

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Arnaldo Ferreira dos Reis

Evidências da Transferência de energia fluorescente ressonante no sistema ponto quântico - corante através das medidas de microluminescência de varredura espacial.

Uberlândia
2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Arnaldo Ferreira dos Reis

Evidências da transferência de energia fluorescente ressonante no sistema ponto quântico - corante através das medidas de microluminescência de varredura espacial.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Física do Instituto de Física da Universidade Federal de Uberlândia como parte dos requisitos para a obtenção do título de mestre em Física.

Área de Concentração: Física da Matéria Condensada.

Orientador: Prof. Dr. Adamo Ferreira Gomes do Monte.

Uberlândia
2014

Resumo

Neste trabalho foram estudados diferentes sistemas para a obtenção da transferência de energia fluorescente ressonante (FRET) entre uma molécula doadora e aceitadora de energia em diferentes meios de atuação. Para tal finalidade, utilizou-se um ponto quântico (PQ) núcleo/casca (CdSe/ZnS) agindo como doador e o corante orgânico *Neutral Red* (NR) como aceitador. O FRET é um processo não radiativo via interação dipolar e, para que ele ocorra entre um doador e aceitador, algumas pré-condições devem ser observadas como a sobreposição espectral; a escolha adequada do doador e do aceitador de energia de acordo com o tempo de vida de ambos; a distância apropriada entre as moléculas e a orientação dipolar paralela. Para a caracterização óptica do mecanismo de transferência de energia e migração, utilizou-se seguintes técnicas: absorção óptica (Ab), fotoluminescência (PL) e varredura da microluminescência espacial (μ PL). O estudo dos espectros de fotoluminescência em que doador e aceitador são mantidos em mesmo meio mostrou que o ponto quântico sofre supressão do corante quando há uma quantidade de doadores inferiores às de aceptadores e, assim a redução da luminescência do nanocristal mostra a ocorrência de processo de FRET. Além disso, em particular, aplicou-se a técnica de μ PL para analisar o comprimento da difusão de fótons (L_D) nas mesmas amostras anteriores e observou-se que havia maior alargamento das curvas de varredura quando as quantidades de doadores foram maiores que de aceptadores e quando ocorrer uma maior diluição das amostras. Assim, este trabalho demonstrou a possibilidade de obter transferência não radiativa fluorescente ressonante entre ponto quântico e corante em diferentes sistemas.

Palavras-chave: ponto quântico; corante; luminescência; μ PL; FRET.

Abstract

In this work different systems for obtaining a fluorescent resonant energy transfer (FRET) were studied between a donor molecule and the acceptor energy in different modes of operation. For this purpose, we have used a quantum dot (QD) core / shell (CdSe / ZnS) acting as a donor and an organic dye Neutral Red (NR) as the acceptor. FRET is a non-radiative process via dipolar interaction and so that it occurs between a donor and acceptor, certain conditions must be observed as the spectral overlap; choice of appropriate donor and energy acceptor in accordance with the lifetime of both; the appropriate distance between the molecules and the parallel dipole orientation. For the optical characterization of energy transfer mechanism and migration, we have used the following techniques: optical absorption (Ab), photoluminescence (PL) and microluminescence surface scan technique (μ PL). The study of the photoluminescence spectra in which the donor and acceptor are held in the same platform has shown that the quantum dots undergoes suppression of the dye when there is a lower amount of donor to acceptor, and thus the reduction of the nanocrystal luminescence shows the occurrence of process FRET. Furthermore, in particular, μ PL technique was applied for analyzing the photon diffusion length (L_D) in the same previous samples, and it was observed wider curves when scan curves when the quantity of donors were larger than the acceptor and when a greater dilution of the sample occurs. Thus, this study demonstrated the possibility of obtaining fluorescent resonant nonradiative transfer between quantum dots and dyes in different systems.

Keywords: Quantum dot; Dye; Luminescence; μ PL; FRET.

Agradecimentos

Primeiramente a DEUS pela força para atravessar os obstáculos.

A minha mãe Célia Ferreira dos Reis pela educação e incentivos desde sempre.

Ao meu orientador Dr. Adamo Ferreira Gomes do Monte, por todas as oportunidades assim demonstradas ao longo do desenvolvimento deste projeto.

A todos os meus colegas de laboratório pela amizade sincera, companheirismo e solidariedade em todos os momentos.

Também ao Instituto de Física pelo espaço físico, equipamentos e materiais necessários para a concretização deste projeto.

A Capes pelo apoio financeiro, o que possibilitou toda a realização deste trabalho.

Lista de Figuras

Figura 1 - Os principais tipos de ligações (Padilha, 2000).....	18
Figura 2 - Representação bidimensional da Sílica (a) Cristalina (b) Amorfa (c) Forma provável de grãos de um material policristalino (PADILHA, 2000).....	19
Figura 3 - Formação de bandas de níveis de energia devido à aproximação dos átomos em um sólido (REZENDE, 2004).....	20
Figura 4 - Condutividade elétrica para metais, isolantes e semicondutores (REZENDE, 2004).	21
Figura 5 - Representação idealizada da configuração de bandas de condução, banda de valência e energia de <i>gap</i> para: (a) um isolante, (b) um condutor e (c) um semicondutor (RAMANERY, 2012).....	22
Figura 6 - Formação das bandas de energia devido à aproximação de um grande número de átomos em um sólido semicondutor, sendo e^- (elétron) e h^+ (buraco) (SCHATKOSKI, 2011).	22
Figura 7 - Transições eletrônicas em semicondutores para materiais com <i>gap</i> : (a) direto e (b) indireto (RAMANERY, 2012).	23
Figura 8 - Relação do Raio de Bohr de éxciton com a dimensão do cristal em amostra volumétrica (a), em nanocristal semicondutor (b) e seu efeito sobre o espaçamento entre níveis de energia de banda proibida (SANTOS, 2012).	26
Figura 9 - Redução do tamanho de uma partícula semicondutora CdS dentro do regime de confinamento quântico e suas respectivas energias de <i>gap</i> (E_g) (SCHATKOSKI, 2011).....	27
Figura 10 - Amostras por dispersão de PQ's com diferentes cores de emissão (MANSUR, 2010).....	28
Figura 11 - Representação esquemática das mudanças de densidades de energia em função do confinamento quântico (SILVA, 2008).	28
Figura 12 - (a) distribuição atômica de um ponto quântico coloidal esférico de CdSe; (b) ponto quântico coloidal esférico com estrutura de núcleo casca de CdSe/ZnS (CACHETAS,2013).....	30
Figura 13 - Estrutura de bandas para um ponto quântico núcleo/casca Tipo - I (ALVES, 2011).....	31
Figura 14 - Estrutura de bandas para um ponto quântico núcleo/casca na primeira modalidade do Tipo - II (ALVES, 2011).	31
Figura 15 - Estrutura de bandas para um ponto quântico núcleo/casca para a segunda modalidade Tipo-II (ALVES, 2011).....	32

Figura 16 - Classificação dos principais grupos cromóforos de corantes e suas estruturas químicas (VACCHI, 2012).....	33
Figura 17 - Fórmula estrutural do corante <i>Neutral Red</i> (SABNIS, 2010).....	33
Figura 18 - Emissão espontânea em (a) e emissão estimulada em (b) (Alves, 2011).	36
Figura 19 - Radiativa ressonante com a emissão de um fóton pelo doador e sua absorção pelo aceitador (ALVES, 2011).	39
Figura 20 - Processo não radiativo ressonante ou interação via fótons virtuais, realizado devido à interação multipolar (ALVES, 2011).....	39
Figura 21 - Transferência não radiativa compartilhada por fônons (ALVES, 2011).	40
Figura 22 - <i>Quenching</i> entre o doador e o aceitador (ALVES, 2011).....	40
Figura 23 - Ilustração simplificada do processo de conversão ascendente de energia. Assim, o processo consiste em (a) antes da transferência de energia e em (b) após a transferência de energia (ALVES, 2011).....	41
Figura 24 - Ilustração esquemática do processo de difusão de elétrons gerados por um feixe incidente na região de excitação seguida pela captura dos pontos quânticos InAs (MARQUES, 2009).	42
Figura 25 - Observação da migração de energia no processo de difusão. LD consiste no comprimento de difusão crucial no presente trabalho. Na realidade, o processo de difusão apresenta caráter tridimensional (ALVES, 2011).....	47
Figura 26 - Esquema de um biosensor de ponto quântico (em inglês, <i>Quantum Dot</i> , QD) e um corante (em inglês, <i>Dye</i>) utilizado para sondar a degradação do DNA por FRET (CHEN <i>et al</i> , 2012).....	48
Figura 27 - Sobreposição dos espectros de emissão do doador e de absorção do aceitador	49
Figura 28 - Representação esquemática do fator orientação k^2 entre os momentos de dipolo de transição dos dois fluoróforos (MA; YANG; ZHENG, 2014).	50
Figura 29 - Exemplo de supressão da luminescência do doador em relação ao aceitador pelo processo de FRET (XU <i>et al</i> , 2013).	53
Figura 30 - Processo de excitação para dois níveis de energia (PAVIA, 2001).....	55
Figura 31 - Representação de um feixe de luz de intensidade de entrada I_0 e saída I atravessando uma cubeta de espessura b , coeficiente de absorção α e concentração c da espécie no meio (CACHETAS, 2013).	56
Figura 32 - Diagrama representativo da absorção de luz por um meio material em função da distância. (CACHETAS, 2013).	57
Figura 33 - Espectro de absorção no UV-Vis para nanocristais de CdS com diferentes diâmetros em solução aquosa (Schatkoski, 2011).	58

Figura 34 - Diagrama de Jablonsky representando os primeiros níveis de energia de um centro emissor, ilustrados por sua paridade de spin característica e os possíveis processos de transferência de energia intramolecular (QUEIROZ, 2013).	58
Figura 35 - Espectro UV-2501PC utilizado para realização das medidas de absorção óptica.	59
Figura 36 - Exemplificação dos processos de transição entre um sistema de dois níveis de energia. (a) Processo de Absorção Óptica, (b) Emissão Espontânea (c) Emissão Estimulada (MARQUES, 2009).	60
Figura 37 - Diagrama esquemático da montagem da técnica de varredura superficial da microluminescência (MSST) (MONTE, 2000).	61
Figura 38 - Imagem da luminescência de uma solução de Corante NR e CdSe/ZnS em clorofórmio, obtida por uma câmera CCD. É visível a região luminescente colorida externa circundante ao <i>spot</i> do laser.	62
Figura 39 - Espectros de absorbância para os solventes puros a temperatura ambiente.	68
Figura 40 - Espectro de absorbância do ponto quântico C1 imerso em solvente Dimetilsulfóxido (DMSO). O número 1 indica a região de absorção citado pelo fabricante em 490 nm.	69
Figura 41 - Espectro de absorbância do ponto quântico C1 imerso em solvente Clorofórmio (CLF). O número (1) indica pico de absorção em 475 nm.	69
Figura 42 - Comparação do espectro de absorção do corante <i>Neutral Red</i> (NR) em diferentes solventes: Clorofórmio (CLRF), Dimetilsulfóxido (DMSO) e Dimetilformamida (DMF).	70
Figura 43 - Espectros de emissão do nanocristal semicondutor C1 imersos em Clorofórmio (CLF) e Dimetilsulfóxido (DMSO).	71
Figura 44 - Espectros de emissão do corante <i>Neutral Red</i> imersos em Clorofórmio (CLF) e em Dimetilsulfóxido (DMSO). Os números indicam (1) pico de emissão em CLF igual 600 nm e (2) emissão em DMSO igual a 611 nm.	72
Figura 45 - Relação entre a concentração de corante NR e sua fluorescência, ambos em DMSO.	73
Figura 46 - Relação entre a concentração de corante NR e sua fluorescência, ambos em CLF.	73
Figura 47- Esquema para ilustrar como foi realizado o cálculo da razão entre os picos de emissão do doador e do aceitador, cuja razão indica o comportamento da fluorescência do corante em relação ao nanocristal semicondutor.	74
Figura 48 - (a) PL das amostras E; (b) Tabela da quantidade de reagentes; (c) Tabela da Eficiência e (d) Razão entre as emissões das amostras.	76
Figura 49 - (a) PL das amostras E; (b) Tabela de quantidades; (c) Tabela da Eficiência e (d) Razão das amostras.	77

Figura 50 - (a) PL das amostras NS; (b) Tabela de quantidades; (c) Tabela da Eficiência e (d) Razão das amostras.....	78
Figura 51- (a) PL das amostras NU; (b) Tabela de quantidades; (c) Tabela da Eficiência e (d) Razão das amostras.....	79
Figura 52 - (a) PL das amostras NW; (b) Tabela de quantidades; (c) Tabela da Eficiência e (d) Razão das amostras.....	80
Figura 53 - (a) PL das amostras NA; (b) Tabela de quantidades; (c) Tabela da Eficiência e (d) Razão das amostras.....	81
Figura 54 - Sobreposição Espectral entre a emissão do C1 e a absorção do NR, ambos diluídos em DMSO.....	82
Figura 55 - Sobreposição Espectral entre a emissão C1 e a absorção do corante NR, ambos diluídos em CLF.	82
Figura 56 - Perfil espacial para o laser diodo 405nm utilizado nas medidas de fotoluminescência. Os dados foram ajustados usando uma função gaussiana em que o símbolo Δ_0 corresponde à largura a meia altura da emissão do laser e o valor obtido é $(3.41 \pm 0.02) \mu\text{m}$	83
Figura 57 - Laser e luminescência resolvidos espacialmente do C1 em CLF.....	84
Figura 58 - (a) μPL da amostra NS6 (tabela 5), em que as varreduras de μPL são plotadas juntas e centralizadas tanto do ponto quântico C1($\lambda_{\text{em}}=495\text{nm}$) e do corante NR ($\lambda_{\text{em}}=560\text{nm}$) e a representação do lado direito do gráfico (a) em escala linear em (b) e na escala logarítmica em (c). As setas em negrito indicam o comportamento de decaimento espacial das curvas.	85
Figura 59 - Ajuste teórico usando a solução (Eq. 5.3) da difusão para uma das amostras envolvendo C1 e corante NR em clorofórmio em região de ajuste $r \gtrsim 25\mu\text{m}$	87
Figura 60 - (a) μPL das amostras E; (b) tabela das quantidades e (c) Gráfico da difusão para as amostras E.....	88
Figura 61 - (a) μPL das amostras E; (b) tabela das quantidades e (c) Gráfico da difusão para as amostras E.....	89
Figura 62 - (a) μPL das amostras NS; (b) tabela das quantidades e (c) Gráfico da difusão para as amostras NS.....	90
Figura 63 - (a) μPL das amostras NU; (b) tabela das quantidades e (c) Gráfico da difusão para as amostras NU.	91
Figura 64 - (a) μPL das amostras NW; (b) tabela das quantidades e (c) Gráfico da difusão para as amostras NW.	92
Figura 65 - (a) μPL das amostras NA; (b) tabela das quantidades e (c) Gráfico da difusão para as amostras NA.	93

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Solventes utilizados no trabalho para preparar as soluções.	35
Tabela 2 - Informação do ponto quântico comercial utilizado em solução de tolueno obtido da <i>Evident Technologies</i>	63
Tabela 3 - Visão Geral das amostras com doador, aceitador e solvente utilizados.....	64
Tabela 4 - Variação do número de mols do doador C1 e do aceitador NR mantendo fixo o número de mols fixos do solvente dimetilsulfóxido (DMSO).	65
Tabela 5 - Fixando o número de mols do doador C1 e do aceitador NR e variando o número de mols fixos do solvente clorofórmio (CLF).....	65
Tabela 6 - Fixando o número de mols do doador C1 e do aceitador NR e variando o número de mols fixos do solvente clorofórmio (CLF).....	65
Tabela 7 - Fixando o número de mols do doador C1 e do aceitador NR e variando o número de mols fixos do solvente clorofórmio (CLF).....	66
Tabela 8 - Fixando o número de mols do doador C1 e variando a quantidade de aceitadores NR.	66
Tabela 9 - Visão Geral das amostras com doador, aceitador e solvente utilizados.....	75
Tabela 10 - Valores da sobreposição (J) entre os espectros de emissão e absorção encontradas do cálculo da área sobreposta entre os gráficos.	83

LISTA DE ABREVIATURAS

BV	Banda de valência
BC	Banda de condução
E_g	Energia do <i>gap</i>
h^+	Buracos
v_g	Velocidade de grupo
α_B	Raio de Bohr do éxciton
PQ's	Pontos quânticos
λ	Comprimento de onda
NR	Corante <i>Neutral Red</i>
ZnPc	Corante Zinco Ftalocianina
Pc	Ftalocianina
DMF	Dimetilformamida
DMA	Dimetilacetamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
CLF	Clorofórmio
FRET	Transferência de energia fluorescente ressonante
D	Doador
A	Aceitador
W_r	Decaimento radiativo
W_{nr}	Decaimento não radiativo
L_D	Comprimento de difusão da energia
τ_D	Tempo de decaimento do doador em ausência do receptor
R_o	Distância de Förster
J	Sobreposição espectral entre a emissão do doador e a absorção do aceitador
F_D	Fluorescência relativa do doador na ausência do aceitador
F_{DA}	Fluorescência relativa do doador na presença do aceitador
E	Eficiência da transferência de energia
k_T	Taxa de transferência
Ab	Absorção óptica
PL	Fotoluminescência
μPL	Varredura superficial de microluminescência

Sumário

1	Introdução	15
2	Fundamentos Teóricos	17
2.1	De átomos a estruturas complexas	17
2.2	Estruturações dos sólidos	18
2.3	Bandas de energia em cristais	19
2.4	Semicondutores	21
2.4.1	<i>Massa Efetiva</i>	24
2.4.2	<i>Confinamento Quântico</i>	25
2.5	Pontos Quânticos	26
2.5.1	<i>Pontos Quânticos Coloidais do tipo Núcleo /Casca</i>	29
2.6	Corantes	32
2.6.1	<i>Corante Neutral Red (NR)</i>	33
2.7	Solventes	34
3	Transferência de Energia	36
3.1	Processos de Desexcitação	36
3.1.1	<i>Processo Radiativo</i>	36
3.1.2	<i>Processo não radiativo</i>	38
3.2	Meios de Transferência de Energia	38
3.2.1	<i>Tratamento Microscópico</i>	39
3.2.2	<i>Tratamento Macroscópico</i>	41
3.3	Transferência de Energia Fluorescente Ressonante (FRET)	47
3.3.1	<i>Características e condições essenciais para o FRET</i>	48
3.3.2	<i>Supressão de Fluorescência aplicada ao FRET</i>	53
4	Metodologia e Procedimento Experimental	55
4.1	Propriedades ópticas dos semicondutores e corantes orgânicos	55
4.1.1	<i>Absorção Óptica (Ab)</i>	55
4.1.2	<i>Emissão ou Fotoluminescência (PL)</i>	60
4.1.3	<i>Técnica de Varredura superficial da imagem da microluminescência (MSST)</i>	61
4.1.4	<i>Preparação das amostras</i>	63
5	Resultados e Discussões	67
5.1	Absorção Óptica	67

5.2	Fotoluminescência (PL).....	71
5.3	Sobreposição espectral.....	81
5.4	Medidas de varredura por microluminescência (μ PL)	83
5.4.1	<i>Varredura de Microluminescência em função da quantidade de doador e aceitador.....</i>	<i>86</i>
5.4.2	<i>Amostras E – Ponto quântico C1 e corante NR em solvente DMSO</i>	<i>87</i>
5.4.3	<i>Amostras NS – Ponto Quântico C1 e corante NR em solvente CLF.....</i>	<i>89</i>
5.4.4	<i>Amostras NU - Ponto Quântico C1 e corante NR em solvente CLF.....</i>	<i>90</i>
5.4.5	<i>Amostras NW - Ponto Quântico C1 e corante NR em solvente CLF</i>	<i>91</i>
5.4.6	<i>Amostras NA - Ponto Quântico C1 e corante NR na ausência de CLF.....</i>	<i>92</i>
6	Conclusão	94
6.1	Perspectivas para trabalhos futuros	95
	Referências	96

1 INTRODUÇÃO

A delimitação do presente trabalho consistiu no estudo da transferência de energia fluorescente ressonante (FRET), processo não radiativo que depende do sistema envolvendo um doador e aceitador, neste caso um ponto quântico núcleo/casca e um corante sintético.

O FRET consiste em um mecanismo não radiativo o qual um doador em estado excitado, geralmente um fluoróforo, transfere energia para um aceitador no estado fundamental próximo e ocorre geralmente a distâncias comparáveis com as dimensões da maior parte das macromoléculas biológicas, isto é, cerca de 10 a 100 Å. A transferência de energia não radiativa é altamente dependente de muitos fatores, tais como o grau de sobreposição espectral, a orientação relativa dos dipolos de transição e especificamente a distância entre as moléculas do doador e do aceitador (MA; YANG; ZHENG, 2014).

Durante a transferência, o receptor deve absorver energia no comprimento de onda de emissão do doador. Entretanto, não necessariamente tem que remetê-la como energia fluorescente. Desse modo, há uma diversificação dos materiais que podem vir a ser utilizados como fluoróforos no FRET e podem ser divididos em várias classes: materiais orgânicos; polímeros; materiais inorgânicos; nanocristais semicondutores e compostos biológicos que apresentam bioluminescência mediante catálise por enzimas; proteínas ou aminoácidos fluorescentes (SAPSFORD; BERTI; MEDINTZ, 2006).

A aplicabilidade do FRET decorre da capacidade de medir distâncias na escala nanométrica e mudanças na diferença das posições, tanto *in vitro* quanto *in vivo* sendo que esta técnica tem sido apresentada há cinco décadas e utilizada atualmente em pesquisas biomédicas; na medição de estruturas; mudanças na conformação biológica; interações entre moléculas e indicadores de eventos bioquímicos (VAASA *et al*, 2010).

O objetivo do presente estudo consistiu em investigar um sistema adequado onde seja possível evidenciar a ocorrência do FRET entre o corante e o nanocristal semicondutor CdSe/ZnS. Sendo assim, dentre os materiais semicondutores, se destaca como opção atraente os nanocristais coloidais ou pontos quânticos (PQ's) devido às suas propriedades eletroquímicas e fotofísicas únicas. Pelo ponto de vista óptico tais pontos quânticos incluem amplos espectros de absorção; tamanho ajustável; emissões estreitas e simétricas; alto rendimento quântico e resistência à degradação fotoquímica (PRASUHN *et al*, 2010).

