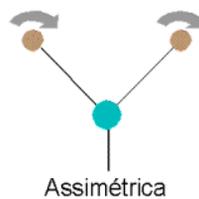


## Angular assimétrica no plano (balanço)

deformação angular



rocking



Balanço

Ignaz  
Caracelli

74



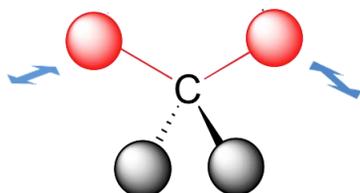
096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2

Física

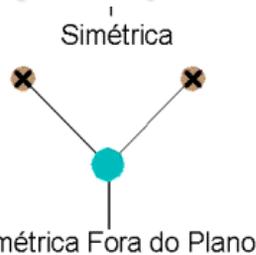


## Angular simétrica fora do plano(abano)

deformação angular

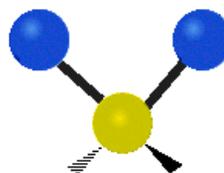


wagging



Simétrica Fora do Plano

O sinal  $\times$  indica movimentos para dentro e para fora do plano do desenho



Ignez  
Caracelli

75



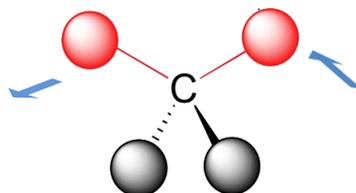
096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2

Física

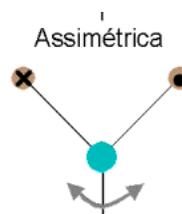


## Angular assimétrica fora do plano (torção)

deformação angular

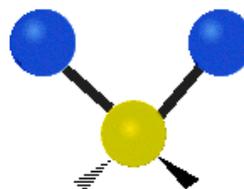


twisting



Assimétrica Fora do Plano

Os sinais  $\times$  e  $\bullet$  indicam movimentos para dentro e para fora do plano do desenho



Torção (twist)

Ignez  
Caracelli

76



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2

Física

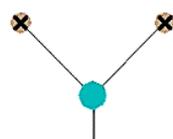
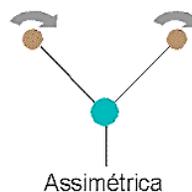
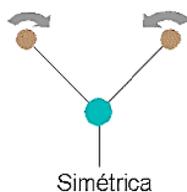


## Todos

### Deformações Axiais



### Deformações Angulares



*Ígnez Caracelli*

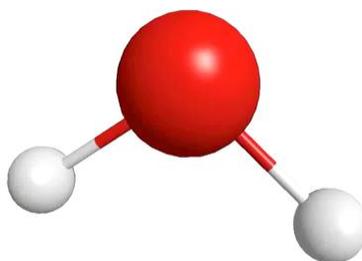
77



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Modos Normais de vibração da água



*Ígnez Caracelli*

<https://www.youtube.com/watch?v=1uE2lvVkkW0>

78

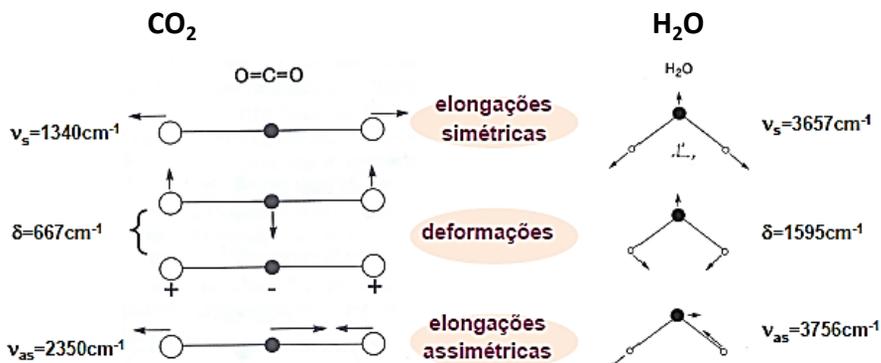


096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Modos Normais de vibração da água

Exemplos:



Ignez  
Caracelli

79



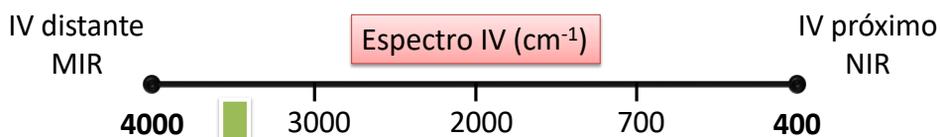
096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2

