

FUNDAMENTOS E APLICAÇÕES DA ESPECTROSCOPIA DE LUMINESCÊNCIA CIRCULARMENTE POLARIZADA

K. Zinner, P. C. Isolani

Instituto de Química, Universidade de São Paulo, Cx. Postal, 20780 – São Paulo

A.J.S.L. Sá

Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal da Paraíba – João Pessoa

Recebido em 05/07/90

Procurou-se demonstrar a aplicabilidade das técnicas de luminescência circularmente polarizada em vários campos da química e da espectroscopia. Equipamentos como os modernos moduladores fotoelásticos, além dos custos inicial e total relativamente baixos, permitem ampla margem de trabalho em termos de versatilidade. A própria simplicidade óptica permite eventualmente recorrer a fontes de radiação poli- e monocromáticas muito menos intensas do que até recentemente tem ocorrido.

ORIGENS

A referência mais antiga de que se tem notícia quanto ao emprego da técnica espectroscópica da luminescência circularmente polarizada (CPL) é de Samoilov¹ em 1948, ao estudar as linhas de emissão do tipo (f-f) em cristais de uranilacetato de sódio à temperatura do hélio líquido.

Em 1955 Neunhoeffler e Ulrich² observaram o fenômeno de CPL no sal de sódio do ácido 1, 3, 5-trifenilpirazolin-sulfônico no estado cristalino ou em solução de glicerina.

Os experimentos de Samoilov foram repetidos 15 anos após por Brodin e Reznichenko³. Os resultados experimentais anteriores foram confirmados, não despertando, porém, qualquer interesse maior pela técnica. Nova escalada de desenvolvimento deu-se no final da década de 60 através de estudos do grupo de Oosterhoff⁴. Apareceram, então, as definições do fator dissimétrico de luminescência (g_{lum}) e do fator dissimétrico de absorvância (g_{abm}). Com base em observações de valores de absorção (ϵ), dicroísmo circular ($\Delta\epsilon$), luminescência total (I) e luminescência circularmente polarizada (ΔI) foi possível mostrar a potencialidade da técnica no estudo das distribuições populacionais dos estados eletrônicos excitados.

Aparelhagens de construção artesanal destinadas às medidas de CPL proliferaram a partir dos trabalhos de Sternberg et al.⁵ em Israel e de Richardson et al.^{6,7} nos Estados Unidos da América.

Os primeiros estudos feitos com campos magnéticos aplicados ao compartimento de amostras devem-se a McCaffery⁸ em 1973.

Duas das mais detalhadas e importantes revisões concernentes à espectroscopia CPL devem-se a Richardson e Riehl^{6,7} e fornecem uma visão do progresso alcançado nas últimas décadas.

INTRODUÇÃO

A espectroscopia de luminescência circularmente polarizada vem encontrando cada vez mais novos adeptos, especialmente em virtude da disponibilidade, nos últimos anos, de novos avanços técnicos, como por exemplo o modulador fotoelástico (PEM), onde se faz uso do efeito piezoelétrico para