Importante ressaltar que os nanocristais semicondutores podem desempenhar um papel ativo no processo de transferência como doadores e podem monitorar vários pares FRET

usando uma única excitação de comprimento de onda. A utilização de PQ's como doadores melhora a eficiência do FRET, pois as suas propriedades ópticas são decorrentes da variabilidade de suas dimensões que se ajustam a sobreposição espectral entre doador e receptor (ALGAR; KRULL, 2008).

Os corantes orgânicos, no papel de aceitadores, são em maioria hidrocarbonetos associados por ligações insaturadas conjugadas, que têm a propriedade física de absorver e emitir luz na região do visível a partir de transições singleto-singleto que implicam em altas taxas de transição radiativa. Estas características os dotam qualitativamente para aplicações ópticas como sensores biológicos, LEDs orgânicos (emissores), lasers e outros dispositivos aplicáveis à fotônica (QUEIROZ, 2013).

Por estas razões, os PQ's possuem uma variedade de vantagens sobre os corantes orgânicos convencionais, assim os PQ's nucleo/casca são amplamente utilizados como doadores enquanto as moléculas orgânicas são utilizadas como aceitadoras de energia. Logo, numerosos são os avanços nas investigações sobre FRET baseadas em PQ's devido à sua ampla aplicabilidade (GE *et al*, 2011).

O maior aprofundamento desta investigação envolve cálculos teóricos da estimativa para uma distância apropriada ao evento do FRET; caracterização detalhada da interface de ligação entre os compostos e o monitoramento da transferência de energia por ressonância *in vivo*. Dessa forma, trata-se de questões transladadas para uma possível tese em virtude da maior demanda de tempo e da utilização de outras técnicas complementares.

2 FUNDAMENTOS TEÓRICOS

Em vista dos materiais utilizados como o nanocristal semicondutor e o corante orgânico, ambos em dimensões nanométricas, fez-se necessário um amplo rastreamento teórico conceitual firmador da compreensão sobre estes materiais, relacionando suas dimensões às suas propriedades, bem como outras características fotofísicas que serão descritas nas próximas seções.

2.1 De átomos a estruturas complexas

A curiosidade do homem em compreender a natureza dos materiais fez com que houvesse grandes avanços no campo da ciência dos materiais, partindo de modelos atômicos simples até aos mais elaborados e assim, foi possível acumular informações de propriedades químicas e físicas causadoras de grande impacto sobre os elementos nela presentes. Contudo, ainda maior era o anseio em compreender a interação entre as partículas que os compunham, criando a percepção da capacidade dos átomos de um determinado elemento de unirem entre si ou a outros átomos distintos, denominando tais uniões como ligações químicas (BRADY; HUMISTON, 1986).

Conhecer a estrutura atômica é de extrema necessidade quando se busca compreender as características de um material em razão de diversos fatores que regulam suas propriedades a exemplo da condutividade elétrica resultante da mobilidade de elétrons. Na natureza, os materiais apresentam-se sob três estados mais comuns: sólido, líquido e gasoso. Isso é possível devido às forças interatômicas que os tornam mais unidos ou mais dispersos. As relações interatômicas são produtos da conformação eletrônica dos átomos e ocorrem obedecendo a critérios decorrentes da aquisição, perda ou compartilhamento de elétrons. A perspectiva de ordenação e ligação entre os átomos possibilita que exista a interação e a variação da energia no sistema, alterando então sua configuração (LAWRENCE; VLACK, 2000).

Diferentes tipos de ligações atômicas são encontrados na natureza resultantes da interação coulombiana entre portadores de carga negativa e núcleos atômicos, balanceando a energia no sistema. Especificamente temos as ligações iônicas, covalentes e metálicas.

Nas ligações iônicas verifica-se o envolvimento entre íons de cargas opostas ocasionadoras da atração eletrostática. Uma vez que essa interação é muito forte, ela requer

uma expressiva quantidade de energia para que os portadores de carga unidos possam abandonar as configurações às quais pertenciam.

Os elétrons podem também ser compartilhados com a vizinhança, sendo que esse tipo de ligação é denominada covalente. Esta ocorre por atração devido à existência de elétrons na configuração que atraem as cargas próximas que se tornaram positivas na ausência do elétron.

Já em relação aos metais, eles assumem um importante papel no estudo dos materiais sólidos. Assim, eles resultam de átomos com baixa quantidade de elétrons e camada final cheia, possuindo fraca ligação ao núcleo atômico. Quando tais átomos são colocados em conjunto desvencilham-se de seus últimos elétrons que se tornam livres, tornando a ligação metálica fraca (OLIVEIRA, 2005).

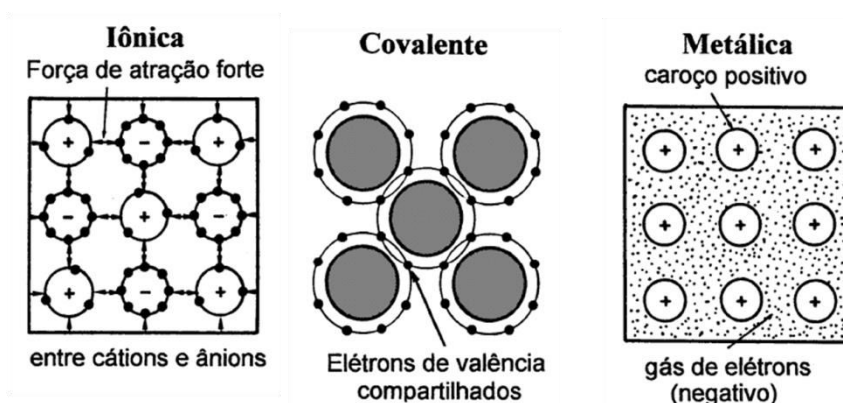


Figura 1 - Os principais tipos de ligações (Padilha, 2000).

2.2 Estruturações dos sólidos

As ligações iônicas, covalente e metálica são reguladores das coesões em sólidos e regulam as organizações dos mesmos e as propriedades dos materiais obedecem ao arranjo atômico que compõe suas estruturas. Os sólidos classificam-se estruturalmente nas modalidades de simples cristalino, policristalino e amorfo, descritos a seguir (SHACKELFORD, 2008).

Os sólidos cristalinos portam cargas que possibilitam agrupar-se periodicamente com repetição tridimensional padronizada, obedecendo a uma ordem definida. Uma das suas propriedades características é o ponto de fusão, temperatura na qual a rede cristalina é desestruturada, fazendo com que as moléculas ganhem a partir do aquecimento energia suficiente para vencer as forças de atração mantenedoras da coesão. Porém, moléculas mantidas por forças fracas têm, por conseguinte, baixos pontos de fusão, enquanto as

estruturadas por forças de atração mais fortes portam elevados pontos de fusão (VLACK, 1970).

Outra categoria de sólidos classificados como não cristalinos são os amorfos, os quais verifica-se que há a ausência de um agrupamento sistemático dos átomos e de seus arranjos, encontrados em grandes distâncias. Além dos amorfos há os materiais policristalinos, que são formados por vários simples cristais ou grãos (CALLISTER JR; RETHWICSH, 2010)

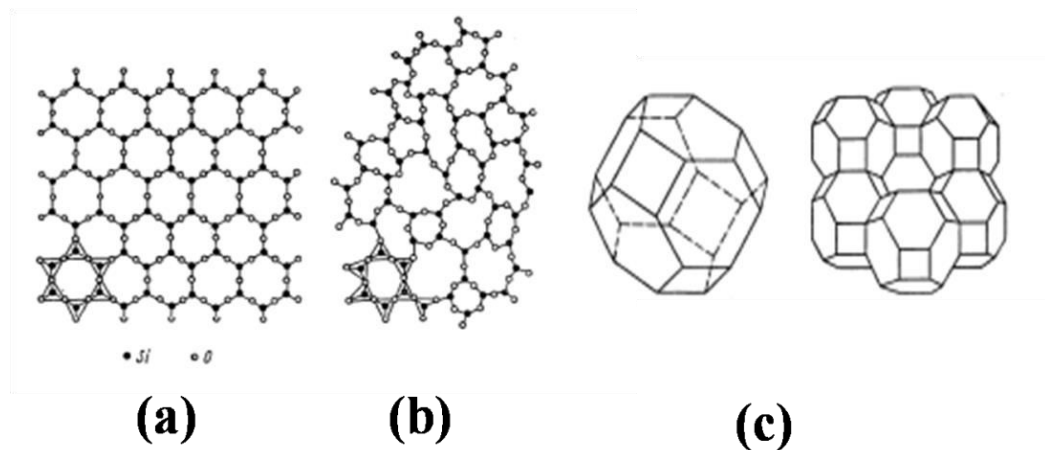


Figura 2 - Representação bidimensional da Sílica (a) Cristalina (b) Amorfa (c) Forma provável de grãos de um material policristalino (PADILHA, 2000).

2.3 Bandas de energia em cristais

As propriedades condutoras dos diferentes tipos de materiais são efeitos diretos do aparecimento de uma estrutura de bandas, de modo que resulte na interação elétron-rede e na ocupação dos níveis de energia eletrônicos de cada material (OLIVEIRA; JESUS, 2005).

Os sólidos cristalinos são caracterizados por deter uma expressiva quantidade de carga, por isso a relevância da forma como neles os átomos relacionam-se entre si. Um elétron presente em um átomo isolado possui estados quânticos descritos por níveis de energia discretos e quantizados; assim, uma vez que um cristal possui um grande número de átomos os elétrons estão sujeitos à interação com os átomos da vizinhança.

A princípio, um sistema de dois átomos está separado por uma distância muito maior que o raio de cada um deles, pode-se assegurar que todos os níveis eletrônicos estão duplamente degenerados. Isto é, para cada nível de energia haverá duas funções de onda distintas e ainda pode ocorrer que os dois elétrons possuam níveis de energia idênticos. Entretanto, se os referidos átomos estiverem muito próximos ocorrerá a sobreposição de suas

funções de onda e a partir de então considera-se que a interação entre eles não poderá ser desprezada. Fato é que ocorre um acoplamento das funções de onda de cada um dos elétrons dos dois átomos. Resultam assim em uma divisão em dois estados ligeiramente diferentes (respectivos a cada nível de energia) que correspondem às funções de onda simétrica e antissimétrica. O mesmo raciocínio pode ser ampliado também para um sistema composto por n átomos e assim cada nível discreto dos n átomos dota-se de n níveis de energia ligeiramente diferentes entre si.

As distâncias infinitas têm-se níveis de energias de estados semelhantes conjugados e correspondentes ao de um átomo no estado isolado, reduzindo a distância os níveis de energia separam-se, como resultado da interação com a vizinhança. Isso proporciona o surgimento de diversas bandas de energia (REZENDE, 2004).

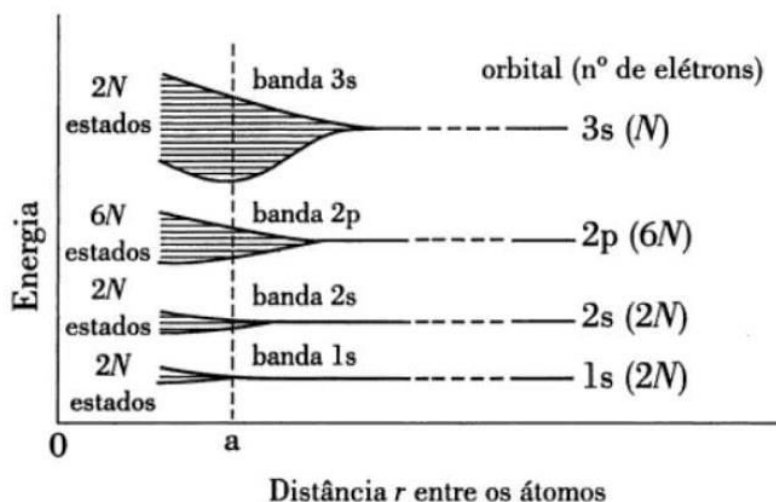


Figura 3 - Formação de bandas de níveis de energia devido à aproximação dos átomos em um sólido (REZENDE, 2004).

Bandas de energia para uma estrutura periódica cristalina são definidas como faixas contínuas de energia que são separadas entre si por faixas de energias proibidas. Assim, enquanto os estados de energia permitidos constituem as bandas de energia os estados de energia proibidos caracterizam o *gap* (REZENDE, 2004).

Quando há interação entre átomos na formação de um cristal, as funções de onda de seus elétrons se superpõem dando origem a conjuntos quase contínuos de estados possíveis e energeticamente distintos. A energia do *gap* (E_g) é aquela necessária para retirar um elétron da banda de valência (BV) para a banda de condução (BC) (EISBERG; RESNICK, 1979).

2.4 Semicondutores

Os materiais semicondutores ocupam um grande destaque dentro da pesquisa em Física do Estado Sólido com ampla aplicação no âmbito tecnológico de dispositivos eletrônicos como sensores, diodos, transistores, entre outros, dotados de propriedades elétricas específicas que os diferem de outros materiais, como os condutores e os isolantes (OLIVEIRA, 2005).

O aperfeiçoamento dos semicondutores revolucionou a optoeletrônica modificando diversos aspectos da sociedade com inovações tecnológicas tais como dispositivos captadores, emissores de luz, circuitos integrados, informática e telecomunicações. Esta ascensão tecnológica foi possível através da compreensão dos fatores relevantes à ciência dos materiais referentes às suas propriedades, caracterização e funcionamento.

Em conformidade com as respectivas propriedades elétricas, os materiais classificam-se nas categorias isolantes, condutores e semicondutores. Dentre as particularidades dos semicondutores se encontram a resistividade elétrica em faixa intermédia entre os metais e isolantes; a condutividade elétrica dependente de impurezas e temperatura; o excesso de cargas e a excitação óptica (REZENDE, 2004).

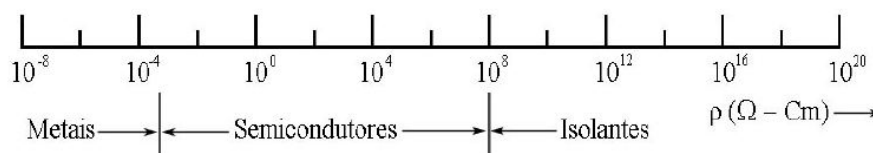


Figura 4 - Condutividade elétrica para metais, isolantes e semicondutores (REZENDE, 2004).

Os materiais sólidos recebem uma especial atenção pela Mecânica Quântica em consequência de seu caráter probabilístico e a eles aplica-se um modelo de bandas de energia, descritivo da específica estrutura cristalina por intermédio das bandas de valência (BV) e de condução (BC). Ambas encontram-se separadas por uma região de energias “proibidas” (*band gap*), cuja energia mínima requerida ao elétron para atravessá-la é denominada *gap* de energia (E_g). Em consonância com as propriedades elétricas, o tipo de preenchimento das bandas e o tamanho do *gap* permitem classificar os sólidos em isolantes, semicondutores e condutores (RAMANERY, 2012).

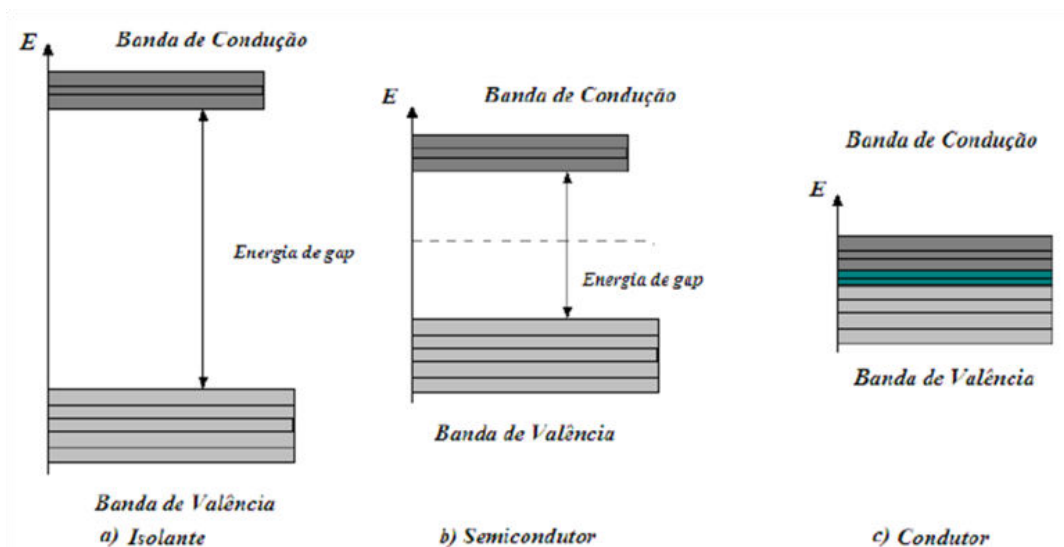


Figura 5 - Representação idealizada da configuração de bandas de condução, banda de valência e energia de *gap* para: (a) um isolante, (b) um condutor e (c) um semicondutor (RAMANERY, 2012).

Nos materiais em geral (em especial nos semicondutores), quando um elétron se encontra na BV e adquire energia suficiente para transicionar para a BC ele deixa na banda de menor energia estados ou vazios que tem comportamento semelhante aos portadores de carga elétrica positiva e que se denominam buracos (h^+). Estes ainda podem interagir com os elétrons excitados através de interações fracas coulombianas formando um par elétron-buraco, que no estado excitado é nomeado como éxciton (REZENDE, 2004).

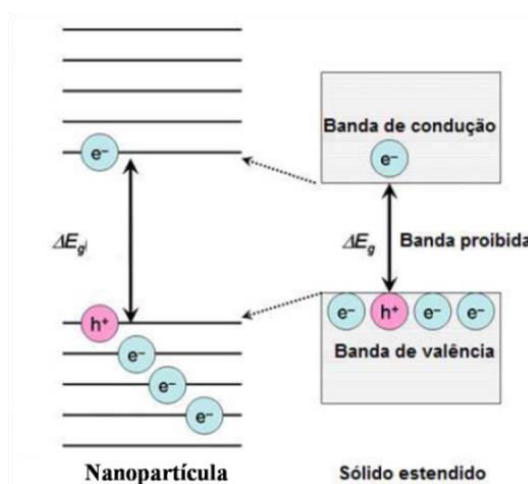


Figura 6 - Formação das bandas de energia devido à aproximação de um grande número de átomos em um sólido semicondutor, sendo e^- (elétron) e h^+ (buraco) (SCHATKOSKI, 2011).

As propriedades elétricas dos materiais semicondutores são extremamente sensíveis à presença de minúsculas concentrações de impurezas, visto que afetam suas propriedades

elétricas. Dessa forma, os semicondutores são divididos em intrínsecos e extrínsecos; o primeiro exerce um comportamento elétrico baseado na estrutura eletrônica inerente ao material puro, em que a concentração de elétrons na banda de condução de um semicondutor puro varia exponencialmente com a temperatura fazendo com que sua condutividade dependa fortemente da temperatura. Sendo assim, os semicondutores puros são utilizados em poucos dispositivos devido a este empecilho. Entretanto, para os semicondutores extrínsecos as características elétricas são ditadas pelos átomos de impurezas (REZENDE, 2004).

Ainda para semicondutores, na mudança do elétron entre o topo da BV para o mínimo da BC, a região de maior energia da banda de valência pode estar no mesmo ponto do espaço recíproco em que se encontra a região de menor energia da banda de condução, caracterizando um semicondutor de *gap* direto (Fig. 7(a)). Para este a excitação é somente devido à fonte externa ao material e após a recombinação existe a emissão de um fóton por parte do material com energia equivalente à E_g . Entretanto, nos semicondutores de *gap* indireto (Fig. 7(b)) a energia do fóton deve ser acrescentada à energia de uma vibração intrínseca da rede do material, ou seja, tal energia envolve fótons e fônons e a probabilidade de absorção ou emissão de fótons é menor (RAMANERY, 2012, REZENDE, 2004).

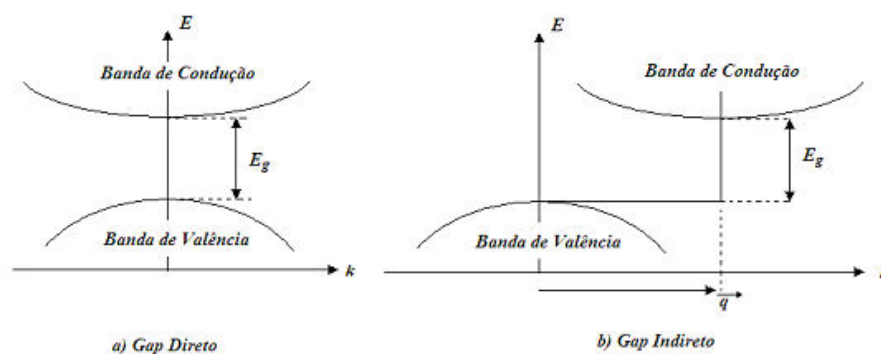


Figura 7 - Transições eletrônicas em semicondutores para materiais com *gap*: (a) direto e (b) indireto (RAMANERY, 2012).

Os semicondutores com elevada frequência em pesquisa correspondem aos formados por elementos da coluna IV da tabela periódica tais como: silício e germânio; compostos III-V como GaAs (Arseneto de gálio), AlAs (Arseneto de alumínio), GaSb (Antimoneto de o;gálio) e InP (Fosfeto de índio); compostos IV-VI tais como PbS (sulfeto de chumbo), PbSe

(Seleneto de chumbo) e PbTe (Telureto de chumbo); compostos II-VI como CdSe (Seleneto de cádmio), CdTe (Telureto de cádmio) e Cu₂S (Sulfeto de cobre); compostos ternários como Al_xGa_{1-x}As (Arseneto de gálio e alumínio) e os quaternários (LEÃO, 2009).

2.4.1 Massa Efetiva

O comportamento de um elétron numa determinada rede periódica estando sob a ação de um campo elétrico externo torna-se importante de ser compreendido, visto que a mobilidade da carga negativa está intrinsecamente ligada às propriedades elétricas dos metais, particularmente os semicondutores. Assim, necessita-se introduzir o conceito de massa efetiva do elétron.