Física



## Espectroscopia Vibracional

Observando vibrações moleculares



H ligado heteroátomo

- O-H
- N-H

Ignez  
Caracelli

80



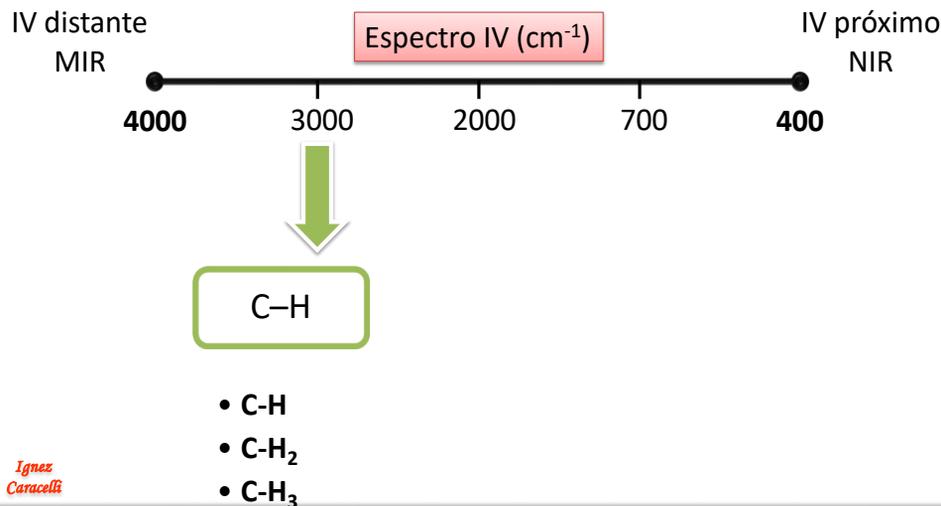
096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2

Física



# Espectroscopia Vibracional

## Observando vibrações moleculares



81

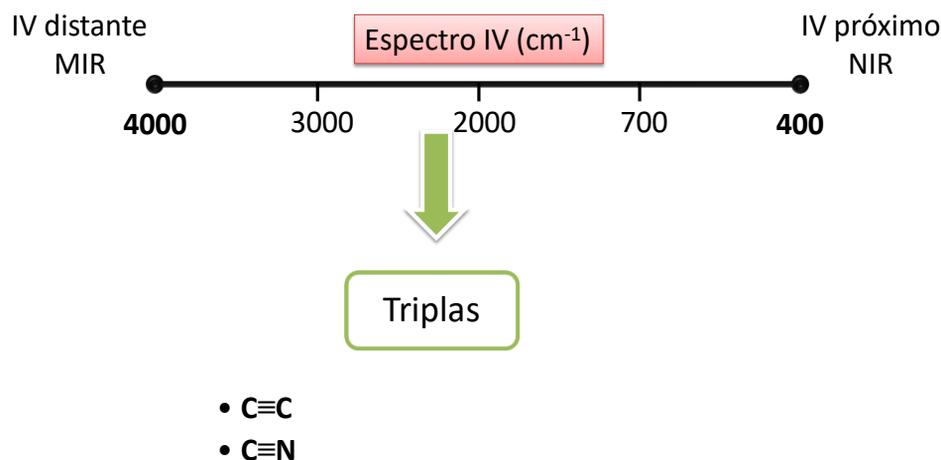


096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



# Espectroscopia Vibracional

## Observando vibrações moleculares



82

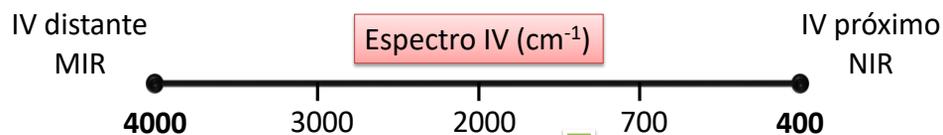


096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



# Espectroscopia Vibracional

## Observando vibrações moleculares



Impressão digital

>1500

- C=O
- C=C
- C=N

1500 > x > 700

- Simples

*Ignaz Caracelli*

83

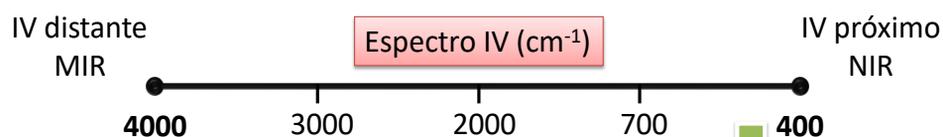


096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



# Espectroscopia Vibracional

## Observando vibrações moleculares



Vibrações dos metais

650 - 400

- M-O
- M-N
- M-S

*Ignaz Caracelli*

84

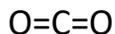


096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2

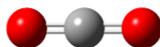
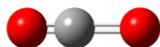
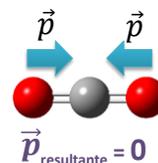


