UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

VITOR PRESA TOLEDO

SENSORES ÓPTICOS BASEADOS EM HETEROCICLOS AROMÁTICOS PARA DETECÇÃO DE ADULTERAÇÃO EM COMBUSTÍVEIS

Porto Alegre, Junho de 2026

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

VITOR PRESA TOLEDO

SENSORES ÓPTICOS BASEADOS EM HETEROCICLOS AROMÁTICOS PARA DETECÇÃO DE ADULTERAÇÃO EM COMBUSTÍVEIS

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Química.

Prof. Dr. Fabiano Severo Rodembusch
Orientador

Porto Alegre, Junho de 2026

CIP - Catalogação na Publicação

Toledo, Vitor Presa
SENSORES ÓPTICOS BASEADOS EM HETEROCICLOS AROMÁTICOS PARA DETECÇÃO DE ADULTERAÇÃO EM COMBUSTÍVEIS / Vitor Presa Toledo. -- 2026.
178 f.
Orientador: Fabiano Severo Rodembusch.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Química, Programa de Pós-Graduação em Química, Porto Alegre, BR-RS, 2026.

1. Fluorescência. 2. Hemicianinas. 3. Adulteração de combustíveis. 4. Pireno. 5. Detecção de etanol. I. Rodembusch, Fabiano Severo, orient. II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

A presente dissertação foi realizada inteiramente pelo autor, exceto as colaborações as quais serão devidamente citadas nos agradecimentos, no período entre 04/2024 e 06/2026, no Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul sob Orientação do Professor Doutor Fabiano Severo Rodembusch. O ChatGPT (OpenAI, GPT-5.4 Thinking) foi utilizado para melhorar a fluidez do texto e realizar correções gramaticais, sem afetar o conteúdo científico, a análise crítica ou as conclusões desta investigação. A dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de Mestre em Química pela seguinte banca examinadora:

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a minha mãe e meu pai pelo todo apoio que me proporcionou durante todo o tempo de mestrado.

Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Dr. Fabiano Severo Rodembusch, pela paciência e dedicação que teve comigo ao longo de todo esse tempo, desde a minha graduação. Eu não poderia ter escolhido um orientador melhor.

Aos professores Dra. Fernanda Poletto, Dr. Felipe Lange Coelho, Dr. Paulo Henrique Schneider, Dr. Rodrigo da Costa Duarte e Dr. Ricardo Ferreira Affeldt, pela disponibilidade em fazer parte da minha banca examinadora.

À UFRGS, ao Instituto de Química (IQ) e ao Programa de Pós-Graduação em Química (PPGQ), pela estrutura e pelo suporte oferecidos durante o mestrado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e ao Programa de Formação de Recursos Humanos da Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (PRH-ANP), pelo apoio financeiro. Processo n° 2025/03643-7 e 2025/18132-8.

Ao grupo de pesquisa do qual faço parte, o Applied Organic Photochemistry Research Group (AOP), na pessoa do meu orientador e dos meus colegas Lilian, Gislaine, Vitória e Laura. Aos meus colegas de laboratório do LAMOCA e ao Programa de Recursos Humanos da ANP (PRH 50.1), que sempre proporcionaram um ambiente de trabalho tranquilo e acolhedor.

Aos meus amigos Tiago, França e Devu, que foram minha companhia durante todo o processo de escrita desta dissertação.

Aos meus irmãos, Lucas e Samuel, com quem sempre pude contar, independentemente da situação. Amo vocês.

E, por fim, à minha mãe e ao meu pai, minha fonte de inspiração para nunca desistir, mesmo nos momentos mais difíceis.

RESUMO

Neste trabalho, foram sintetizadas três hemicianinas fluorescentes derivadas de pireno, visando sua aplicação como sondas ópticas para a detecção e quantificação de etanol em gasolina. Os compostos, obtidos por condensação de Knoevenagel e diferindo apenas no comprimento da cadeia N-alquílica, tiveram as estruturas confirmadas por ressonância magnética nuclear, infravermelho e espectrometria de massas. Os espectros apresentaram as bandas vibrônicas do pireno entre 330 e 364 nm, deslocadas para menores comprimentos de onda com o aumento da polaridade, e uma banda de transferência de carga intramolecular entre 470 e 516 nm, fortemente dependente do meio. Em solventes próticos, essa banda sofre efeito hipocrômico progressivo ao longo de minutos, acompanhada de deslocamento hipsocrômico e de mudança visível de coloração, comportamento ausente em meio aprótico. A detecção de etanol foi avaliada em misturas modelo de hexano/etanol e em gasolina purificada dopada com diferentes teores de etanol. A banda de emissão do excímero do pireno mostrou-se o sinal analítico mais robusto para fins de detecção e quantificação, apresentando diminuição regular de intensidade em função do teor de etanol. Nas condições otimizadas em gasolina, foram obtidas calibrações lineares com coeficientes de determinação superiores a 0,99 para dois dos três compostos, em curvas exploratórias obtidas com réplica única. A banda de transferência de carga, por sua vez, apresentou resposta em intensidade que cresce até cerca de 40% de etanol e decai em teores superiores, o que impede seu uso para quantificação direta. Os resultados demonstram, como prova de conceito, que as hemicianinas derivadas de pireno estudadas apresentam potencial como sondas fluorescentes para o controle da adulteração de gasolina por etanol, condicionado à padronização do tempo de medida.

Palavras-chave: fluorescência; hemicianinas; adulteração de combustíveis; pireno; detecção de etanol.

ABSTRACT

In this work, three fluorescent pyrene-derived hemicyanines were synthesized for application as optical probes for the detection and quantification of ethanol in gasoline. The compounds, obtained by Knoevenagel condensation and differing only in the length of the N-alkyl chain, had their structures confirmed by nuclear magnetic resonance, infrared spectroscopy, and high-resolution mass spectrometry. The spectra displayed the pyrene vibronic bands between 330 and 364 nm, shifted to shorter wavelengths with increasing polarity, and an intramolecular charge-transfer band between 470 and 516 nm, strongly dependent on the medium. In protic solvents, this band undergoes a progressive hypochromic effect over the course of minutes, accompanied by a hypsochromic shift and a visible color change, a behavior absent in aprotic medium. Ethanol detection was evaluated in model hexane/ethanol mixtures and in purified gasoline doped with different ethanol contents. The pyrene excimer emission band proved to be the most robust analytical signal for detection and quantification purposes, showing a regular decrease in intensity as a function of ethanol content. Under the optimized conditions in gasoline, linear calibrations with coefficients of determination higher than 0.99 were obtained for two of the three compounds, in exploratory curves acquired with a single replicate. The charge-transfer band, in turn, showed an intensity response that increases up to approximately 40% ethanol and decreases at higher contents, which precludes its use for direct quantification. These results demonstrate, as a proof of concept, that the investigated pyrene-derived hemicyanines have potential as fluorescent probes for monitoring gasoline adulteration with ethanol, subject to standardization of the measurement time.

Keywords: fluorescence; hemicyanines; fuel adulteration; pyrene; ethanol detection.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação esquemática da transição eletrônica em uma molécula orgânica. A absorção de um fóton (hv) promove um elétron do orbital HOMO (Estado Fundamental) para o orbital LUMO (Estado Excitado)..... 28
Figura 2. Diagrama que correlaciona os níveis de energia dos orbitais moleculares (σ, π, n, π*, σ*) com as transições eletrônicas. As transições vermelhas (n→π* e π→π*) são as que ocorrem na região UV-Vis de maior comprimento de onda..... 29
Figura 3. Diagrama de Jablonski para uma molécula orgânica, ilustrando a competição entre as vias radiativas (setas retas) e os processos de dissipação não radiativa (setas onduladas). 31
Figura 4. Representação esquemática do deslocamento de Stokes ($\Delta\lambda_{ST}$). a) Separação adequada entre as bandas de absorção (azul) e emissão (vermelho). b) Sobreposição espectral (região hachurada em roxo) ilustrando o efeito de filtro interno. 32
Figura 5. Diagramas de energia simplificados para os mecanismos a) ICT e b) TICT em moléculas doador-aceptor (D-A). As cores das setas seguem a convenção do diagrama de Jablonski anteriormente apresentado. 36
Figura 6. Diagrama de energia do mecanismo ESIPT. As estruturas na parte superior representam as formas enol (esquerda) e ceto (direita). As cores das setas seguem a convenção do diagrama de Jablonski anteriormente apresentado. 38
Figura 7. Diagrama de energia do solvatocromismo negativo. Solventes polares estabilizam preferencialmente S_0 em relação a S_1, aumentando a diferença de energia e produzindo deslocamento hipsocrômico na absorção..... 40
Figura 8. Representação esquemática do mecanismo AIEE. A agregação restringe movimentos intramoleculares livres, convertendo moléculas não emissivas em emissores eficientes de fluorescência. 42
Figura 9. (a) Estrutura química das sondas. Energias de transição molar (E_T) da banda solvatocrômica em misturas gasolina-etanol para (b) betaína 1 (■) e betaína 2 (●) e (c) nitroestilbeno 3 (●) e nitroestilbeno 4 (■). Adaptado da ref. 27. 46

Figura 10. Variações de cor da solução de betaína 2 em misturas binárias de (a) gasolina/etanol e (b) etanol/água, onde E e W referem-se ao percentual volumétrico de etanol e água nas misturas, respectivamente. Adaptado da ref. 40. 48
Figura 11. Variação da energia de transição E_T do corante de Reichardt $E_T(30)$ (betaína 1) em função da concentração de etanol em misturas gasolina-etanol, ajustada por um polinômio de segunda ordem. O ponto referente a 0% de etanol foi excluído do modelo de calibração devido à variabilidade dependente do lote em amostras de gasolina pura. Adaptado da ref. 26. 49
Figura 12. (a) Estrutura química da sonda. (b) Máximos de emissão da trifenilamina 2 em misturas gasolina E5/etanol e gasolina E5/querosene, com gráfico linear para baixas concentrações de etanol (detalhe). (c) Fotografias das soluções de trifenilamina 2 em querosene, gasolina E5 e etanol sob iluminação UV, com os respectivos valores de matiz indicados (c = 4 μM, λ_{exc} = 340 nm). Adaptado da ref. 18. 50
Figura 13. (a) Fotografia e ilustração esquemática do suporte para smartphone, evidenciando seus componentes integrados: (1) fonte de LED 380 nm, (2) filtro de excitação, (3) difusor, (4) slot e suporte para a tira de teste, (5) filtro de emissão e (6) localização da câmera CMOS do smartphone. (b,c) Valores de matiz obtidos a partir das tiras de teste M3 após imersão em misturas gasolina E5/querosene e gasolina E5/etanol, respectivamente. As faixas de trabalho correspondentes para a quantificação de querosene e etanol em gasolina E5 foram de 19-40% e 4-50%, respectivamente. Adaptado da ref. 18. 51
Figura 14. (a) Estrutura molecular das sondas investigadas. Espectros de fluorescência do (b) flavonoide 1 e (c) flavonoide 2 em diferentes solventes, mostrando a dependência do comprimento de onda de emissão com os parâmetros de polaridade. Adaptado da ref. 23. 53
Figura 15. (a) Estrutura química das sondas estudadas. (b) Titulação de emissão de fluorescência do BTD 3a e (c) BTD 3b em gasolina comercial pré-tratada com adição de etanol de 1-50% (v/v). (d) Correlação linear entre a intensidade de fluorescência e o teor de etanol para o BTD 3a na faixa completa. Ampliações das regiões A (1-5% v/v de etanol) e B (6-50% v/v de etanol) são apresentadas para comparação (abaixo). Adaptado da ref. 28. 55

Figura 16. (a) Espectros de absorção da RhB em misturas etanol-gasolina de E0 a E20 e (b) fotografia da RhB nessas misturas. A estrutura química da RhB é apresentada para referência. Adaptado da ref. 34. 57
Figura 17. (a) Espectros de emissão de fluorescência em estado estacionário da piridina 3f em etanol anidro e em gasolina comercial de referência [10^{-5} M], e perfis de titulação de fluorescência em (b) gasolina comum e (c) gasolina premium após adições sucessivas de etanol anidro. (d) Dependência linear da intensidade de fluorescência com o teor de etanol (%) na gasolina comum (R^2 = 0,984) e na gasolina premium (R^2 = 0,985). Adaptado da ref. 36. 59
Figura 18. Espectros de emissão de fluorescência normalizados da C-153 em (a) biodiesel de canola, (b) biodiesel de gergelim e (c) biodiesel de milho com teores crescentes de etanol, e fotografias correspondentes obtidas sob iluminação UV a 365 nm, ilustrando a transição de emissão multicolorida de ciano para amarelo com o aumento da proporção de etanol (0-100% v/v). A estrutura química da C-153 é apresentada para referência. Adaptado da ref. 41. 61
Figura 19. (a) Estrutura química da sonda HOF. (b) Espectros de fluorescência de HOF ($1,0\times10^{-5}$ mol·L^{-1}) registrados em misturas biodiesel/metanol contendo frações volumétricas crescentes de metanol (fv, 0-100%). (c) Razão de intensidade de fluorescência (I_{510}/I_{560}) de HOF em função da fração volumétrica de metanol. Inserção: fotografias de HOF em misturas biodiesel/metanol com diferentes proporções de metanol (0-100%) sob iluminação com lâmpada UV portátil (~365 nm). Os dados são expressos como média ± DP (n = 3). Adaptado da ref. 24. 65
Figura 20. (a) Estruturas químicas das sondas baseadas em flavonoides HOF, SHOF e NSHOF, e seus respectivos momentos de dipolo de transição. (b) Espectros de fluorescência normalizados e (c) variações correspondentes nos valores RGB do NSHOF em biodiesel com titulação de metanol, ilustrando a resposta espectral aprimorada e a melhor discriminação de cores. Adaptado da ref. 17. 67
Figura 21. (a) Comparação dos máximos de emissão de fluorescência da pireno-terpiridina 1 (10 μM) em diferentes álcoois. (b) Estrutura química da pireno-terpiridina 1 na conformação trans-trans e diagrama esquemático da ligação de

hidrogênio no estado excitado entre os nitrogênios da terpiridina e o metanol, levando à planarização conformacional. Adaptado da ref. 42. 69
Figura 22. (a) Espectros de fluorescência da pireno-terpiridina 1 (10 μM, λ_{ex} 340 nm) em mistura benzeno-metanol (0-50%) com diferentes frações volumétricas de metanol e (b) tiras de papel revestidas com a sonda 1 utilizadas para detecção fluorimétrica de metanol (sob lâmpada UV >365 nm). Adaptado da ref. 42. 70
Figura 23. (a) Estrutura química do imidazol-fenantridina 7 e sua ligação de hidrogênio intermolecular com o metanol no grupo funcional aldeído. Espectros de fluorescência em (b) tolueno e (d) acetato de etila com adição crescente de metanol (0-100%), e relações lineares entre a razão I_{333}/I_{462} e o teor de metanol em (c) tolueno (R^2 =0,99459) e (e) acetato de etila (R^2 = 0,99575). Reproduzido da ref. 19. 72
Figura 24. (a) Estrutura química da TPEP4 e mecanismo de detecção de metanol baseado em AIE, ilustrando a ligação de hidrogênio intramolecular entre o N-H da amida e o nitrogênio da piridina. (b) Espectros de emissão em biodiesel B100 (10 μM) com adição crescente de metanol sob iluminação UV a 365 nm. (c) Relação linear entre a intensidade de emissão e a concentração de metanol (R^2 = 0,9994). Adaptado da ref. 31. 74
Figura 25. (a) Estrutura química da TPA-TP e interações de ligação de hidrogênio com solventes alcoólicos. (b) Espectros de fluorescência da TPA-TP em metanol, etanol, 2-propanol, butanol e propilenoglicol. Adaptado da ref. 43. 75
Figura 26. (a) Espectros de fluorescência do ANS em etanol com adição crescente de água (0-50% v/v). (b) Valores preditos pelo modelo PLS em comparação aos valores reais de teor de água. A estrutura química do ANS é apresentada para referência. Adaptado da ref. 38. 79
Figura 27. (a) Estrutura molecular da sonda 4-DNS-OH. (b) Intensidade de emissão de fluorescência da 4-DNS-OH em 480 nm (triângulo) e 543 nm (círculo) em função da viscosidade cinemática da mistura diesel/querosene. (c) Emissão de fluorescência de tiras de papel impregnadas com 4-DNS-OH para a faixa completa de composições da mistura diesel/querosene, com detalhe da curva de calibração linear da intensidade de emissão integrada em função da fração de diesel (R^2 = 0,997). Adaptado da ref. 20. 81
Figura 28. Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) do composto **7b**. ... 92

Figura 29. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) do composto **7b**... 93
Figura 30. Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6) do composto **7c**.... 94
Figura 31. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) do composto **7c**... 95
Figura 32. Espectro de absorção na região do infravermelho (FTIR-ATR) do composto **7a**..... 96
Figura 33. Espectros de absorção eletrônica no UV-Vis dos compostos (a) **7a**, (b) **7b** e (c) **7c** em MeOH (azul), EtOH (vermelho) e DMSO (verde), em concentração de $1,0\times10^{-4}$ mol·L^{-1}, e Tol (laranja) e Hex (roxo), em concentração de $1,0\times10^{-5}$ mol·L^{-1}. Cada painel corresponde a um composto nos cinco solventes. 99
Figura 34. Espectros de absorção eletrônica no UV-Vis dos compostos **7a** (azul), **7b** (vermelho) e **7c** (verde) em: (a) MeOH, (b) EtOH, (c) DMSO e (d) Tol. As concentrações utilizadas foram $1,0\times10^{-4}$ mol·L^{-1} para MeOH, EtOH e DMSO, e $1,0\times10^{-5}$ mol·L^{-1} para Tol. Cada painel corresponde a um solvente com os três compostos. 101
Figura 35. Espectros de absorção eletrônica no UV-Vis do composto **7a** em (a) MeOH, (b) EtOH e (c) DMSO nas concentrações de $1,0\times10^{-4}$ mol·L^{-1} (azul), $1,0\times10^{-5}$ mol·L^{-1} (vermelho) e $1,0\times10^{-6}$ mol·L^{-1} (verde). A inserção em cada painel apresenta a ampliação do perfil espectral na concentração de $1,0\times10^{-6}$ mol·L^{-1}. 102
Figura 36. Espectros de absorção eletrônica no UV-Vis em função do tempo para os compostos (a) **7a**, (b) **7b** e (c) **7c** em MeOH, EtOH e DMSO ($1,0\times10^{-4}$ mol·L^{-1}) e Tol ($1,0\times10^{-5}$ mol·L^{-1}). Espectros registrados com intervalos de 2 min após o preparo das soluções. As fotografias inseridas em cada painel ilustram a alteração visual de coloração das soluções. 104
Figura 37. Evolução temporal da absorbância máxima da banda de ICT dos compostos (a) **7a**, (b) **7b** e (c) **7c** em MeOH, EtOH e DMSO ($1,0\times10^{-4}$ mol·L^{-1}) e Tol ($1,0\times10^{-5}$ mol·L^{-1}), registrada a intervalos de 2 min após o preparo das soluções. O gráfico inserido em cada painel apresenta evolução temporal da absorbância máxima registrada em Tol em escala expandida. 106
Figura 38. Evolução temporal do comprimento de onda máximo (λ_{abs}) da banda de ICT dos compostos (a) **7a**, (b) **7b** e (c) **7c** em MeOH, EtOH e DMSO (1,0 ×

10^{-4} mol·L^{-1}) e Tol (1,0 × 10^{-5} mol·L^{-1}), registrada a intervalos de 2 min após o preparo das soluções. 108
Figura 39. Espectros de emissão de fluorescência do composto **7a** em (a) MeOH, (b) EtOH, (c) DMSO, (d) Tol e (e) Hex, registrados com varredura de comprimento de onda de excitação de 300 a 580 nm em intervalos de 20 nm. As concentrações utilizadas foram 1,0×10^{-4} mol·L^{-1} para MeOH, EtOH e DMSO, e 1,0×10^{-5} mol·L^{-1} para Tol e Hex. 111
Figura 40. Espectros de emissão de fluorescência do composto **7a** em (a) MeOH, (b) EtOH, (c) DMSO, (d) Tol e (e) Hex, registrados com varredura de comprimento de onda de excitação de 300 a 580 nm em intervalos de 20 nm, em concentração de 1,0×10^{-6} mol·L^{-1}. 112
Figura 41. Espectros de emissão de fluorescência dos compostos **7a** (azul), **7b** (vermelho) e **7c** (verde) em: (a) MeOH, (b) EtOH, (c) DMSO, (d) Tol e (e) Hex. Os valores entre parênteses indicam o comprimento de onda de excitação (λ_{exc}) utilizado. As concentrações utilizadas foram 1,0×10^{-4} mol·L^{-1} para MeOH, EtOH e DMSO, e 1,0×10^{-5} mol·L^{-1} para Tol e Hex. 113
Figura 42. Espectros de emissão de fluorescência dos compostos **7a** (azul), **7b** (vermelho) e **7c** (verde) em: (a) MeOH, (b) EtOH, (c) DMSO, (d) Tol e (e) Hex. Os valores entre parênteses indicam o comprimento de onda de excitação (λ_{exc}) utilizado. A concentração utilizada foi 1,0×10^{-6} mol·L^{-1} em todos os solventes. 114
Figura 43. Espectros de emissão de fluorescência dos compostos **7a-7c** em MeOH (azul), EtOH (vermelho), Tol (laranja) e Hex (roxo), com λ_{exc} de (a) 500 nm, (b) 520 nm, (c) 540 nm e (d) 560 nm. As concentrações utilizadas foram 1,0×10^{-4} mol·L^{-1} para MeOH e EtOH, e 1,0×10^{-5} mol·L^{-1} para Tol e Hex. 118
Figura 44. Espectros de emissão de fluorescência do composto **7b** (1,0×10^{-5} mol·L^{-1}) em Hex com diferentes teores de etanol (10-100%), registrados com λ_{exc} = 349 nm após (a) 30 min, (b) 2 h e (c) 24 h de preparo da solução, e curvas de calibração correspondentes obtidas a partir da intensidade máxima da banda de excímero em função do teor de etanol, com as equações de regressão linear e os respectivos coeficientes de determinação (R^2). 121
Figura 45. Espectros de emissão de fluorescência do composto **7b** (1,0×10^{-5} mol·L^{-1}) em Hex com diferentes teores de etanol (10–100%), registrados com λ_{exc}