Considerando que o elétron se desloca com velocidade de grupo constante v_g e momento $p = \hbar k$, ele pode ser descrito como um pacote de onda com energia associada ao portador de carga negativa correspondente a $E = \hbar\omega$, como é apresentado por (REZENDE, 2004):

$$v_g = \frac{1}{\hbar} \frac{\partial E}{\partial k} \quad (2.0)$$

Quando uma força age sobre o elétron em função de um campo elétrico, sua energia irá variar de acordo com a posição dx . Assim, aplicando a equação anterior (2.0) em $dE = Fdx$ teremos (REZENDE, 2004):

$$Fdx = \hbar v_g dk \quad (2.1)$$

Considerando que a equação $dx = v_g dt$ é aplicada na equação anterior, resulta-se:

$$F = \hbar \frac{dk}{dt} \quad (2.3)$$

A equação (2.3) nos remete a ideia sobre o momento do elétron $p = \hbar k$ e isso nos mostra que a rede não influencia a equação de sua variação, alterando apenas a dependência da energia com o momento, significando apenas na mudança da massa do elétron. Isto pode

ser expresso através da aceleração da carga negativa associada com E e k, assim (REZENDE, 2004):

$$a = \frac{dv_g}{dt} = \hbar^{-1} \frac{\partial^2 E}{\partial k \partial t} = \hbar^{-1} \frac{\partial^2 E}{\partial k^2} \frac{dk}{dt} \quad (2.4)$$

Logo, obtemos:

$$F = ma \quad (2.5)$$

$$F = \frac{\hbar^2}{\partial^2 E / \partial k^2} a \quad (2.5)$$

De acordo com a equação anterior, sob a ação de uma força externa a carga negativa na rede age similarmente a um elétron livre. Temos então a massa efetiva (REZENDE, 2004):

$$m^* = \frac{\hbar^2}{\partial^2 E / \partial k^2} \quad (2.6)$$

2.4.2 Confinamento Quântico

Enquanto uma amostra semicondutora de grande volume apresenta frequências contínuas de absorção, à medida que se reduz o tamanho do material semicondutor o espectro de absorção passa a apresentar picos localizados nas frequências associadas à transição entre níveis discretos (ou quase discretos) de energia. Observa-se, ainda, que a energia da banda proibida aumenta com a redução do raio do material nanocristalino. Isso ocorre devido ao efeito de confinamento quântico que altera significativamente as propriedades de absorção e emissão dos mesmos em função do seu tamanho.

Para a compreensão do confinamento quântico pode-se modelar o nanocristal como um poço de potencial finito cuja variação dimensional por estreitamento ou alargamento faz com que os estados de energia permitidos sofram deslocamentos entre si, aproximando-se ou afastando-se. No caso utilizando nanocristais, conforme o poço diminui maior será o afastamento entre os níveis de energia nos semicondutores (KITTEL, 1975).

Utiliza-se então o raio de *Bohr* que é uma medida que define a distância em um sistema entre elétron-buraco cujo par é o éxciton, ligado por atração Coulombiana e que está livre para mover-se no interior do cristal semicondutor. Observa-se, portanto que o

confinamento quântico se torna apreciável quando o diâmetro do material se torna da ordem do raio de *Bohr*.

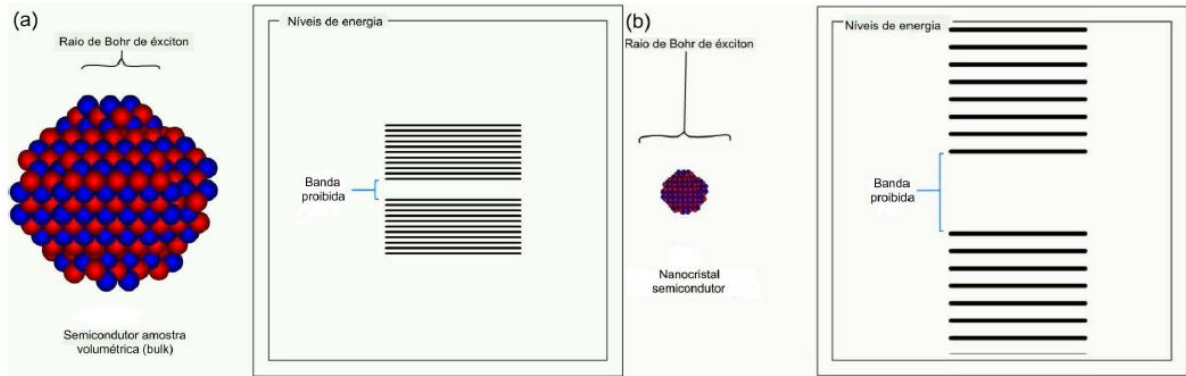


Figura 8 - Relação do Raio de Bohr de éxciton com a dimensão do cristal em amostra volumétrica (a), em nanocristal semiconductor (b) e seu efeito sobre o espaçamento entre níveis de energia de banda proibida (SANTOS, 2012).

O raio de *Bohr* do éxciton se caracteriza pela equação (SANTOS, 2012):

$$\alpha_B = \frac{4\pi\epsilon_0\epsilon_\infty\hbar}{m_0e^2} \times \left(\frac{1}{m_e^*} + \frac{1}{m_h^*} \right) , \quad (2.8)$$

em que ϵ_0 é a constante dielétrica no vácuo; ϵ_∞ é a constante dielétrica do meio; m_e^* e m_h^* são respectivamente as massas do elétron e do buraco no semiconductor; m_0 é a massa do elétron em repouso; \hbar é a razão entre a constante de Planck e 2π e e é a carga elementar do elétron.

2.5 Pontos Quânticos

Em especial, nos materiais semicondutores a miniaturização confere alterações nas propriedades físico-químicas interessantes e novas comparadas às obtidas pelos mesmos na escala macroscópica. Assim, os nanomateriais constituem grande avanço tecnológico obtido pela fabricação em nanoescala em que seus tamanhos podem ser reduzidos da ordem macroscópica para apenas alguns nanômetros.

Os pontos quânticos (PQ's) são nanopartículas semicondutoras de dimensões nanométricas denominados “átomos artificiais” por dimensionar o confinamento do elétron similar a um átomo autêntico. Uma grande vantagem dos pontos quânticos em relação aos átomos naturais reside na possibilidade de modificação, controle de tamanho, forma e

confinamento. As referidas propriedades conferem as nanopartículas semicondutoras de mesmos materiais diferentes propriedades em conformidade com tamanho das mesmas. Já os níveis de energia dos átomos reais podem ser estendidos às nanopartículas, de forma que possam vir também a ser estudados por métodos de espectroscopia óptica; sendo assim, é possível excitar um ponto quântico e usar métodos ópticos para analisar seu sinal (FRASCO; CHANIOTAKIS, 2010).

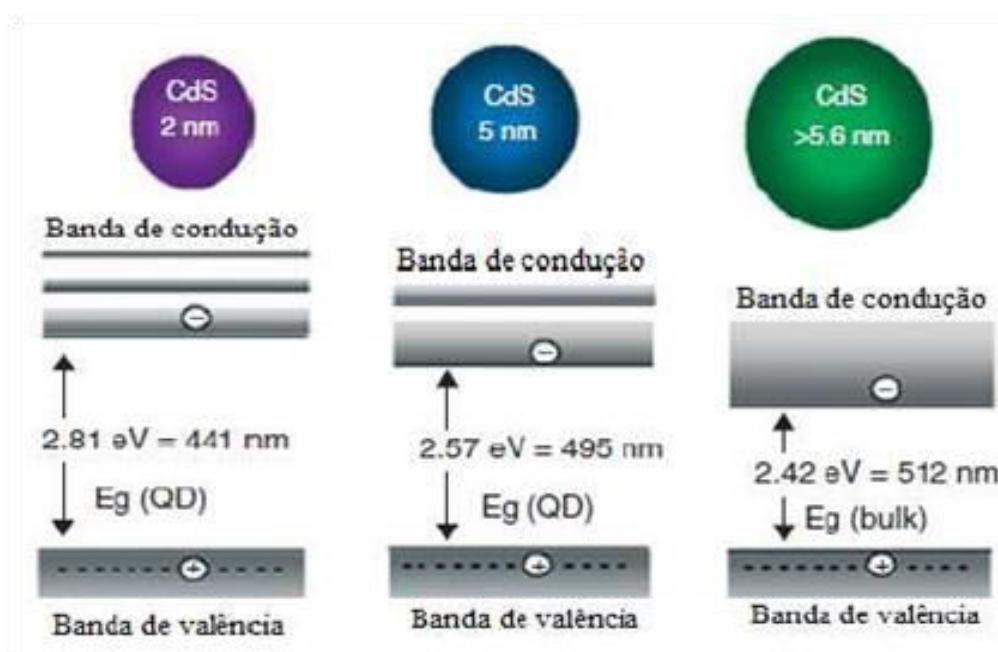


Figura 9 - Redução do tamanho de uma partícula semicondutora CdS dentro do regime de confinamento quântico e suas respectivas energias de *gap* (E_g) (SCHATKOSKI, 2011).

O comprimento de onda (λ) de emissão da nanopartícula é condicionado ao seu respectivo tamanho. Assim, pontos quânticos de mesma natureza e tamanhos diferentes luminescem em diferentes cores, o que possibilita a confecção de nanocristais com a intenção de que absorvam e emitam em específicos comprimentos de onda. A relação entre tamanho e energia possibilita estimar a fabricação de células solares, marcadores biológicos, biosensores, telecomunicações, amplificadores ópticos, entre outros (SANTOS; FARIAS; FONTES, 2008).

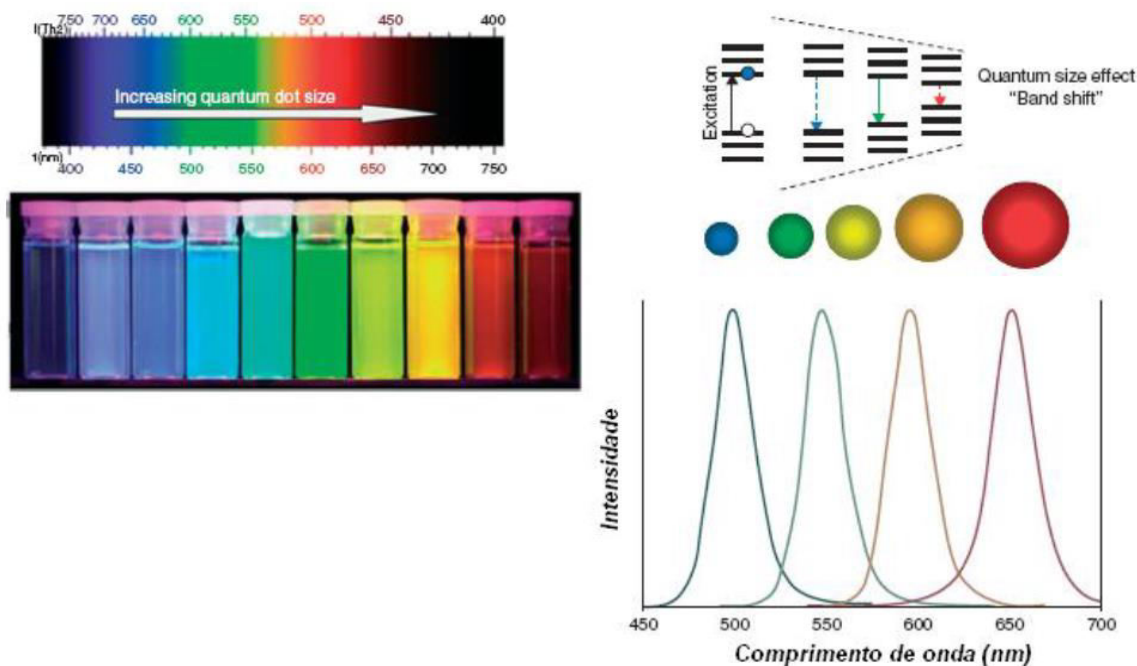


Figura 10 - Amostras por dispersão de PQ's com diferentes cores de emissão (MANSUR, 2010).

O semiconductor *bulk* (3-D) possui densidade de estados $\rho(E)$, representando uma função contínua interna à banda de energia. Se qualquer de suas dimensões for reduzida a espessuras da ordem do λ do elétron, isto limita o movimento eletrônico da respectiva direção espacial alterada, ocorrendo então uma variação na densidade de estados de energia permitidos ao elétron ocupar, pois o confinamento os altera. (BARNHAM; VEDNSKY, 2001).

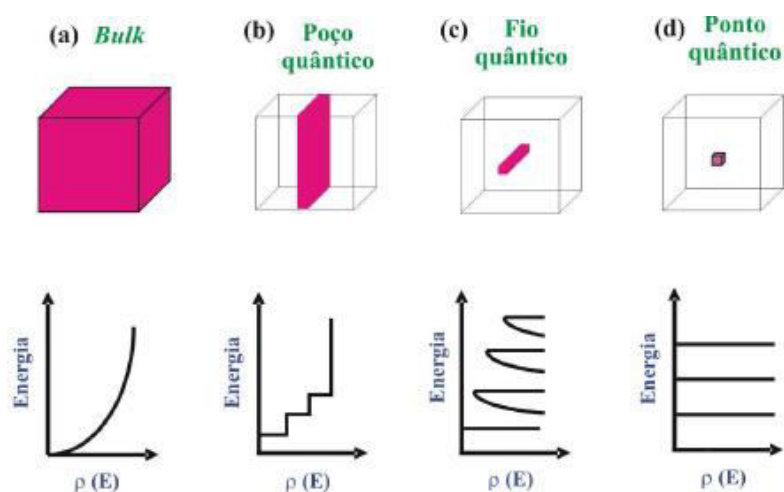


Figura 11 - Representação esquemática das mudanças de densidades de energia em função do confinamento quântico (SILVA, 2008).

Quando o movimento é limitado apenas em uma das direções, os portadores estão livres para mover-se em duas dimensões denominando-se poços quânticos (2-D); a continuidade da limitação das direções propicia obter os fios quânticos (1-D) e os pontos quânticos (0-D). A densidade de estados dos fios quânticos (1-D) caracteriza-se por singularidades enquanto que a dos pontos quânticos é discreta e similar à de átomos.

Os pontos quânticos típicos têm poucos nanômetros de diâmetros e são formados por poucos milhares de átomos. O confinamento tridimensional que os origina implica em uma exata localização dos elétrons e suas propriedades assemelham-se à de um elétron confinado em uma caixa. À medida que as partículas diminuem de tamanho o Eg aumenta alterando as propriedades óptico-eletrônicas do material (SILVA, 2008).

2.5.1 Pontos Quânticos Coloidais do tipo Núcleo /Casca

Os sistemas coloidais são aqueles que apresentam componentes com dimensões entre 1 nm a 1 μ m, dispersos homogeneamente num meio contínuo. Tais sistemas podem ser gases, líquidos ou compostos no estado sólido e para que sejam aplicáveis tecnologicamente necessitam de estabilidade quanto ao tamanho e forma das unidades constituintes.

Já os pontos quânticos coloidais são aqueles inseridos num meio coloidal e apresentam relevância devido à distribuição de tamanhos das nanopartículas e o controle de suas respectivas formas. Tais atributos acarretam influência direta nas propriedades finais que a amostra deve apresentar, esperando-se então que partículas totalmente esféricas tenham interações diferentes com a radiação eletromagnética quando, por exemplo, se comparadas com o mesmo material em formas anisotrópicas (SANTOS, 2013).

Pelas técnicas de crescimento de cristais, fabricam-se nanopartículas semicondutoras em solução coloidal por métodos químicos, sendo especificamente PQ's do tipo núcleo - casca os quais o ponto quântico semicondutor tem o núcleo revestido com uma camada de outros semicondutores como um escudo. Em razão das nanopartículas núcleo-casca serem sintetizadas por métodos químicos em suspensões coloidais orgânicas, as soluções coloidais possibilitam adequado tamanho e controle da forma. São pequenas e esfericamente simétricas, sendo adequado esperar que exerçam forte confinamento dos portadores (KAWATA; OGAWA; MINAMI, 2011).

Outro fator a ser considerado refere-se às propriedades ópticas e elétricas dos semicondutores. Sendo assim, elas são influenciadas pela grande quantidade de átomos

superficiais e devido à frequentes reconstruções nas posições dos átomos localizados na superfície, ocasionando defeitos que aprisionam os elétrons diminuindo a recombinação radiativa e reduzindo o rendimento quântico. Por essa razão, cobrir ou passivar a superfície é de grande importância para a obtenção de pontos quânticos fotoestáveis e a passivação consiste no processo químico o qual os átomos superficiais ligam-se a outros materiais e é geralmente obtido pela deposição de uma camada, coroa ou capa orgânica ou inorgânica na superfície do nanocristal (CACHETAS,2013).

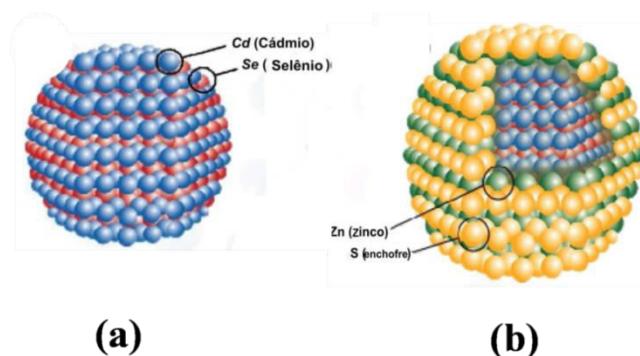


Figura 12 - (a) distribuição atômica de um ponto quântico coloidal esférico de CdSe; (b) ponto quântico coloidal esférico com estrutura de núcleo casca de CdSe/ZnS (CACHETAS,2013).

Os semicondutores nanocristalinos do tipo núcleo/casca são constituídos combinando-se dois semicondutores distintos, um dos quais sendo o núcleo, o qual deve ser recoberto por uma camada externa contendo outro tipo de semiconductor. A deposição de um material sobre o outro altera as propriedades eletrônicas e ópticas, principalmente nas interfaces contactadas ao sólido de forma integral, ou seja, tal procedimento ocorre através da diferença entre as afinidades eletrônicas e as energias de banda proibida de cada material. Selecionar adequadamente os materiais do núcleo e da casca permite ampliar a emissão desses nanomateriais para uma ampla faixa de comprimentos de onda do espectro (SCHATKOSKI, 2011).

A mixagem de diferentes semicondutores pode resultar em um melhor desempenho quando comparados a dos PQ's de semicondutores individuais. Dependendo do E_g e da posição relativa do nível de energia eletrônica dos semicondutores envolvidos, a casca pode ter funções diferentes em semicondutores com estrutura do tipo núcleo/casca, classificando-se conforme o alinhamento da banda de energia como os tipos-I e II.

Os pontos quânticos do Tipo-I (Fig.13) são aqueles em que a BC da casca apresenta energia mais alta que a BC do núcleo. Além disso, a BV do núcleo tem energia mais alta do que a BV da casca. Como consequência, os elétrons e os buracos ficam confinados no núcleo. Os pontos quânticos do tipo núcleo apresentam apenas esta configuração (ALVES, 2011).

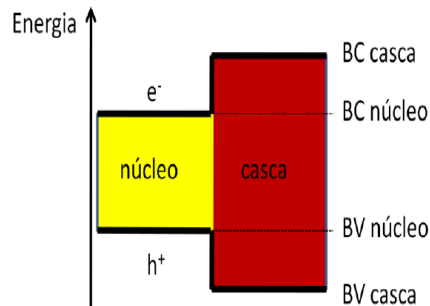


Figura 13 - Estrutura de bandas para um ponto quântico núcleo/casca Tipo - I (ALVES, 2011).

Os pontos quânticos do Tipo-II (Fig.14) classificam-se em duas modalidades. Na primeira, a BC da casca apresenta energia mais alta do que a BC do núcleo e a BV da casca possui energia mais elevada do que a da BV do núcleo.

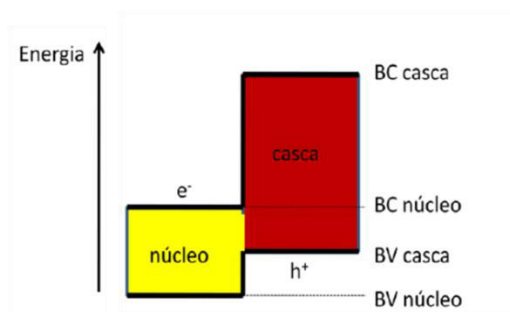


Figura 14 - Estrutura de bandas para um ponto quântico núcleo/casca na primeira modalidade do Tipo - II (ALVES, 2011).

Na segunda modalidade do Tipo-II (Fig.15), a BC da casca apresenta energia menor que do que a BC do núcleo e o BV do núcleo energia mais alta do que a BV casca.

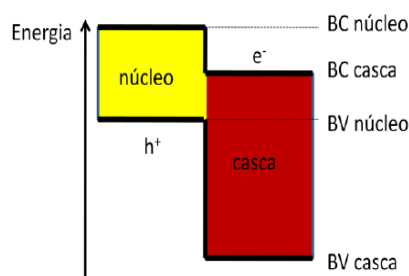


Figura 15 - Estrutura de bandas para um ponto quântico núcleo/casca para a segunda modalidade Tipo-II (ALVES, 2011).

Os pontos quânticos estudados e utilizados nesta pesquisa são os núcleos/casca do Tipo-I.

2.6 Corantes

Os corantes sintéticos podem ser classificados como compostos orgânicos e quando são aplicados a um substrato têm capacidade de promover cor devido à presença de grupos químicos denominados cromóforos. Estes grupos são covalentes não saturados com duplas ligações conjugadas e são introduzidos em moléculas orgânicas do tipo hidrocarbonetos de forma que tais grupos são responsáveis pela absorção eletrônica e visualização da cor.

Substâncias que sejam portadoras de cromóforos em diferentes arranjos produzem a sensação de diferentes tonalidades de cor como azul claro, azul esverdeado, azul avermelhado, azul marinho, entre outras. Entretanto, mesmo que os cromóforos forneçam cores as substâncias, a intensidade ou o brilho estão associados à presença de outro grupo químico denominado auxócromo. Este grupo é saturado e quando ligado a um cromóforo, altera o comprimento de onda para a intensidade máxima de absorção, promovendo o aumento da intensidade da cor (NETO, 2008).

Logo, os corantes orgânicos por serem compostos químicos transferidores de cores para outros materiais como, por exemplo, tecidos e materiais orgânicos, caracterizam-se por apresentarem fortes bandas tanto de absorção quanto de emissão na região do visível em faixas entre o ultravioleta e infravermelho próximo. Atualmente são conhecidos diversos corantes de diferentes composições químicas com propriedades de emissão e absorção de luz e suas propriedades ópticas dependem da especificidade do corante e do solvente utilizado (SILVA, 2008).