obter um retardamento de 1/4 ou 1/2 de comprimento de onda e, em conseqüência, luz circularmente polarizada à direita ou à esquerda a partir de luz plano polarizada. Em termos de dificuldades e complexidade técnica, a comparação com os experimentos tradicionais empregando retardadores do tipo das células de Pockels, torna estas últimas praticamente obsoletas. Os fatores de progresso mais importantes a assinalar são, de um lado, a necessidade da aplicação de diferenças de potencial muito menores e também de uma programação muito menos crítica em função dos comprimentos de onda da radiação plano polarizada incidente. De outro lado, há um rigor menor no que concerne ao ângulo de aceitação do feixe luminoso incidente no modulador. Efeitos ópticos baseados na quiralidade das moléculas e envolvendo técnicas de fluorescência têm sido explorados essencialmente de duas maneiras distintas. A primeira consiste na detecção da diferença das intensidades da luminescência resultante da ação sobre um determinado meio de luz circularmente polarizada ora à direita, ora à esquerda. Na realidade o que se faz é acoplar uma técnica de dicroísmo circular à grande sensibilidade resultante da presença de um grupo cromóforo que apresenta elevado rendimento quântico de fluorescência (quantidade de luz emitida em relação à luz incidente). A segunda maneira é a técnica de luminescência circularmente polarizada propriamente dita, que consiste na avaliação da diferença entre intensidades de fluorescência circularmente polarizada à direita ou à esquerda. Note-se que o dicroísmo circular tem sua origem em moléculas no estado eletrônico termicamente equilibrado *fundamental* podendo-se povoar, as custas de energia fornecida, vários estados eletrônicos excitados em um processo de *absorção*. Os processos CPL têm sua origem em estados eletrônicos vibracionalmente relaxados *excitados* e que retornam ao nível fundamental num processo *emissivo*. Tais estados são, via de regra, os precursores dos processos de natureza fotoquímica, e são também as espécies responsáveis por emissão da luz em sistemas luminescentes⁹ tais como a geração de moléculas em estados excitados por via química (reações de oxidoredução, p.ex.) ou bioquímica (bioluminescência).

No caso de medidas de CD os efeitos detectados estão associados aos momentos de transição elétricos e magnéticos relativos ao processo de excitação. O efeito da passagem de luz circularmente polarizada, gerada a partir de luz plano polari-

zada, através de um meio contendo uma substância opticamente ativa está mostrado na Figura 1. Note-se que, além da rotação óptica (α), há que se considerar a absorção preferencial entre radiações circularmente polarizadas à esquerda ou à direita.

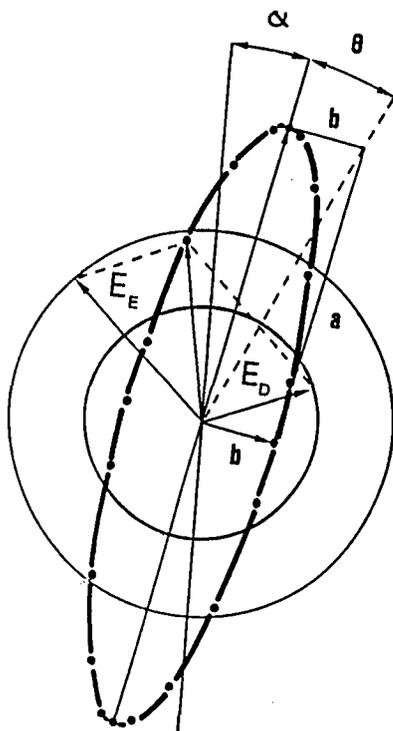


Figura 1. Representação da radiação elípticamente polarizada resultante da passagem de radiação circularmente polarizada à direita e à esquerda através de um meio opticamente ativo em região de absorção. E representa o vetor campo elétrico. O ângulo θ (elipticidade) é diretamente proporcional à diferença entre as absorvidades molares.

A espectroscopia CD está relacionada com a quiralidade molecular no estado fundamental. Já a técnica CPL relaciona-se à quiralidade molecular no estado luminescente excitado. Se a geometria da molécula permanece a mesma durante o processo de excitação, então ambos os métodos levarão essencialmente ao mesmo tipo de resultados. Entretanto, se ocorrer uma alteração de geometria acompanhando a excitação, então os resultados de CD e CPL serão diferentes¹⁰.

Em muitas situações é possível a observação de CPL de estados excitados que são de difícil acesso através de processos de absorção a partir do estado fundamental. Este tipo de dificuldade pode ser, eventualmente, circunscrito promovendo a população do estado emissor indiretamente, como por exemplo através de decaimento não radiativo a partir de um estado excitado ainda mais elevado e apresentando coeficiente de absorção maior.