# Espectroscopia Vibracional

## Observando vibrações moleculares



Para que uma transição seja ativa no infravermelho é necessário que haja variação do momento dipolar durante a vibração



estiramento  
assimétrico

$2399 \text{ cm}^{-1}$

$\vec{p}_{\text{resultante}} \neq 0$

estiramento  
simétrico

$1364 \text{ cm}^{-1}$

$\vec{p}_{\text{resultante}} = 0$

deformação

$675 \text{ cm}^{-1}$

$\vec{p}_{\text{resultante}} \neq 0$

Ignez  
Caracelli

85

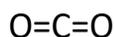


096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2

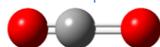
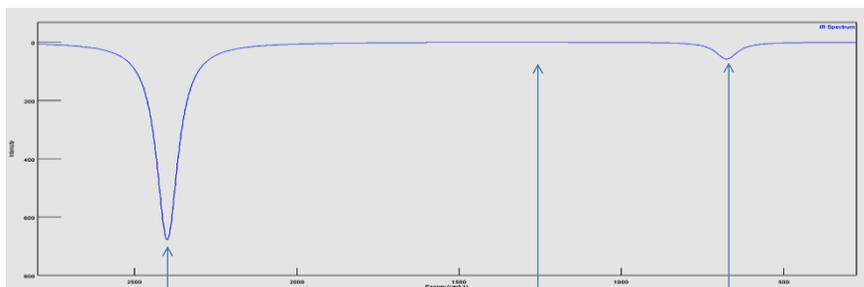


# Espectroscopia Vibracional

## Observando vibrações moleculares

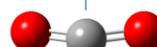


Para que uma transição seja ativa no infravermelho é necessário que haja variação do momento dipolar durante a vibração



$\vec{p}_{\text{resultante}} \neq 0$   
 $2399 \text{ cm}^{-1}$

$\vec{p}_{\text{resultante}} = 0$   
 $1364 \text{ cm}^{-1}$



$\vec{p}_{\text{resultante}} \neq 0$   
 $675 \text{ cm}^{-1}$

Ignez  
Caracelli

86



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Resultado da Absorção

- Quando uma molécula absorve a radiação Infravermelha, passa para um estado de energia excitado.
- A absorção se dá quando a energia da radiação IV tem a mesma frequência que a vibração da ligação.
- Após a absorção, verifica-se que a vibração passa ter uma maior amplitude

*Ignaz  
Caracelli*

87



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Requisitos para Ocorrer Absorção no Infravermelho

- Nem toda molécula absorve no infravermelho.
- É necessário que o momento de dipolo da ligação varie em função do tempo
- Ligações químicas simétricas não absorvem no IV (Exemplos:  $H_2$ ,  $Cl_2$ ,  $O_2$ )

*Ignaz  
Caracelli*

88

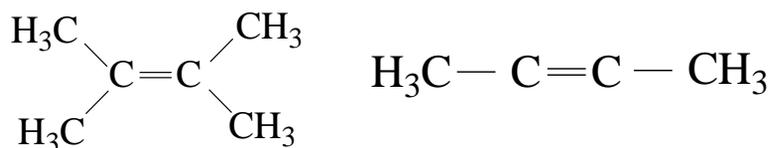


096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Moléculas Simétricas

- Verifica-se também que moléculas simétricas, ou praticamente simétricas também se mostrarão inativas no Infravermelho.
- Exemplos:



Ignaz  
Caracelli

89



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2

Física



Luminescência

Ignaz  
Caracelli

90



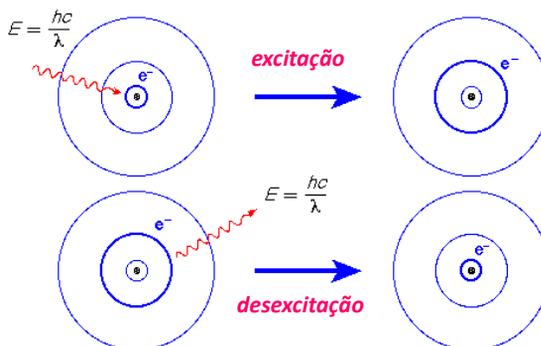
096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2

Física



## Absorção da Radiação

- A radiação eletromagnética pode interagir com a matéria, sendo assim absorvida.
- Exemplo:



Transição eletrônica  
(radiação visível)

Ignez  
Caracelli

91



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2

Física



## Absorção da Radiação

- A radiação eletromagnética pode interagir com a matéria, sendo assim absorvida.
- Exemplo:

*Fogos de artifício são feitos de compostos incandescentes, como nitratos metálicos. Quando se acende um fogo de artifício, a reação de combustão ocorre, levando à formação de novos compostos, juntamente com a emissão de calor e energia luminosa.*



Ignez  
Caracelli

<http://www.buzzle.com/articles/chemical-change-examples.html>

92



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2

Física



## Luminescência

- **Quimioluminiscência** — *excitação resultante de uma reação química*
- **Fosforescência**  } *excitação por absorção de fótons:*
- **Fluorescência** } ***Fotoluminescência***

Ígnez  
Caracelli

93



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Luminescência

Princípio Básico:

1. As moléculas são excitadas (elétrons das camadas mais externas como no fenômeno de absorbância).
2. As moléculas excitadas fornecem um espectro de emissão que permite obter informação qualitativa e quantitativa.