Grupo Cromóforo	Estrutura Química
Azo	
Antraquinona	
Indigóide	
Ftalocianina	
Nitro	
Nitroso	
Xanteno	
Oxazina	
Formazan	
Trifenilmetano	

Figura 16 - Classificação dos principais grupos cromóforos de corantes e suas estruturas químicas (VACCHI, 2012).

2.6.1 Corante *Neutral Red* (NR)

O *Neutral Red* (NR) ou corante vermelho neutro, consistiu no corante para o estudo de FRET na presente pesquisa. Pertencente à classe Fenazina, cujo cromóforo corresponde à $\backslash C = N -$, ele apresenta fórmula molecular $C_{15}H_{17}ClN_4$; peso molecular 288.78; é solúvel em água, etanol e etileno-glicol; é praticamente insolúvel em xileno; possui espectro de absorção (λ_{max}) entre 533 e 540 nm e emissão (λ_{max}) em 640 nm (SABNIS, 2010).

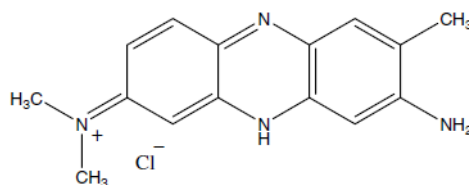


Figura 17 - Fórmula estrutural do corante *Neutral Red* (SABNIS, 2010).

Esse corante tem sido amplamente utilizado como um indicador de pH intracelular pois oferece menor toxicidade, maior estabilidade e facilidade de utilização em comparação a outros marcadores fluorescentes comuns (SHAHABADI; MOGHADAM, 2013).

Devido à sua estrutura planar, o NR pode interagir facilmente com muitas moléculas biológicas e pode ser utilizado ainda como uma sonda fluorescente para analisar a interação de pequenas moléculas do ácido desoxirribonucléico (DNA). Constitui-se ainda como um sensibilizador fotoquímico de toxicidade relativamente baixa e utilizado como um fármaco fotossensível, pois sob a irradiação de luz ultravioleta o NR pode absorver sua energia e transferi-lo para um oxigênio tripleto ($^3\text{O}_2$) e produzir o oxigênio singleto ($^1\text{O}_2$), podendo então danificar a membrana celular e as substâncias intracelulares como proteínas e ácidos nucleicos ou até mesmo provocar a morte celular (LIU *et al*, 2010).

2.7 Solventes

Denominam-se solventes os meios em que são diluídas ou imersas diferentes classes de solutos. Assume-se relevância em conhecer as interações entre os constituintes de uma solução líquida, pois isso possibilita por extensão a compreensão das relações intermoleculares. Os solventes em uma solução têm por papel dissolver o soluto, seja este corante, polímero, nanopartícula e outros e, além disso, exerce uma forte influência sobre as propriedades dos materiais ocasionando variações da eficiência quântica correspondente a fluorescência, estabilização, interferência dos espectros de excitação e emissão, difusividade e condutividade térmicas e coeficiente de refração (PILLA *et al*, 2007).

É relevante ressaltar que entre soluto e solvente as relações mais frequentes são: interações eletrostáticas; dipolo-dipolo; íon-dipolo; íon-dipolo induzido; pontes de Hidrogênio; forças de dispersão, construção e desestruturação e efeitos específicos.

Os solventes são classificados em próticos quando doadores de ligações de hidrogênio e apróticos quando não doadores. Os solventes apróticos, apesar de conter átomos de hidrogênio, não podem doá-los para formar fortes ligações. São exemplos de solventes apróticos a dimetilformamida (DMF), a dimetilacetamida (DMA), o dimetilsulfóxido (DMSO), a acetona e a acetonitrila.

As interações soluto/solvente ocorrem em um nível microscópico numa estrutura descontínua constituída de moléculas individuais do solvente. Tal processo liga-se a condição

de polaridade e a possibilidade de ligação de hidrogênio com o soluto. A polaridade do solvente consiste na sua capacidade de solvatação geral a qual decorre das interações entre moléculas ou íons do soluto e moléculas do solvente (VENTURINI, 2005).

Os solventes utilizados para este trabalho (Tabela 1) foram obtidos da empresa *Sigma-Aldrich* e a escolha dessas substâncias ocorreram devido à disponibilidade no laboratório, como também determinar quais solventes forneceriam melhores condições para evidenciar o processo de FRET.

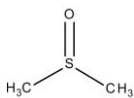

Solventes	Fórmulas Estruturais	Polaridade
Dimetilsulfóxido (C ₂ H ₆ OS)		polar
Clorofórmio (CHCl ₃)		apolar

Tabela 1 - Solventes utilizados no trabalho para preparar as soluções.

3 TRANSFERÊNCIA DE ENERGIA

O foco do presente trabalho teve como relevância os processos gerais de transferência de energia com concentração na transferência de energia fluorescente ressonante (FRET).

3.1 Processos de Desexcitação

A transferência de energia consiste em um processo no qual uma espécie química (seja átomo, molécula, íon ou radical), ao sofrer excitação eletrônica a remete a outros materiais de igual ou diferente natureza e também pode ocorrer entre grupos de uma mesma molécula. A transferência de energia ocorre a partir de um cromóforo denominado doador (D), para outro aceitador (A) com ou não emissão de fótons e tais transições podem ocorrer tanto de modo intramolecular, entre partes diferentes de uma mesma molécula ou intermoleculares, envolvendo moléculas diferentes (MARQUEZIN, 2008).

Se considerado, por exemplo, um único íon transicionado de seu estado excitado para outro de menor energia, constata-se a perda energética posterior à excitação eletrônica por decaimento radiativo (cuja probabilidade é dada por W_r) ou não radiativo de multifônons, (designado por W_{nr}).

3.1.1 Processo Radiativo

O processo radiativo é aquele que ocorre pela emissão de fótons com energia $\Delta E = h\nu$, em que ΔE corresponde à diferença entre os níveis E_2 e E_1 . No referido processo, quando há excesso de energia, ela é emitida por radiação (luminescência) através de decaimento espontâneo ou estimulado conforme mostrado na figura 18 abaixo.

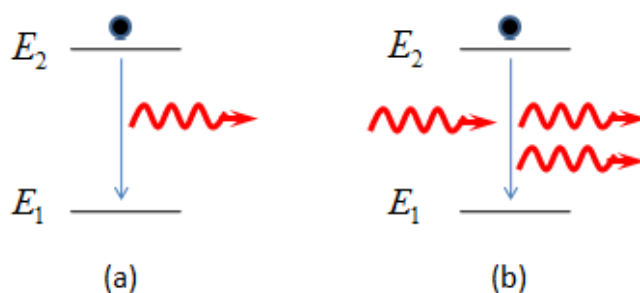


Figura 18 - Emissão espontânea em (a) e emissão estimulada em (b) (Alves, 2011).

A probabilidade de ocorrer o processo radiativo eleva-se quanto maior for à diferença entre os níveis eletrônicos ou o crescimento da energia de *gap* (JAGOSICH, 2008).

Tendo o sistema de dois níveis de energia E_1 e E_2 , em que $E_2 > E_1$, assume-se que o íon ou partícula esteja inicialmente no nível E_2 . Consequentemente, se a partícula decai para o nível E_1 liberando energia na forma de uma onda eletromagnética que corresponde ao valor da diferença $E_2 - E_1$ tem-se então uma emissão espontânea. Por outro lado, se uma radiação eletromagnética com a mesma frequência atômica forçar uma transição do nível 2 para o 1 e deste decaimento resultar um fóton da diferença de energia $E_2 > E_1$, em fase com a radiação incidente e com a mesma direção, caracteriza-se uma emissão estimulada (SVELTO, 2010).

A probabilidade da ocorrência de emissão espontânea define-se pela razão da taxa de decaimento da população no nível superior $\left(\frac{dN_2}{dt}\right)_{sp}$, a qual decresce e deve ser proporcional à densidade de população do nível E_2 . Dessa forma, pode ser escrita da forma (SVELTO, 2010):

$$\left(\frac{dN_2}{dt}\right)_{sp} = -AN_2 \quad (3.0)$$

O coeficiente A é denominado taxa de emissão espontânea ou coeficiente de Einstein, devido a considerações termodinâmicas.

Similarmente tem-se uma equação que relaciona a probabilidade de ocorrer uma emissão estimulada do nível E_2 para E_1 , ou seja, $2 \rightarrow 1$, dada pela equação abaixo (SVELTO, 2010):

$$\left(\frac{dN_2}{dt}\right)_{st} = -W_{21}N_2 \quad (3.1)$$

O fator W_{21} (denominado taxa de emissão estimulada) depende particularmente da intensidade da onda incidente (SVELTO, 2010).

3.1.2 Processo não radiativo

Em processos não radiativos as transições eletrônicas demandam o acionamento de fônons da rede. Sendo assim, o sistema os gera quando uma determinada transição necessita dissipar uma quantidade de energia excessiva da mesma forma que absorve fônons quando a rede fornece uma quantidade de energia necessária para que ocorra uma transição. Neste processo o excesso de energia é perdido por mecanismos que não envolvem emissão de radiação e, além disso, há a emissão de um número de fônons da rede que dissipam a energia ΔE da transição entre os níveis E_2 e E_1 no decaimento não radiativo (JAGOSICH, 2008).

O decaimento não radiativo também pode ter origem a partir de colisões, que se tratam de espécies interagentes como gases ou líquidos utilizam-se da energia de transição obtida por excitação ou pela energia cinética resultante das colisões entre espécies ou com as paredes do recipiente. Assim, tal processo é denominado desativação colisional.

Ao trabalhar com sólidos, sejam cristais iônicos ou vidro, a energia do íon excitado é dissipada por uma rede de fônons ou por modos vibracionais na matriz vítrea. A taxa de decaimento não radiativo $\left(\frac{dN_2}{dt}\right)_{nr}$ pode então ser escrita na forma (SVELTO, 2010):

$$\left(\frac{dN_2}{dt}\right)_{nr} = -\frac{N_2}{\tau_{nr}} \quad (3.2)$$

Nesta equação N_2 corresponde à população no nível E_2 e τ_{nr} é o tempo de vida para um decaimento não radiativo de um nível mais energético E_2 para um menos energético E_1 (SVELTO, 2010).

3.2 Meios de Transferência de Energia

A seguir, abordam-se os diferentes mecanismos por meios dos quais a energia poder ser cedida de um doador para um aceitador, quer sejam de natureza radiativa ou não.

3.2.1 Tratamento Microscópico

O tratamento microscópico corresponde a uma interação entre dois ou mais íons e tem por finalidade determinar os parâmetros de relevância na caracterização das propriedades de luminescência. Quando há transferência direta de energia, temos a atuação de um íon doador (D) que fornece energia para um íon aceitador (A) e isto é possível ocorrer de quatro modos em que as energias podem ser trocadas diretamente. Contrariamente a transferência direta, existe a possibilidade de ocorrer também à transferência inversa, ou seja, do aceitador para o doador, denominada retro-transferência ou *back-transfer* (JAGOSICH, 2000).

Em relação à transferência direta têm-se as seguintes relações:

- A. Radiativa ressonante (Fig. 19) - O processo de transferência ocorre através da emissão de fótons reais pelo doador (D) e a reabsorção desta radiação pelo aceitante (A).

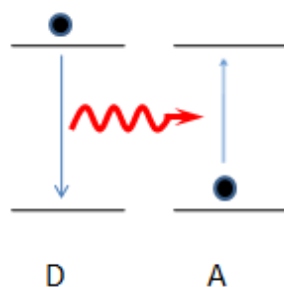


Figura 19 - Radiativa ressonante com a emissão de um fóton pelo doador e sua absorção pelo aceitador (ALVES, 2011).

- B. Não radiativa ressonante (Fig. 20) - A transferência de energia ocorre através da interação eletromagnética multipolar entre os níveis do doador e aceitador sem envolver a emissão de fótons. Ambos os íons apresentam energia de excitação praticamente idêntica sendo considerados níveis ressonantes. Além disso, é possível que a excitação seja transferida de um íon para outro. Este processo de transferência de energia também é denominado mecanismo Förster.

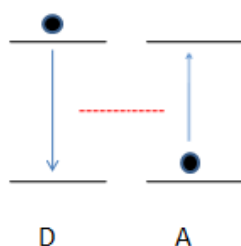


Figura 20 - Processo não radiativo ressonante ou interação via fótons virtuais, realizado devido à interação multipolar (ALVES, 2011).

C. Não radiativa assistida por fônons (Fig. 21) - Transferência que envolve interação eletromagnética, mas que também envolve de fônons locais para absorver (ou fornecer) o excesso (ou falta) de energia no balanço entre a emitida pelo doador e absorvida pelo aceitador.

Sendo assim, esse processo pode ocorrer mesmo na ausência de ressonância dos espectros envolvidos. Entretanto, a diferença de energia entre os níveis excitados do doador e do aceitante muitas vezes supera a energia dos fônons da rede.

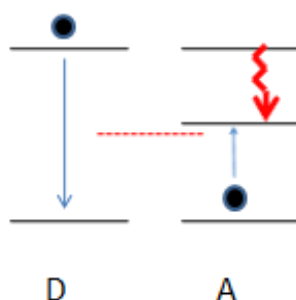


Figura 21 - Transferência não radiativa compartilhada por fônons (ALVES, 2011).

D. *Quenching* ou relaxação cruzada (Fig. 22) – Transferência que ocorre entre os íons D-A. A energia de excitação do doador é parcialmente transferida para um íon vizinho, o qual decai para um nível excitado intermediário para onde também se leva o íon aceitador permanecendo o par em posição equivalente intermediária sem a emissão de fótons.

A condição fundamental para a ocorrência deste sistema é a existência de três níveis: estado fundamental, intermediário e excitado. Em síntese, um elétron do doador no estado excitado decai para o estado intermediário, transferindo a energia do decaimento para um elétron do aceitador no estado fundamental e transicionando-o para o estado intermediário do aceitador, em que ambos D-A encontram-se ao final em seus estados intermediários.

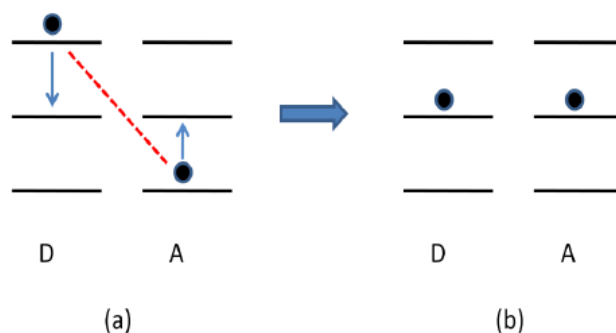


Figura 22 - *Quenching* entre o doador e o aceitador (ALVES, 2011).

E. Conversão ascendente de energia (Fig. 23) – Realiza transição oposta ao *quenching* e com absorção de dois ou mais fótons. Sendo assim, ele parte de um estado intermediário de energia equivalente a dos íons doador e aceitador para finalizar o doador num nível fundamental e o aceitador no nível excitado, havendo entre ambos um estado metaestável.

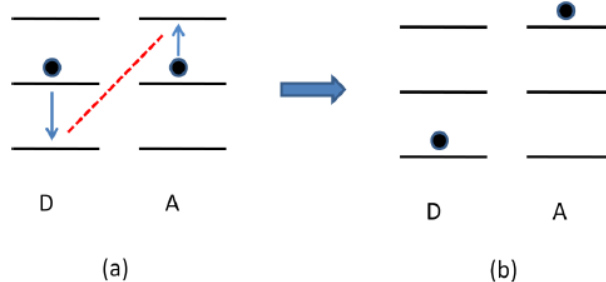


Figura 23 - Ilustração simplificada do processo de conversão ascendente de energia. Assim, o processo consiste em (a) antes da transferência de energia e em (b) após a transferência de energia (ALVES, 2011).

3.2.2 Tratamento Macroscópico

Os principais processos microscópicos de transferência de energia consideram interações somente entre dois íons. Porém, as interações entre vários íons requerem tratamento macroscópico que, ao contrário do anterior, considere a totalidade dos possíveis pares de íons do sistema e as respectivas distâncias entre eles.

Para o tratamento macroscópico utiliza-se a amostragem dos processos microscópicos com a finalidade de realizar extrapolação dos respectivos resultados que correlacione aos obtidos experimentalmente. Importante ressaltar que a transferência D-D (doador-doador) pelo sistema macroscópico não é desprezível, sendo em alguns casos superior às transferências D-A constatando-se que a energia de excitação tem a propriedade de migrar entre os doadores antes de ser enviada para um aceitador. A difusão de energia consiste num método apropriado para a compreensão da referida migração (JAGOSICH, 2000).

Uma variável determinante no processo difusivo de portadores em um material consiste na necessidade de conter alta concentração de energia, o que é obtido na maior parte das vezes pela excitação de uma fonte de laser na região de excitação.

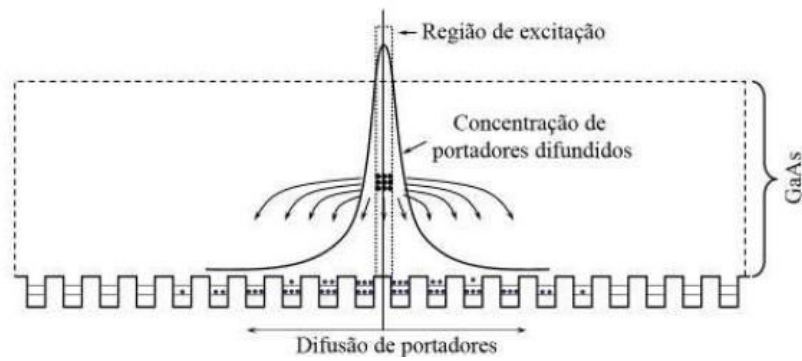


Figura 24 - Ilustração esquemática do processo de difusão de elétrons gerados por um feixe incidente na região de excitação seguida pela captura dos pontos quânticos InAs (MARQUES, 2009).

Pelo movimento aleatório dos portadores e dos choques entre eles, a tendência é que após certo intervalo estejam distribuídos homogeneamente e tridimensionalmente no interior da amostra, sendo que o processo dinâmico da difusão acontece no sentido da região de maior concentração de portadores para a de menor concentração (REZENDE, 2004).

Necessita-se de início encontrar as equações relacionadas com o processo de difusão convencional detectando onde apenas elétrons e buracos estejam se difundindo. Tais equações são obtidas partindo-se do modelo mais simples possível, o qual apenas elétrons se difundem e cujo processo ocorre unidimensionalmente. Para tanto considera-se $n(x)$ a concentração de elétrons em função da distância, l a distância média entre duas colisões e τ_c o tempo de percurso do elétron entre duas colisões. Ainda, consideram-se dois planos perpendiculares e paralelos ao eixo x com coordenadas x e $x + \Delta x$, em que $\Delta x = l$.

Tal como foi mencionado anteriormente, o movimento dos portadores é aleatório e, ao analisar determinada densidade de elétrons localizados entre os dois planos, verifica-se a probabilidade deles se moverem na direção x ser a mesma de se moverem na direção $-x$, o que torna a corrente líquida nula. Por outro lado, se a distribuição de portadores não for uniforme e houver um gradiente de concentração de elétrons, a corrente líquida não se anula.

Sendo τ_c o tempo gasto para que metade dos elétrons que se encontram entre os planos $x - \Delta x$ e x para que cruzem o plano x de área A e sendo e a carga do elétron, a corrente gerada é explicitada por (REZENDE, 2004):

$$I_g = \frac{1}{2} e n \left(x - \frac{\Delta x}{2} \right) \bar{l} A \frac{1}{\tau_c} \quad (3.3)$$

Para obtenção da densidade de corrente total ao longo do eixo x basta subtrair da equação anterior (3.3) a corrente gerada pelos elétrons que se encontram entre os planos x e $x + \Delta x$ e que cruzam um plano de área A situado em x no sentido $-x$ e, em seguida, dividir o resultado pela área do plano obtendo-se a densidade de corrente através da equação abaixo (REZENDE, 2004):

$$J_n^{dif} = \frac{1}{2} \frac{1}{\tau_c} e \bar{l} \left[n \left(x - \frac{\Delta x}{2} \right) - n \left(x + \frac{\Delta x}{2} \right) \right] \quad (3.4)$$

Quando Δx se encontra muito pequeno, a expressão para J_n^{dif} aparenta-se à definição de derivada, podendo assim ser escrita:

$$J_n^{dif} = e D_n \frac{dn(x)}{dx} \quad (3.5)$$

Similar à densidade de corrente de difusão, a expressão para buracos J_p^{dif} é expressa por

$$J_p^{dif} = -e D_p \frac{dp(x)}{dx} \quad (3.6)$$

em que $p(x)$ corresponde à densidade de buracos em função da distância e D_n e D_p são respectivamente os coeficientes de difusão de elétrons e buracos. Para os elétrons, a expressão corresponde a $D_n = l^2 / 2\tau$.

Einstein demonstrou as expressões para os coeficientes de difusão de portadores em função de outros parâmetros, expressando-as pela equação (REZENDE, 2004)

$$D_n = \mu_n \left(\frac{kT}{e} \right) \quad (3.7)$$

em que μ corresponde à mobilidade do portador, representado por $\mu = e\sigma/m$, com σ equivalendo à condutividade elétrica e m à massa do portador. Para a difusão no aspecto tridimensionalmente, necessita-se generalizar as expressões (REZENDE, 2004):

$$J_p^{dif} = -e D_p \bar{\nabla}_p \quad (3.8)$$

$$J_n^{dif} = e D_n \bar{\nabla}_n \quad (3.9)$$

Explicita-se pelas equações acima a necessidade de variação espacial da difusão dos portadores para que ocorra corrente de difusão. Contudo, a variação espacial da concentração de portadores não é conhecida; então se faz necessária outra expressão para o cálculo da densidade de corrente de difusão e para tanto, retorna-se à análise da variação da densidade de portadores unidimensionalmente e desconsiderando a recombinação elétron-buraco pode-se escrever a corrente total I como (REZENDE, 2004):

$$I = A[J(x) - J(x + \Delta x)] \quad (3.10)$$

Considerando o Δx para a aplicação da definição de derivada e reescrevendo I em função da densidade volumétrica de carga ρ , a equação acima é reelaborada para (REZENDE, 2004):

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} = - \frac{\partial J(x)}{\partial x} \quad (3.11)$$

Da equação tridimensional acima decorre a equação da continuidade, a qual se baseia no fato de que a carga total é conservada (REZENDE, 2004):

$$\bar{\nabla} \cdot \vec{J} = - \frac{\partial \rho}{\partial t} \quad (3.12)$$

Pelo fato da densidade de carga ρ ser considerada como $\rho = e(p - n)$, a equação pode ser escrita separadamente para elétrons e buracos, respectivamente das seguintes formas (REZENDE, 2004):

$$\bar{\nabla} \cdot \vec{J}_n = e \frac{\partial n}{\partial t}, \quad (3.13)$$

$$\bar{\nabla} \cdot \bar{J}_p = e \frac{\partial p}{\partial t}, \quad (3.14)$$

Tomando a equação 3.13 e substituindo-a na equação 3.9 e a equação 3.12 na equação 3.8, obtém-se (REZENDE, 2004):

$$D_n \nabla^2 n - \frac{\partial n}{\partial t} = 0, \quad (3.15)$$

$$D_p \nabla^2 p - \frac{\partial p}{\partial t} = 0, \quad (3.16)$$

As expressões acima são as equações da difusão de elétrons e buracos em excesso no semicondutor e elas podem ter outras aplicações em processos difusivos que acontecem na natureza. Como exemplo, os processos de difusão de energia estudados neste trabalho como: difusão de fótons, migração e transferência de energia. Tais equações demonstram ainda que se houver variação espacial da concentração, concomitantemente ocorrerá variação temporal.