Uma limitação óbvia e não menos importante para a técnica CPL está em que a molécula opticamente ativa em estudo deve, também, ser portadora de um grupo cromóforo luminescente e com rendimento quântico de fluorescência razoável. Esta desvantagem pode, no entanto, ser convertida em vantagem, devido à enorme sensibilidade das técnicas fluorimétricas. Nos casos de complexos metal-quelante, o grupo cromóforo poderá tanto fazer parte das moléculas do quelante

como ainda, freqüentemente, ser o próprio átomo metálico central. Além disso, também é possível efetuar estudos de CPL em misturas racêmicas, efetuando-se a irradiação das amostras com radiação circularmente polarizada obtendo-se, então, uma fotoseleção, ou seja, uma excitação preferencial de um enantiômero em relação ao outro ou, ainda, que esta preferência se manifeste na forma de diferentes velocidades de interconversão entre os isômeros.

INSTRUMENTAÇÃO

Não existem instrumentos comercialmente disponíveis para as medidas de CPL. Os experimentos que estão sendo feitos atualmente em inúmeros laboratórios resultam de construções artesanais com diferentes níveis de aperfeiçoamento e sofisticação, limitados praticamente apenas por disponibilidades financeiras. A não existência de aparelhos comerciais pode ser interpretada, de um lado, pela associação da dificuldade técnica com os custos de um projeto novo e, de outro, com a relativa facilidade da adaptação de espectrofotômetros ou espectrofluorímetros (mesmo que não mais em linha de fabricação) às técnicas mais recentes (e simplificadas) de modulação fotoelástica, não justificando o planejamento de instrumentação nova e específica.

A partir de um projeto esquemático relativamente amplo, como o apresentado na Figura 2, torna-se possível atingir vários estágios de evolução e apresentação/interpretação de resultados.

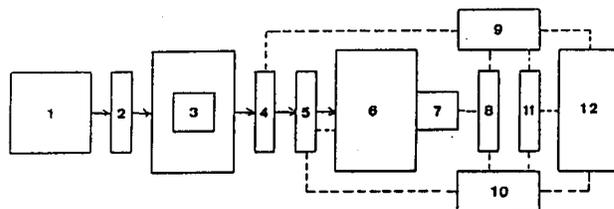


Figura 2. Representação em diagrama de blocos de uma aparelhagem para a medida de luminescência circularmente polarizada. Detalhes de construção no texto.

Na representação esquemática incluem-se, com diferentes graus de complexidade, os seguintes componentes:

1. Fonte de excitação, que pode ser uma lâmpada de xenônio, lâmpada de hidrogênio ou ainda um laser.
2. Monocromador de excitação. Como monocromadores pode-se ter prismas, redes de difração comuns ou redes holográficas.
3. Compartimento da amostra. Este pode ser simples ou ainda provido de jaqueta para refrigeração ou aquecimento.
4. "Chopper" mecânico.
5. Modulador fotoelástico.
6. Monocromador de emissão.
7. Válvula foto multiplicadora (ou similar) com eventual unidade de resfriamento para diminuir ruído.
8. Unidade de pré-amplificação.
9. e 10. Amplificadores sensíveis à fase (tipo "lock-in").
11. Unidade medidora de $\Delta I/I$ ("display" analógico ou digital).
12. Registrador gráfico.

A radiação de excitação é feita incidir a 0° ou 90° com relação ao sistema de detecção. Na maioria dos espectrômetros de luminescência a radiação de emissão é coletada e analisada, seja quanto à intensidade, seja quanto à distribuição espectral, a 90° em relação ao feixe luminoso incidente. No caso das técnicas de luminescência circularmente polarizada pode ser altamente conveniente trabalhar na situação "head-on" (ou seja a 0°) com a vantagem adicional de eliminar ou diminuir problemas de emissão linearmente polarizada resultante de artefatos. Neste caso e, em especial quando a radiação incidente provém de um laser, é útil recorrer ainda a um conjunto de óptica de despolarização. Um método geral para a medida da radiação circularmente polarizada emitida consiste em efetuar um deslocamento de fase, convertendo-a em luz linearmente polarizada por passagem através de um analisador circular, constituído de um modulador fotoelástico seguido de um polarizador linear orientado a 45° em relação ao cristal do modulador. A luz circularmente polarizada (à direita ou à esquerda) pode ser considerada como a resultante de duas componentes linearmente polarizadas perpendiculares entre si e defasadas de 90° $\lambda/4$: se uma destas componentes for, por sua vez, retardada de outros $\lambda/4$, a resultante será, então, linearmente ou plano polarizada.