= 540 nm após (a) 30 min, (b) 2 h e (c) 24 h de preparo da solução, e intensidade máxima da banda de ICT em função do teor de etanol nos respectivos tempos. 123
Figura 46. Comprimento de onda do máximo de emissão da banda de ICT do composto **7b** ($1,0\times10^{-5}$ mol·L^{-1}) em Hex com diferentes teores de etanol (10-100%), registrado com λ_{exc} = 540 nm após (a) 30 min, (b) 2 h e (c) 24 h de preparo da solução. 124
Figura 47. Espectros de emissão de fluorescência do composto **7a** ($5,0\times10^{-5}$ mol·L^{-1}) em gasolina com diferentes teores de etanol (10-100%), registrados com λ_{exc} = 349 nm após (a) 30 min e (b) 2 h de preparo da solução, e (c) curva de calibração correspondente a 2h obtida a partir da intensidade máxima da banda de excímero em função do teor de etanol, com a equação de regressão linear e o respectivo coeficiente de determinação (R^2). 127
Figura 48. Espectros de emissão de fluorescência do composto **7b** ($5,0\times10^{-5}$ mol·L^{-1}) em gasolina com diferentes teores de etanol (10–100%), registrados com λ_{exc} = 349 nm após (a) 30 min e (b) 2 h de preparo da solução, e curvas de calibração correspondentes obtidas a partir da intensidade máxima da banda de excímero em função do teor de etanol, com as equações de regressão linear e os respectivos coeficientes de determinação (R^2). 128
Figura 49. Espectros de emissão de fluorescência do composto **7b** ($5,0\times10^{-5}$ mol·L^{-1}) em gasolina com diferentes teores de etanol (10-100%), registrados com λ_{exc} = 540 nm após (a) 30 min e (b) 2 h de preparo da solução, e intensidade máxima da banda de ICT em função do teor de etanol nos respectivos tempos. 129
Figura 50. Comprimento de onda do máximo de emissão da banda de ICT do composto **7b** ($5,0\times10^{-5}$ mol·L^{-1}) em gasolina com diferentes teores de etanol (10-100%), registrado com λ_{exc} = 540 nm após (a) 30 min e (b) 2 h de preparo da solução. 130
Figura 51. Espectros de emissão de fluorescência do composto **7a** ($1,0\times10^{-5}$ mol·L^{-1}) em gasolina com diferentes teores de etanol (10-100%), registrados com λexc = 349 nm após (a) 30 min, (b) 2 h e (c) 24 h de preparo da solução, e curvas de calibração correspondentes obtidas a partir da intensidade máxima da banda

de excímero em função do teor de etanol, com as equações de regressão linear e os respectivos coeficientes de determinação (R^2)..... 131
Figura 52. Espectros de emissão de fluorescência do composto **7a** ($1,0\times10^{-5}$ mol·L^{-1}) em gasolina com diferentes teores de etanol (10-100%), registrados com λ_{exc} = 540 nm após (a) 30 min, (b) 2 h e (c) 24 h de preparo da solução, e intensidade máxima da banda de ICT em função do teor de etanol nos respectivos tempos. 133
Figura 53. Comprimento de onda do máximo de emissão da banda de ICT do composto **7a** ($1,0\times10^{-5}$ mol·L^{-1}) em gasolina com diferentes teores de etanol (10-100%), registrado com λ_{exc} = 540 nm após (a) 30 min, (b) 2 h e (c) 24 h de preparo da solução. 133

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Síntese da 2,3,3-trimetilindolenina (**3**) pela reação de Fischer a partir de fenilhidrazina (**1**) e 3-metilbutan-2-ona (**2**). 84
Esquema 2. Mecanismo da reação de Fischer, especificada para o produto 2,3,3-trimetilindolenina. 85
Esquema 3. Quaternização da 2,3,3-trimetilindolenina (**3**) pela reação de substituição nucleofílica com iodetos de alquila (**4a-4c**) para obtenção dos sais quaternizados (**5a-5c**). 86
Esquema 4. Condensação de Knoevenagel dos sais quaternizados (**5a-5c**) com o 1-pirenocarboxaldeído (**6**) em MeOH/THF com piperidina como catalisador para obtenção das hemicianinas (**7a-7c**). 87
Esquema 5. Mecanismo da condensação de Knoevenagel, especificada para os produtos **7a-7c**. 88
Esquema 6. Mecanismo de adição nucleofílica ao carbono C2 do imínio dos compostos **7a-7c**, apresentado como hipótese, com consequente ruptura da conjugação D-π-A, conforme proposto na literatura.[55] 110

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Sondas fotofísicas para a detecção de etanol em gasolina e biodiesel. 44

Tabela 2. Sondas fotofísicas para a detecção de metanol em biodiesel. 63

Tabela 3. Sondas fotofísicas para a detecção de outros adulterantes em combustíveis. 77

Tabela 4. Comprimentos de onda de máximo de absorção (λ_{abs}) das bandas de pirenila e de ICT dos compostos **7a-7c** nos solventes estudados. n.d. = não detectado..... 100

Tabela 5. Comprimentos de onda de máximo de emissão (λ_{em}) das bandas de pirenila (esquerda) e de ICT (direita) dos compostos **7a–7c** nos solventes estudados. n.d. = não detectado. 116

SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

ACQ	*Aggregation-Caused Quenching* (em português: Supressão Causada por Agregação)
AIE	*Aggregation-Induced Emission* (em português: Emissão Induzida por Agregação)
AIEE	*Aggregation-Induced Enhanced Emission* (em português: Emissão Aprimorada Induzida por Agregação)
ANP	Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis
BTD	Benzotiadiazol
CCD	Cromatografia em camada delgada
CECOM	Centro de Combustíveis, Biocombustíveis, Lubrificantes e Óleos
cm^{-1}	Unidade de número de onda
CMOS	*Complementary Metal-Oxide-Semiconductor* (em português: Semicondutor Metal-Óxido Complementar)
d	Dupleto
D-A	Doador-aceptor
D-π-A	Sistema doador-π-aceptor (arquitetura push-pull)
DFT	*Density Functional Theory* (em português: Teoria do Funcional da Densidade)
DG	Diglicerídeo
DMSO	Dimetilsulfóxido
DP	Desvio padrão
E1cB	Eliminação unimolecular via base conjugada
EEMF	*Excitation-Emission Matrix Fluorescence* (em português: Fluorescência de Matriz de Excitação-Emissão)
ESIPT	*Excited State Intramolecular Proton Transfer* (em português: Transferência Protônica Intramolecular no Estado Excitado)
ET	Energia de transição molar
FTIR-ATR	Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier com refletância total atenuada

Hex	Hexano
HMDS	Hexametildissilazana
HOMO	*Highest Occupied Molecular Orbital* (em português: Orbital Molecular Ocupado de Maior Energia)
HRMS-ESI$^+$	Espectrometria de massas de alta resolução com ionização por electrospray
ICT	*Intramolecular Charge Transfer* (em português: Transferência de Carga Intramolecular)
J	Constante de acoplamento
LE	Estado localmente excitado (em inglês: *Locally Excited*)
LED	*Light Emitting Diode* (em português: Diodo Emissor de Luz)
LOD	*Limit of Detection* (em português: Limite de Detecção)
LOQ	*Limit of Quantification* (em português: Limite de Quantificação)
LUMO	*Lowest Unoccupied Molecular Orbital* (em português: Orbital Molecular Desocupado de Menor Energia)
m	Multipleto
m/m	Fração mássica
m/z	Razão massa-carga
MG	Monoglicerídeo
n.d.	Não detectado
P.f.	Ponto de fusão
pH	Potencial hidrogeniônico
PLS	*Partial Least Squares* (em português: Mínimos Quadrados Parciais)
R^2	Coeficiente de determinação
RGB	Red-Green-Blue
RIM	Restrição do Movimento Intramolecular (em inglês: *Restriction of Intramolecular Motion*)
RMN	Ressonância Magnética Nuclear (em inglês: *Nuclear Magnetic Resonance*)
RMSEP	*Root Mean Square Error of Prediction* (em português: Raiz do Erro Quadrático Médio de Predição)

s	Simpleto
S/R	Relação sinal-ruído
S_0	Estado eletrônico singleto fundamental
S_N2	Substituição nucleofílica bimolecular
S_n	Estados eletrônicos singleto excitados (S1, S2, ...)
t	Tripleto
T_1	Estado eletrônico tripleto excitado
THF	Tetrahidrofurano
TICT	*Twisted Intramolecular Charge Transfer* (em português: Transferência de Carga Intramolecular Torcida)
TMS	Tetrametilsilano
Tol	Tolueno
TPE	Tetrafeniletileno
UHPLC-QTOF/MS	Cromatografia líquida de ultra-alta eficiência acoplada à espectrometria de massas com analisador quadrupolo-tempo de voo
UV-Vis	*Ultraviolet-Visible* (em português: Ultravioleta-Visível)
v/v	Fração volumétrica
α	Parâmetro de acidez de Kamlet-Taft
δ	Deslocamento químico
ε	Coeficiente de absortividade molar
λ_{abs}	Comprimento de onda de máxima absorção
λ_{em}	Comprimento de onda de máxima emissão
λ_{exc}	Comprimento de onda de excitação
π*	Parâmetro de dipolaridade de Kamlet-Taft
$\Delta\lambda_{ST}$	Deslocamento de Stokes
$[M]^+$	Cátion molecular

SUMÁRIO

1. Introdução 24

2. Objetivos 26

2.1 Geral 26

2.2 Específicos 26

3. Revisão Bibliográfica 27

3.1 Fundamentos fotofísicos 27

3.1.1 Solvatocromismo nos espectros de absorção 27

3.1.2 Emissão de fluorescência 30

3.2 Classes mecanísticas de sensores ópticos para combustíveis 33

3.2.1 Transferência de Carga Intramolecular (ICT) 33

3.2.2 Transferência Protônica Intramolecular no Estado Excitado (ESIPT) 36

3.2.3 Detecção Solvatocrômica sem ICT 39

3.2.4 Mecanismos Alternativos: AIEE, Isomerização Reversível e Supressão de Fluorescência 41

3.3 Desempenho analítico por adulterante 43

3.3.1 Etanol em gasolina e biodiesel 43

3.3.2 Metanol em biodiesel 62

3.3.3 Outros adulterantes 76

4. Resultados e Discussão 83

4.1 Síntese do indol 83

4.2 Síntese dos indóis quaternizados 85

4.3 Síntese das hemicianinas 86

4.4 Caracterização espectroscópica 89

4.4.1 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear 89

4.4.2 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho..... 95
4.4.3 Espectrometria de massas de alta resolução..... 97
4.5 Caracterização fotofísica 97
4.5.1 Espectroscopia de absorção na região do UV-Vis 97
4.5.2 Espectroscopia de emissão de fluorescência 110
4.6 Detecção de etanol.....119
4.6.1 *Detecção de etanol em hexano/etanol*.....119
4.6.2 *Detecção de etanol em gasolina/etanol* 125
5. Conclusão 135
6. Experimental 136
6.1 Materiais e equipamentos..... 136
6.1.1 Solventes e reagentes..... 136
6.1.2 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear 136
6.1.3 Determinação de ponto de fusão 136
6.1.4 Espectrometria de massas de alta resolução..... 136
6.1.5 Estudos fotofísicos 137
6.1.6 Purificação da gasolina 137
6.2 Síntese e caracterização dos compostos 137
6.2.1 Síntese do indol..... 137
6.2.2 Síntese dos indois quaternizados..... 138
6.2.3 Síntese das hemicianinas 139
Apêndice A – Espectros de RMN, IV e de massas..... 1
Apêndice B – Espectros de Absorção UV-Vis 9
Apêndice C – Espectros de Emissão de Fluorescência 13
Apêndice D – Espectros de Emissão de Fluorescência para Detecção de Etanol 17
Apêndice E – Sobreposição dos Espectros de Absorção, Emissão e Excitação 28

1. Introdução

A adulteração de combustíveis é um problema generalizado com sérios impactos na economia, no meio ambiente e na saúde pública. A prática consiste na diluição do combustível com substitutos mais baratos, como solventes industriais, querosene, água em excesso e álcool. Os problemas decorrentes dessa prática incluem a perda de receita tributária, os danos a motores de veículos que operam com combustível adulterado e emissões mais elevadas de poluentes nocivos.[1] Em países em desenvolvimento, as diferenças de preço entre combustíveis criam incentivo à fraude, que pode ultrapassar 7% das amostras comerciais.[1] Nesse cenário, o Brasil, um dos maiores produtores mundiais de biocombustíveis e onde o etanol hidratado é o segundo combustível de transporte mais consumido, enfrenta desafios particulares. Seus limites regulatórios permitem até 7,5% m/m de água no etanol utilizado como combustível.[2] Além disso, em alguns casos a gasolina contém teores de etanol superior ao permitido por lei.[3,4] Padrão semelhante ocorre em outros países, sendo que na Índia os subsídios ao querosene doméstico sustentam a adulteração da gasolina com esse solvente.[5] Além da fraude deliberada, a própria complexidade das misturas acrescenta dificuldade ao controle de qualidade, como na gasolina brasileira Tipo C, que exige teor obrigatório de 30% de etanol anidro.[6] Situação análoga ocorre no biodiesel, em que a transesterificação resulta em metanol residual que deve ser mantido abaixo de 0,2% m/m conforme estabelecido pela norma europeia EN-14214 e pela especificação brasileira da ANP.[7,8]

As abordagens analíticas tradicionais para a avaliação da qualidade de combustíveis foram amplamente revisadas,[9] e incluem cromatografia, espectroscopia vibracional e sensores eletroquímicos. Todos alcançam bom desempenho analítico, mas compartilham limitações que restringem o uso em campo. A espectroscopia Raman ilustra esse contraste, uma vez que permite quantificar o etanol na gasolina em menos de 20 segundos, com excelente linearidade.[10] Ainda assim, a técnica exige infraestrutura laboratorial dedicada e alto investimento. De modo semelhante, os sensores eletroquímicos atingem limites de detecção impressionantes de 0,028% para etanol,[4] mas a passivação do eletrodo, a interferência de matriz e os requisitos de calibração complicam seu uso em amostras complexas de combustível. Em conjunto, essas

abordagens demandam mão de obra especializada e tempos de análise incompatíveis com o monitoramento em tempo real nos pontos de distribuição. Muitas medem a qualidade de forma indireta, sem reconhecimento molecular direto do adulterante, o que cria demanda por alternativas mais simples e portáteis para o monitoramento descentralizado.

Sondas moleculares solvatocrômicas e fluorescentes representam uma abordagem alternativa capaz de superar essas limitações. Variações de polaridade, de ligação de hidrogênio e de composição do meio alteram suas propriedades ópticas. Essas respostas decorrem de mecanismos fotofísicos distintos, entre os quais transferência de carga intramolecular (ICT), transferência protônica intramolecular no estado excitado (ESIPT), transferência de carga intramolecular torcida (TICT) e emissão induzida por agregação (AIEE). Em todos eles, a estrutura molecular, sobretudo a arquitetura doador-aceptor e o comprimento de conjugação, determina a sensibilidade e a seletividade. Neste trabalho, hemicianinas derivadas de pireno e indolínio são sintetizadas e avaliadas como sondas ópticas para a detecção de etanol em gasolina. A revisão que segue examina o desempenho de sondas dessa natureza para adulterantes específicos em diferentes matrizes e sua integração em plataformas portáteis. No conjunto, essas sondas oferecem uma alternativa acessível, rápida e de baixo custo para o monitoramento da qualidade de combustíveis, complementando as práticas regulatórias existentes.

2. Objetivos

2.1 Geral

Sintetizar hemicianinas derivadas de pireno e indolínio e avaliá-las como sondas fluorescentes para a detecção de etanol em gasolina.

2.2 Específicos

I. Sintetizar hemicianinas por reação de Knoevenagel entre indol quaternizado e aldeído aromático.

II. Realizar estudo fotofísico em solução, caracterizando o comportamento das sondas em solventes de diferentes polaridades, tais como metanol, etanol, DMSO, tolueno e hexano.

III. Avaliar a resposta das sondas em misturas hexano/etanol, como sistema modelo para a detecção de etanol.

IV. Testar as sondas em gasolina purificada dopada com diferentes teores de etanol.

3. Revisão Bibliográfica

3.1 Fundamentos fotofísicos

Esta seção apresenta os fundamentos fotofísicos que embasam o funcionamento das sondas solvatocrômicas e fluorescentes. A compreensão dos processos que ocorrem nos estados eletrônico fundamental e excitado é essencial para interpretar os fenômenos de absorção e emissão discutidos nas subseções seguintes.

3.1.1 Solvatocromismo nos espectros de absorção

Moléculas orgânicas absorvem radiação UV-Vis por meio de transições eletrônicas entre orbitais moleculares. Os elétrons ocupam esses orbitais, sendo dois deles de particular relevância neste contexto: o HOMO (orbital molecular ocupado de maior energia), que contém os elétrons, e o LUMO (orbital molecular desocupado de menor energia), que se encontra vazio. Ao absorver um fóton, um elétron do HOMO recebe energia suficiente para ser promovido do estado fundamental ao estado excitado (**Figura 1**). A espectroscopia de absorção UV-Vis quantifica essas transições medindo a absorbância em diferentes comprimentos de onda. A concentração da amostra pode ser determinada a partir da absorbância pela lei de Beer-Lambert, que também leva em conta o caminho óptico e o coeficiente de absortividade molar.[11] O coeficiente de absortividade molar (ε) quantifica a capacidade de uma substância de absorver luz em um comprimento de onda específico por unidade de concentração. Esse coeficiente está relacionado à probabilidade de ocorrência de uma transição eletrônica: valores elevados de ε correspondem a bandas intensas associadas a transições permitidas, enquanto valores baixos correspondem a bandas fracas associadas a transições proibidas.[12]

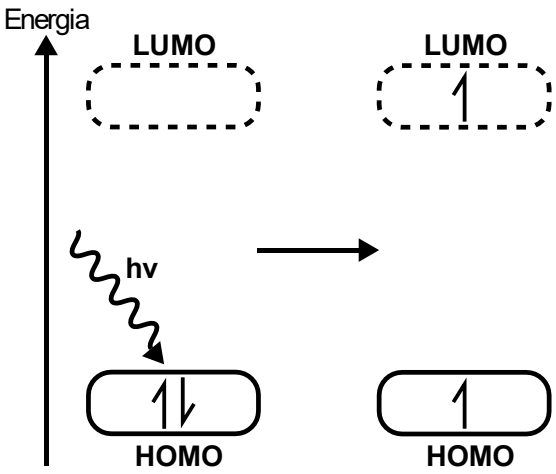


Figura 1. Representação esquemática da transição eletrônica em uma molécula orgânica. A absorção de um fóton (hv) promove um elétron do orbital HOMO (Estado Fundamental) para o orbital LUMO (Estado Excitado).

Na caracterização das transições eletrônicas de compostos no estado fundamental, observa-se tipicamente a banda de absorção de maior comprimento de onda, que corresponde à transição de menor energia do estado fundamental ao primeiro estado eletrônico excitado. Os tipos de transição eletrônica mais comuns nessa região são as transições π-π* e n-π* (**Figura 2**). As transições π-π*, associadas a ligações duplas, são permitidas pela simetria orbital e pelo spin, apresentando elevada absortividade molar e bandas intensas. O orbital n corresponde a pares de elétrons não ligantes presentes em heteroátomos como oxigênio e nitrogênio, situados energeticamente entre os orbitais π e π*. As transições n-π* envolvem esses elétrons não ligantes associados a ligações duplas, são proibidas pela simetria orbital e, consequentemente, apresentam menor absortividade molar, correspondendo a bandas de absorção menos intensas.[13]

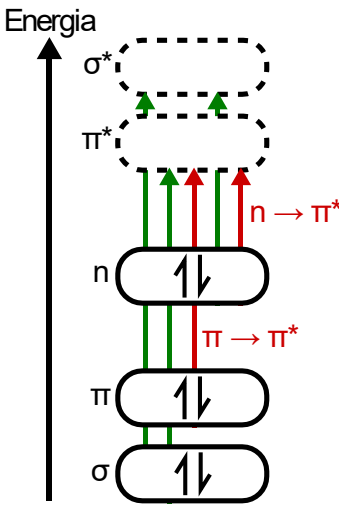


Figura 2. Diagrama que correlaciona os níveis de energia dos orbitais moleculares (σ, π, n, π*, σ*) com as transições eletrônicas. As transições vermelhas (n→π* e π→π*) são as que ocorrem na região UV-Vis de maior comprimento de onda.

Os espectros de absorção oferecem mais do que a simples atribuição das transições eletrônicas, permitindo também a obtenção de informações sobre as interações soluto-solvente no estado fundamental. Os níveis de energia eletrônica de moléculas dissolvidas são influenciados pelo solvente circundante. Quando o estado excitado é preferencialmente estabilizado em relação ao estado fundamental, a diferença de energia entre eles diminui, resultando em um deslocamento para comprimentos de onda maiores, denominado deslocamento batocrômico (ou desvio para o vermelho). O efeito contrário ocorre quando o estado fundamental é preferencialmente estabilizado, situação em que a diferença de energia aumenta e a banda de absorção se desloca para comprimentos de onda menores, o que é conhecido como deslocamento hipsocrômico (ou desvio para o azul).[11,12] Essas mudanças espectrais de absorção induzidas pelo solvente são coletivamente denominadas solvatocromismo de absorção. Adota-se aqui a convenção de que o solvatocromismo é positivo quando o aumento da polaridade do solvente desloca a banda para maiores comprimentos de onda, isto é, deslocamento batocrômico, e negativo quando o aumento da polaridade produz deslocamento hipsocrômico.

Essas propriedades solvatocrômicas de absorção constituem a base para a detecção de adulteração de combustíveis, uma vez que combustíveis e seus

adulterantes apresentam polaridades distintas: a gasolina é predominantemente apolar, o etanol é polar e a água é altamente polar. A adição de adulterantes ao combustível altera a polaridade da mistura, produzindo deslocamentos espectrais mensuráveis na absorção das sondas solvatocrômicas, o que possibilita a detecção e quantificação da adulteração.

3.1.2 Emissão de fluorescência

A fluorescência ocorre quando moléculas absorvem fótons e seus elétrons são promovidos a estados de maior energia, retornando ao estado fundamental com emissão de luz. Os fótons emitidos possuem energia inferior à dos fótons absorvidos, aparecendo em comprimentos de onda maiores após um intervalo de tempo característico que varia de nanossegundos a microssegundos (10^{-9} a 10^{-6} s). A rigidez molecular é essencial para uma fluorescência eficiente. Anéis aromáticos e sistemas conjugados extensos fornecem as restrições estruturais necessárias para suprimir as vias de decaimento não radiativo que, de outra forma, dissipariam a energia do estado excitado na forma de calor.[13] Quando uma molécula absorve um fóton, ela transita do estado eletrônico fundamental S_0 para um estado eletrônico excitado S_n de mesma multiplicidade de spin. Nesse processo, a molécula ocupa um nível vibracional de maior energia, onde a relaxação vibracional ocorre rapidamente até o nível vibracional mais baixo. A relaxação vibracional é mais rápida do que a emissão de fluorescência, favorecendo, portanto, a sua ocorrência. Parte da energia do fóton absorvido é assim dissipada vibracionalmente antes da emissão.[13]

Esses processos são sistematicamente representados no diagrama de Jablonski (**Figura 3**), no qual o eixo vertical indica os níveis de energia eletrônica e o eixo horizontal não possui significado físico definido. Os estados singleto fundamental e excitados (S_0, S_1, S_2), bem como o estado tripleto (T_1), são apresentados com seus respectivos níveis vibracionais. Os processos radiativos, como a fluorescência (emissão de S_1) e a fosforescência (emissão de T_1, de menor relevância para as sondas abordadas neste trabalho), envolvem troca de fótons e se manifestam como transições verticais entre estados eletrônicos distintos, em decorrência do princípio de Franck-Condon: as posições nucleares permanecem fixas na escala de tempo ultrarápida do rearranjo eletrônico, preservando comprimentos e ângulos de ligação. A relaxação vibracional

também ocorre como transição vertical, porém dentro do mesmo estado eletrônico e sem emissão de fóton, dissipando energia na forma de calor. Por outro lado, a conversão interna e a interconversão entre sistemas promovem transferências entre estados eletrônicos de mesma ou diferente multiplicidade de spin, respectivamente, representadas como vias horizontais no diagrama.[14]

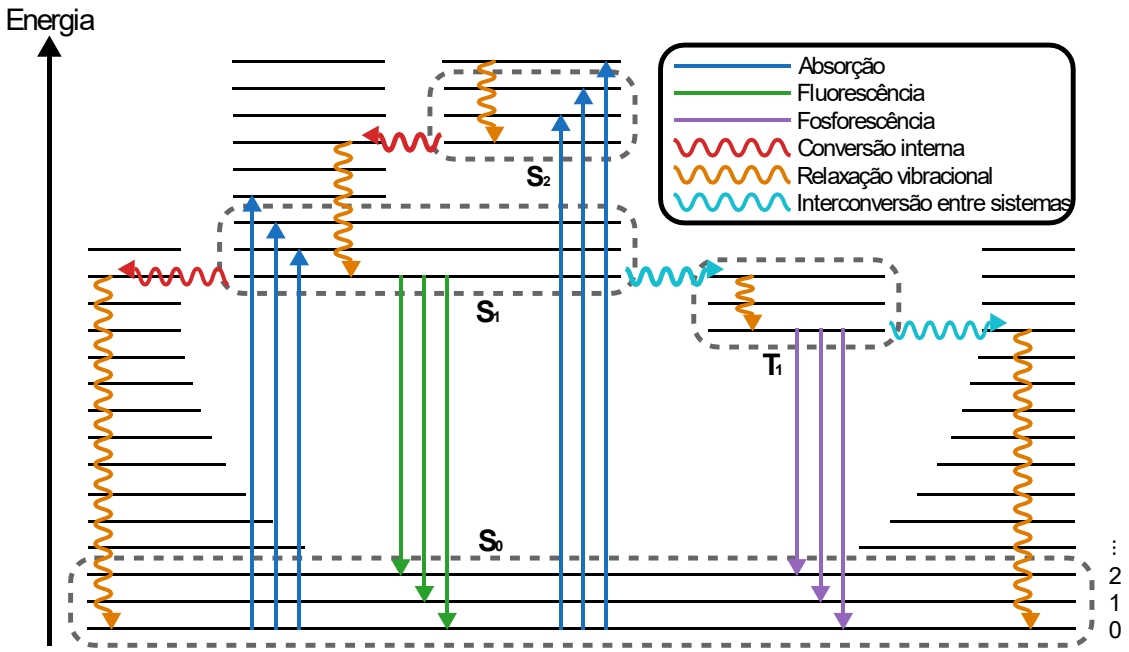


Figura 3. Diagrama de Jablonski para uma molécula orgânica, ilustrando a competição entre as vias radiativas (setas retas) e os processos de dissipação não radiativa (setas onduladas).