A solução dos elétrons citados é uma função que se comporta de forma gaussiana e que se alarga com o tempo, sendo então dada por (MARQUES, 2009):

$$n(x, t) = \frac{\Delta N_0}{2\sqrt{\pi D_n t}} \exp\left(\frac{-x^2}{4D_n t}\right). \quad (3.17)$$

As equações 3.13 e 3.14 foram deduzidas sem levar em conta os fatores de geração de portadores $G(\bar{r}, t)$ e de recombinação $R(\bar{r}, t)$. Tais fatores genericamente correspondem a uma variável de aumento ou diminuição da densidade do ente que se difunde. Sendo assim, possui forma variável em dependência do que está sendo estudado.

Considerando esses fatores, as equações da continuidade para elétrons e buracos passam a ser reescritas respectivamente (MONTE, 2000):

$$\frac{\partial n(\bar{r}, t)}{\partial t} = [G(\bar{r}, t) - R(\bar{r}, t)] + \bar{\nabla} \cdot \bar{J}_n, \quad (3.18)$$

$$\frac{\partial p(\vec{r}, t)}{\partial t} = [G(\vec{r}, t) - R(\vec{r}, t)] + \vec{\nabla} \cdot \vec{J}_p, \quad (3.19)$$

Substituindo a equação 3.15 na equação 3.18 e analisando o problema de natureza estacionário, obtém-se a equação que rege o movimento de elétrons definida como (MONTE, 2000):

$$D\nabla^2 n(\vec{r}) + G(\vec{r}) - R(n) = 0 \quad (3.20)$$

A taxa de recombinação é dada por $R(n) = n/\tau$, em que τ corresponde ao tempo de recombinação de elétrons e buracos no regime de tempo de vida.

Substituindo $R(n) = n/\tau$ na equação 3.39, tem-se (MONTE, 2000):

$$L^2 \nabla^2 n(\vec{r}) + \tau G(\vec{r}) - n = 0, \quad (3.21)$$

Em $L = \sqrt{D\tau}$ considera-se D o coeficiente de difusão do semiconductor. Dependendo da forma da equação de diminuição da densidade adotada, o valor de L altera-se. Porém, o caso de difusão de energia é proporcional à τ e à D (MONTE, 2000).

Reitera-se que o processo de difusão de fótons deve-se aos fótons gerados na região próxima ao foco do laser, basicamente um processo de espalhamento de luz. A mesma é difundida na amostra e pode ser usada para excitar outros pontos quânticos ao longo do caminho de difusão. Admite-se que o processo de difusão de energia seja algo que depende apenas da concentração de partículas que compõe a amostra e do meio o qual estejam inseridas (REZENDE, 2004).

Por outro lado, os processos de difusão de portadores e de fótons ou a transferência e migração de energia são competitivos, em que cada qual requer uma análise detalhada na tentativa de identificar cada processo. Generalizando, adota-se o termo L_D sendo o comprimento de difusão da energia, independente de qual seja. Um esquema exemplificativo simplificado de migração de energia é apresentado abaixo (ALVES, 2011).

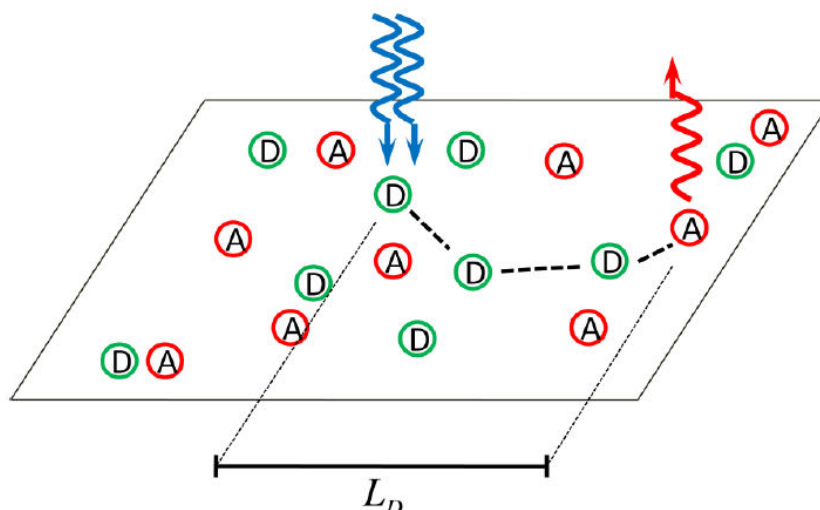


Figura 25 - Observação da migração de energia no processo de difusão. L_D consiste no comprimento de difusão crucial no presente trabalho. Na realidade, o processo de difusão apresenta caráter tridimensional (ALVES, 2011).

3.3 Transferência de Energia Fluorescente Ressonante (FRET)

O FRET (em inglês, *Förster Resonance Energy Transfer*) ou transferência Förster, consiste em uma técnica de fluorescência que permite estudar interações moleculares dependentes da distância pela transferência de energia de excitação eletrônica não radiativa entre dois fluoróforos. Dessa forma, consistiu no foco principal da presente pesquisa a observação da interação entre pontos quânticos coloidais e corantes, avaliada pela transferência de energia fluorescente ressonante (FRET), considerando as nanopartículas como possíveis doadores e o corante como possível aceitador de energia. Tal técnica tem múltiplas aplicações; dentre as quais podem-se destacar o estudo da fluorescência, os diagnósticos médicos, a análise de DNA e a visualização óptica. Sua ampla utilização decorre da favorabilidade das distâncias para a transferência de energia FRET as quais se equivalem às dimensões de uma proteína ou da espessura de uma membrana (VOGEL; VAN DER MEER; BLANK, 2014).

Uma variável relevante à extensão do FRET são as propriedades espectrais dos fluoróforos, pois enquanto o FRET se condiciona as propriedades espectrais dos fluoróforos que possibilitam ou não sua ocorrência as demais moléculas presentes na amostra não o afetam significativamente. Para apenas um doador e um receptor com distância constante durante o tempo de vida do estado excitado, tal distância pode ser determinada por medidas da extensão da supressão da fluorescência emitida pelo doador e é capturada pelo receptor. Isso torna desnecessária a resolução temporal por intermédio dos tempos de vida dos demais

participantes. Entretanto, o FRET também pode ser aplicado em estudos cuja distância D-A não seja mensurada, desde que a amostra contenha dois tipos de macromoléculas individualmente marcadas como doadora e aceitadora possibilitando então mensurar distâncias entre dois sítios em uma macromolécula (LAKOWICZ, 2006).

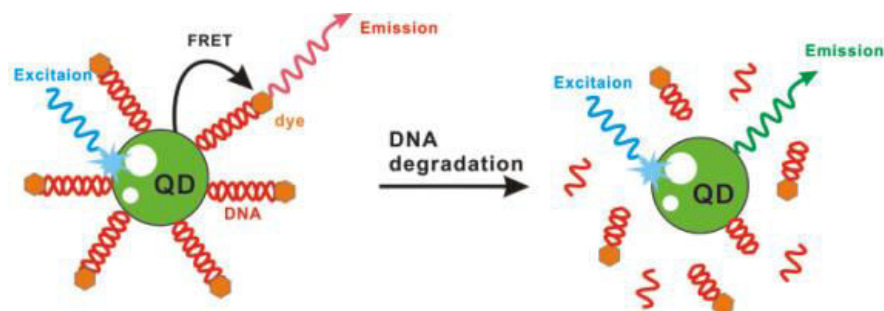
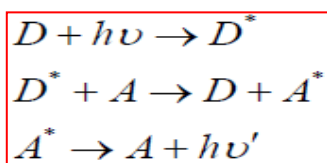


Figura 26 - Esquema de um biossensor de ponto quântico (em inglês, *Quantum Dot*, QD) e um corante (em inglês, *Dye*) utilizado para sondar a degradação do DNA por FRET (CHEN *et al*, 2012).

3.3.1 Características e condições essenciais para o FRET

A transferência de energia não radiativa consiste em uma só etapa envolvendo simultaneamente a excitação de um doador no estado fundamental (D) através de uma onda eletromagnética com energia $\Delta E = h\nu$. Posteriormente, o decaimento do doador em estado excitado (D^*) sem a emissão de fótons e a excitação do aceitador no estado fundamental (A) para (A^*) se ocasionam por interações de tipo dipolo-dipolo de longo alcance entre o doador e o aceitador e, para que haja transferência de energia faz-se necessária uma condição ressonante entre as oscilações dos campos elétricos do estado excitado do doador e do estado fundamental do receptor (LAKOWICZ, 2006):



A transferência de energia é constatada pela inibição de fluorescência do doador e diminuição do seu tempo de vida, bem como pelo aumento da emissão de fluorescência do

aceitante. A ocorrência do FRET requer o cumprimento de condições essenciais intrínsecas ao sistema doador-receptor como:

- A. O doador deve possuir um tempo de vida longo o suficiente para que haja transferência de energia. Assim, as nanopartículas semicondutoras no papel de doadoras de energia tornam-se vantajosas em relação aos corantes orgânicos convencionais, uma vez que o tempo de vida de fluorescência de 10 – 100 nanosegundos é significativamente maior que o apresentado pelos corantes orgânicos e proteínas auto-fluorescentes, os quais decaem na ordem de alguns poucos nanosegundos 1–10 nanosegundos e o que torna possível o rastreamento das moléculas receptoras por tempos mais longos (GENGER, 2008);
- B. As moléculas doadoras e aceitadoras devem distar-se no intervalo entre aproximadamente 1 a 10 nm (RAY; FORTNER; DARBHA, 2006);
- C. Deve haver sobreposição dos espectros de absorção do aceitador ao espectro de emissão do doador ou vice-versa (SHIVKUMAR; ADARSH; INAMDAR, 2013).

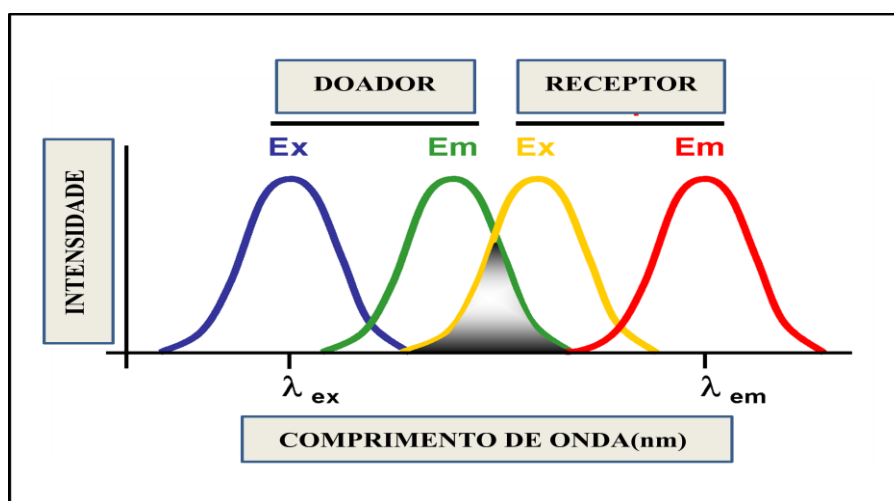


Figura 27 - Sobreposição dos espectros de emissão do doador e de absorção do aceitador.

- D. As orientações do dipolo do doador e do aceitador devem estar aproximadamente paralelas. Logo, um parâmetro importante para o FRET é o fator de orientação k^2 que descreve a orientação relativa entre os dipolos de transição do doador e do aceitador, variando de 0 a 4. Quando os dipolos de transição estão alinhados uns com os outros,

(ou seja, quando $k^2 = 4$) e quando há uma orientação perpendicular por parte dos dipolos do doador e aceitador tem-se que $k^2 = 0$. Entretanto, para fluoróforos e sistemas biológicos que se movam e possam girar em solução adota-se $k^2 = \frac{2}{3}$ (MA; YANG; ZHENG, 2014).

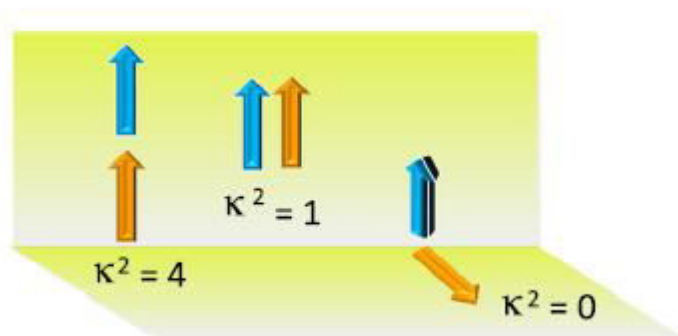


Figura 28 - Representação esquemática do fator orientação k^2 entre os momentos de dipolo de transição dos dois fluoróforos (MA; YANG; ZHENG, 2014).

A distância correspondente à eficiência do FRET para 50 % é denominada de distância de Förster (FÖRSTER, 1948) e, geralmente, compreende-se entre 20 e 60 Å. A taxa de transferência de energia do doador para o receptor $k_T(r)$ é dada por (LAKOWICZ, 2006)

$$k_T(r) = \frac{1}{\tau_D} \left(\frac{R_0}{r} \right)^6 \quad (3.22)$$

em que τ_D corresponde ao tempo de decaimento do doador em ausência do receptor, R_0 a distância de Förster e r é a distância doador-receptor. A eficiência da transferência é da ordem de 50 % quando a distância entre D-R é equivalente à distância de Förster (R_0), uma vez que a taxa de transferência $k_T(r)$ se iguala a de decaimento do doador ($1/\tau_D$).

A taxa de FRET depende fortemente da distância, sendo ela proporcional a r^{-6} . Se a taxa de transferência for muito maior do que a taxa de decaimento, então há uma maior eficiência. Ao contrário, se a taxa de transferência for menor do que a de decaimento ocorre um comprometimento da eficácia da transferência, sendo que ela ocorrerá durante o tempo de vida do estado excitado e o FRET do mesmo modo torna-se ineficiente. A utilização da transferência de energia como um indicador de proximidade consiste em uma relevante característica deste fenômeno. Dessa forma, ela pode prontamente ocorrer quando doadores e

receptores estiverem caracteristicamente na distância de Förster e houver uma sobreposição espectral adequada (LAKOWICZ, 2006).

Ainda de acordo com o autor acima, se considerado meramente um par doador-receptor separado por uma distância (r), a taxa de transferência é representada por (LAKOWICZ, 2006)

$$k_T(r) = \frac{Q_D K^2}{\tau_D r^6} \left(\frac{9000(\ln 10)}{128\pi^5 N n^4} \right) \int_0^\infty F_D(\lambda) \varepsilon_R(\lambda) \lambda^4 d\lambda, \quad (3.23)$$

em que Q_D representa a eficiência quântica do doador na ausência do aceitante; n o índice de refração do meio; N o número de Avogadro; r a distância entre D-R e τ_D o tempo de vida do doador na ausência do receptor.

O índice de refração do meio (n) é convencionado como 1,4 para biomoléculas em solução aquosa. $F_D(\lambda)$ corresponde à intensidade corrigida da fluorescência do doador no intervalo entre λ e $\lambda + \Delta\lambda$, cuja intensidade total, então representada pela área sob a curva, é normalizada. Já o $\varepsilon_R(\lambda)$ consiste no coeficiente de extinção do receptor em λ e que consiste no portador das unidades de $M^{-1}cm^{-1}$. O termo κ^2 é um fator de caracterização da orientação relativa no espaço entre os dipolos de transição do doador e receptor e é usualmente assumido ser igual a 2/3, valor então que o torna apropriado para uma média dinâmica entre doador e receptor (LAKOWICZ, 2006).

O grau de sobreposição espectral entre a emissão do doador e a absorção do aceitador é expresso pela integral (J) abaixo (LAKOWICZ, 2006)

$$J = \int_0^\infty F_D(\lambda) \varepsilon_R(\lambda) \lambda^4 d\lambda, \quad (3.23)$$

em que $F_D(\lambda)$ é adimensional, $\varepsilon_R(\lambda)$ é expresso em $M^{-1}cm^{-1}$, λ é expresso em nanômetros (nm) e J representa-se em $M^{-1}cm^{-1}nm^4$.

A eficiência da transferência de energia (E) que representa a fração de fótons absorvidos pelo doador e transferidos para ao aceitador consiste na razão entre a taxa de transferência pela taxa total de decaimento do doador na presença do receptor e é expressa na forma:

$$E = \frac{k_T(r)}{\tau_D^{-1} + k_T(r)} \quad (3.24)$$

Ao inserir $k_T(r)$ na equação (3.24) obtém-se a expressão a seguir:

$$E = \frac{R_0^6}{R_0^6 + r^6} \quad (3.25)$$

A partir da equação acima verifica-se que a eficiência da transferência é fortemente dependente da distância D-R quando ela é próxima a R_0 . No momento em que r assume ser o dobro de R_0 ($r = 2R_0$), isso faz com que a transferência de energia corresponda a 1,54 %, ao passo que se $r = 0,5 R_0$, a eficiência torna-se 98,5 % tornando-se explícita a não adequação da eficiência do FRET para medições de distâncias fora do intervalo $r = 0,5 R_0$ a $r = 2 R_0$.

Outra possibilidade para calcular a eficiência da transferência é medi-la através da intensidade da fluorescência relativa do doador na ausência (F_D) e na presença do aceitador (F_{DA}). Contudo é importante ressaltar que para tanto a expressão da eficiência (E) é aplicável neste caso apenas para os pares doador-receptor separados por uma distância fixa. Desse modo, apresenta-se (LAKOWICZ, 2006):

$$E = 1 - \frac{F_{DA}}{F_D}, \quad (3.26)$$

Assim, qualquer modificação na distância D-R muda a taxa de transferência permitindo a quantificação da distância intermolecular.

A teoria da transferência de energia baseia-se no conceito de um fluoróforo como um dipolo oscilante, o qual pode trocar energia com outro dipolo com uma frequência de ressonância semelhante, fazendo com que o FRET se comporte como osciladores acoplados. Além disso, a transferência de energia radiativa caracteriza-se pela absorção e reemissão de fótons dependendo de propriedades ópticas não moleculares como o tamanho da cubeta, a dimensão do caminho óptico, a densidade ótica, os comprimentos de excitação e emissão e a geometria dos respectivos caminhos ópticos. Apesar de contrastar com tais fatores, a transferência de energia não-radiativa porta informações estruturais valiosas referentes ao par doador-receptor (HERING, 2007).

3.3.2 Supressão de Fluorescência aplicada ao FRET

Outro importante fator que influencia tanto nos espectros de fluorescência total bem como em qualquer medida que utilize fluorescência molecular é a supressão (*quenching*) de fluorescência. Dessa forma, ela consiste em qualquer mecanismo que cause redução do rendimento quântico de um sistema luminescente e ocasionada pela interação do fluoróforo com determinadas substâncias denominadas supressores. Além disso, devido aos altos níveis de concentração das espécies fluorescentes, ela pode ocasionar tanto auto-supressão quanto auto-absorção.

Na auto-supressão as moléculas excitadas transferem energia às do solvente reduzindo a intensidade das bandas de fluorescência enquanto que a auto-absorção ocorre pela sobreposição das bandas de excitação e emissão de fluorescência. Assim, a radiação emitida é absorvida para excitação de outras moléculas, emitindo apenas uma parte ao detector (BERNARDES, 2009).

A supressão da fluorescência constitui uma ferramenta que permite obter informações sobre processos bioquímicos e envolve moléculas, macromoléculas e agregados supramoleculares. Sendo assim, ela pode ser de natureza estática ou dinâmica, considerando que ambas requerem o contato molecular entre o fluoróforo e o supressor. Essa necessidade de contato entre as moléculas dota a supressão de plurais potencialidades.

Na figura 29 é exemplificado o processo de supressão da fluorescência por FRET. Dessa forma, a molécula doadora é excitada e conforme as pré-condições cumpridas e a energia de ressonância de fluorescência é transferida para o aceitador de modo que há diminuição da fluorescência em função da supressão ocasionada pelo aceitador (XU *et al*, 2013).

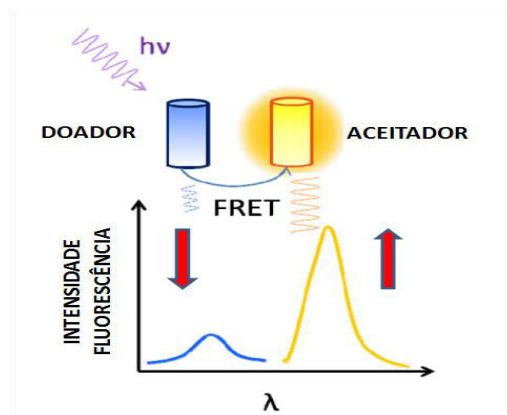


Figura 29 - Exemplo de supressão da luminescência do doador em relação ao aceitador pelo processo de FRET (XU *et al*, 2013).

Na supressão colisional (ou dinâmica), o supressor e o fluoróforo colidem-se durante o tempo de vida do estado excitado do fluoróforo e, como consequência, retorna ao estado fundamental sem a emissão de fóton. Contrariamente a este, na supressão estática um complexo é formado entre o fluoróforo e o supressor e este complexo não é fluorescente (MARQUEZIN, 2008).