O funcionamento do modulador baseia-se em introduzir tensões mecânicas em quartzo por meio de atuadores piezoelétricos. O cristal de quartzo, ao ser submetido a uma tensão mecânica, muda suas características ópticas, ou seja, torna-se birrefringente, passando a agir como uma lâmina de quarto de onda (ou seja, produzindo no feixe de luz passante um retardo ou adiantamento). O resultado é a conversão da luz circularmente polarizada à direita ou à esquerda nas respectivas radiações plano polarizadas, que serão selecionadas pelo polarizador linear e posteriormente detectadas por uma válvula fotomultiplicadora. Ao se utilizar a técnica da detecção por fase, o sinal da fotomultiplicadora vai a um amplificador sintonizado ("lock-in"), cujo sinal de referência (sincronismo) é a própria frequência aplicada ao modulador fotoelástico.

Basicamente o amplificador sintonizado tipo "lock-in" mede a amplitude do sinal de entrada na mesma frequência do sinal de referência a ele fornecido. Isto permite um grande acréscimo na relação sinal/ruído, uma vez que este último é rejeitado em todas as outras frequências que não a de modulação por um circuito de filtro com banda passante estreita. Qualquer componente da frequência de modulação presente no sinal (ou seja, na fotocorrente gerada) será proporcional à diferença entre as intensidades de luz polarizada à esquerda e à direita.

$$I(\lambda) = I_L(\lambda) - I_R(\lambda)$$

O fator de dissimetria é dado por:

$$g_{lum} = \frac{2\Delta I(\lambda)}{I(\lambda)}$$

onde $I(\lambda) = I_L(\lambda) + I_R(\lambda)$

O uso do amplificador sintonizado permite ainda medir-se a intensidade total de emissão usando-se como modulador um "chopper" mecânico, o qual funciona normalmente a uma frequência bem mais baixa que a do modulador fotoelástico. Numa montagem experimental, esta medida da intensidade to-

tal de emissão é opcional, podendo-se deixar de usar um segundo amplificador "lock-in".

As vantagens do uso do modulador fotoelástico com relação às células de Pockels, utilizando cristais de KD_2PO_4 , são várias. Em primeiro lugar, a aplicação de uma tensão mecânica periódica a um material isotrópico (comportamento igual em todas as direções do espaço; quartzo fundido, neste caso) produz uma birrefringência na frequência de oscilação natural do referido material. Abre-se, assim, a possibilidade da construção de moduladores para toda a faixa de comprimentos de onda em que o quartzo é transparente, ou seja, de 200 nm a 6 μ e, especialmente a possibilidade de se trabalhar com um ângulo de aceitação do feixe incidente bastante grande (cerca de 40°) ao contrário da limitação a 1° na direção de incidência nas células de Pockels e similares. A unidade de modulação fotoelástica é constituída de uma "cabeça", onde se aloja a lâmina de quartzo e os atuadores piezoelétricos, e uma unidade de controle. Uma vantagem adicional deste sistema é uma óptica extremamente simples, bem como a imunidade do material ativo (SiO_2) à unidade atmosférica, o que é muito crítico em cristais tipo KDP ou ADP utilizados nas células de Pockels. Some-se ainda a isto a facilidade de programação deste modulador em termos das tensões aplicadas aos atuadores piezoelétricos para otimizar o seu funcionamento em função do comprimento de onda da luz. É evidente que o retardo provocado pelo modulador será proporcional à tensão mecânica e, portanto, à tensão elétrica aplicada aos atuadores. Esta tensão deve variar em função do comprimento de onda para se obter os retardos (ou adiantamentos) desejados, seja $\lambda/2$ ou $\lambda/4$. No caso deste modulador, uma programação linear de tensão resolve este problema; para varreduras em intervalos de comprimentos de onda razoáveis (cerca de 100 nm) pode-se manter a tensão constante, com erros desprezíveis no que toca às intensidades medidas.