A localização dos comprimentos de onda de emissão de fluorescência pode demonstrar dependência do solvente por meio de um processo denominado solvatofluorocromismo ou solvatocromismo de emissão. Este fenômeno difere fundamentalmente do solvatocromismo de absorção no que diz respeito ao estado que é solvatado. Os deslocamentos de absorção refletem como os solventes interagem com o estado fundamental, enquanto os deslocamentos de emissão resultam das interações do solvente com o estado excitado. A sequência temporal explica essa diferença. Após a fotoexcitação e a subsequente relaxação vibracional, as moléculas de solvente se reorganizam ao redor do fluoróforo excitado antes que a emissão ocorra.[13]

Estados excitados que apresentam separação de cargas significativa são preferencialmente estabilizados em solventes polares. Essa estabilização

diminui a diferença de energia entre os estados excitado e fundamental, manifestando-se como deslocamentos batocrômicos nos quais a emissão se desloca para comprimentos de onda maiores. Solventes apolares produzem o efeito oposto. Esses meios estabilizam configurações do estado excitado com menor separação de cargas, mantendo diferenças de energia maiores que resultam em deslocamentos hipsocrômicos em direção a comprimentos de onda menores.[13]

A sensibilidade das propriedades do estado excitado à polaridade do solvente estabelece um mecanismo de detecção baseado no monitoramento das mudanças no comprimento de onda de fluorescência, constituindo uma alternativa ou complemento às abordagens de detecção baseadas em absorção.

O deslocamento de Stokes ($\Delta\lambda_{ST}$) mede o deslocamento espectral entre os máximos de absorção e de emissão (**Figura 4**). Esse parâmetro torna-se crítico para aplicações analíticas quando há separação substancial entre esses máximos. A sobreposição das bandas de absorção e emissão possibilita a reabsorção dos fótons emitidos por moléculas vizinhas, fenômeno conhecido como efeito de filtro interno. Esse artefato distorce as intensidades medidas e compromete a relação linear entre a concentração do analito e a resposta do sinal, necessária para medições quantitativas.[15] A separação espectral adequada entre os comprimentos de onda de excitação e de detecção elimina contribuições do espalhamento de Rayleigh e Raman, que, de outra forma, elevam o ruído de linha de base e comprometem os limites de detecção.[16]

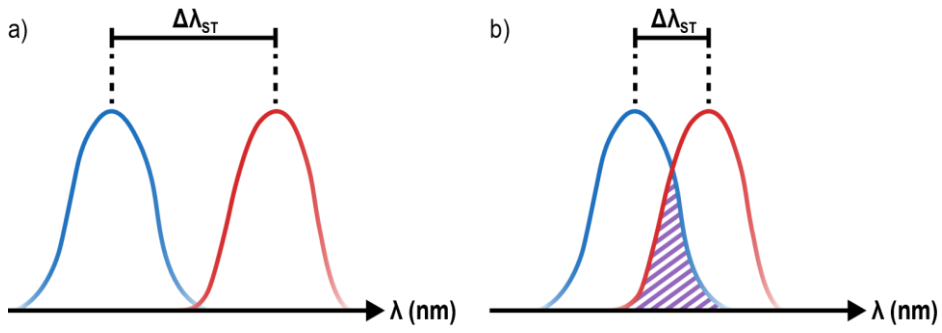


Figura 4. Representação esquemática do deslocamento de Stokes ($\Delta\lambda_{ST}$). a) Separação adequada entre as bandas de absorção (azul) e emissão (vermelho). b) Sobreposição espectral (região hachurada em roxo) ilustrando o efeito de filtro interno.

Essas propriedades de fluorescência tornam-se particularmente vantajosas para aplicações de monitoramento de combustíveis, nos quais matrizes complexas de hidrocarbonetos geram fluorescência de fundo significativa e espalhamento de luz. Sondas com grandes deslocamentos de Stokes permitem a detecção seletiva de adulterantes em relação a esse fundo interferente, enquanto as mudanças tanto na intensidade quanto no comprimento de onda da fluorescência fornecem informações quantitativas sobre a concentração do adulterante por meio do solvatocromismo de emissão.

3.2 Classes mecanísticas de sensores ópticos para combustíveis

Para detectar adulterantes de forma eficaz, as sondas moleculares devem converter as mudanças químicas no combustível em sinais ópticos claros. Essa resposta é impulsionada pela interação entre o centro fotoativo da sonda, seja um cromóforo ou um fluoróforo, e o solvente circundante. Embora as leis básicas de absorção e fluorescência se apliquem de forma geral, a via física específica que gera o sinal depende da estrutura da molécula. É esse mecanismo que define as capacidades práticas do sensor, como sua seletividade ou sua capacidade de diferenciar água em etanol de querosene em diesel, por exemplo. Esta seção analisa as estratégias fotofísicas específicas utilizadas no monitoramento da qualidade de combustíveis, explicando como cada uma converte mudanças ambientais em dados quantificáveis.

3.2.1 Transferência de Carga Intramolecular (ICT)

A transferência de carga intramolecular constitui um dos mecanismos mais eficazes para a detecção de adulteração de combustíveis por meio de mudanças ópticas. Fluoróforos contendo grupos doadores e aceptores de elétrons formam estados ICT após excitação, com aumento da separação de cargas.[13] A polaridade do solvente determina qual estado excitado possui a menor energia. Solventes polares estabilizam preferencialmente o estado ICT (**Figura 5**) com separação de cargas por meio de interações eletrostáticas favoráveis. Solventes apolares favorecem, em vez disso, o estado localmente excitado (LE), no qual a distribuição de cargas se assemelha à do estado fundamental.[13] O estado LE domina a emissão em combustíveis de baixa

polaridade, como a gasolina, produzindo fluorescência em comprimentos de onda curtos. A adição de adulterantes polares desloca o equilíbrio em direção ao estado ICT. Essa transição produz mudanças mensuráveis tanto no comprimento de onda de emissão quanto na intensidade de fluorescência, permitindo a quantificação do adulterante.

Arquiteturas moleculares do tipo doador-aceptor constituem a base estrutural para o design de sondas ICT. Grupos doadores de elétrons, como as subunidades dimetilamino, fenolato ou imidazol, ocupam uma extremidade do sistema conjugado. Grupos retiradores de elétrons, como nitro, ciano, piridínio ou aldeído, ocupam a outra extremidade. Uma ponte conjugada conecta esses grupos e permite a deslocalização de cargas ao longo da estrutura molecular. Após a excitação, a densidade eletrônica é transferida do doador para o aceptor por meio dessa ponte. A extensão da separação de cargas no estado excitado depende da força dos grupos doador e aceptor e do comprimento do sistema conjugado.

Modificações estruturais permitem o ajuste sistemático da sensibilidade da sonda. A conjugação estendida por meio de grupos estirila ou similares pode aumentar os momentos de dipolo de transição de aproximadamente 12-13 D para 15 D ou mais, produzindo respostas espectrais mais pronunciadas a variações de polaridade.[17]

A solvatação preferencial amplifica ainda mais a resposta da sonda. As moléculas do adulterante polar se concentram ao redor dos grupos carregados da sonda por meio de ligações de hidrogênio. O microambiente local torna-se enriquecido em solvente polar em relação à composição global da mistura. Como resultado, mesmo pequenas adições de adulterante produzem respostas ópticas desproporcionalmente grandes.

A detecção baseada em ICT explora duas respostas ópticas distintas, dependendo do design da sonda. A detecção por deslocamento de comprimento de onda baseia-se no deslocamento espectral à medida que a polaridade do solvente varia. Arquiteturas do tipo doador-π-aceptor podem exibir deslocamentos de emissão substanciais, variando de 20 a 50 nm, na transição entre combustíveis apolares e adulterantes polares. O estado excitado ICT com separação de cargas experimenta maior estabilização em meios polares, diminuindo sua energia e produzindo deslocamentos batocrômicos na emissão

de fluorescência.[18] A detecção baseada em razão de intensidades explora a variação relativa entre os estados ICT e LE. As ligações de hidrogênio intermoleculares entre álcoois e grupos aceptores de elétrons podem interromper o processo ICT, alterando a razão de intensidade de emissão entre os estados ICT e LE. Essa razão de intensidade se correlaciona linearmente com a concentração do adulterante.[19] A análise ratiométrica fornece autocalibração intrínseca que elimina erros dependentes da concentração.

A transferência de carga intramolecular torcida (TICT) representa uma variante do mecanismo ICT na qual a rotação molecular se acopla à redistribuição de cargas no estado excitado. A formação do estado TICT requer a rotação dos grupos doadores ou aceptores em relação ao sistema conjugado. Ambientes viscosos restringem essa rotação e mantêm a emissão de fluorescência.[13] Ambientes de baixa viscosidade permitem rotação livre, que forma o estado TICT e abre vias de decaimento não radiativo (**Figura 5**). As diferenças de viscosidade entre os combustíveis puros e seus adulterantes permitem a detecção por meio de variações na intensidade de fluorescência.[20] Sondas baseadas em TICT exibem fluorescência intensa em matrizes viscosas onde a rotação é impedida. A adição de adulterante reduz a viscosidade da mistura, permite a formação do estado TICT e suprime a fluorescência proporcionalmente à sua concentração. O mecanismo fornece detecção baseada em viscosidade que complementa as abordagens ICT baseadas em polaridade para o monitoramento da qualidade de combustíveis.

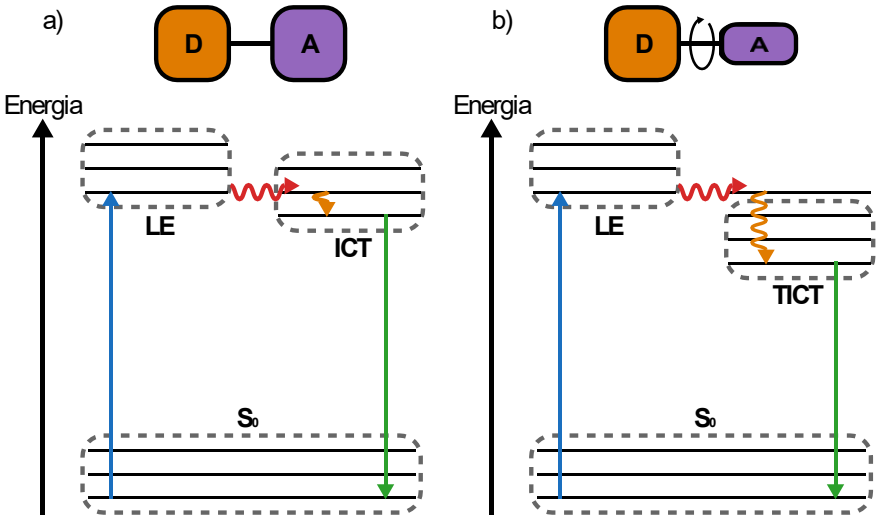


Figura 5. Diagramas de energia simplificados para os mecanismos a) ICT e b) TICT em moléculas doador-aceptor (D-A). As cores das setas seguem a convenção do diagrama de Jablonski anteriormente apresentado.

3.2.2 Transferência Protônica Intramolecular no Estado Excitado (ESIPT)

A transferência protônica intramolecular no estado excitado constitui um mecanismo fotofísico distinto para a detecção de adulteração de combustíveis por meio de características de emissão dupla. O ESIPT ocorre em moléculas contendo grupos doadores e aceptores de prótons conectados por ligação de hidrogênio intramolecular. Grupos hidroxila atuam tipicamente como doadores de prótons, enquanto grupos carbonila ou grupos contendo nitrogênio funcionam como aceptores. A forma enol predomina no estado fundamental devido à sua estabilidade termodinâmica. A fotoexcitação desencadeia mudanças críticas na distribuição de cargas moleculares. A redistribuição da densidade eletrônica eleva simultaneamente a acidez do doador de prótons e a basicidade do aceptor de prótons.[21] O hidrogênio hidroxílico torna-se mais eletropositivo, enquanto o oxigênio carbonílico ou imínico adquire caráter mais eletronegativo no estado excitado.[22] Essa maior acidez impulsiona a transferência protônica rápida do doador para o aceptor em picossegundos. O processo ocorre rapidamente porque o próton transferido já se encontra posicionado próximo ao aceptor no momento da excitação.[13] Isso produz um tautômero ceto no estado excitado, estruturalmente distinto da forma enol inicialmente excitada.

O mecanismo ESIPT cria um sistema fotofísico de quatro níveis no qual a emissão ocorre a partir de dois estados excitados distintos. A fotoexcitação gera

a forma enol excitada (Enol*), que pode se converter rapidamente no tautômero ceto excitado (Ceto*) por transferência protônica. Ambas as formas podem emitir fluorescência antes de retornar ao estado fundamental. O tautômero ceto possui energia menor que a forma enol no estado excitado, devido à estabilização promovida pelo próton transferido. Como maior energia corresponde a menor comprimento de onda, a emissão proveniente do Enol* para o estado fundamental Enol produz uma banda em comprimentos de onda mais curtos, enquanto a emissão do Ceto* para o estado fundamental Ceto produz uma banda em comprimentos de onda mais longos (**Figura 6**).

A diferença de energia entre esses estados gera deslocamentos de Stokes excepcionalmente grandes. Sistemas ESIPT podem alcançar deslocamentos de Stokes superiores a 150 nm entre a absorção e a emissão do tautômero.[23] Essa separação espectral minimiza as interferências de matriz, uma vez que os hidrocarbonetos aromáticos presentes na gasolina emitem abaixo de 400 nm. O grande deslocamento de Stokes posiciona a emissão do tautômero ESIPT bem além dessa região.

Após a emissão do Ceto*, a forma ceto no estado fundamental tautomeriza-se de volta rapidamente para a configuração enol no estado fundamental. Essa transferência protônica reversa restaura a aromaticidade do sistema molecular e completa o fotociclo.[22] A forma enol permanece termodinamicamente favorecida no estado fundamental devido à sua estabilização aromática.

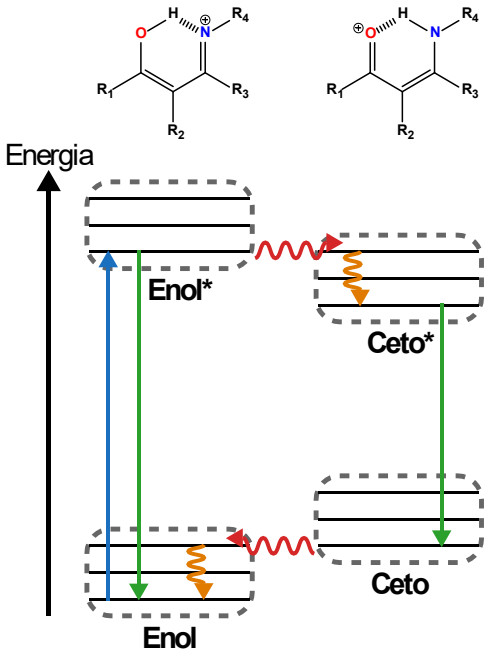


Figura 6. Diagrama de energia do mecanismo ESIPT. As estruturas na parte superior representam as formas enol (esquerda) e ceto (direita). As cores das setas seguem a convenção do diagrama de Jablonski anteriormente apresentado.

A emissão dupla possibilita a análise ratiométrica com propriedades intrínsecas de autocalibração. As intensidades relativas das emissões de Enol* e Ceto* dependem da polaridade e da distribuição de cargas ao redor do fluoróforo.[13] No contexto da detecção de adulterantes em combustíveis, moléculas de álcool presentes na matriz podem estabelecer ligações de hidrogênio intermoleculares com o grupo hidroxila doador da sonda.[24] Essa interação externa enfraquece a ligação de hidrogênio intramolecular essencial para o ESIPT e reduz a eficiência da transferência protônica, sendo justamente essa perturbação que constitui o sinal analítico para a detecção do adulterante. À medida que a concentração de álcool aumenta, um número maior de moléculas da sonda permanece na configuração Enol* em vez de se converter em Ceto*. A emissão do Enol* se intensifica enquanto a emissão do Ceto* diminui proporcionalmente, classificando estes sistemas como sondas ratiométricas. Essa variação oposta das duas bandas abre caminho para uma forma de quantificação mais robusta que a medida de intensidade simples: a análise ratiométrica, na qual a razão I_{Enol*}/I_{Ceto*} se correlaciona quantitativamente com a concentração do adulterante.

As medidas ratiométricas eliminam erros sistemáticos decorrentes de variações na concentração da sonda, fotobranqueamento e deriva instrumental. O método compara duas bandas de emissão da mesma molécula, em vez de depender de valores de intensidade absolutos. Sondas de banda única requerem calibração individual para cada condição de medição. A emissão dupla fornece uma referência interna que se mostra particularmente valiosa em aplicações de campo, onde a entrega precisa da sonda e a estabilidade instrumental não podem ser garantidas.

3.2.3 Detecção Solvatocrômica sem ICT

Os mecanismos de detecção solvatocrômica podem operar independentemente da transferência de carga intramolecular quando as moléculas possuem separação de cargas permanente no estado fundamental. Essas sondas exibem deslocamentos espectrais por meio da solvatação diferencial dos momentos de dipolo preexistentes, e não por meio da redistribuição de cargas no estado excitado.[13,25] Sondas solvatocrômicas sem caráter ICT mantêm distribuições de carga nas quais o estado fundamental apresenta polaridade igual ou superior à do estado excitado. Variações na polaridade do solvente afetam de forma distinta as energias relativas dos estados fundamental e excitado, produzindo deslocamentos espectrais mensuráveis que permitem a quantificação do adulterante por meio de uma via fotofísica fundamentalmente diferente (**Figura 7**).[25]

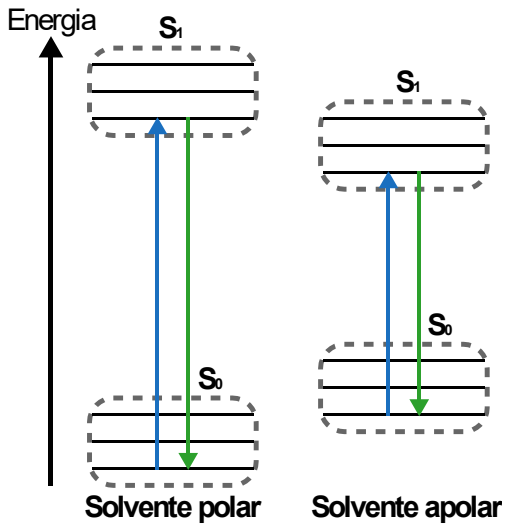


Figura 7. Diagrama de energia do solvatocromismo negativo. Solventes polares estabilizam preferencialmente S_0 em relação a S_1, aumentando a diferença de energia e produzindo deslocamento hipsocrômico na absorção.

Os corantes betaína exemplificam esse mecanismo por meio de estados fundamentais zwiteriônicos que possuem momentos de dipolo maiores do que os de seus estados excitados.[26] As subunidades fenolato e piridínio criam separação de cargas permanente antes da fotoexcitação. Solventes polares estabilizam esse estado fundamental altamente polar de forma mais eficiente do que o estado excitado, de menor polaridade, formado após a absorção de luz. Essa estabilização preferencial aumenta a diferença de energia eletrônica, produzindo deslocamentos hipsocrômicos na absorção à medida que a polaridade do solvente aumenta.[26,27] O fenômeno representa solvatocromismo negativo, no qual a adição de adulterantes polares a combustíveis apolares desloca a absorção em direção a comprimentos de onda menores. Modificações moleculares podem aprimorar a utilidade prática da sonda sem alterar o mecanismo fundamental. A incorporação de substituintes alquila volumosos melhora a solubilidade em combustíveis de hidrocarbonetos sem comprometer a resposta solvatocrômica.

A detecção explora a relação sistemática entre a concentração do adulterante e a posição espectral. Sondas do tipo betaína demonstram calibração independente do lote, na qual os máximos de absorção correspondem a concentrações específicas de adulterante independentemente da fonte de combustível. Essa universalidade decorre do fato de que a detecção depende de

variações globais de polaridade, e não de interações com componentes específicos do combustível.[26] Os deslocamentos hipsocrômicos podem abranger de 50 a 100 nm nas faixas de concentração comercialmente relevantes, permitindo a discriminação visual a olho nu (*naked eye detection*).[27] Sondas alternativas sem ICT operam por meio de comportamento de dipolo invertido.[28] Neste caso, esses sistemas exibem momentos de dipolo no estado fundamental superiores aos do estado excitado. Essa inversão produz respostas solvatocrômicas duais, nas quais a absorção apresenta solvatocromismo negativo enquanto a emissão exibe solvatocromismo positivo. Esse comportamento permite a detecção de adulterantes por meio de variações na intensidade de fluorescência que se correlacionam linearmente com a concentração.[28]

3.2.4 Mecanismos Alternativos: AIEE, Isomerização Reversível e Supressão de Fluorescência

Embora ICT e ESIPT representem as estratégias mais comuns para a detecção em combustíveis, outros mecanismos fotofísicos oferecem vantagens distintas para desafios analíticos específicos. Essas abordagens alternativas exploram fenômenos como emissão induzida por agregação, isomerização reversível e supressão de fluorescência para alcançar elevada seletividade e sensibilidade. O aprimoramento de emissão induzida por agregação (AIEE) contorna as limitações de autossupressão observadas em fluoróforos convencionais em altas concentrações. Enquanto corantes típicos sofrem supressão causada por agregação (ACQ), compostos ativos em AIEE exibem emissão fraca ou ausente em solução diluída, mas geram fluorescência intensa ao se agregar (**Figura 8**).[29] O mecanismo de restrição do movimento intramolecular (RIM) explica esse fenômeno. Em solução, rotores moleculares e segmentos flexíveis dissipam a energia do estado excitado por meio de processos rotacionais e vibracionais que favorecem o relaxamento não radiativo. A formação de agregados imobiliza esses movimentos, bloqueando as vias não radiativas e viabilizando o decaimento radiativo.[30] O comportamento de agregação dependente do solvente confere seletividade para distinguir espécies quimicamente semelhantes com base em suas propensões de agregação em condições específicas.[31]

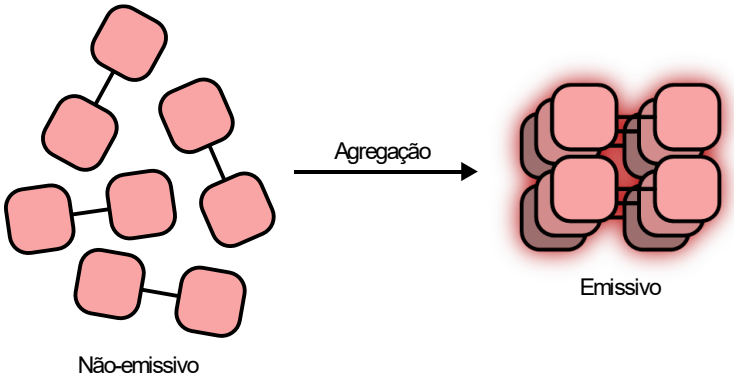


Figura 8. Representação esquemática do mecanismo AIEE. A agregação restringe movimentos intramoleculares livres, convertendo moléculas não emissivas em emissores eficientes de fluorescência.