Ígnez  
Caracelli

94



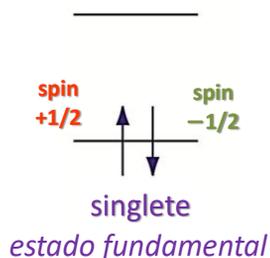
096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Estados singlete e triplete

A luminescência em materiais orgânicos ocorre devido às transições eletrônicas entre os orbitais  $\pi - \pi^*$ .

No estado eletrônico fundamental, sempre que dois elétrons ocuparem um mesmo orbital atômico ou molecular, obrigatoriamente eles devem possuir spins opostos.



Ignez  
Caracelli

95



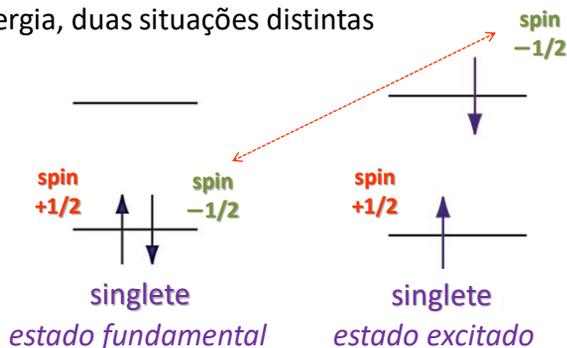
096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Estados singlete e triplete

Porém, quando um elétron é excitado para um orbital atômico ou molecular de mais alta energia, duas situações distintas podem acontecer.

1. a excitação do elétron ocorre sem que haja alteração do seu spin original, sendo assim, o elétron promovido mantém o sentido de rotação



O estado eletrônico molecular é chamado de singlete quando os elétrons estão emparelhados e nenhuma separação de níveis de energia é observada sob efeito de um campo magnético. A molécula é diamagnética.

Ignez  
Caracelli

96



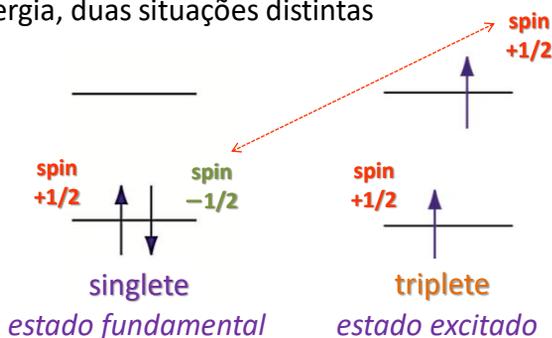
096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Estados singlete e triplete

Porém , quando um elétron é excitado para um orbital atômico ou molecular de mais alta energia, duas situações distintas podem acontecer.

2. no segundo caso, a excitação do elétron ocorre mediante alteração do seu spin original(estado excitado tripleto).



O estado tripleto pode ser alcançado se o elétron tornar-se desemparelhado ao ser excitado para um nível de maior energia. Neste caso também ocorre o **paramagnetismo**.

Ignaz  
Caracelli

97

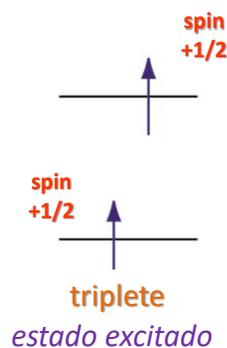


096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Estados singlete e triplete

Um elétron não pode ser diretamente excitado para o estado tripleto, mas pode atingir este estado mediante a inversão do elétron singlete, sendo esse processo chamado de **cruzamento intersistemas**.



Ignaz  
Caracelli

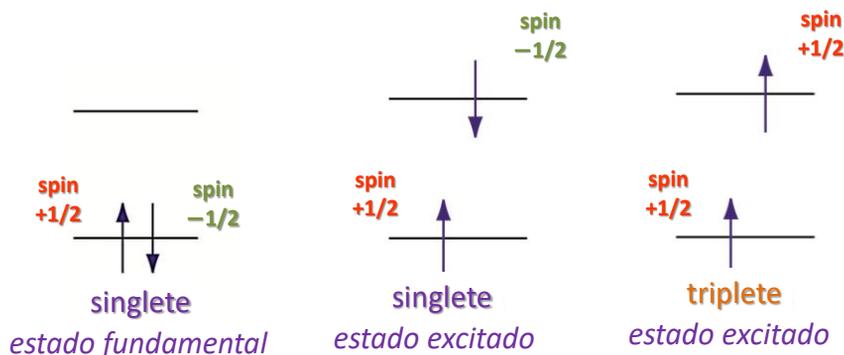
98



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Estados singlete e triplete



Ignez  
Caracelli

99



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Processos de desexcitação

Uma vez que uma molécula é **excitada por absorção de fóton**, ela pode retornar para seu estado fundamental com emissão fluorescente, porém outros caminhos de **desexcitação** são possíveis.

Em solução, a energia vibracional em excesso é perdida imediatamente pelas colisões entre a molécula excitada e o solvente, num processo chamado **relaxação vibracional**.