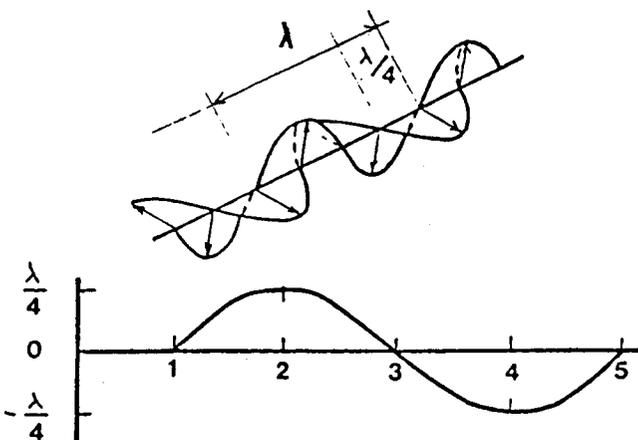


Figura 3. Retardo de 1/4 de comprimento de onda e sua geração em função do tempo. Nas posições 1, 3 e 5 a radiação é plano (linearmente) polarizada e em 2 e 4 tem-se luz circularmente polarizada à direita ou à esquerda, respectivamente.

A Figura 3 mostra uma diferença de fase de $\lambda/4$ e também o efeito do retardo em função do tempo; a Figura 4 mostra o mesmo para um retardo de $\lambda/2$. A escolha de um ou outro procedimento está vinculada às conveniências experimentais. Para se determinar o conteúdo de polarização circular da radiação que sai do compartimento de amostras utiliza-se um elemento polarizador linear. Este polarizador está orientado

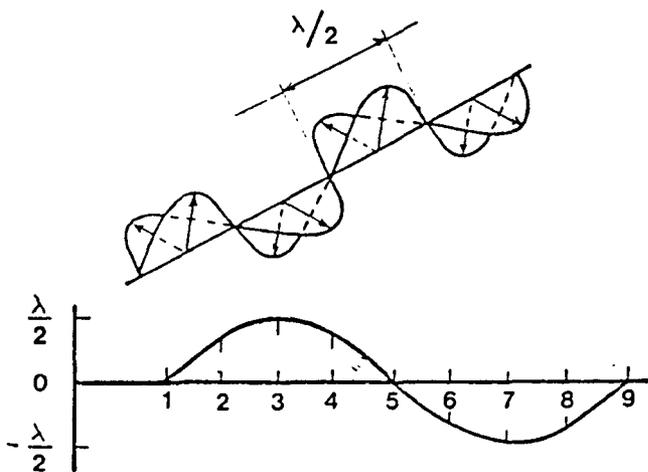


Figura 4. Retardo de $\lambda/2$ de comprimento de onda e sua geração em função do tempo. Nas posições 1, 5 e 9 a radiação é plano polarizada. Em 3 e 7 ocorre o retardo de $\lambda/2$ e em 2, 4 e 6, 8 tem-se luz circularmente polarizada à esquerda e à direita, respectivamente.

de modo a que seu eixo esteja em um ângulo de 45° em relação ao eixo de tensão do modulador. Este age, conforme já mencionado, como placa de retardo ou adiantamento, por exemplo, de $\lambda/4$ com seu eixo de retardo alternando entre os eixos de tensão mecânica do modulador. Se estes eixos estão a 45° e 135° com relação à direção horizontal, a radiação antes circular emerge plano polarizada, variando de orientação vertical para horizontal na frequência de modulação. O polarizador linear suprime uma destas orientações, ocasionando, assim, uma modulação de intensidade cujo valor é diretamente proporcional à intensidade de luz polarizada à esquerda ou à direita, dependendo de qual componente se seleciona com o polarizador fixo.