Os mecanismos de isomerização reversível operam por meio de equilíbrio entre formas moleculares distintas que possuem propriedades ópticas diferentes. Compostos espirocíclicos exemplificam essa abordagem por meio de equilíbrios entre formas fechadas não fluorescentes e espécies fluorescentes com abertura de anel. A polaridade do solvente governa a distribuição populacional entre os isômeros. Ambientes apolares favorecem a configuração espirocíclica fechada, enquanto meios polares estabilizam a forma zwitteriônica com anel aberto.[32,33] A reorganização estrutural se manifesta espectroscopicamente como deslocamentos hipercrômicos na absorção e aumento concomitante da fluorescência.[34] Essa sensibilidade conformacional à polaridade global do solvente permite a quantificação de adulterantes polares em matrizes de combustíveis apolares.

A supressão de fluorescência oferece capacidade de detecção por meio da redução de intensidade, em vez de deslocamentos espectrais. A supressão dinâmica ocorre quando moléculas do analito colidem com fluoróforos excitados, facilitando o decaimento não radiativo. A redução de intensidade segue a relação linear de Stern-Volmer, permitindo a quantificação da concentração do supressor.[35,36] A supressão estática por meio da formação de complexos no estado fundamental oferece uma via alternativa. Certos corantes exibem sensibilidade extrema à polaridade, com rendimentos quânticos de fluorescência que variam drasticamente entre ambientes apolares e aquosos.[37] Esse efeito hidrofóbico permite a detecção de água por meio da redução de fluorescência,

sendo que métodos de análise multivariada como mínimos quadrados parciais (PLS) possibilitam quantificação precisa mesmo na presença de respostas não lineares.[38]

3.3 Desempenho analítico por adulterante

3.3.1 Etanol em gasolina e biodiesel

A detecção de etanol é o cenário mais amplamente estudado entre os adulterantes abordados nesta revisão. Além do contexto brasileiro já descrito, a regulamentação indiana passou a permitir até 20% de etanol em formulações padrão de gasolina,[39] O excesso de etanol compromete o desempenho do motor por meio do aumento da corrosão, da redução da densidade energética e da degradação da integridade do sistema de combustível. A **Tabela 1** resume o desempenho analítico das sondas desenvolvidas entre 2006 e 2025, abrangendo abordagens baseadas em absorbância e em fluorescência

Tabela 1. Sondas fotofísicas para a detecção de etanol em gasolina e biodiesel.

Sonda	Método de Detecção	Matriz	LOD v/v%	Tempo de Resposta	Vantagem Principal	Ref.
Betaína 1	Absorbância	Gasolina	-	-	Calibração independente de lote	26,27
Betaína 2	Absorbância	Gasolina	-	-	Portátil, aplicável em campo	27,40
Nitroestilbenos 3 e 4	Absorbância	Gasolina	-	-	-	27
Trifenilamina 2 (em solução)	Fluorescência	Gasolina	0,5	-	Detecção de duplo adulterante (etanol e querosene), LOQ 1,8% v/v	18
Trifenilamina 2 (em tiras M3)	Fluorescência	Gasolina	4,0	~60s	Tiras descartáveis compatíveis com smartphone, aplicáveis em campo	
Flavonoide 1	Fluorescência	Gasolina	-	-	Ratiométrico	23
BTD 3a	Fluorescência	Gasolina	-	-	-	28
Flavonoide SHOF	Fluorescência	Biodiesel	0,11	~60s	-	17
Flavonoide NSHOF	Fluorescência	Biodiesel	0,09	~60s	-	
Rodamina B	Absorbância	Gasolina	0.01	-	Ratiométrico, LOQ 0,04% v/v	34
Piridina 3f	Fluorescência	Gasolina	4,0	-	-	36
Cumarina 153	Fluorescência	Biodiesel	0.23	Segundos	Ratiométrico	41

Os primeiros estudos de detecção, em 2006, empregaram betaínas de Reichardt e derivados de nitroestilbeno para avaliação da qualidade da gasolina por meio de solvatocromismo no estado fundamental (**Figura 9a**). Essas sondas de absorção UV-Vis respondem a variações de polaridade por meio de deslocamentos nas suas bandas de transferência de carga: as betaínas 1 e 2 absorvem na faixa de 560-666 nm e deslocam-se com a adição de etanol, exibindo pronunciados deslocamentos hipsocrômicos nesse meio e demonstrando a viabilidade da detecção solvatocrômica em matrizes reais de combustível.[27] A **Figura 9b** mostra que ambas as betaínas exibem aumento não linear de E_T com o teor de etanol, reflexo da solvatação preferencial pelo componente mais polar.

Ao contrário das betaínas, os nitroestilbenos 3 e 4 apresentam deslocamento batocrômico conforme o teor de etanol aumenta, progredindo da gasolina de menor polaridade para o etanol de maior polaridade. O nitroestilbeno 3 apresenta máximo de absorção em 402 nm na gasolina pura, deslocando-se para 430 nm no etanol puro, enquanto o nitroestilbeno 4 desloca-se de 391 nm para 417 nm na mesma faixa de composição.

Apesar da inversão da direção da resposta espectral em relação às betaínas 1 e 2, o comportamento de solvatação subjacente é análogo: o etanol popula preferencialmente a camada de solvatação imediata da sonda mesmo em baixas concentrações. Esse efeito pode ser racionalizado pela capacidade do etanol de atuar como doador de ligação de hidrogênio para o grupo dimetilamino rico em elétrons presente em ambos os corantes, elevando a polaridade local acima da esperada pela composição da mistura. A **Figura 9c** confirma que os nitroestilbenos apresentam o mesmo padrão não linear de ET, evidenciando que a solvatação preferencial pelo etanol domina independentemente da direção do deslocamento espectral.

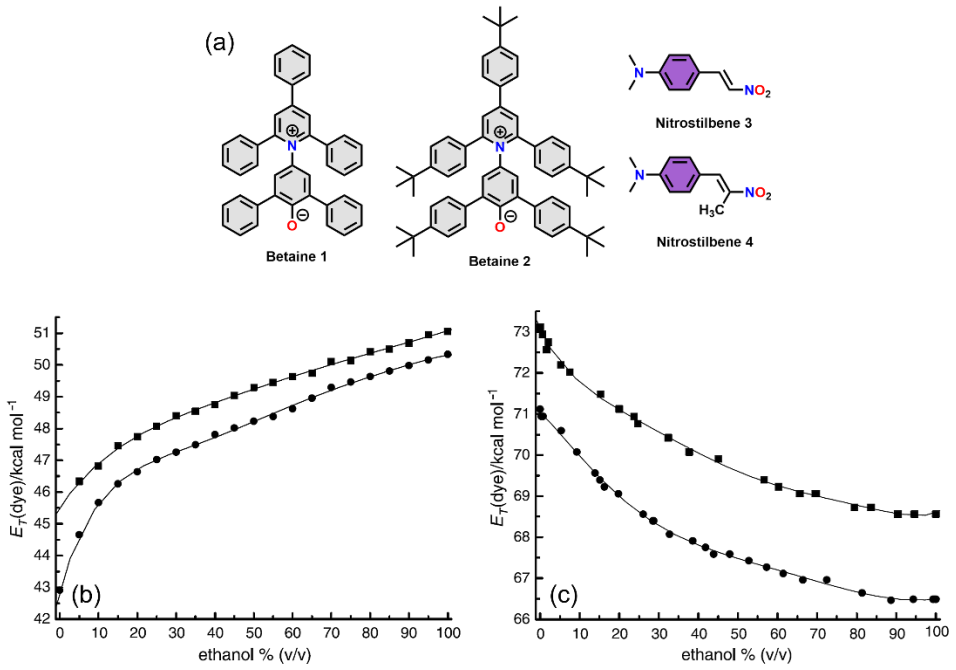


Figura 9. (a) Estrutura química das sondas. Energias de transição molar (E_T) da banda solvatocrômica em misturas gasolina-etanol para (b) betaína 1 (■) e betaína 2 (●) e (c) nitroestilbeno 3 (●) e nitroestilbeno 4 (■). Adaptado da ref. 27.

Entre os corantes investigados, a betaína lipofílica de Reichardt 2, contendo cinco grupos terc-butila, exibiu a resposta solvatocrômica mais pronunciada, com deslocamento hipsocrômico de ~666 nm na gasolina para ~568 nm no etanol, correspondendo a um deslocamento total de 98,2 nm. A cor das soluções transita de verde-azul na gasolina pura para violeta no etanol puro, com uma aparência azul-esverdeada intermediária a 25% de etanol, permitindo a identificação visual da adulteração. O comportamento solvatocrômico é atribuído à solvatação preferencial por meio de interações específicas de ligação de hidrogênio, com o grupo fenolato dos piridínio-fenolatos atuando como sítio primário de interação.

Em 2012, a betaína 2 foi empregada em uma metodologia de calibração quantitativa para determinação do teor de etanol em gasolina, com base na variação de λ_{abs} em função da composição da mistura, em substituição a medidas convencionais de absorbância. Em misturas binárias gasolina/etanol (10-100% v/v de etanol), foi observado um deslocamento espectral de trabalho de aproximadamente 70 nm, conforme ilustrado na **Figura 10a**.[40] A pronunciada transição de cor da gasolina (amarelo-esverdeado) para o etanol puro (violeta),

ilustrada na **Figura 10a**, permitiu ainda a discriminação visual direta da adulteração.

A betaína 2 foi também avaliada em misturas binárias etanol/água, ampliando sua aplicabilidade para a detecção de água como adulterante no etanol hidratado. Com o aumento do teor de água, a maior capacidade doadora de ligação de hidrogênio do meio estabiliza ainda mais o estado fundamental altamente dipolar da betaína 2, resultando em deslocamento hipsocrômico progressivo acompanhado de mudança de cor visível ao longo de toda a faixa de composição. Como mostrado na **Figura 10b**, a solução transita de uma tonalidade azul-violeta no etanol puro para tonalidades violetas progressivamente mais intensas à medida que a fração de água aumenta, abrangendo composições do etanol puro a 90% de água. A resposta não linear de E_T é novamente consistente com a solvatação preferencial da sonda pelo componente mais polar, neste caso a água, que domina a camada de solvatação local muito além de sua fração média.

Esses resultados demonstram que uma única sonda pode cumprir um papel diagnóstico dual, possibilitando o monitoramento do teor de etanol na gasolina e da contaminação por água no etanol, dependendo da matriz de combustível investigada.

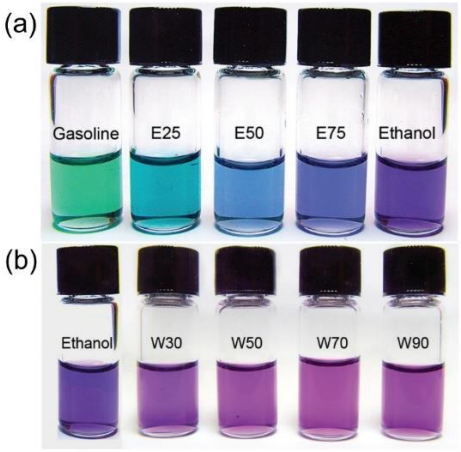


Figura 10. Variações de cor da solução de betaína 2 em misturas binárias de (a) gasolina/etanol e (b) etanol/água, onde E e W referem-se ao percentual volumétrico de etanol e água nas misturas, respectivamente. Adaptado da ref. 40.

A betaína 1, corante de Reichardt $E_T(30)$, foi simultaneamente investigada para análise de combustíveis em 2012.[38] Trata-se de uma sonda solvatocrômica zwitteriônica que absorve na região visível entre 450 e 900 nm, com λ_{abs} deslocando-se progressivamente de cerca de 646-667 nm na gasolina pura para 588 nm a 30% de etanol. Notavelmente, esse λ_{abs} mostrou-se independente do lote de gasolina, graças à solvatação preferencial do grupo fenolato pelo etanol via ligação de hidrogênio, o que elimina a necessidade de caracterização individual de cada combustível.[26] O modelo de calibração polinomial de segunda ordem apresentou excelentes parâmetros estatísticos, com R^2 = 0,9937 (**Figura 11**). A validação com nove lotes distintos de gasolina resultou em valores de RMSEP inferiores a 2,0%, demonstrando elevada exatidão para a quantificação de etanol na faixa de 2 a 30%, abrangendo as misturas comerciais típicas (E5, E10, E15, E20).

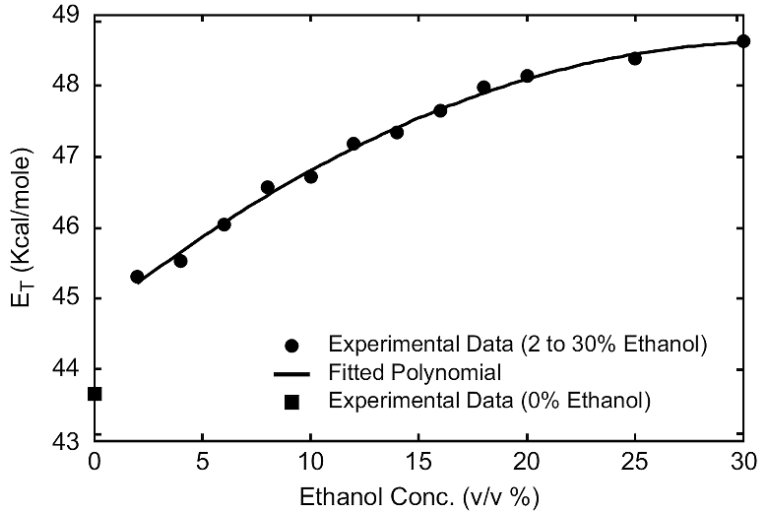


Figura 11. Variação da energia de transição E_T do corante de Reichardt $E_T(30)$ (betaína 1) em função da concentração de etanol em misturas gasolina-etanol, ajustada por um polinômio de segunda ordem. O ponto referente a 0% de etanol foi excluído do modelo de calibração devido à variabilidade dependente do lote em amostras de gasolina pura. Adaptado da ref. 26.

Em 2019, mecanismos fotofísicos alternativos foram explorados para ampliar a seletividade analítica na detecção de combustíveis adulterados. Nessa investigação, a trifenilamina 2 (**Figura 12a**), uma sonda baseada em ICT, demonstrou capacidade de detecção de dois adulterantes distintos, exibindo deslocamentos batocrômicos de emissão de 86 nm para o etanol e deslocamentos hipsocrômicos de 24 nm para o querosene em relação à linha de base da gasolina (**Figura 12b**).[18] As cores de emissão da sonda nesses meios são visíveis a olho nu sob iluminação UV, com as soluções apresentando coloração azul no querosene, azul-esverdeada na gasolina E5 e verde no etanol, correspondendo a valores de matiz (hue) de 224°, 218° e 148°, respectivamente (**Figura 12c**). Em baixas concentrações de etanol (até 10% v/v), a microssolvatação por ligação de hidrogênio promove um deslocamento batocrômico linear da banda de emissão, ao passo que concentrações superiores (até 100% v/v de EtOH) resultam em resposta não linear.

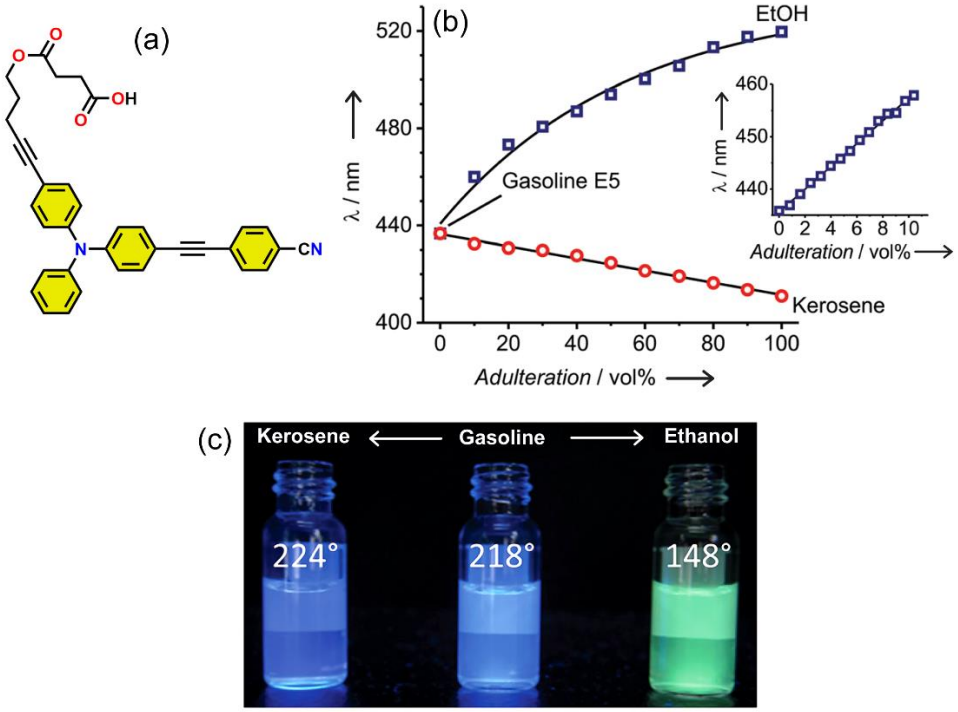


Figura 12. (a) Estrutura química da sonda. (b) Máximos de emissão da trifenilamina 2 em misturas gasolina E5/etanol e gasolina E5/querosene, com gráfico linear para baixas concentrações de etanol (detalhe). (c) Fotografias das soluções de trifenilamina 2 em querosene, gasolina E5 e etanol sob iluminação UV, com os respectivos valores de matiz indicados (c = 4 μM, λ_{exc} = 340 nm). Adaptado da ref. 18.

Nesse estudo, as tiras M3 (**Tabela 1**) correspondem às tiras de teste otimizadas utilizadas nas medidas baseadas em smartphone. Elas consistem em papel de filtro de celulose recoberto com sílica, funcionalizado covalentemente com a trifenilamina 2 e passivado com hexametildissilazana (HMDS). Essas tiras possibilitaram a quantificação via smartphone com tempo de resposta de aproximadamente 60 s, embora com menor sensibilidade (LOD = 4% v/v) em comparação à obtida em solução (LOD = 0,5% v/v) (**Figura 13a**). Esse material foi selecionado por combinar a robustez mecânica da celulose com o desempenho de detecção aprimorado proporcionado pela superfície modificada com sílica/HMDS.

Um suporte de smartphone fabricado por impressão 3D, contendo uma fonte de excitação UV-LED com fonte de alimentação própria, permitiu medidas quantitativas em campo sem a necessidade de infraestrutura laboratorial. Limites

de detecção de 19 ± 6% v/v e 4 ± 1% v/v foram obtidos para o querosene e o etanol, respectivamente, com faixa de trabalho linear de até 40% v/v para ambos os adulterantes. O sistema analisou com sucesso amostras de gasolina E10 provenientes de postos de combustível de Berlim, demonstrando sua capacidade de monitoramento da qualidade de gasolina comercial e detecção de adulteração com elevada exatidão e robustez (**Figura 13b** e **Figura 13c**).

A passivação da superfície do suporte de celulose foi o fator-chave que possibilitou medidas em uma ampla faixa de polaridade relativa (de 0,009 a 0,654), fornecendo erros de quantificação de adulteração entre 1 e 6% v/v e permitindo sua operação por usuários não especializados.

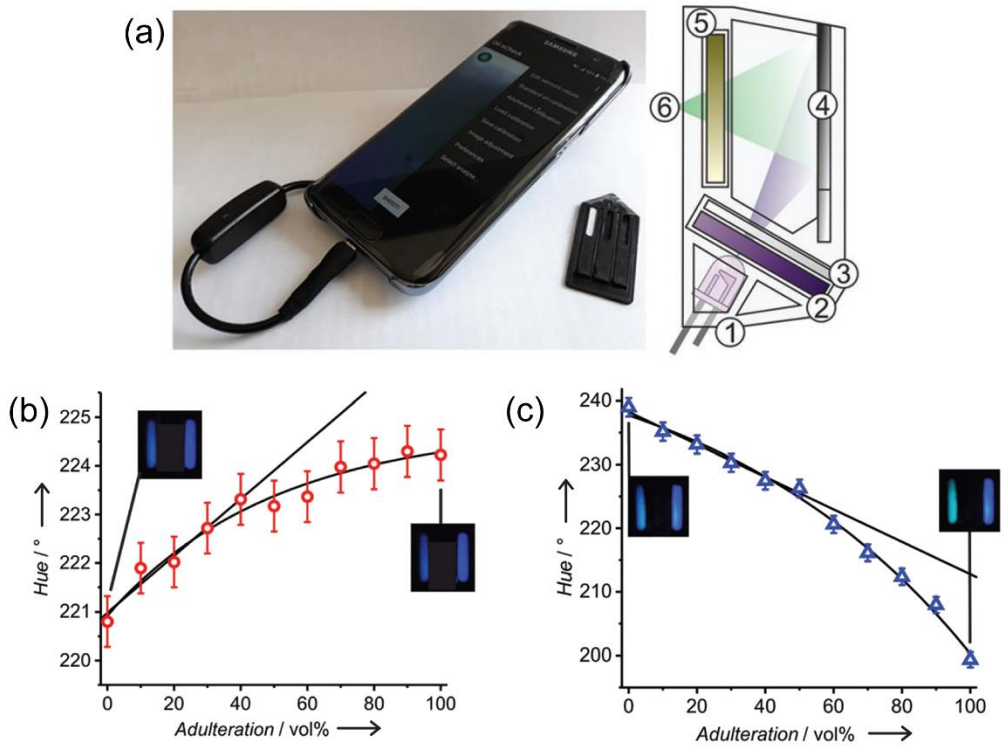


Figura 13. (a) Fotografia e ilustração esquemática do suporte para smartphone, evidenciando seus componentes integrados: (1) fonte de LED 380 nm, (2) filtro de excitação, (3) difusor, (4) slot e suporte para a tira de teste, (5) filtro de emissão e (6) localização da câmera CMOS do smartphone. (b,c) Valores de matiz obtidos a partir das tiras de teste M3 após imersão em misturas gasolina E5/querosene e gasolina E5/etanol, respectivamente. As faixas de trabalho correspondentes para a quantificação de querosene e etanol em gasolina E5 foram de 19-40% e 4-50%, respectivamente. Adaptado da ref. 18.

Em uma abordagem distinta, flavonoides também foram explorados como sondas fluorescentes para a detecção de etanol em misturas de gasolina, em razão de suas propriedades fotofísicas favoráveis baseadas em ESIPT (**Figura 14a**). O flavonoide 1 possibilitou a quantificação de etanol em toda a faixa de concentração de 0 a 100% por meio de análise de emissão ratiométrica. Sob excitação a 410 nm, a sonda exibe emissão dual em meios apróticos, com a banda da forma Enol* entre 450-520 nm e a banda da forma Ceto* na região de 560-590 nm. Em solventes próticos como o etanol, o processo de ESIPT é suprimido e somente a emissão Enol* próxima a 510 nm é observada, com elevado rendimento quântico de aproximadamente 0,53.