4 METODOLOGIA E PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

A metodologia consistiu de ampla fundamentação bibliográfica científica e, por se tratar de um trabalho prático seguido dos procedimentos descritos baseados nas técnicas de absorção óptica (Ab), fotoluminescência (PL) e varredura superficial de microluminescência (μ PL), buscou-se explicitar o mecanismo de FRET, sendo o objetivo principal do trabalho.

4.1 Propriedades ópticas dos semicondutores e corantes orgânicos

Conhecer o comportamento fotofísico dos materiais permite compreender melhor suas várias propriedades. Sendo assim, o espectro de absorção e luminescência de uma espécie abastece relevantes informações referentes à estrutura e dinâmica dos processos nos seus níveis de energia.

4.1.1 Absorção Óptica (Ab)

A absorção de radiação por um determinado meio material depende das estruturas das espécies atômicas ou moleculares envolvidas. Assim, no presente instante o qual um feixe de luz incide sobre um material seja sólido, líquido ou gasoso, ocorre uma absorção seletiva em pertinentes frequências, de modo que a energia provida pelos fótons aos átomos ou moléculas promova a excitação dos elétrons, os quais consequentemente transicionam-se do seu estado energético fundamental para um estado energético superior.

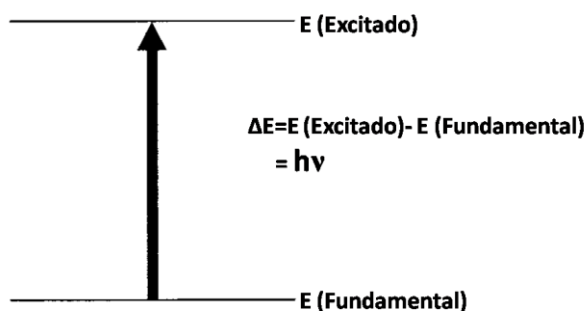


Figura 30 - Processo de excitação para dois níveis de energia (PAVIA, 2001).

Pode-se relacionar matematicamente a radiação eletromagnética interagente com a matéria por intermédio do processo de absorção, o que é explicado experimentalmente pela lei de Lambert-Beer. Sendo assim, esta enuncia que para sucessivos incrementos no número de moléculas absorventes idênticas no caminho de um raio de luz monocromático ocasiona em absorções em frações iguais da energia radiante que as atravessam. Logo, a intensidade de um feixe luminoso diminui ao atravessar qualquer meio absorvente de acordo com a lei exponencial geral

$$I(\lambda) = I_0 e^{-\alpha_\lambda b} \quad (4.1)$$

em que I_0 e I representam as intensidades dos feixes incidente e transmitido respectivamente; α_λ é o coeficiente de absorção (cm^{-1}) e b é a espessura do meio absorvente (cm).

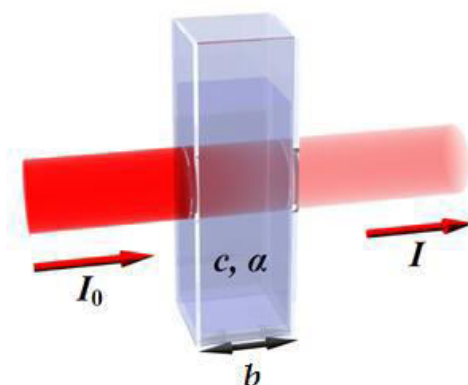


Figura 31 - Representação de um feixe de luz de intensidade de entrada I_0 e saída I atravessando uma cubeta de espessura b , coeficiente de absorção α e concentração c da espécie no meio (CACHETAS, 2013).

A transmitância T_λ é então descrita por

$$T_\lambda = \frac{I}{I_0} \quad (4.2)$$

com a intensidade de entrada do feixe de luz sendo I_0 e a intensidade de saída do feixe de luz sendo I , uma vez que a absorbância ou densidade óptica A_λ pode ser descrita como:

$$A_\lambda = -\log_{10} T_\lambda, \quad (4.3)$$

Quando o meio absorvente é uma solução portadora de uma concentração C e esta última é constituída por espécies também absorventes, faz-se relevante relacionar a sua concentração com o coeficiente de absorção α_λ , dado por (CACHETAS, 2013)

$$\alpha_\lambda = 2,303 \varepsilon_\lambda C, \quad (4.4)$$

em que ε_λ representa o coeficiente de extinção ou absorvidade molares e corresponde a uma medida da intensidade da banda de absorção.

Se a concentração for expressa em molaridade M ($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), torna-se em $M^{-1} \text{cm}^{-1}$. Sendo assim, há uma proporcionalidade direta entre a absorbância e a concentração para soluções diluídas, as quais pode haver apenas uma espécie absorvente.

$$A_\lambda = \varepsilon_\lambda b C \quad (4.5)$$

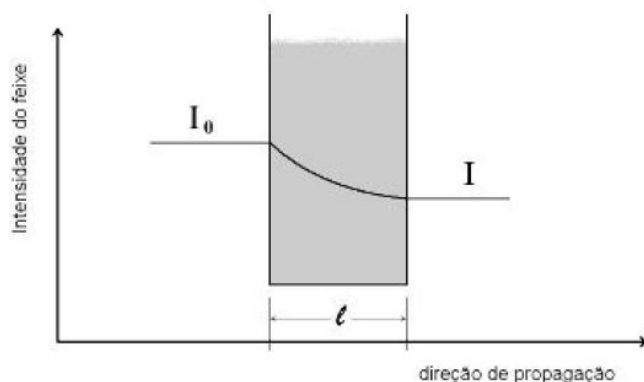


Figura 32 - Diagrama representativo da absorção de luz por um meio material em função da distância. (CACHETAS, 2013).

No trato das propriedades ópticas das nanopartículas coloidais semicondutoras, percebe-se uma clara dependência delas nas dimensões dos nanocristais. Assim, um efeito interessante das nanopartículas semicondutoras consiste no aumento da energia de banda proibida à medida que elas reduzem de tamanho devido ao confinamento do par elétron-buraco. Como consequência, o espectro de absorção se desloca para comprimentos de onda maiores com o aumento do tamanho das partículas (SCHATKOSKI, 2011).

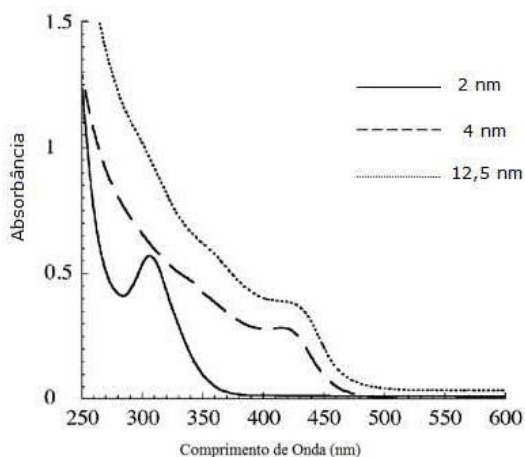


Figura 33 - Espectro de absorção no UV-Vis para nanocristais de CdS com diferentes diâmetros em solução aquosa (Schatkoski, 2011).

Para moléculas orgânicas, especialmente as de corante de mesma natureza, a composição dos níveis de energia e os outros processos intramoleculares referentes à absorção óptica podem ser melhor compreendidos por intermédio do diagrama de Jablonsky.

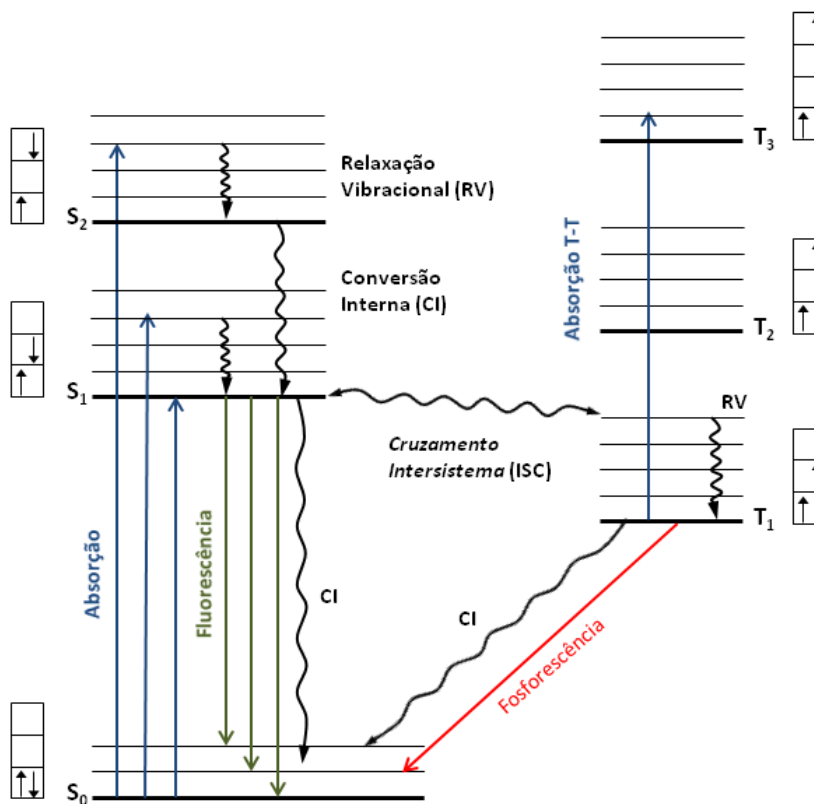


Figura 34 - Diagrama de Jablonsky representando os primeiros níveis de energia de um centro emissor, ilustrados por sua paridade de spin característica e os possíveis processos de transferência de energia intramolecular (QUEIROZ, 2013).

Nas moléculas orgânicas os níveis eletrônicos relacionam-se aos orbitais moleculares, sendo o estado fundamental correspondente por um orbital molecular não ocupado e de menor energia denominado LUMO (*Lowest Unoccupied Molecular Orbital*), enquanto que o orbital ocupado de maior energia denomina-se HOMO (*Highest Occupied Molecular Orbital*). Logo, as transições HOMO-LUMO compõem a formação de um estado excitado.

Os níveis eletrônicos S_0 , S_1 e S_2 correspondem aos estados singletos fundamentais, primeiros e segundos estados excitados respectivamente, cujos elétrons possuem alinhamento de *spin* antiparalelo e da mesma forma, os níveis T_1 , T_2 e T_3 representam o primeiro, segundo e terceiro respectivos estados excitados tripleto, os quais possuem alinhamento de *spin* paralelo, tal como é mostrado na figura 34.

Para uma molécula orgânica a absorção de um fóton ocorre pelas transições S_0 para os níveis S_n de maiores energias. No entanto, podem ocorrer processos de absorção de luz a partir de estados excitados, principalmente em S_1 e T_1 (QUEIROZ, 2013).

O espectrômetro *Shimadzu* UV-2501PC, com linha de absorção entre 200 – 800 nm e resolução de 0,1nm foi utilizado por corresponder à rapidez e precisão das medidas de absorção óptica, tanto de corantes orgânicos, nanocristais semicondutores como também dos solventes pesquisados. O aparelho localiza-se no Instituto de química da UFU e está ilustrado na figura abaixo.



Figura 35 - Espectro UV-2501PC utilizado para realização das medidas de absorção óptica.

4.1.2 Emissão ou Fotoluminescência (PL)

A técnica de fotoluminescência (em inglês *Photoluminescence*, PL) presta-se ao estudo das propriedades ópticas dos materiais através da análise da luz por eles emitida quando são estimulados por uma fonte luminosa monocromática, possibilitando assim informações a respeito das suas energias de *gap* e níveis de energia gerados por interações com impurezas. Além disso, tal técnica explicita os estados verificados na interface entre dois desses materiais. Sendo assim, uma das grandes vantagens da PL é a de ser uma técnica relativamente simples que fornece informações relevantes sem avariar a amostra estudada (RAMANERY, 2012).

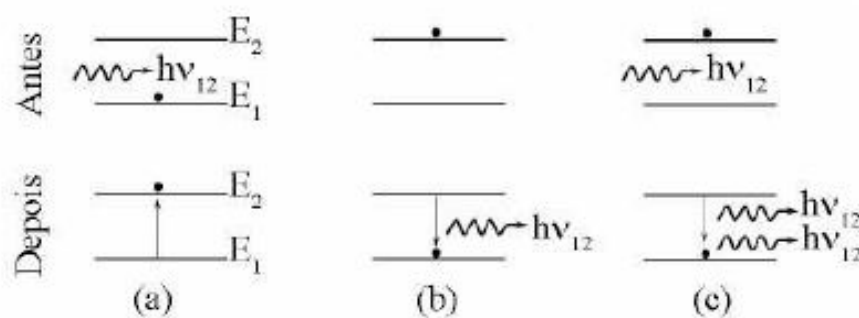


Figura 36 - Exemplificação dos processos de transição entre um sistema de dois níveis de energia. (a) Processo de Absorção Óptica, (b) Emissão Espontânea (c) Emissão Estimulada (MARQUES, 2009).

O processo de fotoluminescência tem natureza de uma transição radiativa, cujos portadores de carga são transportados para estados excitados devido à absorção de fótons de maior energia e decaem por meio das mesmas transições e, consequentemente, emitindo fótons. Contrariamente, os processos de transição não-radiativos ocorrem pela emissão de fônons e não fótons.

Os processos ópticos assumem relevância tanto por emissão espontânea quanto estimulada. A emissão espontânea de radiação inicia-se quando átomos em níveis de energia mais altos decaem espontaneamente para outros níveis de menor energia sem estímulo ou com a presença de radiação externa (REZENDE, 2004).

A emissão estimulada decorre da incidência de radiação eletromagnética no material, portando a mesma frequência que a atômica. Sendo assim, se torna provável a possibilidade de forçar a ocorrência de uma transição do nível mais energético para o menos energético, fazendo com que seja emitido um fóton em consonância de fase com a onda de entrada. Ao

longo de cuja direção pode-se propagar com igual energia, direção, fase e polarização, enquanto que na emissão espontânea os átomos emitem uma onda eletromagnética que não tem relação de fase definitiva com a emitida pelo outro átomo, a qual pode orientar-se em qualquer direção. Ambos processos diferem fundamentalmente (SVELTO, 2010).

4.1.3 Técnica de Varredura superficial da imagem da microluminescência (MSST)

A técnica de varredura superficial da imagem da microluminescência (em inglês *microluminescence surface scan technique*, sigla MSST e simbolizada por μ PL) (MONTE *et al*, 1997), consiste na determinação do comprimento de difusão de fotoportadores baseando-se na expansão da região de luminescência em relação à região de excitação do feixe óptico na superfície da amostra e ocorre de modo diverso às demais técnicas convencionais que utilizam contatos elétricos. É relevante por basear-se no estudo de transferência de energia de fótons, elétrons e buracos (MONTE, 2000).

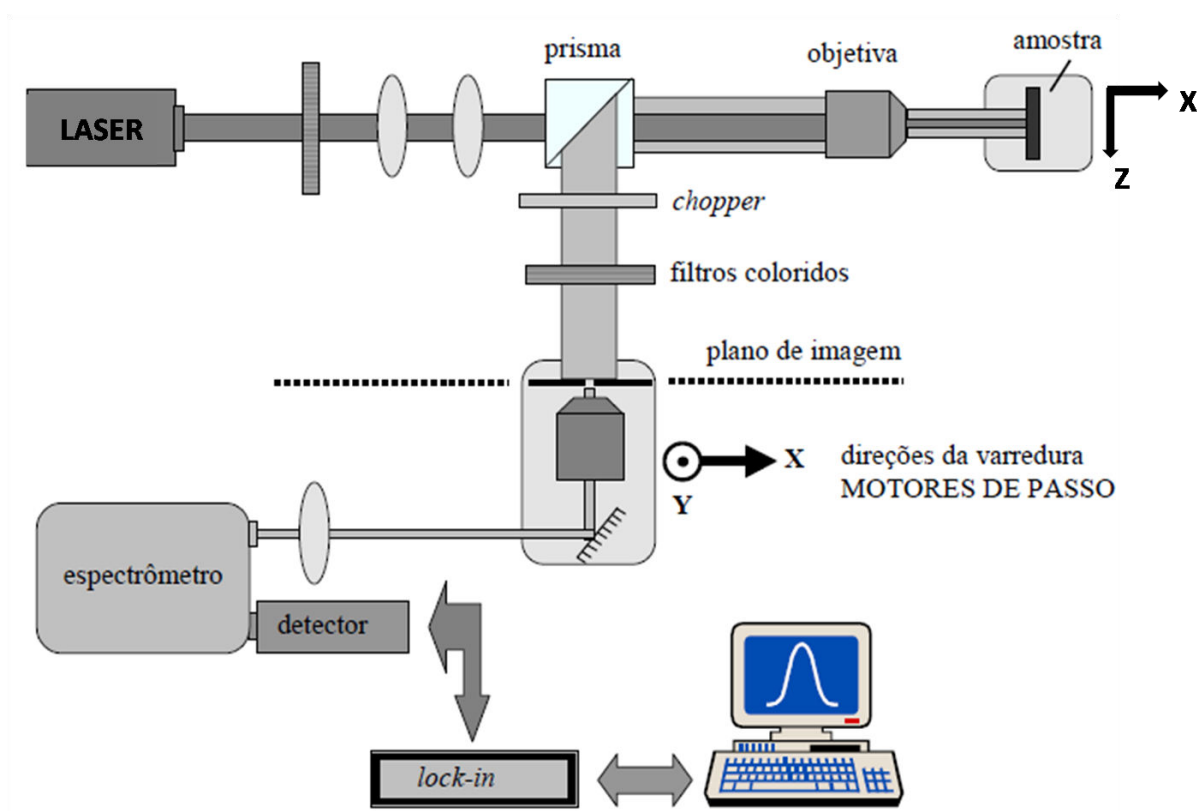


Figura 37 - Diagrama esquemático da montagem da técnica de varredura superficial da microluminescência (MSST) (MONTE, 2000).

Para explorar as potencialidades da técnica, a pesquisa utilizou uma amostra com nanopartículas de CdSe/ZnS e corante em solução. Posteriormente, um feixe de laser foi utilizado como fonte de excitação com comprimento de onda $\lambda = 405\text{nm}$ e potência de aproximadamente 5 mW, focalizado com um *spot* micronizado de diâmetro $\sigma < 10\text{ }\mu\text{m}$ sobre a superfície da amostra. Sendo assim, laser incide perpendicularmente à superfície da amostra e excita os elétrons contidos na região de iluminação para um nível superior da banda de condução do material. Consequentemente, com o esgotamento do tempo de vida característico do nível excitado, os elétrons retornaram ao estado fundamental emitindo um fóton equivalente à energia da transição.

Dessa forma, os portadores difundiram para o exterior do *spot* do laser criando ao seu redor uma área luminescente e a luz provinda da área foi coletada por meio da mesma objetiva de microscópio utilizada para focalizar o feixe incidente. Tal ocorrência pode ser visualizada na figura abaixo.

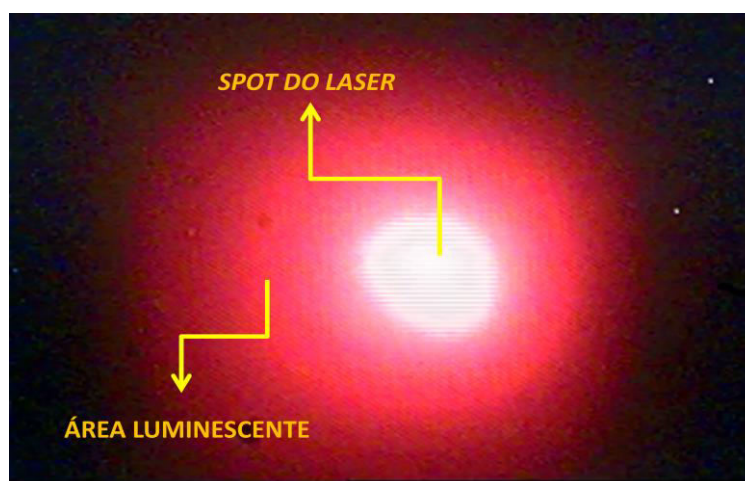


Figura 38 - Imagem da luminescência de uma solução de Corante NR e CdSe/ZnS em clorofórmio, obtida por uma câmera CCD. É visível a região luminescente colorida externa circundante ao *spot* do laser.

Assim, um prisma foi utilizado para refletir a luz provinda da solução para o dispositivo de varredura, incluindo ambas as luminescências tanto da amostra quanto a da linha do laser. Além disso, a eliminação da linha do laser foi obtida sem a utilização do espectrômetro acrescentando apenas um filtro de corte adequado.

A luminescência da amostra atravessou o filtro atingindo o plano de imagem, contendo uma fibra óptica cujo núcleo equivaleu a 50 μm , porém a fibra pode sofrer substituição por outra de 600 μm dependendo do experimento. A referida fibra óptica foi

fixada também a um motor de passo acoplado a um micro-transladador, possibilitando a varredura em direção pré-estabelecida.

Entre o prisma e a posição da fibra óptica inseriu-se um espelho conectado a uma câmera CCD, fornecedora da averiguação e correção da posição do feixe de luz sobre a amostra, evitando assim o desalinhamento do experimento. Assim, a integralidade da radiação capturada pela fibra óptica foi transportada até um espectrômetro HR4000 da Ocean Optics, o qual a análise dos dados obtidos foi processada pelo software de aquisição de dados LABVIEW.

4.1.4 Preparação das amostras

A confecção das amostras ocorreu visando à maior interação possível entre a nanopartícula semicondutora e o corante orgânico. Para isso, os meios de dissolução consistiram-se em diferentes solventes. Com o propósito de obter a assinatura da transferência de energia Förster, considera-se que este processo é dependente da distância entre as referidas partículas a fim então de averiguar a μ PL delas decorrentes. Para tanto, utilizaram-se quantidades mínimas e concentradas, baseando-se em experimentos já previamente realizados e organizados de modo a promover a mínima variação da posição de determinado reagente em relação à de outro.

Dessa forma, a averiguação dos resultados objetivou-se pela variação da distância entre as partículas e estimar o comportamento do sistema na obtenção do processo de transferência de energia FRET.

4.1.4.1 Doador utilizado

Simbologia	C1
Pico de Absorção	490 nm
Pico de Emissão	495 nm
Concentração	5 mg/mol
Tamanho do núcleo	2,59 nm

Tabela 2 - Informação do ponto quântico comercial utilizado em solução de tolueno obtido da *Evident Technologies*.