Como detectores usam-se válvulas fotomultiplicadoras tradicionais (R-446, por exemplo), à temperatura ambiente, ou as do tipo RCA C-31034-A, refrigeradas termoelectricamente por um elemento Peltier. Nos casos que serão abordados adiante procura-se, essencialmente, uma boa resposta na faixa espectral de 300 a 800 nm. A corrente de saída da fotomultiplicadora pode ser convertida em tensão em um pré-amplificador, fornecendo-se um sinal já com impedância casada no amplificador "lock-in" que vem a seguir. A modulação deste sinal é detectada pelo mesmo, que recebe um sinal de referência do modulador fotoelástico. À saída do amplificador "lock-in" tem-se uma tensão DC que pode ser introduzida diretamente em um registrador gráfico, que também recebe informações de varredura do monocromador (marcador de intervalos de comprimento de onda para registradores x-t ou tensão proporcional para registradores x-y). Note-se que em uma montagem completa é possível medir simultaneamente a polarização circular e a intensidade total de luminescência; neste caso utilizam-se registradores x-t com duas penas ou registradores x-y-y.

PADRONIZAÇÃO E CALIBRAÇÃO

A tensão necessária para que o modulador fotoelástico produza retardo de $\lambda/4$ ou $\lambda/2$ é determinada empregando conjuntos de placas de retardo calibradas (ou um compensador Soleil-Babinet) e polarizador. Para que o amplificador "lock-

in" forneça uma leitura correta da intensidade de luz circularmente polarizada é necessário que esteja adequadamente em fase, ou seja, que seu sinal de referência seja ajustado de tal maneira que os seus pontos de zero coincidam com aqueles do sinal CPL modulado. Existe, porém, a possibilidade de que o "lock-in" ainda esteja fora de fase em 180° , medindo-se, conseqüentemente, a CPL com sinal trocado. Isto é resolvido empregando-se algum padrão de CPL conhecido como, por exemplo¹¹, a solução aquosa (pH = 5) de ácido málico - EuCl_3 na proporção 5:1.

VERSATILIDADE - ALGUMAS APLICAÇÕES

Novas possibilidades se abrem no que se refere às medidas de atividade óptica devendo-se isto, em grande parte à associação modulador fotoelástico/amplificador "lock-in".

É possível irradiar a amostra opticamente ativa com luz não polarizada e analisar (a 90°) as diferenças entre as luminescências circularmente polarizadas à direita ou à esquerda, em função do comprimento de onda da radiação emitida.

Também é possível a irradiação de uma mistura racêmica com radiação monocromática (não polarizada) na presença de baixas concentrações de um supressor opticamente ativo, ao qual é transferida preferencialmente a energia de um dos componentes da mistura racêmica, permitindo, assim, o acúmulo de população excitada de um dos isômeros ópticos. Isto envolve fatores tais como tempo de vida relativamente curto do supressor excitado (rápido retorno ao nível fundamental) e tempo de vida relativamente longo da luminescência proveniente do material que está sendo parcialmente resolvido. Esta situação é especialmente interessante no caso de compostos de alguns elementos lantanídeos como, por exemplo¹², a irradiação do composto racêmico $\text{Tb}(\text{dpa})_3^{3-}$ (dpa = dipicolinato) sendo o supressor ativo $\text{Ru}(\text{phen})_3^{3+}$ (phen = 1,10-fenantrolina). Outro fator de primordial importância consiste na necessidade de alguma sobreposição entre as bandas de absorvância dos compostos em estudo, para que a transferência de energia possa ocorrer.

Transições $^5D_0 \rightarrow ^7F_1$ em CPL de complexos de Európio (III) são muito mais fáceis de interpretar do que as transições $^5D_4 \rightarrow ^7F_{3,5}$ de complexos de Têrbio (III) devido ao menor número de possíveis transições espectroscópicas. Entretanto, tratando-se de um problema de sensibilidade, os complexos de Têrbio são mais adequados devido ao seu elevado rendimento quântico de fluorescência.