Os elevados deslocamentos de Stokes, superiores a 150 nm, posicionaram a emissão do tautômero Ceto* além da interferência dos hidrocarbonetos aromáticos intrínsecos à gasolina, fator limitante dos métodos anteriores baseados em fluorescência de matriz de excitação-emissão (EEMF). Essa emissão dual dos tautômeros enol e Ceto* proporciona autocalibração intrínseca por meio da razão de intensidades I_{Enol*}/I_{Ceto*}, que exibiu forte dependência com o teor de etanol (**Figura 14b** e **Figura 14c**).[23]

A razão IEnol*/ICeto* de ambos os corantes correlacionou-se linearmente com o teor de etanol até 20% v/v, ao passo que o flavonoide 1 manteve correlação positiva estendida até 100% v/v por meio de ajuste exponencial duplo, ao contrário do flavonoide 2, cuja resposta saturou acima de 30% v/v. O método demonstrou que a quantificação precisa de etanol pode ser obtida a partir de um único espectro de emissão, sem processamento quimiométrico, representando uma simplificação significativa em relação às técnicas EEMF existentes e tornando a abordagem acessível a usuários não especializados.

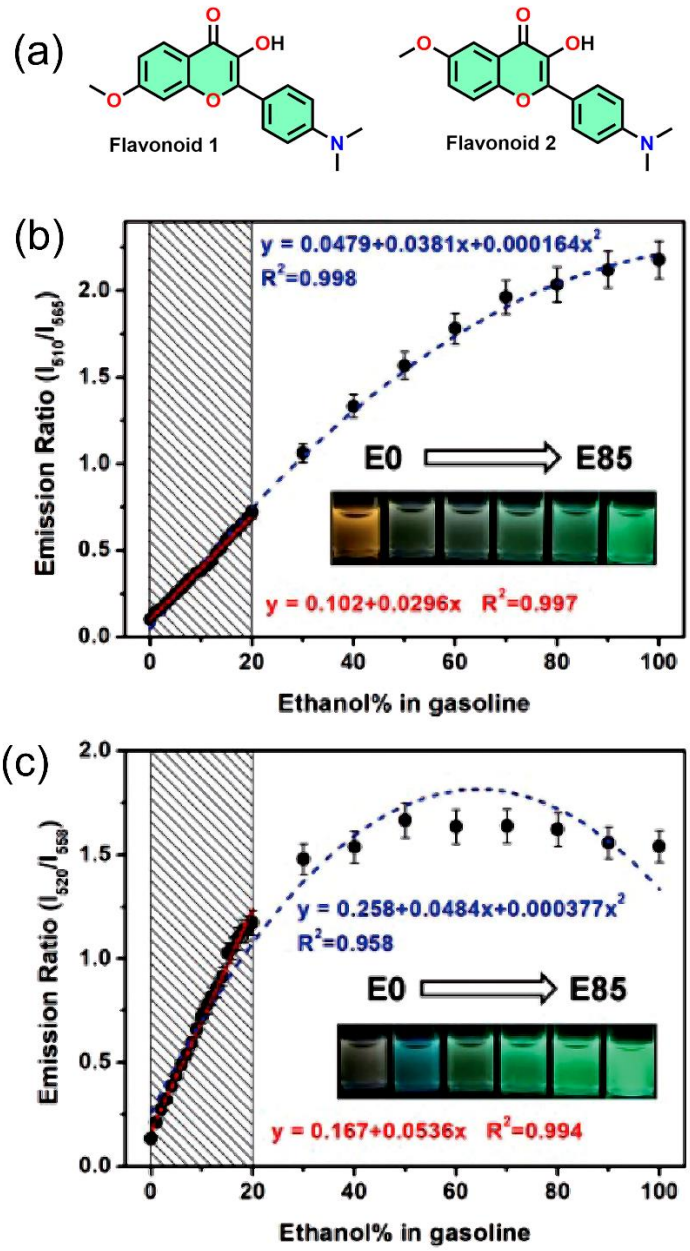


Figura 14. (a) Estrutura molecular das sondas investigadas. Espectros de fluorescência do (b) flavonoide 1 e (c) flavonoide 2 em diferentes solventes, mostrando a dependência do comprimento de onda de emissão com os parâmetros de polaridade. Adaptado da ref. 23.

Derivados de benzotiadiazol (BTD) introduzidos em 2020 exploraram um mecanismo de detecção distinto, baseado na supressão de intensidade de fluorescência em vez de deslocamentos espectrais. Os BTDs 3a e 3b, cuja estrutura molecular está representada na **Figura 15a**, apresentaram máximos de absorção em torno de 400 nm com emissão na região azul-ciano-verde e

elevados deslocamentos de Stokes, decorrentes de transições π-π* em vez de transferência de carga intramolecular, conforme indicado por cálculos de teoria do funcional da densidade (DFT). O elevado momento de dipolo do estado fundamental (~10 Debye) promoveu a estabilização preferencial por solventes polares, produzindo solvatocromismo negativo com máximos de absorção diferenciando hexano de etanol e metanol em aproximadamente 18 nm para o BTD 3a e 23 nm para o BTD 3b.

Quando aplicados à gasolina comercial adicionada de proporções crescentes de etanol de 1 a 50% v/v, a intensidade de emissão de fluorescência do BTD 3a diminuiu progressivamente sem atingir um platô. O mesmo comportamento foi observado para o BTD 3b, conforme ilustrado na **Figura 15b**. Os compostos também demonstraram aplicabilidade como materiais marcadores em concentrações tão baixas quanto 0,005 ppm em hexano e permaneceram fotoestáveis em gasolina ao longo de cinco semanas de observação. Em conjunto, a síntese curta em duas etapas, a elevada solubilidade em meios apolares e a dupla funcionalidade como agentes marcadores e quimiossensores representam uma contribuição expressiva para o desenvolvimento de sondas fluorescentes aplicáveis a ambientes não polares[28].

Uma análise mais detalhada da resposta de fluorescência do BTD 3a revela que o comportamento de supressão não é uniforme ao longo de toda a faixa de concentração de etanol (**Figura 15c**). A diminuição global da intensidade de emissão se estende da gasolina pura até 50% v/v de etanol; no entanto, a relação entre a intensidade de fluorescência e o teor de etanol é melhor descrita por dois regimes lineares distintos do que por uma tendência contínua única. Observa-se uma região de baixa concentração de 1 a 5% v/v de etanol (R^2 = 0,97) e uma faixa de adulteração mais elevada de 6 a 50% v/v de etanol (R^2 = 0,99). Esta última região é de maior relevância prática, uma vez que a gasolina adulterada acima do limite legal de etanol tipicamente se enquadra nessa faixa composicional. O BTD 3b exibiu resposta linear segmentada semelhante nas mesmas condições.

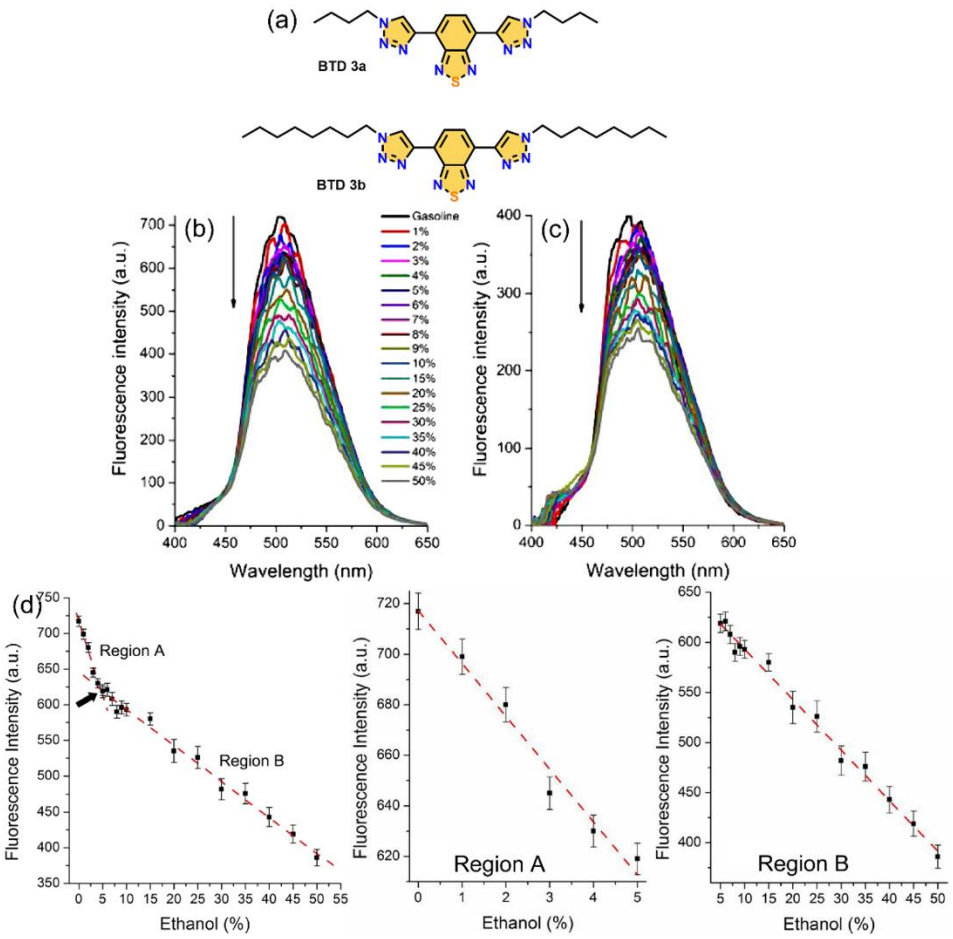


Figura 15. (a) Estrutura química das sondas estudadas. (b) Titulação de emissão de fluorescência do BTD 3a e (c) BTD 3b em gasolina comercial pré-tratada com adição de etanol de 1-50% (v/v). (d) Correlação linear entre a intensidade de fluorescência e o teor de etanol para o BTD 3a na faixa completa. Ampliações das regiões A (1-5% v/v de etanol) e B (6-50% v/v de etanol) são apresentadas para comparação (abaixo). Adaptado da ref. 28.

Também em 2020, os flavonoides SHOF e NSHOF (**Tabela 1**), obtidos pela inserção de uma ponte etileno no arcabouço conjugado do corante parental HOF (2-(4-(dimetilamino)fenil)-3-hidroxi-6,7-dimetoxi-4H-cromen-4-ona) com o objetivo de aumentar a separação espacial entre as unidades doadoras e aceptoras de elétrons, foram avaliados para a detecção de metanol em biodiesel comercial B100 de base soja, com resultados secundários também para etanol.[17] O sistema π estendido elevou os momentos de dipolo de transição acima de 15 D, produzindo uma resposta espectral às variações de polaridade sensivelmente mais intensa em comparação ao HOF.

Ao contrário do composto parental, nem o SHOF nem o NSHOF exibiram emissão dupla em biodiesel, uma vez que a ligação rotacionável adicional introduzida pelo segmento vinila favoreceu o relaxamento não radiativo e suprimiu efetivamente a via ESIPT, impedindo-a de competir com o processo de ICT. A adição progressiva de etanol produziu deslocamentos batocrômicos contínuos na banda de emissão, acompanhados de transições multicoloridas visíveis sob iluminação a 365 nm.

Limites de detecção de 0,11% e 0,09% foram obtidos para o SHOF e o NSHOF, respectivamente, valores que permanecem bem abaixo das concentrações relevantes para o controle de qualidade do biodiesel. Esses resultados confirmam que a modulação racional do momento de dipolo de transição por meio da extensão da conjugação constitui uma estratégia eficaz para o aprimoramento da sensibilidade das sondas a contaminantes alcoólicos em matrizes de biodiesel. O desempenho dessas sondas para a detecção de metanol, um parâmetro de qualidade ainda mais crítico no biodiesel, também é abordado nesta revisão.

Desenvolvimentos subsequentes entre 2022 e 2023 abordaram cenários de detecção mais específicos. A rodamina B (RhB) permitiu a quantificação espectrofotométrica por meio da isomerização reversível entre as formas espirolactônica e zwitteriônica. Essa sonda apresentou o menor LOD registrado na **Tabela 1** (0,01% v/v) e possibilitou a detecção por espectrofotometria de absorção no visível, dispensando equipamentos de fluorescência.[34] A **Figura 16a** apresenta os espectros de absorção da RhB em concentração fixa em misturas de E0 a E20, onde se observa um deslocamento hipercrômico progressivo em 545 nm com o aumento do teor de etanol. A **Figura 16b** ilustra as correspondentes mudanças de cor visíveis, de amarelo em gasolina pura a rosa, que fica progressivamente mais intenso conforme a proporção de etanol aumenta, confirmando a detectabilidade a olho nu da isomerização.

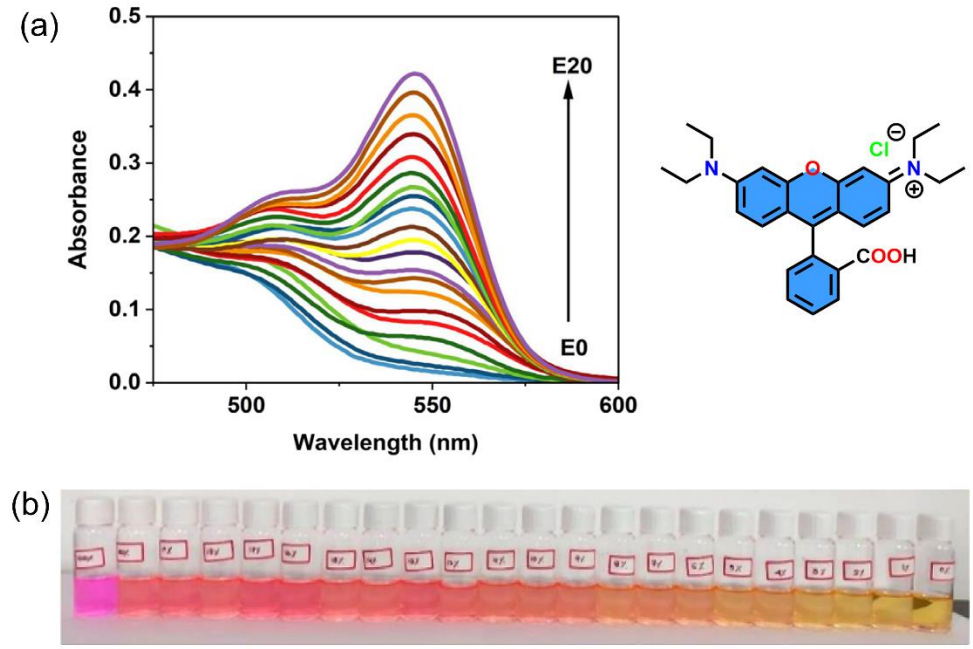


Figura 16. (a) Espectros de absorção da RhB em misturas etanol-gasolina de E0 a E20 e (b) fotografia da RhB nessas misturas. A estrutura química da RhB é apresentada para referência. Adaptado da ref. 34.

Nessa investigação, dois modelos de calibração foram desenvolvidos: o modelo baseado no deslocamento hipercrômico forneceu valores de LOD, limite de quantificação (LOQ) e RMSEP de 0,02%, 0,08% e 0,23%, respectivamente, enquanto a análise ratiométrica apresentou valores de 0,01%, 0,04% e 0,13%, respectivamente.[34] O modelo ratiométrico é independente da concentração da sonda, utilizando a razão entre as absorções em 545 nm e 500 nm, sendo compatível com uma única fonte de LED verde, enquanto o modelo hipercrômico permite a quantificação em comprimento de onda único. Ambas as abordagens dispensam pré-tratamento de amostra e empregam quantidades mínimas de amostra e sonda, com a análise de amostras reais de gasolina provenientes de oito postos de abastecimento no sul da Índia demonstrando a aplicabilidade prática do método. Os autores propuseram ainda um espectrofotômetro portátil de baixo custo, denominado etanômetro, integrando uma fonte de LED verde, uma cubeta de vidro e um fotodetector simples, com esferas de hidrogel biodegradável como veículo de entrega da sonda a um custo estimado de US$ 0,02 por esfera, posicionando o sistema como uma alternativa acessível à instrumentação laboratorial.

Sondas baseadas em piridina também possibilitaram a detecção seletiva de adulterantes aromáticos por meio de mecanismos de supressão de fluorescência dinâmica. Os derivados sintetizados foram obtidos em rendimentos moderados a bons por meio de uma sequência sintética concisa de duas etapas, demonstrando que moléculas fluorescentes pequenas e de fácil preparação podem constituir alternativas de baixo custo para o monitoramento da qualidade de combustíveis, sem exigir instrumentação complexa ou pré-tratamento de amostras.[36]

Esses derivados de piridina apresentaram bandas de absorção entre 250 e 350 nm, com máximos próximos a 300 nm, consistentes com transições π-π* permitidas por spin e simetria e caráter de transferência de carga negligenciável no estado fundamental. Os máximos de emissão de fluorescência variaram na faixa de 300-450 nm em função da estrutura molecular e da polaridade do meio, com solvatocromismo positivo no estado excitado (indicativo de momento de dipolo maior no estado excitado em relação ao estado fundamental), sendo que a intensidade de emissão em etanol superou a obtida em benzeno em até 39 vezes para a piridina 3f. A piridina 3f exibiu intensidade de emissão aproximadamente quatro vezes maior no etanol anidro do que na gasolina comercial (**Figura 17a**), confirmando a maior responsividade em meios polares próticos e fornecendo o contraste analítico que fundamenta a abordagem de detecção.

Experimentos de titulação com adições de etanol de 5 a 50% (v/v) revelaram aumento contínuo da intensidade de emissão em ambos os tipos de combustível (**Figura 17b** e **Figura 17c**). A adição de gasolina extra à mistura inicial não alterou a fluorescência, descartando a diluição como causa da variação de sinal e corroborando que a resposta decorre de interações específicas entre o fluoróforo e as moléculas de etanol. As curvas de calibração na faixa de 0-40% de etanol exibiram excelente linearidade para ambas as grades (**Figura 17d**), com limites de detecção estimados em aproximadamente 4%.

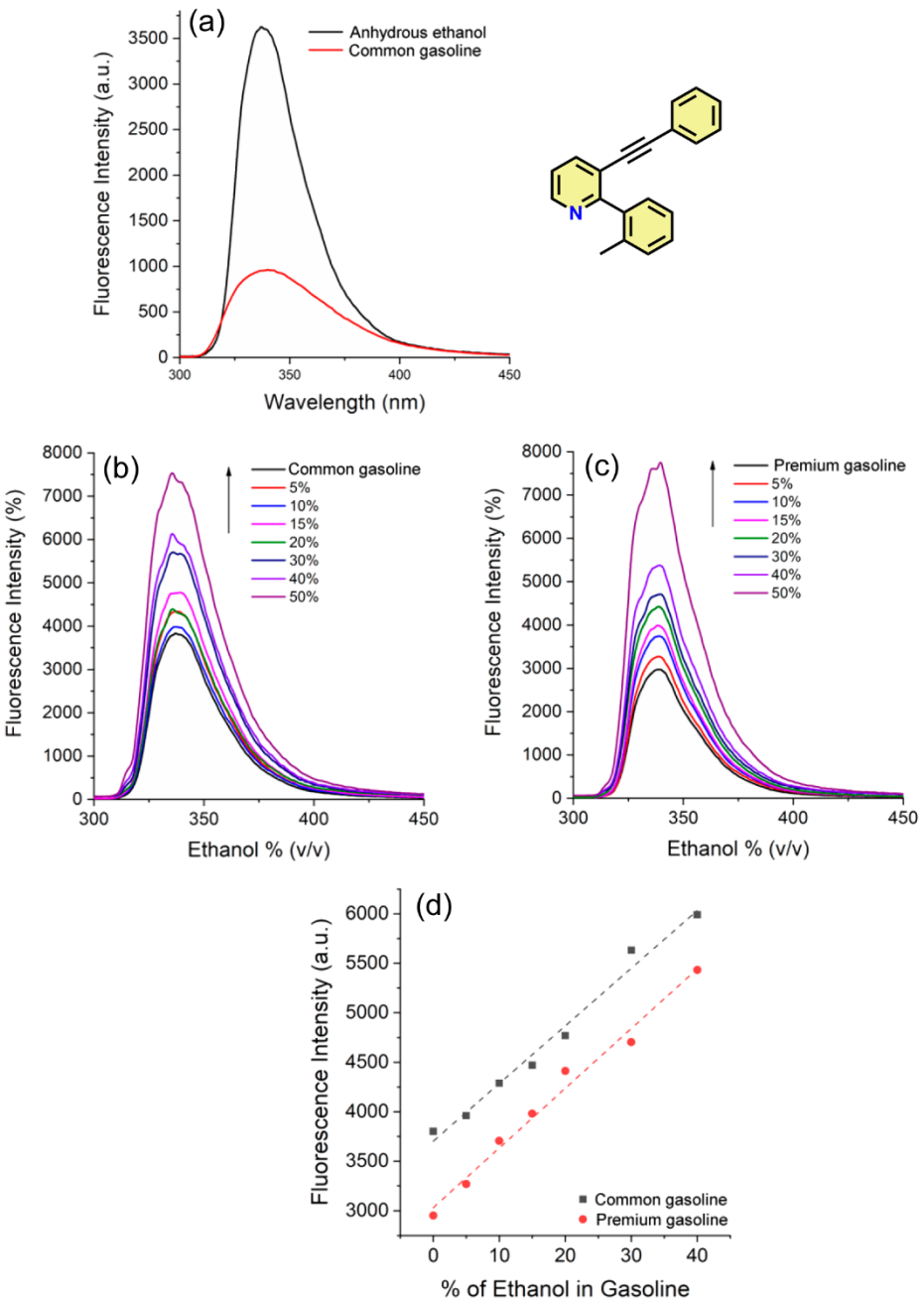


Figura 17. (a) Espectros de emissão de fluorescência em estado estacionário da piridina 3f em etanol anidro e em gasolina comercial de referência [10^{-5} M], e perfis de titulação de fluorescência em (b) gasolina comum e (c) gasolina premium após adições sucessivas de etanol anidro. (d) Dependência linear da intensidade de fluorescência com o teor de etanol (%) na gasolina comum (R^2 = 0,984) e na gasolina premium (R^2 = 0,985). Adaptado da ref. 36.

Um estudo conduzido em 2025 empregou a Cumarina 153 (C-153) como sonda para a detecção de álcoois em amostras de biodiesel provenientes de

diferentes fontes de matéria-prima. A detecção de etanol em biodiesel de soja demonstrou um limite de detecção (LOD) de 0,23%,[41] comparável ao de sondas fluorescentes em fase de solução de geração anterior, porém superior ao de sensores ratiométricos (**Tabela 1**). A C-153 apresenta máximo de absorção em aproximadamente 407 nm independentemente da origem do biodiesel, com deslocamentos batocrômicos de até 15 nm mediante a adição de etanol, impulsionados pelas alterações de polaridade do meio.

A emissão de fluorescência em biodiesel puro ocorre próximo a 490 nm, e a adição de álcool produz deslocamentos batocrômicos expressivos de até 49 nm no metanol, 42 nm no etanol e 34 nm no propanol em biodiesel de soja, atribuídos predominantemente à formação de ligações de hidrogênio no estado excitado entre o grupo carbonila da C-153 e as moléculas de álcool. A expressiva variação do momento de dipolo entre o estado fundamental e o estado excitado (de 6,55 D em S0 para 14,48 D em S1) é o principal fator responsável pelo pronunciado solvatocromismo positivo; mesmo 1% v/v de álcool em biodiesel produz um deslocamento batocrômico detectável de aproximadamente 9 nm, acompanhado de uma transição multicolorida visível de ciano para amarelo-esverdeado e amarelo sob iluminação UV a 365 nm, conforme ilustrado nas fotografias das **Figura 18a-c**.[41] A resposta espectral ratiométrica da C-153 posiciona-a como uma ferramenta versátil aplicável ao controle de qualidade na produção de biodiesel independentemente da origem da matéria-prima.

A fotoestabilidade da sonda sob irradiação UV contínua e sua resposta praticamente instantânea à adição de álcool reforçam sua utilidade prática para monitoramento in situ sem necessidade de instrumentação especializada. Cálculos teóricos com modelos de solvatação explícita-implícita corroboraram os dados experimentais, identificando as ligações de hidrogênio entre os álcoois e a sonda como o mecanismo responsável pela sensibilidade de detecção.