4.1.4.2 Amostras envolvendo nanocristais C1 como doador e corante *Neutral Red* como aceitador

Na preparação das amostras contendo doador C1 e Corante NR juntos em mesmo meio foram utilizados dois solventes distintos: o primeiro é o dimetilsulfóxido (DMSO) e o segundo é o clorofórmio (CLF), ambos utilizados como meios de diluição dos nanocristais semicondutores e do corante citado anteriormente. Inicialmente, pesou-se duas quantidades de massas correspondentes a $0,006 \pm 0,002$ gramas do corante *Neutral Red*, de forma que foram diluídas em dois volumes iguais de 5 ml de DMSO e CLF, sendo montadas as soluções iniciais padrões com concentrações de ambas em $1,24 \times 10^{-3} \text{ g/mL}$.

Destas soluções padrões de corante *Neutral Red* (aceitador) em DMSO e CLF, retiraram-se quantidades entre 10 a 1000 μL para serem misturadas a quantidades de nanocristal C1 (doador) entre 5 a 10 μL e com as amostras prontas houve ainda um acréscimo de solvente para analisar a relação das distâncias no sistema em questão na tentativa de evidenciar sistemas adequados ao FRET, visto que a transferência de energia fluorescente ressonante tem dependência da distância entre doador e aceitador.

Sendo assim convencionou-se o símbolo E para amostras diluídas em DMSO, enquanto que para as amostras diluídas em CLF utilizou-se da simbologia NS, NU, NW e NA, ilustrados nas tabelas que se seguem abaixo:

Amostras	Ponto Quântico	Corante	Solvente
E(1,2,3 e 4)	C1	NR	DMSO
E(5,6,7 e 8)	C1	NR	DMSO
NS	C1	NR	CLF
NU	C1	NR	CLF
NW	C1	NR	CLF
NA	C1	NR	–

Tabela 3 - Visão Geral das amostras com doador, aceitador e solvente utilizados.

Amostras E

	C1 (mols)	NR (mols)	Solvente DMSO (mols)
E1	$1,33 \times 10^{-6}$	$1,28 \times 10^{-6}$	$4,46 \times 10^{-5}$
E2	$1,78 \times 10^{-6}$	$1,28 \times 10^{-6}$	$4,46 \times 10^{-5}$
E3	$2,22 \times 10^{-6}$	$1,28 \times 10^{-6}$	$4,46 \times 10^{-5}$
E4	$2,66 \times 10^{-6}$	$1,28 \times 10^{-6}$	$4,46 \times 10^{-5}$
E5	$1,33 \times 10^{-6}$	$1,28 \times 10^{-6}$	$4,46 \times 10^{-5}$
E6	$1,33 \times 10^{-6}$	$1,71 \times 10^{-6}$	$4,46 \times 10^{-5}$
E7	$1,33 \times 10^{-6}$	$2,14 \times 10^{-6}$	$4,46 \times 10^{-5}$
E8	$1,33 \times 10^{-6}$	$2,57 \times 10^{-6}$	$4,46 \times 10^{-5}$

Tabela 4 – Variação do número de mols do doador C1 e do aceitador NR mantendo fixo o número de mols fixos do solvente dimetilsulfóxido (DMSO).

Amostras NS

	C1 (mols)	NR (mols)	Solvente CLF (mols)
NS1	$0,89 \times 10^{-6}$	$0,42 \times 10^{-6}$	$2,22 \times 10^{-5}$
NS2	$0,89 \times 10^{-6}$	$0,42 \times 10^{-6}$	$4,45 \times 10^{-5}$
NS3	$0,89 \times 10^{-6}$	$0,42 \times 10^{-6}$	$6,69 \times 10^{-5}$
NS4	$0,89 \times 10^{-6}$	$0,42 \times 10^{-6}$	$8,92 \times 10^{-5}$

Tabela 5 - Fixando o número de mols do doador C1 e do aceitador NR e variando o número de mols fixos do solvente clorofórmio (CLF).

Amostras NU

	C1 (mols)	NR (mols)	Solvente CLF (mols)
NU1	$0,44 \times 10^{-6}$	$0,42 \times 10^{-6}$	$2,22 \times 10^{-5}$
NU2	$0,44 \times 10^{-6}$	$0,42 \times 10^{-6}$	$4,45 \times 10^{-5}$
NU3	$0,44 \times 10^{-6}$	$0,42 \times 10^{-6}$	$6,69 \times 10^{-5}$
NU4	$0,44 \times 10^{-6}$	$0,42 \times 10^{-6}$	$8,92 \times 10^{-5}$

Tabela 6 - Fixando o número de mols do doador C1 e do aceitador NR e variando o número de mols fixos do solvente clorofórmio (CLF).

Amostras NW

	C1 (mols)	NR (mols)	Solvente CLF (mols)
NW1	$0,22 \times 10^{-6}$	$0,85 \times 10^{-6}$	$2,22 \times 10^{-5}$
NW2	$0,22 \times 10^{-6}$	$0,85 \times 10^{-6}$	$4,45 \times 10^{-5}$
NW3	$0,22 \times 10^{-6}$	$0,85 \times 10^{-6}$	$6,69 \times 10^{-5}$
NW4	$0,22 \times 10^{-6}$	$0,85 \times 10^{-6}$	$8,92 \times 10^{-5}$

Tabela 7 - Fixando o número de mols do doador C1 e do aceitador NR e variando o número de mols fixos do solvente clorofórmio (CLF).

Amostras NA

	C1(mols)	NR(mols)
NA1	$0,89 \times 10^{-6}$	$0,42 \times 10^{-6}$
NA2	$0,89 \times 10^{-6}$	$0,85 \times 10^{-6}$
NA3	$0,89 \times 10^{-6}$	$1,28 \times 10^{-6}$
NA4	$0,89 \times 10^{-6}$	$2,57 \times 10^{-6}$
NA5	$0,89 \times 10^{-6}$	$3,85 \times 10^{-6}$
NA6	$0,89 \times 10^{-6}$	$4,28 \times 10^{-6}$
NA7	$0,89 \times 10^{-6}$	$6,42 \times 10^{-6}$
NA8	$0,89 \times 10^{-6}$	$12,8 \times 10^{-6}$
NA9	$0,89 \times 10^{-6}$	$42,8 \times 10^{-6}$

Tabela 8 - Fixando o número de mols do doador C1 e variando a quantidade de aceitadores NR.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

As técnicas utilizadas para mensurar os dados pesquisados consistiram na absorção óptica (Ab), fotoluminescência (PL) e varredura da microluminescência (μ PL) e após os procedimentos citados processou-se a discussão dos resultados obtidos tentando compreender a interação entre ponto quântico e corante orgânico nas soluções confeccionadas, com foco na possibilidade de evidenciar o processo de FRET em diferentes sistemas.

5.1 Absorção Óptica

Para compreender o quadro fotofísico dos compostos trabalhados e determinar em que condições utilizá-los foi relevante conhecer as características da absorção em diferentes condições. Sendo assim, os espectros de absorção óptica foram obtidos a partir da amostra de nanocristal semicondutor CdSe/ZnS bem como do corante orgânico NR, dissolvidos em diferentes solventes.

O objetivo de observar características sobre a assinatura de transferência de energia Förster, a escolha do doador e do aceitador obedeceu às condições para obtenção da transferência de energia fluorescente ressonante (FRET), cumprindo apreciável sobreposição dos espectros de absorção do aceitador corante orgânico NR em relação ao espectro de emissão do doador à nanopartícula semicondutora C1.

Sendo assim, é importante ressaltar que as soluções foram preparadas e inseridas no interior de uma cubeta de quartzo de 1 cm de caminho óptico e as medidas foram feitas em um espectrômetro Shimadzu UV/2501PC, com linha de absorção entre 200 – 800 nm e resolução de 0,1 nm. As medidas de absorção óptica iniciaram-se pela análise dos solventes pelo fato das suas solubilidades possibilitarem a interação entre partículas.

A inserção dos pontos quânticos e das moléculas orgânicas nos solventes foi objeto de preocupação devido à necessidade do controle de suas possíveis influências nos parâmetros do soluto, pois, segundo Pilla *et al* (2007), solventes como clorofórmio, tolueno, tetra-hidrofurano e benzenos são utilizados na dissolução de amostras de solutos, a exemplo de tinturas, polímeros e nanocristais, exercendo importante influência nas características dos materiais. Em lasers de corantes os solventes podem ser fundamentais à otimização em parâmetros como a eficiência ou rendimento quântico da fluorescência; estabilização; absorção e espectros de emissão; difusidade e condutividade térmica e índice de refração.

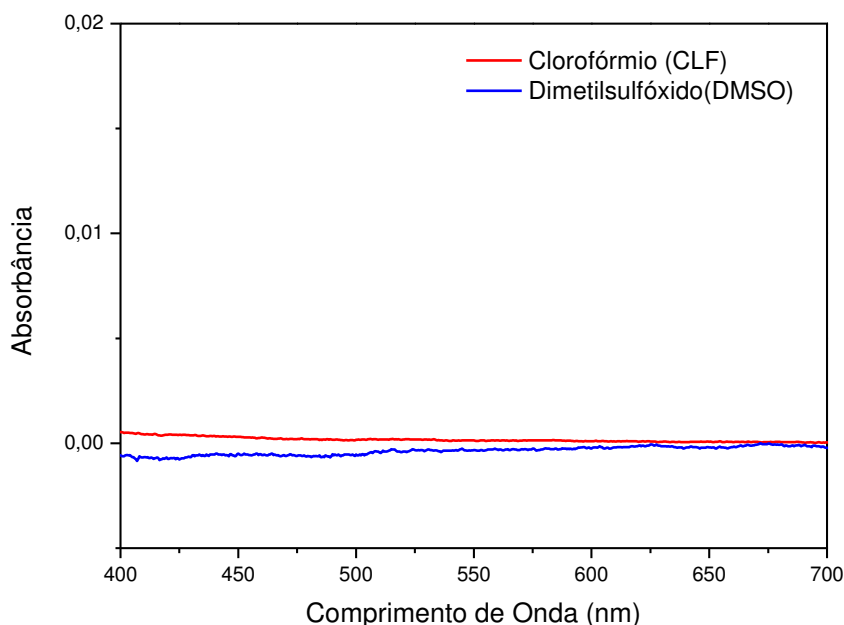


Figura 39 - Espectros de absorvância para os solventes puros a temperatura ambiente.

De acordo com o gráfico acima (Fig.39), não há influencia dos solventes nas medidas de absorção óptica. Isso se mostra relevante pelo interesse em aplicações na região do visível entre 400 a 700 nm, sendo que no espectro de excitação obtido fora da referida região, tais solventes não podem ser detectados em medidas simples de absorção eletrônica.

Beljonne *et al* (2009) salientam o papel central desempenhado pelos efeitos do solvente no controle da dinâmica do processo de transferencia de energia ressonante, por causarem um alargamento das linhas de absorção, influenciarem a interação eletrônica de promoção do mecanismo de FRET e influenciar a forma, distância e orientação mútua entre as moléculas do soluto no solvente e a separação do doador-aceitador. Assim, os efeitos dos solventes reduzem ou aumentam a interação global, dependendo da orientação entre os cromóforos.

Para os pontos quânticos, seus respectivos tamanhos e formatos são influenciadores nos seus sistemas de absorções e uma amostra semicondutora com grande volume apresenta frequências contínuas de absorção enquanto que nos PQ's seus espectros apresentam picos localizados nas frequências associadas às transições entre níveis discretos ou quase discretos de energia, resultado do confinamento quântico do nanocristal semicondutor que altera significativamente as propriedades dos materiais em função do seu tamanho.

Consequentemente, a variação do diâmetro da nanopartícula pode diminuir e aumentar a energia da banda proibida requerida pelo fóton para que ocorra a sua absorção (KITTEL, 1975).

Para ressaltar, foram utilizadas amostras de nanocrystal coloidal CdSe/ZnS com núcleo de CdSe e com casca de ZnS, estruturas semicondutoras então fabricadas pela *Evident Technologies* e que cujas características estão listadas na tabela 2.

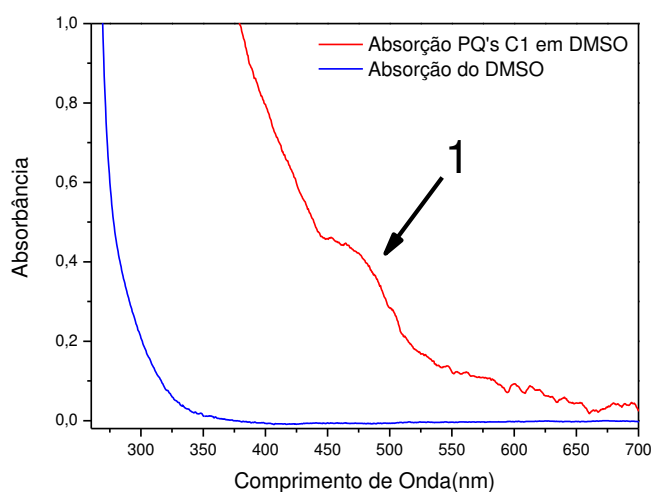


Figura 40 - Espectro de absorbância do ponto quântico C1 imerso em solvente Dimetilsulfóxido (DMSO). O número 1 indica a região de absorção citado pelo fabricante em 490 nm.

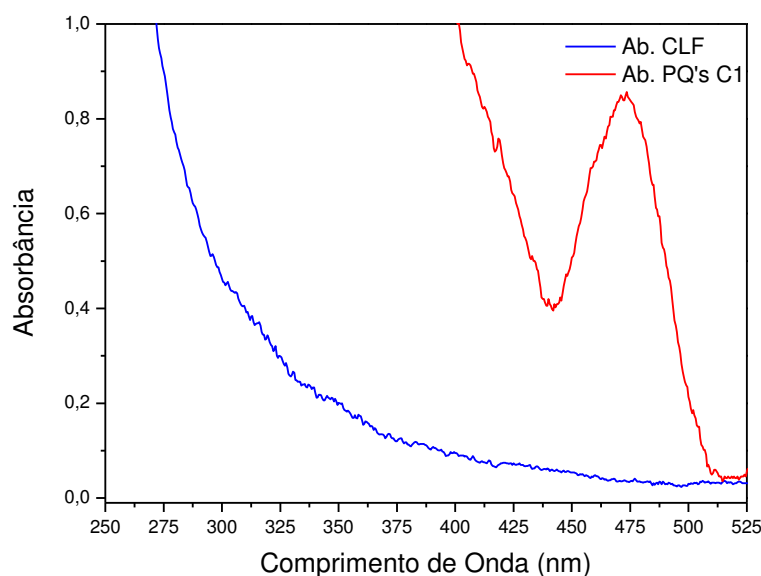


Figura 41 - Espectro de absorbância do ponto quântico C1 imerso em solvente Clorofórmio (CLF). O número (1) indica pico de absorção em 475 nm.

Para que ocorra o FRET no sistema e seja evidenciado este mecanismo de troca de energia não radiativa necessita-se tanto de um doador quanto de um aceitador. Especificou-se então o papel do CdSe/ZnS como doador e do corante *Neutral Red* (NR) como possível aceitador de energia em virtude da sobreposição espectral (*overlap*).

Em concordância com Ge *et al* (2011), o corante *Neutral Red* (NR) apresenta um pico máximo de excitação óptica em 532 nm e tem ampla utilização como sensores de pH marcadores biológicos e sensibilizadores de células solares.

Para Rauf, Soliman e Khattab (2008), diferentes solventes podem ocasionar uma mudança de posição no espectro do corante *Neutral Red* em decorrência da propriedade de polaridade do solvente, a qual pode ocasionar mudança na posição de absorção de moléculas ou de quaisquer outras espécies introduzidas na matriz do solvente em decorrência de promover o processo de solvatação. Sendo assim, o NR se liga mais fortemente a solventes polares, o que ocasiona que seu espectro de excitação se translate para comprimentos de onda inferiores como o DMSO, que apresenta natureza polar enquanto que o solvente CLF, por ser menos polar, interage com o referido corante por interações dipolo-dipolo acarretando mudança no espectro hipsocrômico. O gráfico abaixo (Fig.42) ilustra a comparação do espectro de absorbância do corante *Neutral Red* em diferentes solventes :

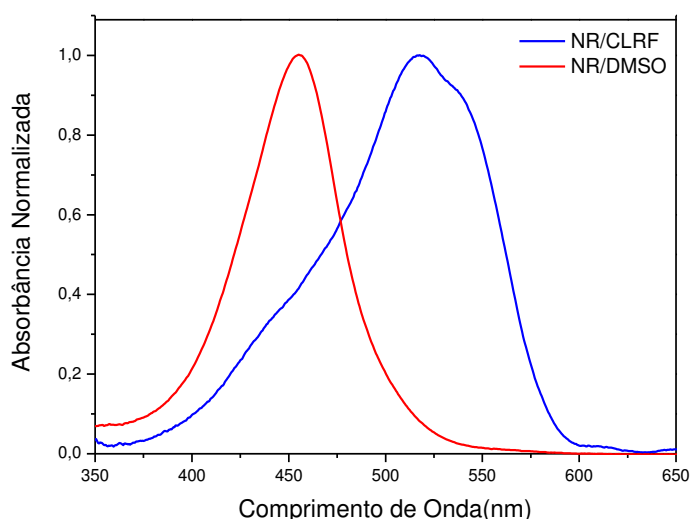


Figura 42 - Comparação do espectro de absorção do corante *Neutral Red* (NR) em diferentes solventes: Clorofórmio (CLRF), Dimetilsulfóxido (DMSO) e Dimetilformamida (DMF).

5.2 Fotoluminescência (PL)

Os espectros de fotoluminescência (PL) foram obtidos à temperatura ambiente de 300 K utilizando-se como fonte de excitação um laser com emissão em 405 nm e, sendo assim, o objetivo era o de estimular os nanocristais C1. As medidas de fotoluminescência visaram os picos de emissão do ponto quântico e do corante orgânico para classificá-los conforme como doador de energia ou possível aceitador.

Inicialmente, observou-se a luminescência do nanocristal semiconductor C1 imerso isoladamente em DMSO e a seguir observou-se a luminescência em CLF, obtendo-se equivalentes picos de emissão em 494 nm, o que convalidou o resultado fornecido pelo fabricante para a emissão em tolueno com pico em 495 nm. Tal deslocamento entre picos pode ter decorrido pela diferença dos solventes utilizados.

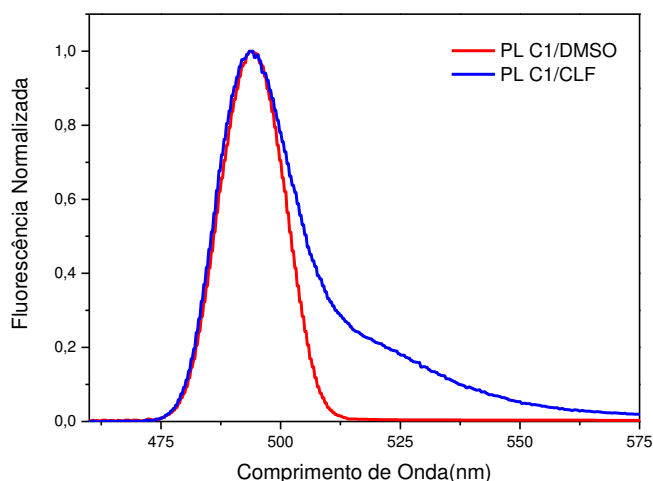


Figura 43 - Espectros de emissão do nanocristal semiconductor C1 imersos em Clorofórmio (CLF) e Dimetilsulfóxido (DMSO).

Do mesmo modo que para os pontos quânticos, também mediu-se os espectros de fluorescência do corante NR nos referidos solventes utilizados neste trabalho. Dos picos de emissão obtidos, constatou-se mínimos deslocamentos entre eles quando imersos separadamente em CLF e DMSO. Para o primeiro solvente a emissão alargou consideravelmente, atingindo um pico de emissão em 586 nm e, contrariamente, o DMSO estreitou o espectro de luminescência e trasladou seu pico para 600 nm.

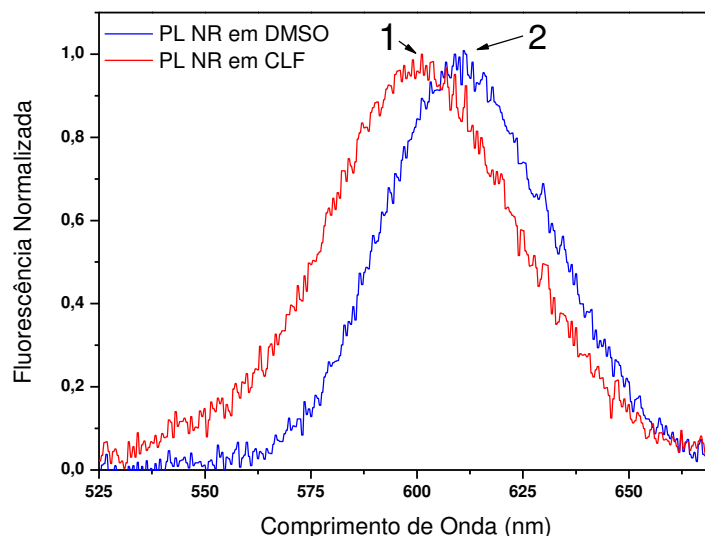


Figura 44 - Espectros de emissão do corante *Neutral Red* imersos em Clorofórmio (CLF) e em Dimetilsulfóxido (DMSO). Os números indicam (1) pico de emissão em CLF igual 600 nm e (2) emissão em DMSO igual a 611 nm.

A supressão (*quenching*) da fluorescência pode ser definida como a transferência de energia por processo não radiativo da substância de interesse no estado excitado (fluoróforo) para outras moléculas denominadas agentes supressoras, que por sua vez transicionam para o estado excitado enquanto o fluoróforo retorna para o estado fundamental. Em específico, o *quenching* dinâmico é um processo colisional que requer o contato entre as espécies envolvidas e a magnitude dessa desativação torna-se proporcional à concentração do agente supressor e da sua capacidade de difusão no meio. Além disso, as substâncias presentes em maiores concentrações podem também reduzir a luminescência líquida emitida por um conjunto de fluoróforos por meio da reabsorção da fluorescência.