É possível efetuar a irradiação da mistura racêmica $\text{Eu}(\text{d-pa})_3^{3-}$ por exemplo¹³ com luz circularmente polarizada com incidência a 90° para, por absorção preferencial, criar um excesso de população excitada de um dos isômeros. Isto é possível apenas se a população diferencial de moléculas excitadas for mantida durante o tempo de vida do estado emissor.

Sais de Têrbio (III) formam quelatos bem conhecidos com o ligante tridentado dipicolinato (dpa = piridina-2, 3-dicarboxilato). As alterações na distribuição espectral da CPL em função do pH na região próxima da neutralidade do complexo $\text{Tb}(\text{dpa})_2(\text{MAL})$ (onde MAL = malato) levaram à sugestão de que o malato (ligante bidentado opticamente ativo) poderia estar envolvido em uma terceira coordenação ao íon central¹⁰. Situação parecida resulta da análise de conjuntos (complexos) $\text{Tb}(\text{dpa})_2(\text{AA})$ (onde AA = aminoácido). Neste caso tem-se, aparentemente, um efeito meramente vicinal (quando o aminoácido é o ligante monodentado alanina) ou um efeito mais

complexo (vicinal e conformacional, no caso do ligante bidentado aspartato) apesar de que em ambas as situações a luminescência total é, essencialmente, a mesma¹⁰.

Estudos de luminescência da canforaquinona¹⁴ mostraram que os espectros de luminescência circularmente polarizada em ciclohexano e etanol e os espectros de dicroísmo circular para as energias mais baixas apresentam praticamente uma relação de imagens especulares, da mesma forma que os espectros de absorvância e de luminescência. Isto permite inferir, de maneira geral, que as geometrias moleculares do estado fundamental e do estado excitado de mais baixa energia são similares, ou que as variações que possivelmente ocorrem sejam muito pequenas.

As diferenças existentes entre os espectros CPL nos dois solventes permitem sugerir uma interação molécula excitada/solvente (solvatação) mais intensa no caso do etanol.

Estudos de CD e CPL de uma série de cetonas opticamente ativas por Dekkers e Closs¹⁵ revelaram acentuadas diferenças entre os dois tipos de espectros, indicando diferenças entre as atividades ópticas dos níveis fundamental e excitado, o que foi atribuído à grande distorção do estado excitado do grupamento carbonila.

Wynberg et al.¹⁶ referem-se à detecção de CPL durante a reação de decomposição térmica de uma adamantilideno-1, 2-dioxetana opticamente ativa (devidamente derivatizada), quando são geradas duas cetonas cíclicas em estados eletrônicos excitados, uma das quais opticamente ativa. Com relação a possíveis aplicações da luminescência circularmente polarizada em biologia convém mencionar dados experimentais do mesmo laboratório⁷, obtidos com larvas de vagalumes *Photuris lucifrescens* e *P. versicolor*. Nota-se que as "lanternas" direitas e esquerdas emitem radiações circularmente polarizadas de sinais opostos. A explicação real do fenômeno encontra-se, no máximo, ao nível de tentativa. Propõe-se que a luz de uma espécie emissora bioluminescente possa ser parcial ou totalmente plano (ou linearmente) polarizada devido a alguma anisotropia existente no meio de reação. Esta radiação plano polarizada torna-se-ia elipticamente polarizada por passagem através de um meio birrefringente que estaria presente nas membranas limitantes de conjunto emissor.

Outra aplicação interessante refere-se à detecção de CPL de várias moléculas de corantes orgânicos aquirais dissolvidos em cristais líquidos colestéricos. Trata-se, certamente, de efeitos quirais induzidos (efeito Cotton extrínseco), chegando-se até a mostrar a troca de sinal do efeito em função da temperatura, à medida que o cristal líquido sofre transição de fase de hélice l para hélice d¹⁸.