Testes com biodiesel produzido a partir de soja, canola (**Figura 18a**), gergelim (**Figura 18b**) e milho (**Figura 18c**) demonstraram que a resposta da sonda permaneceu uniforme apesar das diferenças nos perfis de ácidos graxos entre as matérias-primas, conforme ilustrado pelo comportamento de emissão consistente e pelas transições de cor observadas em todas as matrizes. Esses resultados consolidam a C-153 como uma candidata viável ao monitoramento da qualidade do biodiesel de forma independente da origem da matéria-prima.[8]

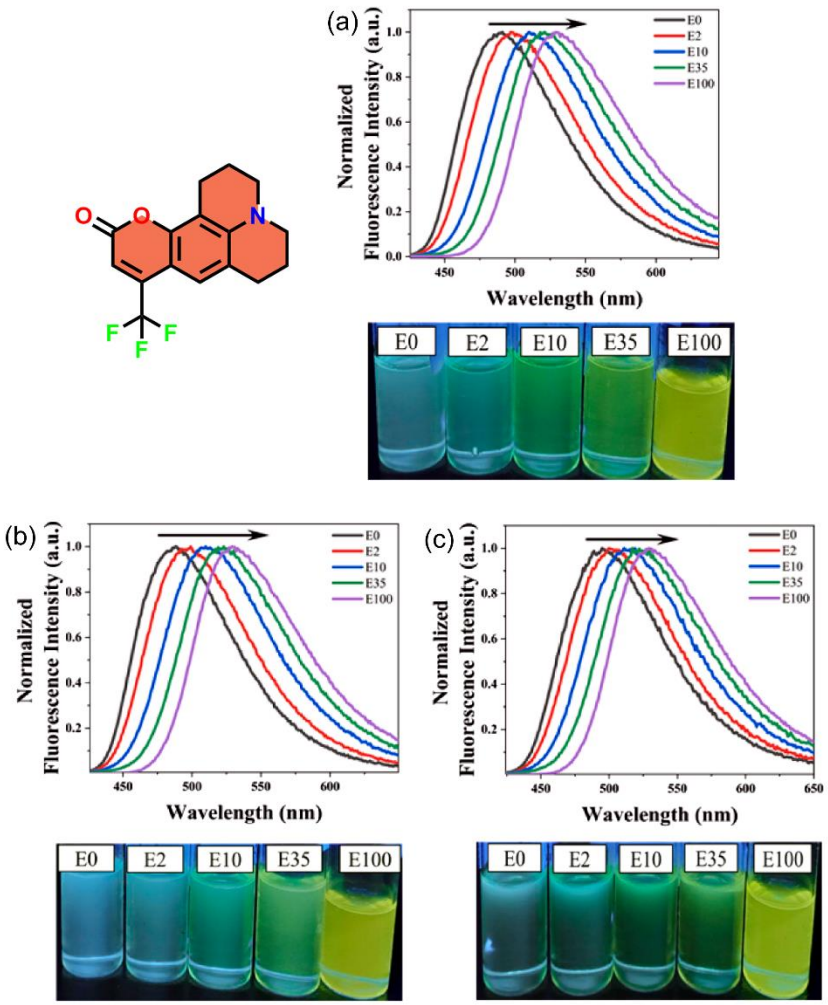


Figura 18. Espectros de emissão de fluorescência normalizados da C-153 em (a) biodiesel de canola, (b) biodiesel de gergelim e (c) biodiesel de milho com teores crescentes de etanol, e fotografias correspondentes obtidas sob iluminação UV a 365 nm, ilustrando a transição de emissão multicolorida de ciano para amarelo com o aumento da proporção de etanol (0-100% v/v). A estrutura química da C-153 é apresentada para referência. Adaptado da ref. 41.

A **Tabela 1** demonstra a evolução das abordagens de detecção, desde métodos simples baseados em absorbância com os corantes de Reichardt em 2006 até plataformas de detecção multimodal mais sofisticadas. As sondas contemporâneas alcançam limites de detecção que abrangem duas ordens de magnitude (0,01-4%), com a variação atribuída principalmente ao formato de detecção (solução em comparação a tiras imobilizadas) em vez do mecanismo fotofísico. Três das sondas empregam detecção ratiométrica, oferecendo vantagens inerentes de autocalibração. Formatos aplicáveis em campo surgiram

após 2017, com tiras compatíveis com *smartphones* até espectrofotômetros portáteis possibilitando o monitoramento descentralizado da qualidade.

3.3.2 Metanol em biodiesel

A quantificação de metanol no biodiesel constitui um parâmetro crítico de qualidade decorrente da metodologia de produção. O processo de transesterificação converte triglicerídeos em ésteres metílicos de ácidos graxos utilizando metanol como reagente, empregando-se excesso estequiométrico para deslocar o equilíbrio em direção à formação do produto. Os procedimentos padrão de purificação, incluindo evaporação rotativa e lavagem aquosa, não eliminam completamente o metanol residual. O limite de 0,2% m/m estabelecido pela EN-14214 e pela ANP é justificado por preocupações com a redução do ponto de fulgor,[a] a corrosão de componentes metálicos e o aumento da higroscopicidade nos sistemas de combustível.[7,8] Os métodos analíticos devem apresentar capacidade de detecção abaixo desse limite regulatório e, ao mesmo tempo, discriminar o metanol da composição heterogênea do biodiesel, que inclui ésteres metílicos de ácidos graxos, glicerol residual e compostos com diferentes graus de insaturação carbono-carbono. O desenvolvimento de sondas entre 2018 e 2023 atendeu consistentemente a esse requisito, conforme detalhado na **Tabela 2**.

[a] Menor temperatura na qual um líquido libera vapores em quantidade suficiente para formar, com o ar, uma mistura inflamável que pode se inflamar momentaneamente na presença de uma fonte de ignição, como uma chama ou faísca.

Tabela 2. Sondas fotofísicas para a detecção de metanol em biodiesel.

Sonda	Método de Detecção	LOD v/v%	Tempo de Resposta	Vantagem Principal	Ref.
Flavonoide HOF	Fluorescência	0.039	Segundos	Ratiométrico	24
Flavonoide SHOF	Fluorescência	0.05	~60 s	-	17
Flavonoide NSHOF	Fluorescência	0.05	~60 s	-	
Pireno-terpiridina 1	Fluorescência	0.22*	Segundos	Tiras de papel, aplicável em campo	42
Imidazol-fenantridina 7	Fluorescência	0.0011*	Segundos	Ratiométrico, tiras de papel, aplicável em campo	19
TPEP4	Fluorescência	0.013	0,5 s	Detecção em dupla fase (líquido e vapor)	31
TPA-TP	Fluorescência	0.052*	Segundos	Tiras de papel, aplicável em campo	43

*Valores de LOD foram determinados em solução

Os primeiros esforços de detecção, em 2018, empregaram sondas ESIPT baseadas em flavonoides para a quantificação ratiométrica de metanol (**Figura 19a**). O corante flavonoide HOF (**Tabela 2**) demonstrou emissão dupla oriunda dos estados excitados normal e do tautômero, e a razão de intensidade entre as duas bandas correlaciona-se linearmente com a concentração de metanol, proporcionando detecção ratiométrica. O mecanismo de sensibilização envolve a formação de ligações de hidrogênio intermoleculares entre as moléculas de álcool e os grupos carbonila e hidroxila do HOF, interrompendo a via de ESIPT e, consequentemente, suprimindo a banda do tautômero.

No biodiesel B100 puro à base de soja, o HOF apresentou uma banda dominante do tautômero em 560 nm e uma emissão normal mais fraca próxima a 465 nm.[24] A adição progressiva de metanol inverteu esse balanço, com a emissão normal ganhando intensidade e sofrendo deslocamento batocrômico, enquanto a banda do tautômero era progressivamente suprimida, conforme ilustrado na **Figura 19b**. O sinal ratiométrico atingiu aproximadamente dez vezes seu valor inicial com 10% de metanol, com correlação linear (R^2 = 0,9859), e a resposta foi imediata após a adição do álcool (**Figura 19c**).

O método alcançou um limite de detecção de 0,039% v/v em biodiesel comercial, comparável aos métodos voltamétrico e de infravermelho próximo, oferecendo ainda a vantagem adicional de leitura a olho nu por meio da mudança de cor visível, com transição da emissão amarela para verde sob iluminação UV, e saída multicanal por meio de três leituras analíticas independentes: posição espectral, intensidade de emissão e tempo de vida de fluorescência.

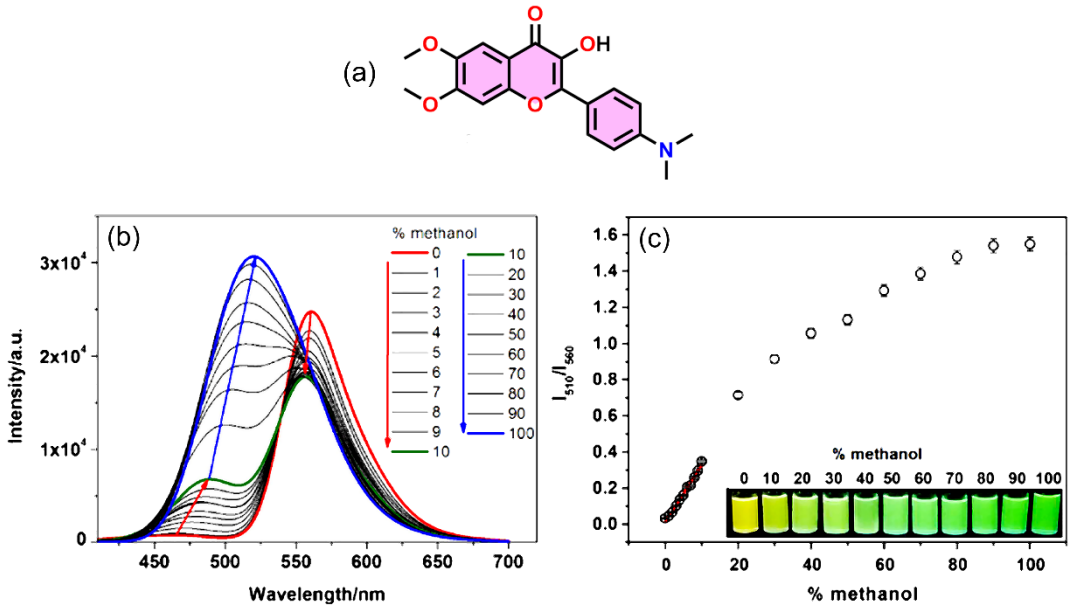


Figura 19. (a) Estrutura química da sonda HOF. (b) Espectros de fluorescência de HOF ($1,0\times10^{-5}$ mol·L^{-1}) registrados em misturas biodiesel/metanol contendo frações volumétricas crescentes de metanol (fv, 0-100%). (c) Razão de intensidade de fluorescência (I_{510}/I_{560}) de HOF em função da fração volumétrica de metanol. Inserção: fotografias de HOF em misturas biodiesel/metanol com diferentes proporções de metanol (0-100%) sob iluminação com lâmpada UV portátil (~365 nm). Os dados são expressos como média ± DP (n = 3). Adaptado da ref. 24.

A sensibilidade de detecção avançou em 2020 por meio de modificações na arquitetura das sondas de ICT.[17] A extensão da conjugação eletrônica na estrutura do fluoróforo é uma estratégia eficaz para aumentar o momento de dipolo de transição. Esse conceito é ilustrado na **Figura 20a**, na qual uma unidade etileno é introduzida para estender o sistema π conjugado das sondas baseadas em flavonoides SHOF e NSHOF. Ao aumentar a separação espacial entre as unidades doadoras e aceptoras, essa modificação estrutural eleva esse parâmetro de aproximadamente 12,5 D para valores superiores a 15 D. Como resultado, as sondas exibem respostas solvatocrômicas sensivelmente mais intensas e maior sensibilidade às variações de polaridade em meios complexos como o biodiesel.

Os derivados flavonoides SHOF e NSHOF incorporam uma unidade estirila na ponte conjugada que conecta os grupos doador e aceptor. Ambos os

derivados operam por um mecanismo de emissão de banda única, pois a unidade estirila introduz uma ligação com livre rotação que facilita o relaxamento não radiativo e suprime o equilíbrio de ESIPT, mesmo em solventes de baixa polaridade.

Com a adição progressiva de metanol ao biodiesel comercial B100 de base soja, o NSHOF exibiu um deslocamento batocrômico de 44 nm na faixa de 0-10% de metanol, acompanhado de uma mudança multicolorida de verde para amarelo e vermelho sob irradiação a 365 nm (**Figura 20b** e **Figura 20c**). Ambas as sondas forneceram curvas de calibração lineares nessa faixa de concentração, com $R^2 > 0,9968$. Os limites de detecção, determinados pelo critério S/R = 3, foram de 0,042% para o SHOF e 0,041% para o NSHOF, ambos bem abaixo do limite de 0,20% (m/m) estabelecido pela EN-14214. Estudos de recuperação, empregando cromatografia gasosa como método de referência, confirmaram a exatidão de ambas as sondas, com recuperações para amostras enriquecidas entre 88 e 102% e desvio padrão relativo entre 0,2 e 4,5%, demonstrando assim a viabilidade prática de ambas para o controle de qualidade rotineiro do biodiesel.[17]

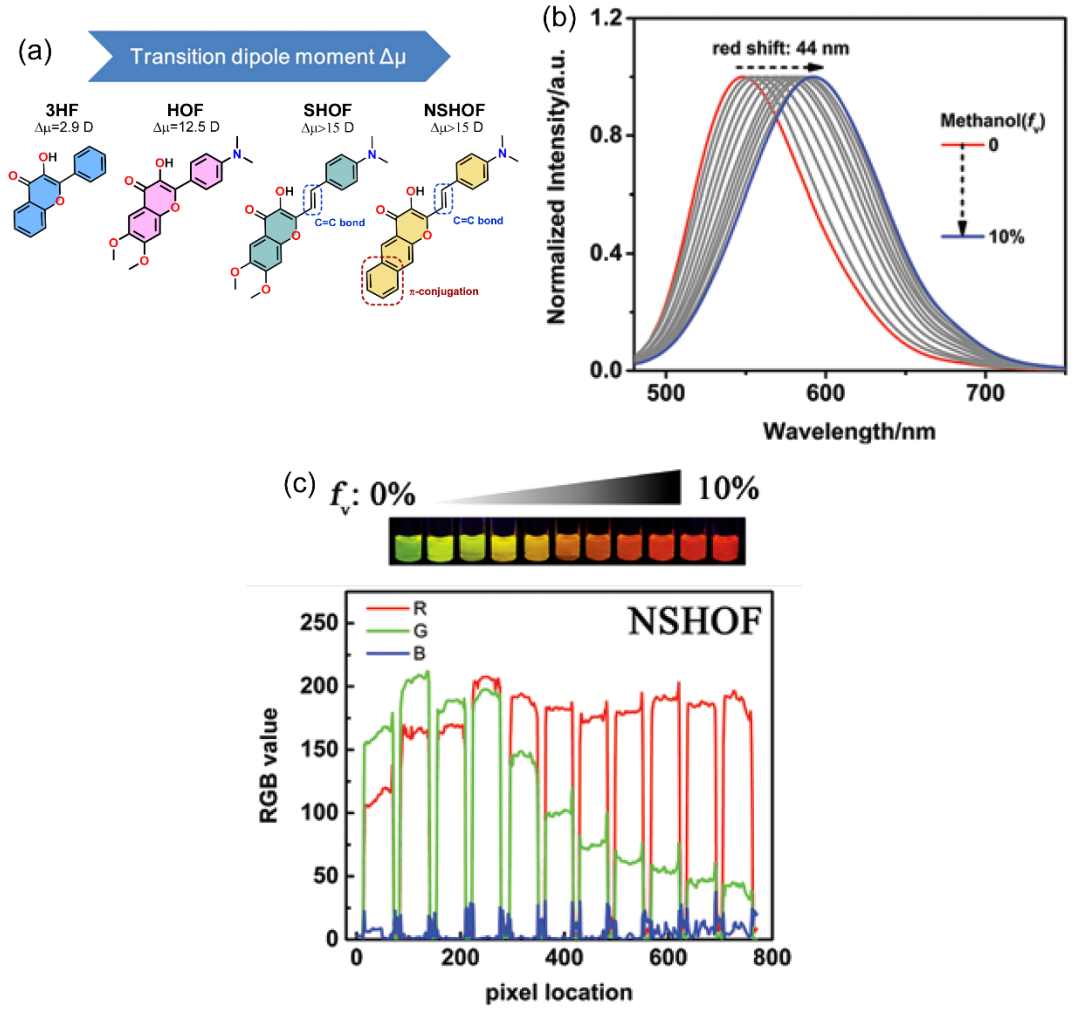


Figura 20. (a) Estruturas químicas das sondas baseadas em flavonoides HOF, SHOF e NSHOF, e seus respectivos momentos de dipolo de transição. (b) Espectros de fluorescência normalizados e (c) variações correspondentes nos valores RGB do NSHOF em biodiesel com titulação de metanol, ilustrando a resposta espectral aprimorada e a melhor discriminação de cores. Adaptado da ref. 17.

Em 2021, foram introduzidas arquiteturas alternativas de ICT. As sondas de pireno-terpiridina exploraram a transferência de carga induzida por ligação de hidrogênio combinada à planarização conformacional.[42] As sondas apresentaram absorção ampla em torno de 340 nm, com emissão exibindo estrutura vibrônica fina característica do pireno em torno de 410 nm em solventes apolares, progressivamente alargada e deslocada para o vermelho com o aumento da polaridade do solvente, com deslocamentos de Stokes variando de 3449 cm^{-1} em n-hexano a 5424 cm^{-1} em acetonitrila. Em metanol, uma banda de

emissão ampla e sem estrutura surgiu em comprimentos de onda consideravelmente maiores, com deslocamento de Stokes atingindo 6767 cm^{-1}, acompanhada de redução do rendimento quântico e diminuição do tempo de vida de fluorescência. A ligação de hidrogênio do metanol com a unidade terpiridina modulou o estado de ICT e produziu deslocamentos de emissão mensuráveis.

A seletividade da pireno-terpiridina 1 para metanol em relação a outros solventes alcoólicos é ilustrada na **Figura 21a**, na qual o máximo de emissão da sonda desloca-se progressivamente para comprimentos de onda menores à medida que o comprimento da cadeia alquílica do álcool aumenta, com o metanol produzindo o maior deslocamento para o vermelho dentre todos os álcoois examinados. Essa tendência é consistente com a capacidade doadora de ligação de hidrogênio dos solventes, com o metanol exibindo o maior valor de α (α = 0,98) na série. À medida que a cadeia alquílica se torna mais longa, as forças de dispersão de London entre as moléculas do solvente passam a predominar sobre as interações de ligação de hidrogênio, enfraquecendo a interação do solvente com os átomos de nitrogênio da terpiridina.

Em metanol, onde os efeitos de dispersão são menos pronunciados, a ligação de hidrogênio com os nitrogênios da terpiridina no estado excitado promove a planarização conformacional da sonda (**Figura 21b**). Esse efeito estrutural intensifica o caráter de transferência intramolecular de carga e resulta no pronunciado deslocamento batocrômico de 1242 cm^{-1} observado em relação ao n-hexano.

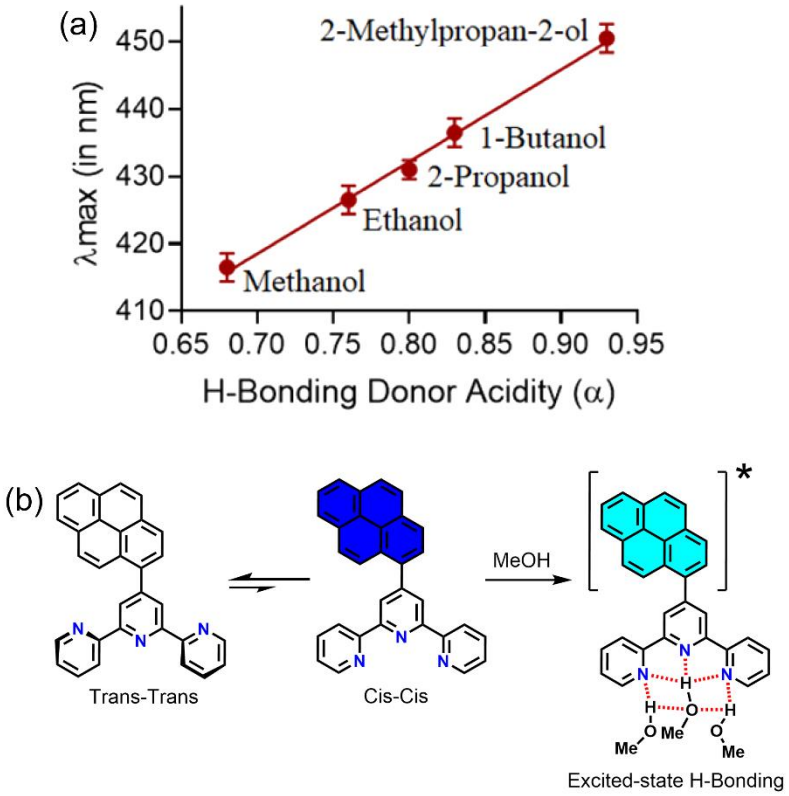


Figura 21. (a) Comparação dos máximos de emissão de fluorescência da pireno-terpiridina 1 (10 μM) em diferentes álcoois. (b) Estrutura química da pireno-terpiridina 1 na conformação trans-trans e diagrama esquemático da ligação de hidrogênio no estado excitado entre os nitrogênios da terpiridina e o metanol, levando à planarização conformacional. Adaptado da ref. 42.

O design multicromofórico permitiu uma emissão de transferência de carga distinta de sistemas doador-aceptor convencionais[42]. O sistema apresentou excelente desempenho analítico, com respostas de fluorescência lineares dependentes da fração volumétrica de metanol (**Figura 22a**). Uma vez iniciada a adição de metanol, a resposta fluorescente permaneceu estável por pelo menos 30 minutos, melhorando a relação sinal-ruído e a confiabilidade do método. Para a análise de biodiesel em condições reais, estudos de interferência revelaram impacto mínimo de subprodutos comuns da transesterificação: monoglicerídeos (MGs) e diglicerídeos (DGs) presentes nos níveis máximos permitidos (0,8% e 0,2%, respectivamente) induziram erros de detecção de apenas 0,33% e 0,26%. O sistema de detecção em tiras de papel de baixo custo demonstrou uma transição gradual de cor azul para ciano com o aumento da

fração de metanol até 50% (**Figura 22b**), viabilizando o controle de qualidade em campo. Em conjunto, a sonda atingiu um LOD de 0,13% v/v em misturas de solventes e 0,22% v/v em amostras de biodiesel B100, com a resposta específica para metanol atribuída à combinação única de planarização conformacional e intensificação do ICT no estado excitado.