Ignez  
Caracelli

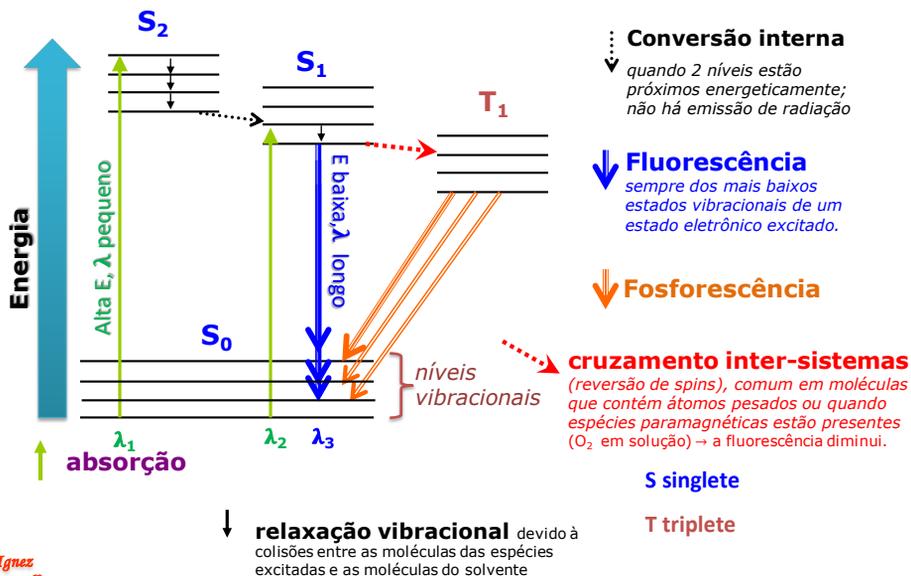
100



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Diagrama de Jablonski



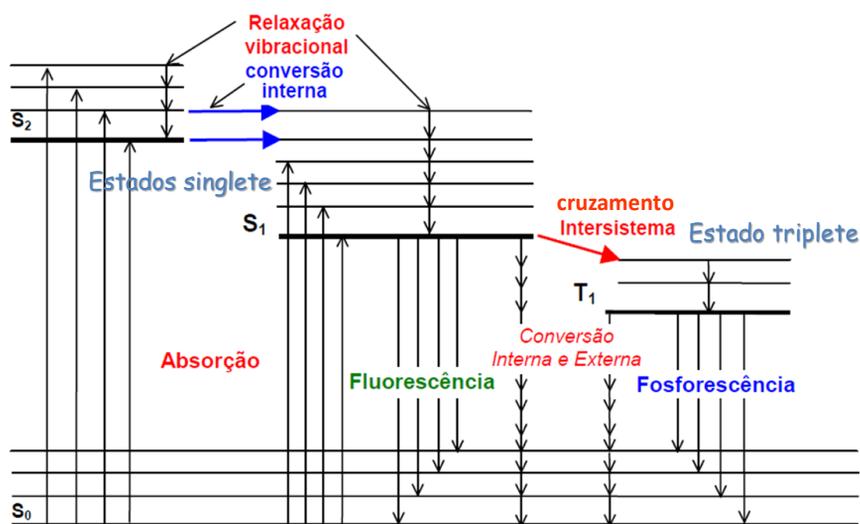
101



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Diagrama de Jablonski



102



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2

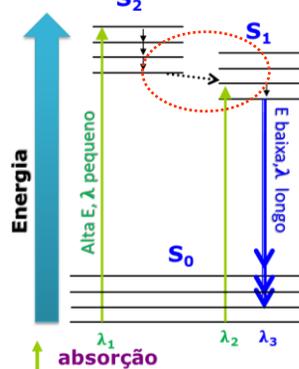


## Conversão interna

A **conversão interna** é outro processo de desativação pelo qual a molécula excitada passa para "outro" **estado eletrônico** de menor energia *sem emissão de radiação*.

A conversão interna parece ser mais eficiente quando os **dois níveis eletrônicos envolvidos estão próximos o suficiente** para que haja uma superposição de níveis de energia vibracionais, conforme está representado na conversão interna  $S_2 \rightarrow S_1$  do diagrama de Jablonski.

A conversão interna  $S_2 \rightarrow S_1$  ilustrada no diagrama de Jablonski explica porque se obtém uma banda de fluorescência somente em  $\lambda_3$ , não importando se a excitação foi feita no comprimento de onda  $\lambda_2$  ou  $\lambda_1$ .



Ignez  
Caracelli

103



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Fosforescência

A fosforescência é um mecanismo alternativo, luminescente, para a desativação de estados eletrônicos excitados.

Depois do cruzamento intersistema para um estado triplete, uma desativação subsequente pode ocorrer, seja por conversão interna, externa ou por fosforescência.

A conversão interna e externa competem com tamanha eficiência com a fosforescência que esse tipo de emissão é normalmente observada apenas em baixas temperaturas, em meios altamente viscosos ou em moléculas adsorvidas em superfícies sólidas.