A grande versatilidade das técnicas de CPL permite que, com pequenas modificações na construção básica, seja possível efetuar medidas de dicroísmo circular, ou seja, obter luz plano polarizada (incidindo a 0° sobre a amostra) e alternada-

mente torná-la circularmente polarizada à direita ou à esquerda por meio do modulador fotoelástico e, assim, medir as diferenças de absorvância (Figura 5). Quando, por sua vez, a detecção da radiação emitida é feita a 90° em relação ao feixe luminoso incidente, tem-se a técnica do dicroísmo circular detectado através de fluorescência.

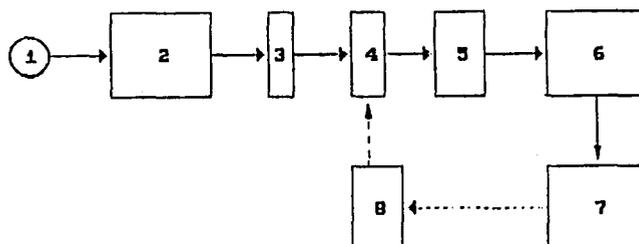


Figura 5. Adaptação de construção para efetuar medidas de dicroísmo circular. 1: fonte de radiação; 2: monocromador; 3: polarizador; 4: modulador eletro-óptico; 5: compartimento da amostra; 6: sistema detector; 7: amplificador e 8: controle do modulador.

REFERÊNCIAS

1. Samoilov, B.N.; *J. Exp. Theor. Phys.* (1948), **18**, 1030.
2. Neuhofer, O.; Ulrich, H.Z.; *Elektrochem.* (1955), **59**, 122.
3. Brodin, M.S.; Reznichenko, U.; *Ukr. Phys. J.* (1965), **10**, 178.
4. Emeis, C.A.; Oosterhoff, L.Y.; *J. Chem. Phys.* (1971), **54**, 4809.
5. Steinberg, P.; Gafni, A.; *Rev. Sci. Instrum.* (1972), **43**, 409.
6. Richardson, F.S.; Riehl, J.P.; *Chem. Rev.* (1977), **77**, 773.
7. Riehl, J.P.; Richardson, F.S.; *Chem. Rev.* (1986), **86**, 1.
8. Shatwell, R.A.; McCaffery, A.; *J.C.S. Chem. Commun.* (1973), 546.
9. Charney, E.; *The Molecular Basis of Optical Activity-ORD and CD.*; John Wiley, New York, 1979.
10. Brittain, H.G.; in "Molecular Luminescence Spectroscopy - Methods and Applications: Part 1. S. G. Schulman, ed. John Wiley, New York, p. 583 (1985).
11. Metcalf, D.H.; *Circularly Polarized Luminescence - Total Luminescence Studies of Chiral 18-crown-6-lanthanide Complexes in Solution.* Tese de Ph. D. University Microfilms International (1985).
12. Metcalf, D.H.; Snyder, S.W.; Wu, S.; Hilmes, G.L.; Riehl, J.P.; Demas, J.N.; Richardson, F.S.; *J. Am. Chem. Soc.* (1989), **111**, 3082.
13. Metcalf, D.H.; Snyder, S.W.; Demas, J.N.; Richardson, F.S.; *J. Am. Chem. Soc.* (1990), **112**, 469.
14. Luk, C.K.; Richardson, F.S.; *J. Am. Chem. Soc.* (1974), **96**, 2006.
15. Dekkers, H.P.J.M.; Closs, L.E.; *J. Am. Chem. Soc.* (1976), **98**, 2210.
16. Wynberg, H.; Numan, H.; Dekkers, H.P.J.M.; *J. Am. Chem. Soc.* (1977), **99**, 3870.
17. Wynberg, H.; Meijer, E.W.; Hummelen, J.C.; Dekkers, H.P. J.M.; Schippers, P.H.; Carlson, A.D.; *Nature.* (1980), **286**, 641.
18. Poliman, P.; Mainusch, K.J.; Stegemeyer, H.; *Z. Phys. Chem.* (Munich). (1976), **103**, 295.