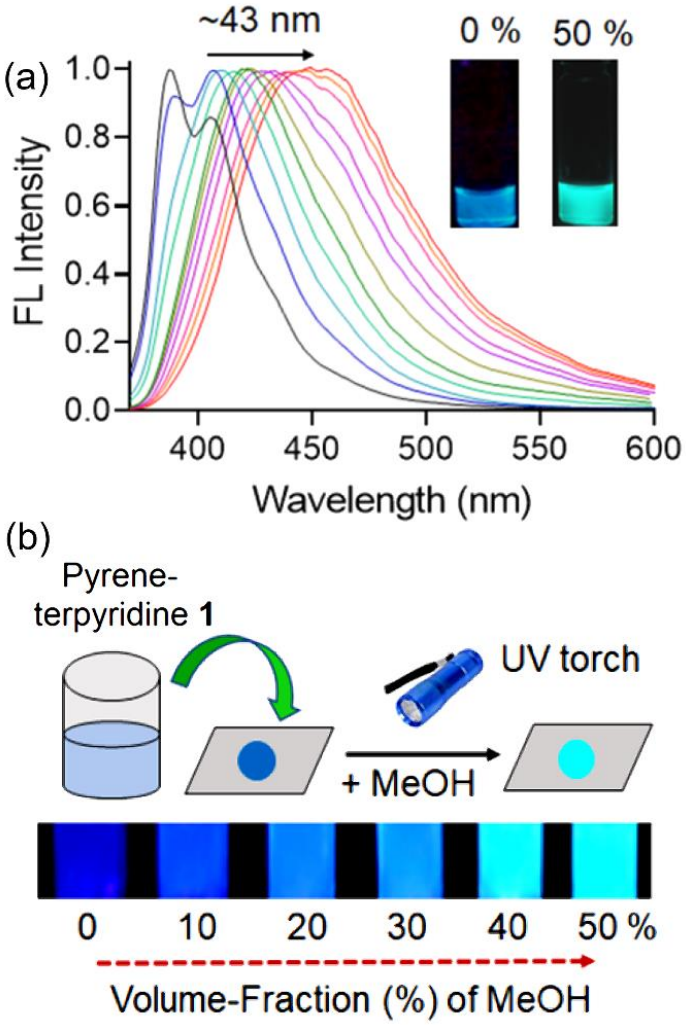


Figura 22. (a) Espectros de fluorescência da pireno-terpiridina 1 (10 μM, λ_{ex} 340 nm) em mistura benzeno-metanol (0-50%) com diferentes frações volumétricas de metanol e (b) tiras de papel revestidas com a sonda 1 utilizadas para detecção fluorimétrica de metanol (sob lâmpada UV >365 nm). Adaptado da ref. 42.

Nesse mesmo ano, derivados de imidazol-fenantridina possibilitaram o monitoramento ratiométrico por meio de bandas de emissão dupla em 333 nm e 462 nm,[19] com um limite de detecção de 0,0011% (aproximadamente 180 vezes abaixo do limite regulatório de 0,20%), representando a maior sensibilidade

dentre as sondas compiladas na **Tabela 2**. Nesse mecanismo de detecção, o metanol perturba o processo de ICT por ligação de hidrogênio, aumentando a razão de intensidade I_{333}/I_{462} em correlação direta com a concentração de metanol. A formação de ligação de hidrogênio intermolecular entre o grupo carbonila da sonda e o grupo hidroxila do metanol enfraquece o caráter aceptor de elétrons do grupo aldeído (**Figura 23a**), reduzindo a eficiência do ICT e produzindo um deslocamento hipsocrômico da emissão enquanto a banda original de ICT diminui gradualmente.

Os derivados de imidazol-fenantridina absorvem na faixa de 256 a 376 nm e exibem solvatocromismo positivo, com emissão deslocando-se de aproximadamente 449 nm em tolueno para 535 nm em metanol, correspondendo a deslocamentos de até 86 nm e deslocamentos de Stokes entre 3100 e 8000 cm^{-1}.

Para aplicações práticas, o derivado imidazol-fenantridina 7 demonstrou eficácia tanto na análise de biodiesel quanto na detecção em tiras de papel. Com a introdução da matriz de biodiesel à solução da sonda, surgiu uma nova banda próxima a 330 nm, consistente com a formação de ligação de hidrogênio intermolecular no sítio aldeídico, e a emissão visível transitou de azul para amarelo sob iluminação UV, ilustrando a resposta ratiométrica da sonda em tolueno (**Figura 23b** e **Figura 23c**) e em acetato de etila (**Figura 23d** e **Figura 23e**) com adição incremental de metanol.

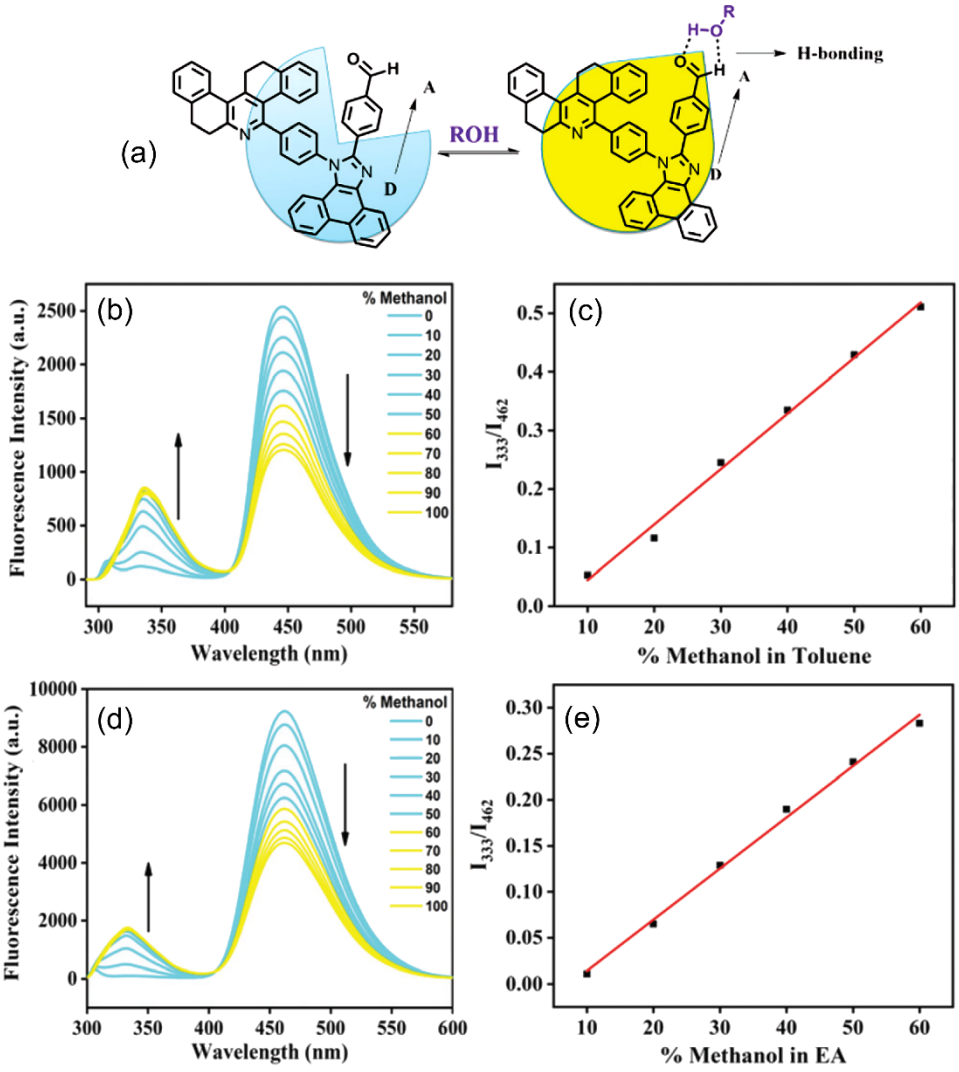


Figura 23. (a) Estrutura química do imidazol-fenantridina 7 e sua ligação de hidrogênio intermolecular com o metanol no grupo funcional aldeído. Espectros de fluorescência em (b) tolueno e (d) acetato de etila com adição crescente de metanol (0-100%), e relações lineares entre a razão I_{333}/I_{462} e o teor de metanol em (c) tolueno (R^2 =0,99459) e (e) acetato de etila (R^2 = 0,99575). Reproduzido da ref. 19.

Investigações reportadas em 2023 exploraram mecanismos de detecção distintos das abordagens convencionais de ICT. A sonda à base de tetrafeniletileno TPEP4 (**Tabela 2**) explorou o fenômeno de emissão induzida por agregação aprimorada (AIEE) para quantificar metanol em biodiesel com limite de detecção de 0,013%.[31] A TPEP4 absorve na faixa de 330 a 352 nm em todos os solventes avaliados, absorção atribuída à transição π-π* do núcleo TPE. Em solventes não aromáticos, a emissão aparece em aproximadamente 542 nm,

enquanto em solventes aromáticos como o-diclorobenzeno a emissão é substancialmente mais intensa, com rendimento quântico de fluorescência em torno de 13%. Em metanol, a emissão é praticamente suprimida.

Conforme ilustrado na **Figura 24a**, a seletividade para o metanol decorre de um mecanismo de "chave-fechadura", no qual uma ligação de hidrogênio intramolecular de cinco membros entre o N-H da amida e o nitrogênio da piridina diminui os graus de liberdade da estrutura molecular e sustenta a fluorescência. O metanol, em razão de sua maior capacidade doadora de prótons e menor impedimento estérico em relação a álcoois de cadeia maior, é capaz de romper essa restrição conformacional por meio da formação de ligações de hidrogênio intermoleculares com o grupo carbonila da amida. Essa interação desfaz o "bloqueio" intramolecular, restaura a livre rotação dos anéis fenílicos do TPE e, consequentemente, suprime a emissão.

A TPEP4 apresentou tempo de resposta inferior a um segundo (0,5 s) e seletividade marcante para o metanol em relação a outros álcoois. Como mostrado na **Figura 24b**, a banda de emissão em 530 nm sofreu perda progressiva de intensidade com a adição de metanol, acompanhada de leve deslocamento hipsocrômico atribuído à fluorescência intrínseca do biodiesel. A adição de 130 µL de metanol em 2 mL de B100 reduziu a intensidade em aproximadamente 70%, com resposta linear entre 0,5% e 2,5% e LOD de 0,013% (**Figura 24c**).

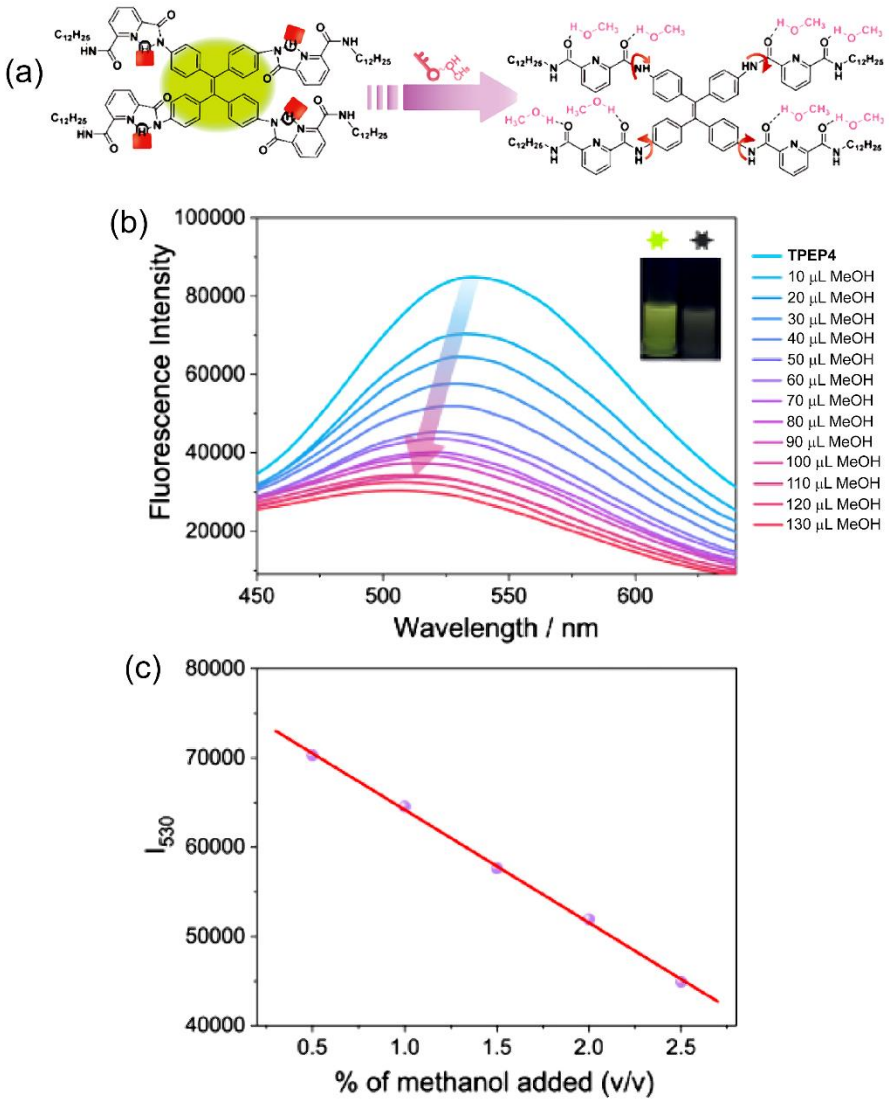


Figura 24. (a) Estrutura química da TPEP4 e mecanismo de detecção de metanol baseado em AIE, ilustrando a ligação de hidrogênio intramolecular entre o N-H da amida e o nitrogênio da piridina. (b) Espectros de emissão em biodiesel B100 (10 μM) com adição crescente de metanol sob iluminação UV a 365 nm. (c) Relação linear entre a intensidade de emissão e a concentração de metanol (R^2 = 0,9994). Adaptado da ref. 31.

Também em 2023, sondas à base de trifenilamina-terpiridina (TPA-TP) exploraram processos de transferência de carga intramolecular com torção (TICT), atingindo limite de detecção de 524 ppm para metanol em biodiesel,[43] com detecção seletiva baseada em variações de fluorescência dependentes da polaridade do meio. Ao ser avaliada em uma série de álcoois (metanol, etanol, isopropanol, butanol e propilenoglicol), a TPA-TP exibiu dependência sistemática

tanto do comprimento de onda de emissão quanto da intensidade da banda com a identidade do solvente (**Figura 25a**). Essa resposta, correlacionada com a acidez do álcool, origina-se de ligações de hidrogênio intermoleculares entre os átomos de nitrogênio da terpiridina e o grupo hidroxila do solvente. Essa interação promove uma transição conformacional de s-trans para s-cis, modulando a eficiência da transferência de carga intramolecular (ICT) de acordo com a capacidade doadora de prótons do álcool. A emissão mais fraca foi observada no solvente mais ácido, intensificando-se progressivamente à medida que a acidez decresce na série até o 2-propanol (**Figura 25b**). Além da detecção em solução, foi desenvolvida uma tira de papel de filtro Whatman que permitiu a discriminação visual do teor de metanol por meio de mudanças de cor de emissão visíveis a olho nu.

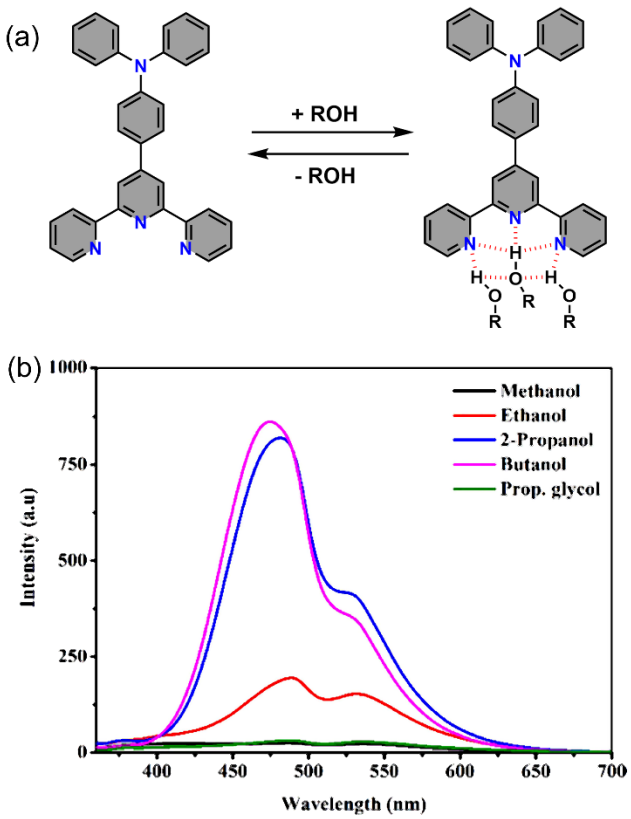


Figura 25. (a) Estrutura química da TPA-TP e interações de ligação de hidrogênio com solventes alcoólicos. (b) Espectros de fluorescência da TPA-TP em metanol, etanol, 2-propanol, butanol e propilenoglicol. Adaptado da ref. 43.

A progressão de 2018 a 2023 reflete uma melhoria sistemática na sensibilidade e na seletividade de detecção. As primeiras sondas ESIPT estabeleceram os princípios da detecção ratiométrica, ao passo que os desenvolvimentos subsequentes baseados em ICT ampliaram a sensibilidade por meio da otimização do design molecular. Os sistemas mais recentes atingem limites de detecção bem abaixo dos limiares regulatórios (10 a 100 vezes inferiores ao exigido), com valores que variam de 0,0011% (imidazol-fenantridina) a 0,22% (pireno-terpiridina), conforme indicado na **Tabela 2**. Esses sistemas demonstram seletividade frente a potenciais interferentes e oferecem múltiplas modalidades de detecção, incluindo análise ratiométrica, supressão de fluorescência e deslocamentos de comprimento de onda. O surgimento de formatos em tiras de papel viabilizou testes no ponto de uso sem necessidade de infraestrutura laboratorial, ampliando a aplicabilidade prática no controle de qualidade do biodiesel. A diversidade de mecanismos fotofísicos permite a escolha de sondas otimizadas para requisitos analíticos específicos, disponibilidade de instrumentos e características da amostra.

3.3.3 Outros adulterantes

A detecção de adulterantes além do etanol e do metanol envolve complicações decorrentes de condições econômicas regionais e dos respectivos marcos regulatórios. A água em combustíveis etanólicos e o querosene adicionado ao diesel ou à gasolina representam tipos de contaminação fortemente influenciados por controles de preços e políticas locais. As especificações brasileiras permitem que o etanol hidratado contenha até 7,5% m/m de água,[2] estabelecendo a necessidade de métodos analíticos capazes de confirmar a conformidade regulatória e, ao mesmo tempo, identificar níveis excessivos de umidade. Em mercados como o indiano e outros em economias em desenvolvimento, o querosene é fortemente subsidiado, gerando motivação econômica para a adulteração do diesel[5]. A detecção desses adulterantes requer sondas projetadas em torno de suas propriedades físicas e comportamento químico específicos. As estratégias de detecção para água e querosene foram desenvolvidas entre 2015 e 2019, conforme resumido na **Tabela 3**.

Tabela 3. Sondas fotofísicas para a detecção de outros adulterantes em combustíveis.

Sonda	Método de Detecção	Adulterante Alvo	Matriz	LOD v/v%	Tempo de Resposta	Vantagem Principal	Ref.
8-Anilinonaftaleno-1-sulfônico (ANS)	Fluorescência	Água	Etanol	-	Segundos	Requer análise multivariada por Mínimos Quadrados Parciais (PLS)	38
4-DNS-OH	Fluorescência	Querosene	Gasolina	7	Segundos	Leitor de smartphone com aplicativo dedicado, tiras de papel, aplicável em campo	20
Trifenilamina 2 (em solução)	Fluorescência	Querosene	Gasolina	5.4	-	-	18
Trifenilamina 2 (em tiras M3)	Fluorescência	Querosene	Gasolina	19	~60 s	Tiras descartáveis compatíveis com smartphone, aplicáveis em campo	

Os primeiros esforços de detecção nessa categoria, em 2015, empregaram o ácido 8-anilinonaftaleno-1-sulfônico (ANS) para a quantificação de água em combustível etanólico por meio de supressão de fluorescência por transferência eletrônica (**Figura 26a**).[38] Como mostrado na **Figura 26a**, o ANS exibe emissão máxima em 473 nm no etanol puro. Com o aumento da fração de água de 0 a 50% v/v, a intensidade de emissão diminui e a banda desloca-se para comprimentos de onda maiores. A regressão direta entre intensidade de emissão e teor de água não produziu um modelo de calibração robusto em toda a faixa de concentração avaliada. A integração com a análise multivariada por Mínimos Quadrados Parciais (PLS) contornou essa limitação, permitindo a quantificação precisa por meio de algoritmos de reconhecimento de padrões.[38] O procedimento analítico baseado em PLS atingiu excelentes parâmetros estatísticos: R^2 = 0,999, erro quadrático médio de calibração (RMSEC) de 0,46%, e erros quadráticos médios de predição (RMSEP) de 1,087% e 1,541% para os conjuntos de validação com água tridestilada e água subterrânea, respectivamente, demonstrando forte concordância entre os valores preditos e os reais na etapa de validação cruzada interna (**Figura 26b**). O método foi validado na faixa de 2,5 a 22,5% de água, responsável por mais de 99,9% da variância nos dados espectrais e de concentração. A validação com amostras de água tridestilada e subterrânea demonstrou robustez do método frente a variações na origem da água. O procedimento oferece uma abordagem direta e rápida, sem necessidade de preparo complexo de amostra, para o monitoramento da adulteração por água em combustíveis etanólicos.

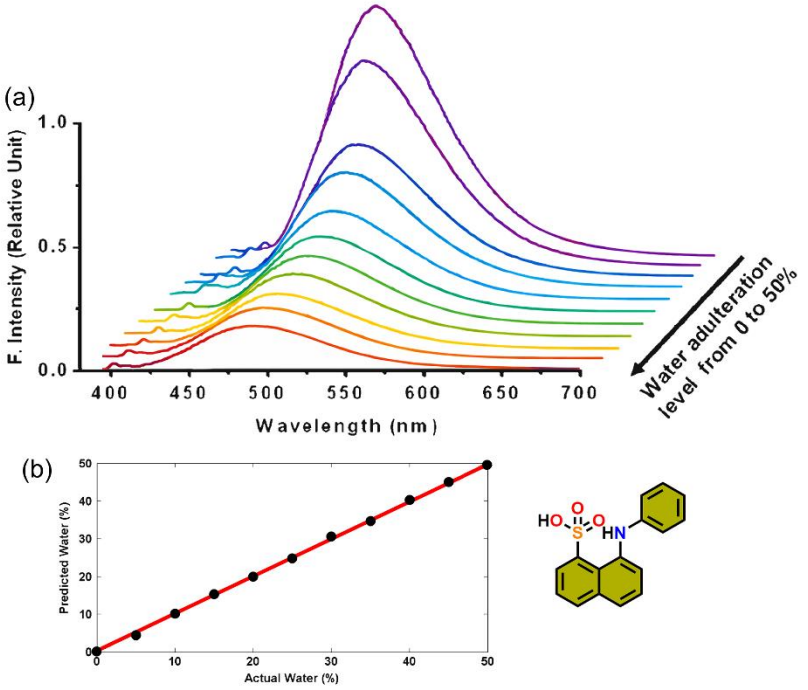


Figura 26. (a) Espectros de fluorescência do ANS em etanol com adição crescente de água (0-50% v/v). (b) Valores preditos pelo modelo PLS em comparação aos valores reais de teor de água. A estrutura química do ANS é apresentada para referência. Adaptado da ref. 38.

Em 2017, rotores moleculares baseados em TICT foram empregados para a detecção de querosene em diesel, explorando sua resposta a variações de viscosidade.[20] Dentre as diferentes classes de fluoróforos ativos em TICT, a família do 4-dimetilaminonitroestilbeno (4-DNS) destaca-se por suas características de absorção e emissão adequadas à detecção baseada em viscosidade. Essas sondas absorvem em torno de 430 nm e emitem próximo a 550 nm, e sua intensidade de fluorescência é fortemente dependente da viscosidade do meio. Em solventes de baixa viscosidade, a rotação intramolecular favorece a população do estado TICT, de fraca emissão, suprimindo a fluorescência; em meios viscosos, a rotação é impedida e a emissão intensa é restaurada.

Nessa família, a sonda 4-DNS-OH (**Figura 27a**) exibiu resposta de fluorescência claramente dependente da viscosidade. A intensidade de emissão aumentou de forma contínua com o comprimento da cadeia de n-alcanos, de pentano a pentadecano, acompanhando o aumento correspondente da

viscosidade cinemática (**Figura 27b**). A 4-DNS-OH exibiu fluorescência intensa na matriz de diesel, mais viscosa, e sua emissão diminuiu progressivamente com o aumento do teor de querosene e a consequente redução da viscosidade da mistura.