Além disso, as bandas de fosforescência são encontradas geralmente em comprimentos de onda maiores que as bandas de fluorescência porque o estado triplete excitado tem, em muitos casos, energia menor que o estado singlete correspondente.

Ignez  
Caracelli

104

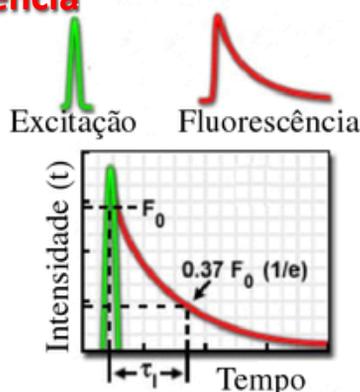


096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Fluorescência

O processo de fluorescência é regido por três importantes eventos (excitação, relaxamento vibracional e emissão) que ocorrem em escalas de tempo que são separadas por várias ordens de grandeza.



A **excitação** de uma molécula acontece em **femtossegundos** ( $10^{-15}$  s), o **relaxamento vibracional** dos elétrons pode ser medido em **picossegundos** ( $10^{-12}$  s) e a **emissão de um fóton** ocorre em um período de tempo relativamente longo de **nanossegundos** ( $10^{-9}$ s).

Ignez  
Caracelli

105



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Escala de tempo na Fluorescência e Fosforescência

Transição	Processo	Tempo (s)
$S_0 \rightarrow S_1$ ou $S_2$ ou $S_n$	Absorção (Excitação)	$10^{-15}$
$S_n \rightarrow S_1$	Conversão Interna	$10^{-14} - 10^{-10}$
$S_1 \rightarrow S_1$	Relaxação Vibracional	$10^{-12} - 10^{-10}$
$S_1 \rightarrow S_0$	Fluorescência	$10^{-9} - 10^{-7}$
$S_1 \rightarrow T_1$	Cruzamento Intersistema	$10^{-10} - 10^{-8}$
$S_1 \rightarrow S_0$	Supressão (Conversão Externa)	$10^{-7} - 10^{-5}$
$T_1 \rightarrow S_0$	Fosforescência	$10^{-3} - 100$

Ignez  
Caracelli

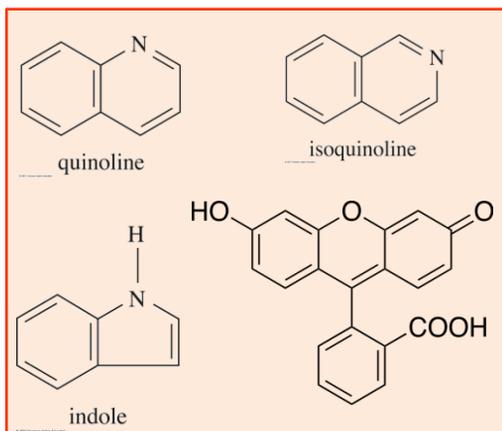
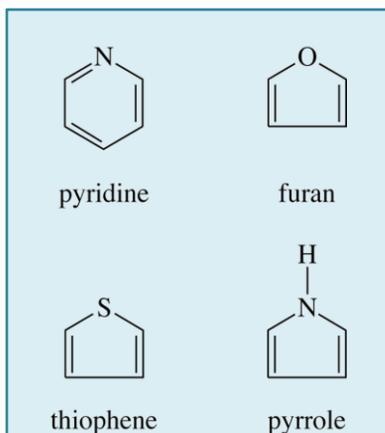
106



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Fluorescência & Fosforescência



Não apresentam fluorescência

Apresentam fluorescência

Ignez  
Caracelli

107



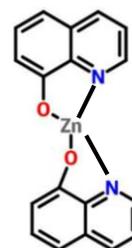
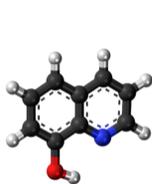
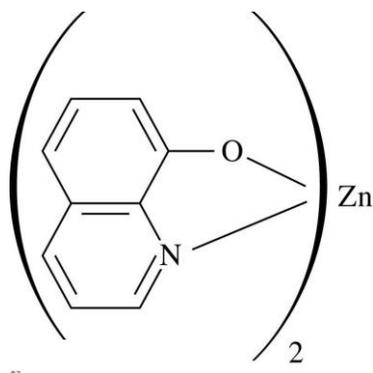
096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2

Física



## Fluorescência

Empiricamente observou-se que a rigidez da estrutura favorece a fluorescência



A rigidez do complexo formado explica porque o complexo de zinco com a 8-hidroxiquinolina apresenta uma fluorescência muito maior que a 8-hidroxiquinolina.

Ignez  
Caracelli

108



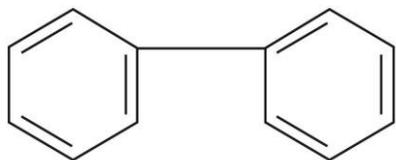
096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2

Física



## Fluorescência

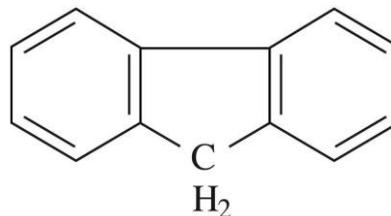
Empiricamente observou-se que a rigidez da estrutura favorece a fluorescência



biphenyl

Apresenta fraca fluorescência

$$\Phi = 0,2$$



fluorene

Apresenta forte fluorescência

$$\Phi = 1$$

Ignaz  
Caracelli

109



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2

Física



## Luminescência

Antigamente se distinguiam os fenômenos de fluorescência e de fosforescência pela vida média da emissão: até 10 ns era fluorescência.

Hoje elas se distinguem pelos estados de spin dos níveis envolvidos.

Se durante o processo de emissão não ocorre mudança de multiplicidade de spin, a emissão é fluorescente. Se há inversão de spin (ex: triplete → singlete) a emissão é fosforescente.

Ignaz  
Caracelli

<http://www.ifsc.usp.br/~donoso/espectroscopia/Luminescencia.pdf>

110



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2

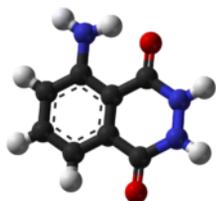
Física



## Quimioluminescência

A **quimioluminescência** é a emissão de luz não acompanhada da emissão de calor em consequência de uma reação química.

Um exemplo de reação deste tipo é a que ocorre entre o luminol e o peróxido de hidrogênio.



*luminol*

**Luminol** é uma substância química criada em 1928 por H. O. Albrecht, durante seu trabalho de doutoramento.

Posteriormente, Fritz Feigl e seus colaboradores reconheceram o potencial desse reagente, na área da técnica de análise de toque, para a identificação de diminutas quantidades de peróxidos e íons ferricianeto.

*Ignaz  
Caracelli*

111

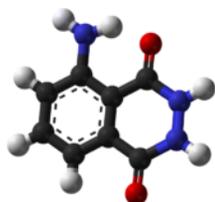


096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Quimioluminescência

Muito utilizado pela polícia científica, quando necessita saber se há vestígios de sangue em roupas, objetos ou lugares. No caso de tecidos, mesmo que a cena do crime tenha sido limpa, as fibras do tecido absorvem partes do composto de ferro, e assim, quando aplicado o luminol, ele causa uma reação de oxidação e "ilumina", literalmente, o local, ficando uma cor azul fluorescente. É mais útil, quando usado junto com luz ultravioleta,



*luminol*



*Ignaz  
Caracelli*

112

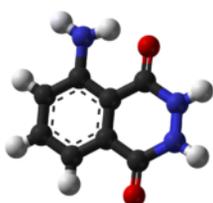


096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Quimioluminescência

Para executar um teste com luminol, os criminalistas pulverizam a mistura em qualquer lugar onde possa haver sangue. Se a hemoglobina e a mistura de luminol entram em contato, o ferro na hemoglobina acelera a reação entre o peróxido de hidrogênio e o luminol.



Ignez  
Caracelli

*luminol*



113

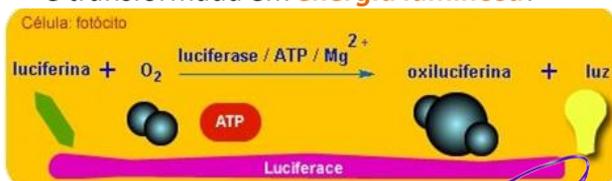


096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Bioluminescência

A bioluminescência é a produção e emissão de luz por um organismo vivo, por meio de uma reação na qual *energia química* é transformada em *energia luminosa*.



- 1LCI  
FIREFLY LUCIFERASE  
•DOI: [10.2210/pdb1LCI/pdb](https://doi.org/10.2210/pdb1LCI/pdb)  
•Classification: **OXIDOREDUCTASE**  
•Organism(s): **Photinus pyralis**  
•Expression System: **Escherichia coli**



Ignez  
Caracelli

114



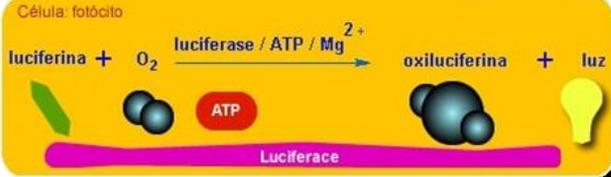
096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2

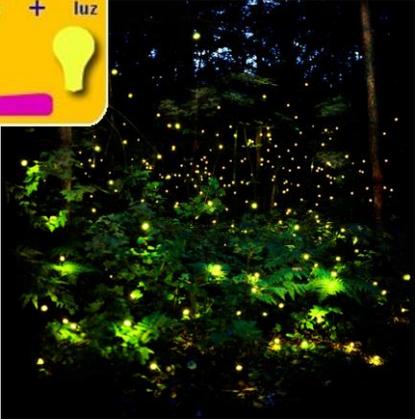


## Bioluminescência

A bioluminescência é a produção e emissão de luz por um organismo vivo, por meio de uma reação na qual **energia química** é transformada em **energia luminosa**.