Essa estratégia de detecção baseada em viscosidade contribui para superar as limitações dos métodos espectroscópicos composicionais convencionais, cujo desempenho é frequentemente comprometido pela elevada similaridade química entre diesel e querosene.[20] O método baseia-se no contraste de viscosidade entre o diesel (v = 1,3-24,0 $mm^2 \cdot s^{-1}$) e o querosene (v = 1,64 $mm^2 \cdot s^{-1}$), em que a adição de querosene reduz a viscosidade da mistura e atenua o sinal de fluorescência pelo aumento da população do estado TICT. Os efeitos de temperatura sobre a intensidade de emissão puderam ser corrigidos com facilidade. A 24 °C, a adição progressiva de querosene reduziu a intensidade de emissão a 55% daquela medida no diesel puro.

Quando imobilizada em tiras de papel de filtro de celulose imersas em misturas de composição variada, a 4-DNS-OH exibiu deslocamento hipsocrômico progressivo de 550 para 515 nm, acompanhado de diminuição na intensidade integrada de fluorescência à medida que o teor de querosene aumentava (**Figura 27c**). Uma forte relação linear foi estabelecida entre a composição da mistura e a fluorescência das tiras em toda a faixa diesel/querosene, com R^2 = 0,997 e desvio padrão de 2,5%, confirmando a adequação do método para análise quantitativa.

O limite de detecção de 7% (v/v) de querosene em diesel é comparável ao dos métodos normativos consolidados, como a cromatografia a gás com detector de ionização por chama (GC-FID). A avaliação na presença de interferentes comuns mostrou que solventes apolares de baixa viscosidade, como hexano e cicloexano, tiveram efeitos negligenciáveis sobre o sinal, ao passo que meios polares, incluindo etanol e água, suprimiram a emissão de forma significativa ao favorecer a população do estado TICT. Esses resultados reforçam que a sonda responde primariamente à viscosidade, e não à polaridade.

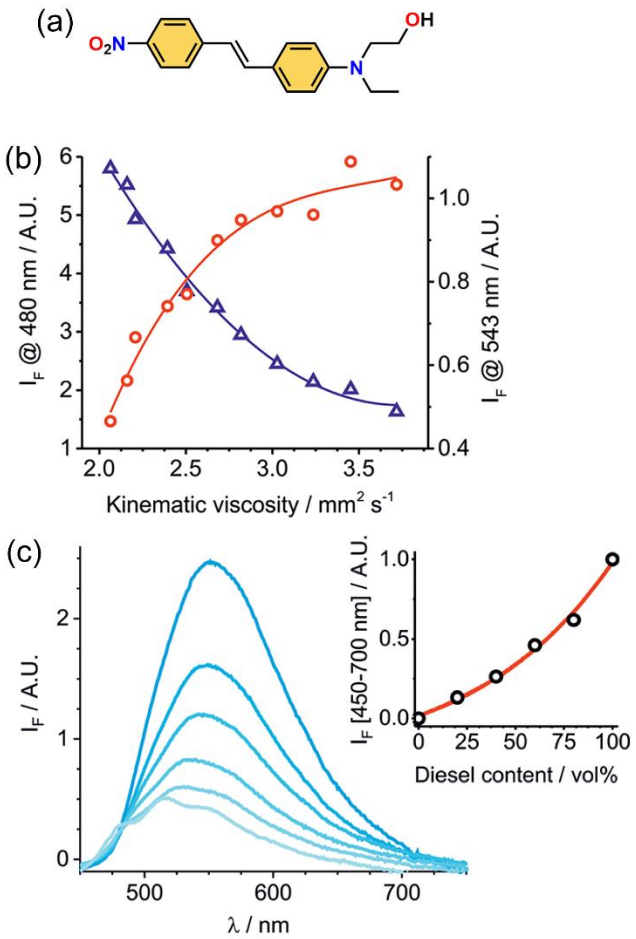


Figura 27. (a) Estrutura molecular da sonda 4-DNS-OH. (b) Intensidade de emissão de fluorescência da 4-DNS-OH em 480 nm (triângulo) e 543 nm (círculo) em função da viscosidade cinemática da mistura diesel/querosene. (c) Emissão de fluorescência de tiras de papel impregnadas com 4-DNS-OH para a faixa completa de composições da mistura diesel/querosene, com detalhe da curva de calibração linear da intensidade de emissão integrada em função da fração de diesel (R^2 = 0,997). Adaptado da ref. 20.

Em 2019, a mesma trifenilamina 2 anteriormente discutida para a detecção de etanol foi avaliada para a adulteração por querosene, tanto em solução quanto em tiras M3 em estado sólido (**Tabela 3**).[18] A adição de querosene reduziu progressivamente a polaridade da mistura, provocando deslocamento hipsocrômico de até 24 nm no máximo de emissão, para 411 nm, com correlação linear em toda a faixa de composição da mistura gasolina/querosene (**Figura 12**). Em solução, a trifenilamina 2 atingiu limite de detecção de 5,4% v/v de querosene em gasolina por meio de medidas de

fluorescência ratiométrica. A implementação em tiras M3, combinada à detecção por smartphone, demonstrou limite de detecção de 19% v/v, representando redução de sensibilidade de aproximadamente 3,5 vezes em relação à detecção em solução. A passivação da superfície do suporte de celulose foi determinante para ampliar a faixa de trabalho das tiras em direção a matrizes apolares, possibilitando a quantificação de querosene com erros entre 1 e 6% v/v em amostras reais de combustível.

Essas aplicações de detecção demonstram a adaptabilidade das estratégias baseadas em sondas fluorescentes a cenários de adulteração distintos dos amplamente estudados casos do etanol e do metanol. A detecção de água exigiu integração com análise multivariada por PLS para contornar as respostas não lineares de fluorescência, enquanto a detecção de querosene explorou diferenças de propriedades físicas, em particular a viscosidade e a polaridade, em vez da composição química. Esses resultados consolidam a aplicação de sondas ópticas a adulterantes quimicamente distintos, com o ANS, a 4-DNS-OH e a trifenilamina 2 ilustrando a diversidade de propriedades físico-químicas da matriz passíveis de exploração nesse contexto.

5. Conclusão

Neste trabalho foram sintetizadas três hemicianinas derivadas de pireno e indolínio, denominadas **7a-7c**, por uma rota de três etapas. A rota envolveu síntese de Fischer, quaternização com iodetos de metila, butila e octila e condensação de Knoevenagel com o 1-pirenocarboxaldeído. Os três compostos diferem entre si apenas na cadeia *N*-alquila, escolhida para modular a solubilidade em meios apolares, e tiveram as estruturas confirmadas por RMN, infravermelho e espectrometria de massas. A caracterização fotofísica revelou dois domínios cromofóricos, sendo um das transições localizadas do núcleo pirenila e outro da banda de ICT do sistema pireno-indolínio, esta fortemente sensível à polaridade do meio. O estudo de estabilidade temporal evidenciou uma evolução espectral dependente da natureza do solvente, com atenuação progressiva da banda de ICT nos meios próticos e ausência do efeito em meio aprótico, sendo o composto **7c** o mais suscetível e o **7a** o mais estável. Observou-se ainda um deslocamento batocrômico da banda de ICT dependente da concentração, atribuído à agregação do tipo *J* dos cromóforos em solução.

A resposta ao teor de etanol foi avaliada em mistura modelo hexano/etanol e, como prova de conceito em matriz real, em gasolina purificada dopada com etanol. Em ambas as matrizes, a banda de excímero do núcleo pirenila mostrou-se o sinal analítico mais robusto para a quantificação, com coeficientes de determinação superiores a 0,99 para **7a** e **7b** nas condições ótimas em gasolina, em curvas exploratórias obtidas com réplica única. A leitura, contudo, depende da padronização do tempo de medida, em razão da desagregação lenta induzida pelo etanol. A banda de ICT, por sua vez, não forneceu calibração direta pela intensidade, em razão da resposta não linear, com inversão de tendência, e da deriva temporal do sinal. Já o deslocamento espectral dessa banda, embora concentre a variação na janela de interesse próxima de 30%, ainda apresenta ambiguidade local que limita seu uso imediato. O composto **7c** não foi quantificado em gasolina, por precipitar em $5{,}0\times10^{-5}$ mol·L^{-1}. Em conjunto, os resultados demonstram a viabilidade dos compostos **7a** e **7b** como sondas de excímero para a detecção de etanol em gasolina e apontam o refinamento das condições de medida e o aproveitamento do deslocamento da banda de ICT como perspectivas para a continuidade do trabalho.

Referências

1. J. Dadson, S. Pandam, N. Asiedu. Modeling the characteristics and quantification of adulterants in gasoline using FTIR spectroscopy and chemometric calibrations. Cogent Chemistry 2018, 4, 1482637.
2. Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP). Resolução nº 907/2022.
3. A.C.M. Bezerra, D.O. Silva, G.H.M. de Matos, J.P. dos Santos Jr., C.N. Borges, L. Silveira Jr., M.T.T. Pacheco. Quantification of anhydrous ethanol and detection of adulterants in commercial Brazilian gasoline by Raman spectroscopy. Instrumentation Science & Technology 2019, 47, 90-106.
4. P.F. Pereira, R.M.F. Sousa, R.A.A. Munoz, E.M. Richter. Simultaneous determination of ethanol and methanol in fuel ethanol using cyclic voltammetry. Fuel 2013, 103, 725-729.
5. A. Majhi, V.S. Kukerti, Y.K. Sharma, R. Khanna, A. Datta. The detection of kerosene as an adulterant in gasoline. Petroleum Science and Technology 2012, 30, 271-277.
6. Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP). Resolução nº 988/2025.
7. Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP). Resolução nº 920/2023.
8. NF EN 14214 (2019) Liquid petroleum products - Fatty acid methyl esters (FAME) for use in diesel engines and heating applications - Requirements and test methods.
9. B.P. Vempatapu, P.K. Kanaujia. Monitoring petroleum fuel adulteration: A review of analytical methods. TrAC Trends in Analytical Chemistry 2017, 92, 1-11.
10. Q. Ye, Q. Xu, Y. Yu, R. Qu, Z. Fang. Rapid and quantitative detection of ethanol proportion in ethanol-gasoline mixtures by Raman spectroscopy. Optics Communications 2009, 282, 3785-3788.
11. D.A. Skoog, F.J. Holler, S.R. Crouch. Em: Principles of Instrumental Analysis. Thomson, Brooks/Cole, Belmont, 2007.
12. D.L. Pavia, G.M. Lampman, G.S. Kriz, J.R. Vyvyan. Em: Introduction to Spectroscopy. Brooks/Cole, Cengage Learning, Belmont, 2009.

13. J.R. Lakowicz. Em: Principles of Fluorescence Spectroscopy. Springer, New York, 2006.
14. N.J. Turro, V. Ramamurthy, J.C. Scaiano. Em: Principles of molecular photochemistry: An introduction. University science books, Sausalito, 2009.
15. T. Weitner, T. Friganović, D. Šakić. Inner filter effect correction for fluorescence measurements in microplates using variable vertical axis focus. Analytical Chemistry 2022, 94, 7107-7114.
16. Y. Guan, M. Meurer, S. Raghavan, A. Rebane, J.R. Lindquist, S. Santos, I. Kats, M.W. Davidson, R. Mazitschek, T.E. Hughes, M. Drobizhev, M. Knop, J.V. Shah. Live-cell multiphoton fluorescence correlation spectroscopy with an improved large Stokes shift fluorescent protein. Molecular Biology of the Cell 2015, 26, 2054-2066.
17. T. Qin, B. Liu, B. Du, Y. Huang, G. Yao, Z. Xun, H. Xu, C. Zhao. Solvatofluorochromic flavonoid dyes with enlarged transition dipole moments enable the ratiometric detection of methanol in commercial biodiesel with improved sensitivities. Journal of Materials Chemistry C 2020, 8, 16808-16814.
18. R. Gotor, J. Bell, K. Rurack. Tailored fluorescent solvatochromic test strips for quantitative on-site detection of gasoline fuel adulteration. Journal of Materials Chemistry C 2019, 7, 2250-2256.
19. S. Sawminathan, S.K. Iyer. A new imidazole based phenanthridine probe for ratiometric fluorescence monitoring of methanol in biodiesel. New Journal of Chemistry 2021, 45, 6033-6041.
20. R. Gotor, C. Tiebe, J. Schlischka, J. Bell, K. Rurack. Detection of adulterated diesel using fluorescent test strips and smartphone readout. Energy Fuels 2017, 31, 11594-11600.
21. W. Weng, Z. Lin, H. Zhang, F. Niu, C. Wang, K. Hu, J. Guo. Effect of ESIPT-induced photoisomerization of keto-enamine linkages on the photocatalytic hydrogen evolution performance of covalent organic frameworks. JACS Au 2023, 3, 3391-3399.
22. H.C. Joshi, L. Antonov. Excited-state intramolecular proton transfer: A short introductory review. Molecules 2021, 26, 1475.

23. Y. Huang, J. He, T. Qin, X. Xiang, B. Liu, L. Wang. Fluorescence determination of ethanol-gasoline blends without the aid of excitation-emission matrix fluorescence. Chemistry Letters 2019, 48, 1383-1386.
24. T. Qin, B. Liu, Y. Huang, K. Yang, K. Zhu, Z. Luo, C. Pan, L. Wang. Ratiometric fluorescent monitoring of methanol in biodiesel by using an ESIPT-based flavonoid probe. Sensors and Actuators B: Chemical 2018, 277, 484-491.
25. C. Reichardt. Solvatochromic dyes as solvent polarity indicators. Chemical Review 1994, 94, 2319-2358.
26. K. Kumar, A.K. Mishra. Quantification of ethanol in petrol-ethanol blends: Use of Reichardt's ET(30) dye in introducing a petrol batch independent calibration procedure. Talanta 2012, 100, 414-418.
27. R. Budag, L. Giusti, V. Machado, C. Machado. Quality analysis of automotive fuel using solvatochromic probes. Fuel 2006, 85, 1494-1497.
28. V.G. Isoppo, E.S. Gil, P.F.B. Gonçalves, F.S. Rodembusch, A.V. Moro. Highly fluorescent lipophilic 2,1,3-benzothiadiazole fluorophores as optical sensors for tagging material and gasoline adulteration with ethanol. Sensors and Actuators B: Chemical 2020, 309, 127701.
29. J. Luo, Z. Xie, J.W.Y. Lam, L. Cheng, H. Chen, C. Qiu, H.S. Kwok, X. Zhan, Y. Liu, D. Zhu, B.Z. Tang. Aggregation-induced emission of 1-methyl-1,2,3,4,5-pentaphenylsilole. Chemical Communications 2001, 1740-1741.
30. J. Mei, N.L.C. Leung, R.T.K. Kwok, J.W.Y. Lam, B.Z. Tang. Aggregation-induced emission: together we shine, united we soar! Chemical Review 2015, 115, 11718-11940.
31. Q. Wang, H. Wu, Z. Wang, A. Gao, X. Cao. Rational design of AIEE sensor: Ultrafast detection of methanol in liquid and gaseous states with highly sensitive and selective performance. Dyes and Pigments 2023, 220, 111650.
32. D. Setiawan, A. Kazaryan, M.A. Martoprawiro, M. Filatov. A first principles study of fluorescence quenching in rhodamine B dimers: How can quenching occur in dimeric species? Physical Chemistry Chemical Physics 2010, 12, 11238-11244.
33. O.M. Obukhova, N.O. Mchedlov-Petrossyan, N.A. Vodolazkaya, L.D. Patsenker, A.O. Doroshenko. Stability of rhodamine lactone cycle in solutions: Chain-ring tautomerism, acid-base equilibria, interaction with Lewis acids, and fluorescence. Colorants 2022, 1, 58-90.

34. A. Vijayan, J. Prakash. Probe-based spectrophotometric quantification of petrol-ethanol fuel blends for field-able applications. Green Analytical Chemistry 2022, 3, 100043.
35. F. Zu, F. Yan, Z. Bai, J. Xu, Y. Wang, Y. Huang, X. Zhou. The quenching of the fluorescence of carbon dots: A review on mechanisms and applications. Microchimica Acta 2017, 184, 1899-1914.
36. T.J. Peglow, M.M. Vieira, N.B. Padilha, B.T. Dalberto, H.C. Silva Júnior, F.S. Rodembusch, P.H. Schneider. Pyridine-based small-molecule fluorescent probes as optical sensors for benzene and gasoline adulteration. Photochem 2023, 3, 109-126.
37. D.I. Cattoni, S.B. Kaufman, F.L.G. Flecha. Kinetics and thermodynamics of the interaction of 1-anilino-naphthalene-8-sulfonate with proteins. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics 2009, 1794, 1700-1708.
38. K. Kumar, A.K. Mishra. Application of partial least square (PLS) analysis on fluorescence data of 8-anilinonaphthalene-1-sulfonic acid, a polarity dye, for monitoring water adulteration in ethanol fuel. Journal of Fluorescence 2015, 25, 1055-1061.
39. India's Ethanol Journey is Unstoppable: Shri Hardeep Singh Puri. https://www.pib.gov.in/PressReleasePage.aspx?PRID=2154355&reg=3&lang=2 (2025).
40. P.D. Galgano, C. Loffredo, B.M. Sato, C. Reichardt, O.A. El Seoud. Introducing education for sustainable development in the undergraduate laboratory: Quantitative analysis of bioethanol fuel and its blends with gasoline by using solvatochromic dyes. Chemistry Education Research and Practice 2012, 13, 147-153.
41. D. Takkella, S. Sharma, K. Gavvala. Coumarin 153, A solvatochromic fluorescent probe, for analyzing the biodiesel blends derived from various feedstocks. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy 2025, 330, 125755.
42. N. Dey, S. Bhattacharya. Hydrogen bonding-induced unique charge-transfer emission from multichromophoric polypyridyl ligands: Ratiometric probing of methanol impurity in commercial biofuels. ACS Sustainable Chemistry & Engineering 2021, 9, 17078-17084.

43. K.P. Jose, S. Ravi, D.K. Sivadas, S.P. Anthony, V. Madhu. Fluorometric detection of methanol by using triphenylamine fluorophore tethered terpyridine probe. ChemistrySelect 2023, 8, e202204978.
44. M.M. Heravi, S. Rohani, V. Zadsirjan, N. Zahedi. Fischer indole synthesis applied to the total synthesis of natural products. RSC Advances 2017, 7, 52852-52887.
45. H. Illy, L. Funderburk. Fischer indole synthesis. Direction of cyclization of isopropylmethyl ketone phenylhydrazone. Journal of Organic Chemistry 1968, 33, 4283-4285.
46. A. Alagumalai, P. Vellimalai, M.C. Sil, J. Nithyanandhan. Effect of out-of-plane alkyl group's position in dye-sensitized solar cell efficiency: A structure-property relationship utilizing indoline-based unsymmetrical squaraine dyes. ACS Applied Materials & Interfaces 2016, 8, 35353-35367.
47. X. Yang, J. Bai, Y. Qian. The investigation of unique water-soluble heptamethine cyanine dye for use as NIR photosensitizer in photodynamic therapy of cancer cells. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy 2020, 228, 117702.
48. P.C. Saha, R.S. Das, T. Chatterjee, M. Bhattacharyya, S. Guha. Supramolecular β-sheet forming peptide conjugated with near-infrared chromophore for selective targeting, imaging, and dysfunction of mitochondria. Bioconjugate Chemistry 2020, 31, 1301-1306.
49. M. Shao, L. Li, F. Yu, L. Zhu, M. Jiang, H. Yu. Peroxynitrite activatable double spiral ring derived fluorescent probe for imaging of inflammation and drug-induced liver injury. Dyes and Pigments 2023, 215, 111240.
50. G. Song, H. Heng, J. Wang, R. Liu, Y. Huang, H. Lu, K. Du, F. Feng, S. Wang. Photoactivated in situ generation of near infrared cyanines for spatiotemporally controlled fluorescence imaging in living cells. Angewandte Chemie International Edition 2021, 60, 16889-16893.
51. A.R. Tyler, A.O. Okoh, C.L. Lawrence, V.C. Jones, C. Moffatt, R.B. Smith. *N*-Alkylated 2,3,3-trimethylindolenines and 2-methylbenzothiazoles. Potential lead compounds in the fight against Saccharomyces cerevisiae infections. European Journal of Medicinal Chemistry 2013, 64, 222-227.

52. X. Li, R. Guo, X. Gong, Y. Yang, W. Lin. A novel viscosity-sensitive fluorescent probe for monitoring the changes of mitochondrial viscosity. Luminescence 2023, 38, 1618-1623.
53. H. Deol, M. Kumar, V. Bhalla. Exploring organic photosensitizers based on hemicyanine derivatives: A sustainable approach for preparation of amide linkages. RSC Advances 2018, 8, 31237-31245.
54. Y. Wu, J. Wang, F. Zeng, S. Huang, J. Huang, H. Xie, C. Yu, S. Wu. Pyrene derivative emitting red or near-infrared light with monomer/excimer conversion and its application to ratiometric detection of hypochlorite. ACS Applied Materials & Interfaces 2016, 8, 1511-1519.
55. M.S. Krasilnikov, V.S. Denisov, S.P. Chumakov, T.D. Nikitin, Y.D. Orekhov, V.A. Lushpa, R.V. Mazur, E.L. Gulyak, Y.I. Nikolaenko, V.A. Korshun, A.V. Ustinov, D.A. Gvozdev, V.A. Alferova. Antiviral and photochemical properties of polyaromatic iodinated hemicyanines. ChemistrySelect 2026, 11, e06509.
56. E. Soriano, C. Holder, A. Levitz, M. Henary. Benz[c,d]indolium-containing Monomethine Cyanine Dyes: Synthesis and Photophysical Properties. Molecules 2015, 21, 23.
57. M. Ding, X. Xiao, C. Zhou, M. Luo, J. Sun. A novel indolium-based fluorescent probe for fast detection of cyanide. Biosensors 2024, 14, 244.
58. A. Perry. New mechanism, new chromophore: investigating the electrophilic behaviour of styrylindolium dyes. Organic & Biomolecular Chemistry 2019, 17, 4825-4834.
59. F. Billes, A. Szabó, Y. Studenyak. Vibrational spectroscopic study on 2-[2-(4-dipropylamino-phenyl)-vinyl]-1,3,3-trimethyl-3H-indolium chloride. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy 2011, 78, 967-980.
60. D.M. Hudgins, S.A. Sandford. Infrared spectroscopy of matrix isolated polycyclic aromatic hydrocarbons. 1. PAHs containing two to four rings. Journal of Physical Chemistry A 1998, 102, 329-343.
61. H.L. Barros, M.A. Esteves, M.J. Brites. Synthesis, photophysical and electrochemical properties of π-conjugated pyrene based down-shifting molecules with fluorinated aryl groups. Dyes and Pigments 2023, 213, 111103.

62. Z. Ding, M. Tian, L. Guo, Z. Liu, X. Yu. Modulate the structures and photophysical properties of pyrene-based far-red fluorescent cationic dyes by regio-effect. Sensors and Actuators B: Chemical 2018, 276, 331-339.
63. W.N. Martens, R.L. Frost, J. Kristof, J.T. Kloprogge. Raman spectroscopy of dimethyl sulphoxide and deuterated dimethyl sulphoxide at 298 and 77 K. Journal of Raman Spectroscopy 2002, 33, 84-91.
64. F. Würthner, T.E. Kaiser, C.R. Saha-Möller. J-Aggregates: From serendipitous discovery to supramolecular engineering of functional dye materials. Angewandte Chemie International Edition 2011, 50, 3376-3410.
65. Y. Chen. Recent advances in excimer-based fluorescence probes for biological applications. Molecules 2022, 27, 8628.
66. B. Ma, F. Zeng, X. Li, S. Wu. A facile approach for sensitive, reversible and ratiometric detection of biothiols based on thymine-mediated excimer-monomer transformation. Chemical Communications 2012, 48, 6007-6009.