Célula: fotócito

$$\text{luciferina} + \text{O}_2 \xrightarrow{\text{luciferase / ATP / Mg}^{2+}} \text{oxiluciferina} + \text{luz}$$




Exemplo:  
os vaga-lumes

*Ignaz Caracelli*

115



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Bioluminescência

Em um [artigo](#) publicado na revista *Photochemical and Photobiological Sciences*, pesquisadores da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), campus de Sorocaba, demonstraram a possibilidade de utilização de enzimas luciferases de vagalumes como indicadores de pH intracelular em bactérias, uma aplicação até então inédita.

Sensor de pH que usa luciferase do vagalume *Macrolampis*



*Ignaz Caracelli*

[http://agencia.fapesp.br/enzima\\_de\\_vagalume\\_pode\\_ser\\_usada\\_como\\_indicador\\_de\\_ph\\_intracelular/20548/](http://agencia.fapesp.br/enzima_de_vagalume_pode_ser_usada_como_indicador_de_ph_intracelular/20548/)

116



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2

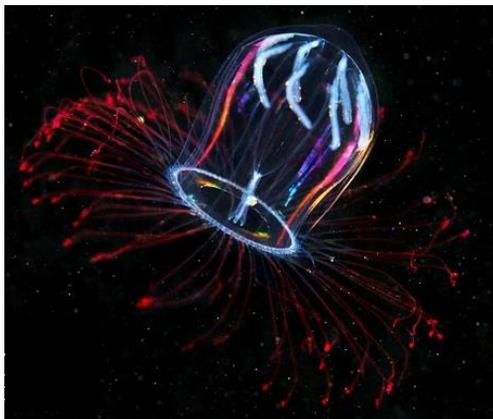


## Bioluminescência

### exemplo: água-viva

Água-viva Capacete-Rosa (*Aequorea victoria*) encontrada em mares do norte e norte dos oceanos Atlântico e Pacífico.

Têm o corpo (umbrela) em forma de sino, com cerca de 80 minúsculos tentáculos na base, que auxiliam no momento de nadar e na alimentação. Mede cerca de 20 mm, se alimenta de pequenos crustáceos e organismos planctônicos (como microalgas) e essas estruturas brancas penduradas em seu interior são as gônadas, órgãos que produzem as células sexuais (gametas).



Ignez  
Caracelli

<http://biologiavida-oficial.blogspot.com.br/2015/09/Aequorea.html>

117



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Termoluminescência

A **termoluminescência** é a emissão de luz em resultado do aquecimento dos minerais após absorção prévia de energia de fonte ionizante. As temperaturas de aquecimento são inferiores à temperatura de incandescência, tipicamente entre 50°C e 475°C.

aplicação: dosímetro TLD  
LiF, CaF



Ignez  
Caracelli

118



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



## Referências

- ◆ D.A. Skoog, F.J. Holler, T.A. Nieman. *Princípios de Análise Instrumental*, Trad. Ignez Caracelli et al. 5a. ed, Porto Alegre, Bookman, 2002. Cap13 (principalmente) e outros
- ◆ <http://qnesc.sbg.org.br/online/cadernos/04/espect.pdf>
- ◆ [http://chemwiki.ucdavis.edu/Core/Physical\\_Chemistry/Spectroscopy/Electronic\\_Spectroscopy/Jablonski\\_diagram](http://chemwiki.ucdavis.edu/Core/Physical_Chemistry/Spectroscopy/Electronic_Spectroscopy/Jablonski_diagram)
- ◆ Prof. Valmir F. Juliano
- ◆ <http://chemkeys.com/br/category/todos-os-artigos/espectroscopia>
- ◆ [http://chemwiki.ucdavis.edu/Core/Physical\\_Chemistry/Spectroscopy/Electronic\\_Spectroscopy/Electronic\\_Spectroscopy%3A\\_Theory](http://chemwiki.ucdavis.edu/Core/Physical_Chemistry/Spectroscopy/Electronic_Spectroscopy/Electronic_Spectroscopy%3A_Theory)
- ◆ [http://chemwiki.ucdavis.edu/Core/Physical\\_Chemistry/Spectroscopy/Electronic\\_Spectroscopy/Electronic\\_Spectroscopy%3A\\_Application](http://chemwiki.ucdavis.edu/Core/Physical_Chemistry/Spectroscopy/Electronic_Spectroscopy/Electronic_Spectroscopy%3A_Application)
- ◆ <http://www.gradadm.ifsc.usp.br/dados/20092/FFI0339-1/intro-espectroscopia.pdf>
- ◆ <http://www.scielo.br/pdf/qn/v27n4/20812.pdf>
- ◆ <http://www.big.iqm.unicamp.br/arquivos/770596/tese.htm>

Ignez  
Caracelli

119



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2



Ignez  
Caracelli

120



096067 - A - FÍSICA PARA BIOTECNOLOGIA 2