Em medidas espectroscópicas torna-se desejável obter um sinal de fluorescência de intensidade elevada podendo ser ocasionado por altas concentrações. Porém, para tais concentrações pode ocorrer a formação de compostos constituídos por várias moléculas fluorescentes, o que origina a diminuição da eficiência quântica e a alteração dos espectros de absorção e emissão e resulta em uma diminuição da intensidade de fluorescência emitida (POWELL, 1998).

As figuras 45 e 46 abaixo relacionam os espectros de emissão do NR para algumas concentrações no intervalo de $0,4 \times 10^{-3}$ g/ml a $2,1 \times 10^{-3}$ g/ml, possibilitando a observação do comportamento do espectro de emissão em diferentes solventes (Fig. 45-a e Fig. 46-a). Pode-

se perceber que com o aumento da concentração ocorre um pequeno deslocamento do espectro de emissão para maiores comprimentos de onda (Fig. 45 - b e Fig. 46 - b). O possível deslocamento do espectro de emissão com o aumento da concentração sugere indícios da formação de agregados na solução como também da reabsorção da emissão, processo característico de *radiation trapping* (GEDAM; DHOBLE, 2012). Contudo, neste trabalho desconsideramos tal efeito devido à utilização de uma única concentração com valor correspondente a $1,24 \times 10^{-3}$ g/mL para amostras tanto em DMSO ou CLF, bem como o uso de cubeta com caminho óptico relativamente pequeno. No entanto, análises mais detalhadas poderão ser feitas em trabalhos futuros.

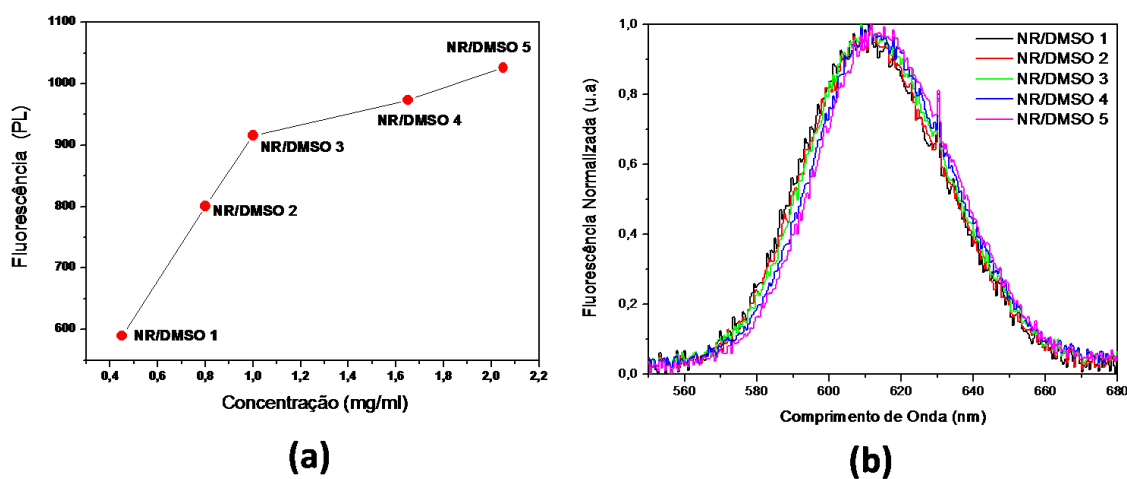


Figura 45 – Relação entre a concentração de corante NR e sua fluorescência, ambos em DMSO.

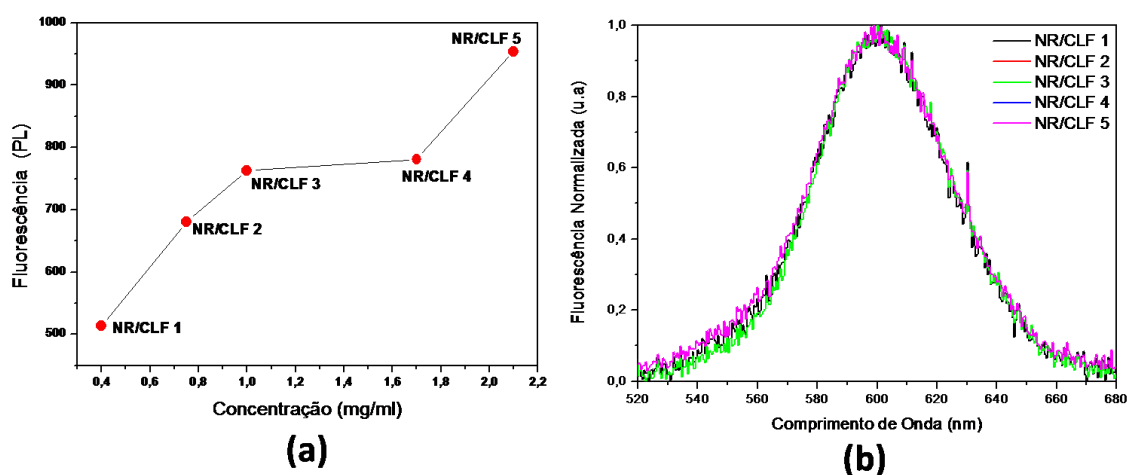


Figura 46 - Relação entre a concentração de corante NR e sua fluorescência, ambos em CLF.

Um ponto importante com relação as medidas de fluorescência (PL) obtidas de forma individual para o corante diluído em solventes distintos, consiste em não assumir grande importância em comparação com seus espectros de absorção, pois para aferição do processo de transferência de energia torna-se relevante analisar apenas a sobreposição do espectro de emissão do doador (pontos quântico) e absorção do aceitador (corante orgânico).

Para aprimorar a compreensão do processo da supressão de fluorescência quando o nanocristal C1 e o corante orgânico NR são inseridos em mesmo meio diluidor, esboçou-se gráficos em forma de barra que indicam a razão entre doador e aceitador e que cujo valor é resultado entre a divisão do pico de intensidade máxima do aceitador pelo pico de intensidade máxima do doador. Isso melhora a compreensão do processo de supressão em que o corante NR age como supressor capturando energia do ponto quântico (suprimido) e então o valor numérico da razão cresce para quanto maior for a distância entre os picos de emissão, conforme pode ser observado no exemplo abaixo (fig.47) :

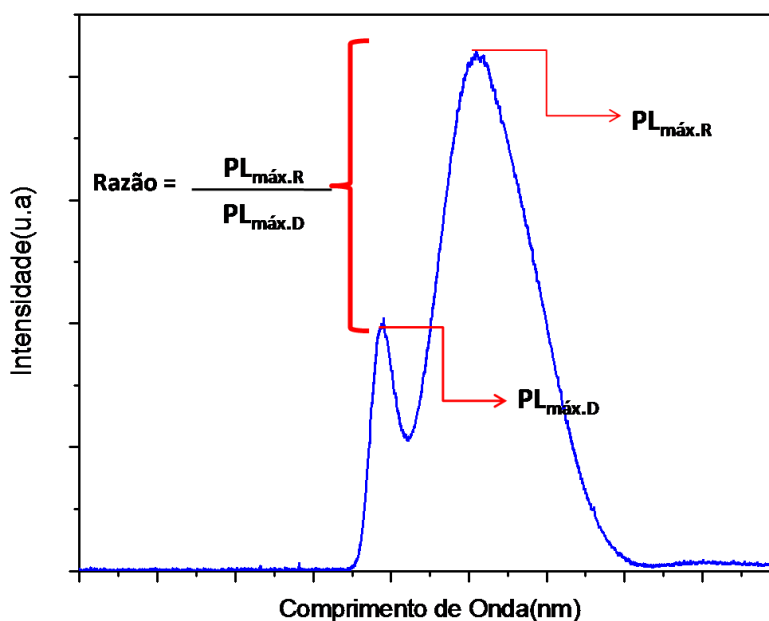


Figura 47- Esquema para ilustrar como foi realizado o cálculo da razão entre os picos de emissão do doador e do aceitador, cuja razão indica o comportamento da fluorescência do corante em relação à do nanocristal semiconductor.

Sem nenhuma ligação com o conceito de razão que foi apresentado acima, as medidas de fotoluminescência no sistema do ponto quântico e corante também possibilitaram estimar a eficiência da transferência (E) da energia, calculando assim a redução da intensidade da

luminescência do doador na presença do aceitador. Nos gráficos das amostras E, NW, NS, NU e NA foram estimadas as eficiências através da fórmula (LAKOWICZ, 2006)

$$E = 1 - \frac{F_{DA}}{F_D} , \quad (5.0)$$

em que a eficiência da transferência medida por meio da intensidade de fluorescência relativa do doador na ausência (F_D) e na presença do aceitador (F_{DA}). Isso permite determinar o percentual da diminuição de F_{DR} em relação à F_D (LAKOWICZ, 2006).

As amostras envolvendo nanocristais semicondutores CdSe/Zns, o corante *Neutral Red* e o solvente utilizado para diluição foram produzidas conforme explicitado na tabela 9 abaixo:

Amostras	Ponto Quântico	Corante	Solvente
E(1,2,3 e 4)	C1	NR	DMSO
E(5,6,7 e 8)	C1	NR	DMSO
NS	C1	NR	CLF
NU	C1	NR	CLF
NW	C1	NR	CLF
NA	C1	NR	-

Tabela 9 - Visão Geral das amostras com doador, aceitador e solvente utilizados.

Para as amostras E utilizou-se o C1 e o NR diluídos no solvente DMSO produzindo-se oito diferentes soluções divididas em dois conjuntos contendo quatro soluções cada, em que houve uma variação do número de mols de doadores e fixação do número de mols de corante no primeiro conjunto de medidas. No processo inverso fixou-se no doador e variou-se o aceitador, sendo o solvente igualmente adicionado à integralidade das amostras.

A figura 48 abaixo se refere às primeiras quatro medidas E1, E2, E3 e E4, as quais o número de mols de C1 foi aumentando gradativamente, fixando-se então à quantidade de corante NR com a hipótese de que em elevada quantidade de doadores houvesse um maior encontro com os aceitadores. Entretanto, observou-se diminuição da eficiência neste meio (Fig.48-d).

O gráfico referente à razão entre as intensidades (Fig.48-c) apresenta pouca diferença, pois aponta que entre as amostras o doador pode estar agindo como um supressor causando decréscimo da diferença entre doador e aceitador, uma vez que temos uma maior quantidade de pontos quânticos em relação a corantes no mesmo meio.

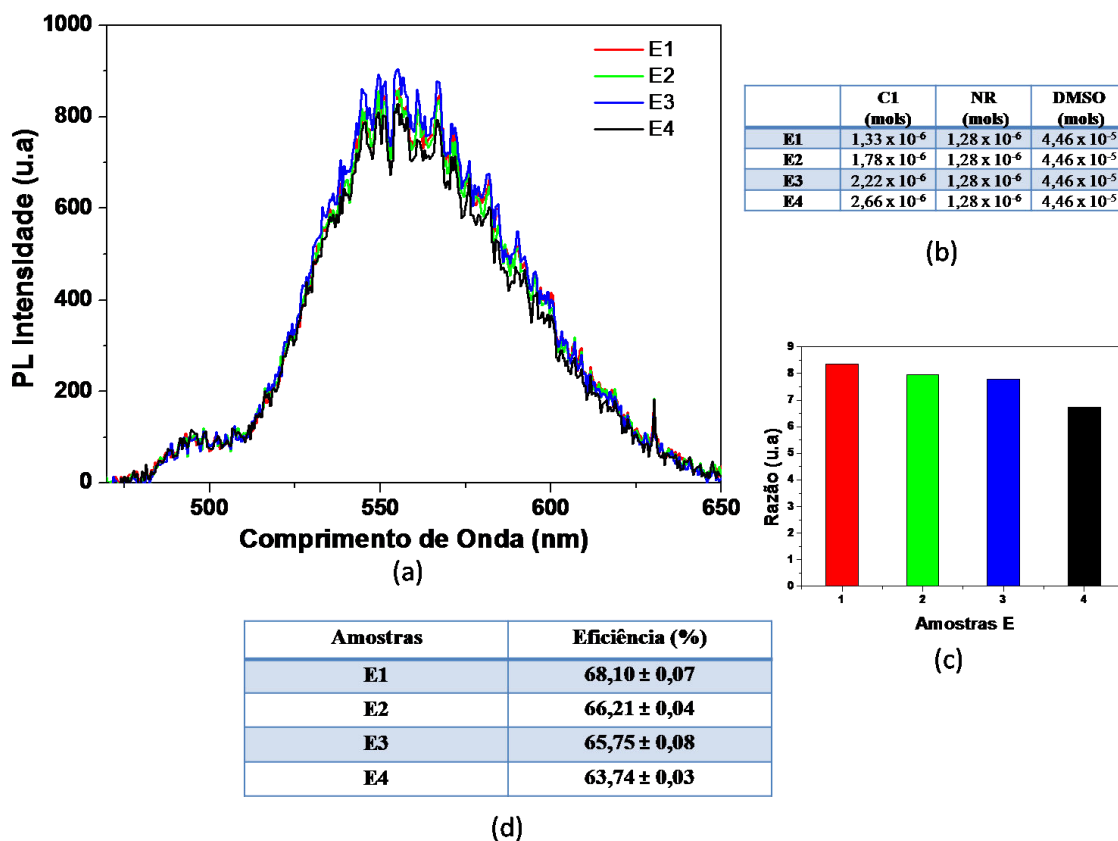


Figura 48 - (a) PL das amostras E; (b) Tabela da quantidade de reagentes; (c) Razão entre as emissões das amostras e (d) Tabela da Eficiência.

No conjunto das medidas E compostas pelas amostras E5, E6, E7 e E8 (Fig. 49) fixou-se o número de mols de C1 e variou-se o de corante NR na mesma proporção, conforme medidas anteriores. Observou-se então o aumento gradativo da luminescência do aceitador em relação a ponto quântico (doador), que permaneceu numa intensidade mais baixa do que a do

aceitador indicando evidências da participação do corante NR, agora no papel de supressor da fluorescência do C1.

A assinatura de FRET nestas amostras é acentuada pela elevação da eficiência (Fig.49-d) com o acréscimo do número de mols do corante NR. Sendo assim, considera-se a hipótese de que há uma maior probabilidade da partícula do corante estar a uma distância adequada que possibilite a transferência de energia não radiativa. Outro fator que sugere a possibilidade para esta ocorrência é o crescimento do valor da razão a medida que se adiciona mais corante conforme visualizado na (Fig.49-c).

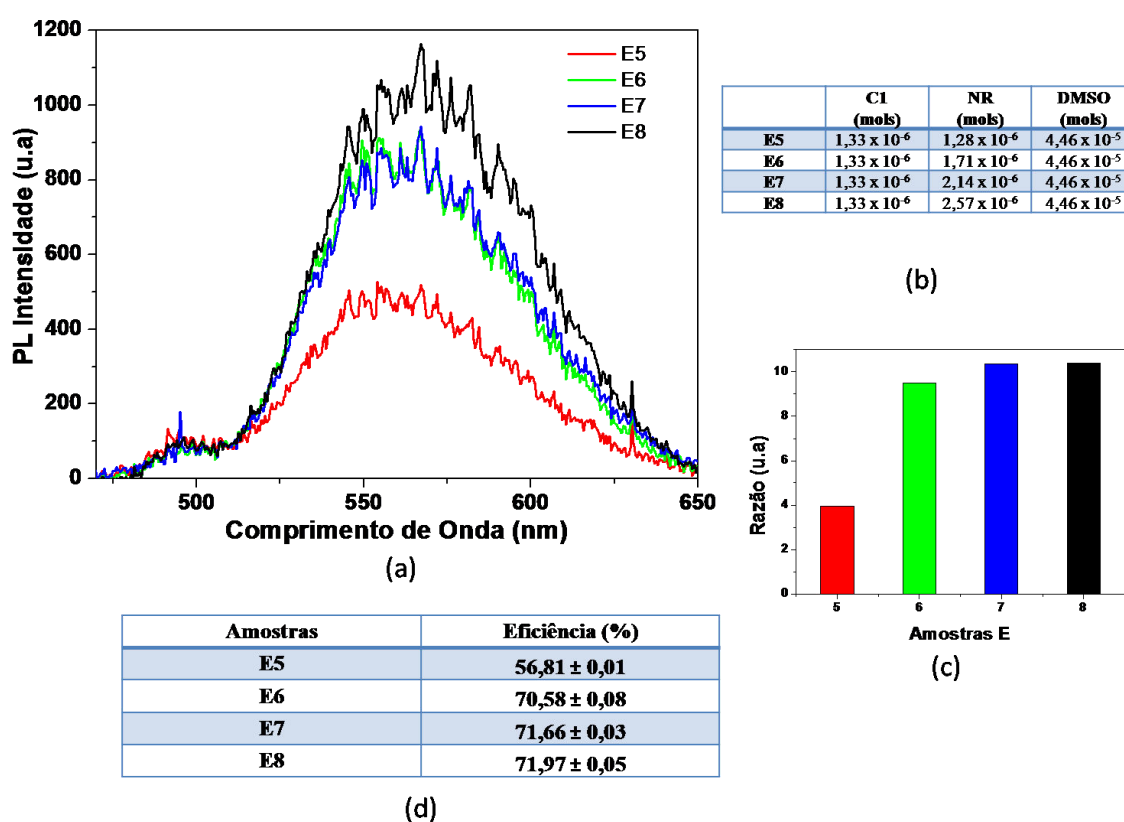


Figura 49 - (a) PL das amostras E; (b) Tabela de quantidades; (c) Razão das amostras e (d). Tabela da Eficiência

Buscando melhor observar o efeito da distância e a relação entre diferentes quantidades de doadores e aceptadores no processo de transferência Förster em diferentes meios que o favorecessem, implementou-se novas amostras NS em que foram fixados o número de mols do doador e do aceitador e, em seguida, foram diluídos em clorofórmio (CLF). Além disso, utilizou-se $0,89 \times 10^{-6}$ mols de C1 e $0,42 \times 10^{-6}$ de NR de modo que foram processadas quatro amostras com quantidades crescentes de solvente em percentuais de $2,22 \times 10^{-5}$ mols.

A figura 50 ilustra os resultados obtidos explicitando não terem sido favoráveis ao condicionamento da transferência de energia (Fig. 50-a), uma vez que observou-se apenas um decréscimo da luminescência de forma proporcional à quantidade de solvente (Fig. 50-c). Sendo assim, ressalta-se que a quantidade de mols utilizada se fez inadequada, pois é sugestivo C1 ter agido como supressor de fluorescência do corante, invertendo o papel de doador para o de receptor conforme pode ser observado pela diminuição da eficiência (Fig. 50-d).

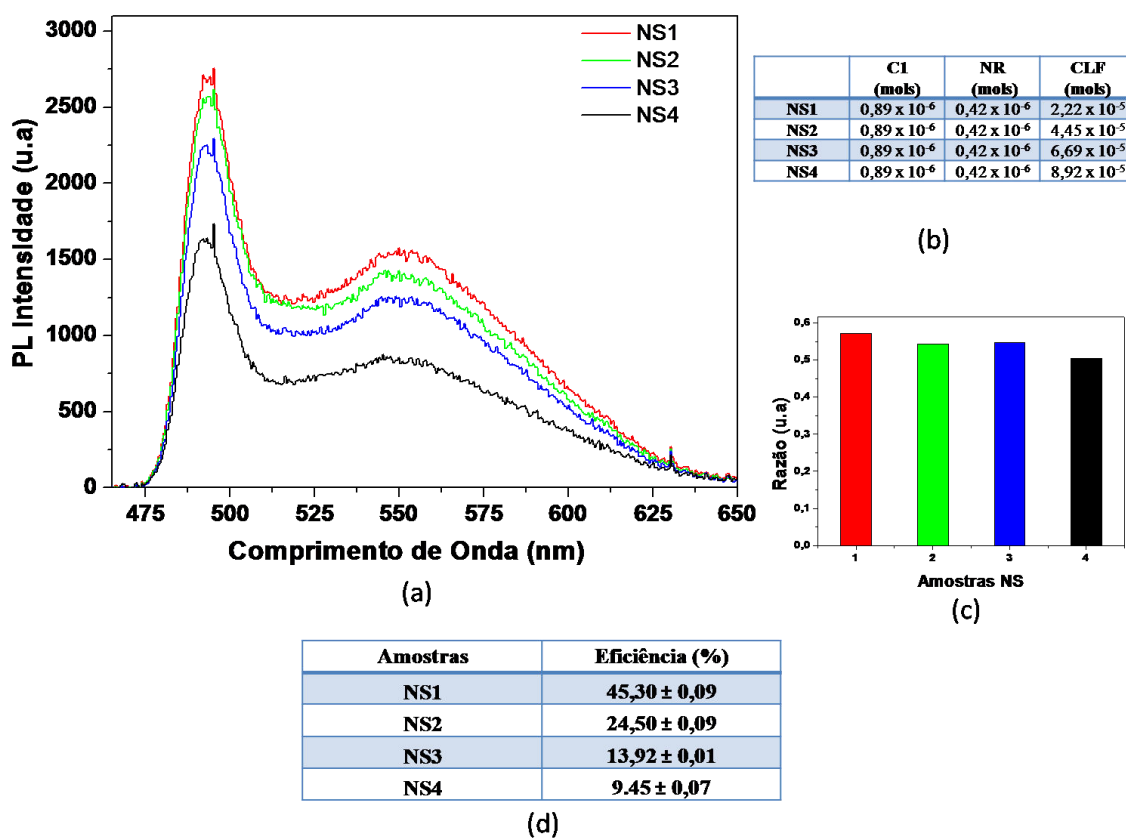


Figura 50 - (a) PL das amostras NS; (b) Tabela de quantidades; (c) Razão das amostras e (d). Tabela da Eficiência.

Para as amostras NU (Fig.51) foram fixados em $0,44 \times 10^{-6}$ mols para C1 e $0,42 \times 10^{-6}$ mols para o corante NR e gradativamente variou-se o solvente clorofórmio (CLF) em percentuais de $2,22 \times 10^{-5}$ mols quatro vezes sucessivamente. Os resultados equipararam-se aos anteriores NS, em que constatou-se apenas um decréscimo da luminescência (Fig.51-a) como resultado da possível diluição, ocasionadora então do aumento da distância entre doador e receptor. Através do gráfico da razão das intensidades (Fig.51-c) a luminescência diminui

com o acréscimo de solvente no meio, não se adequando então ao objetivo do FRET. Somando a este fato obteve-se uma baixa eficiência para este grupo de amostras (Fig.51-d).

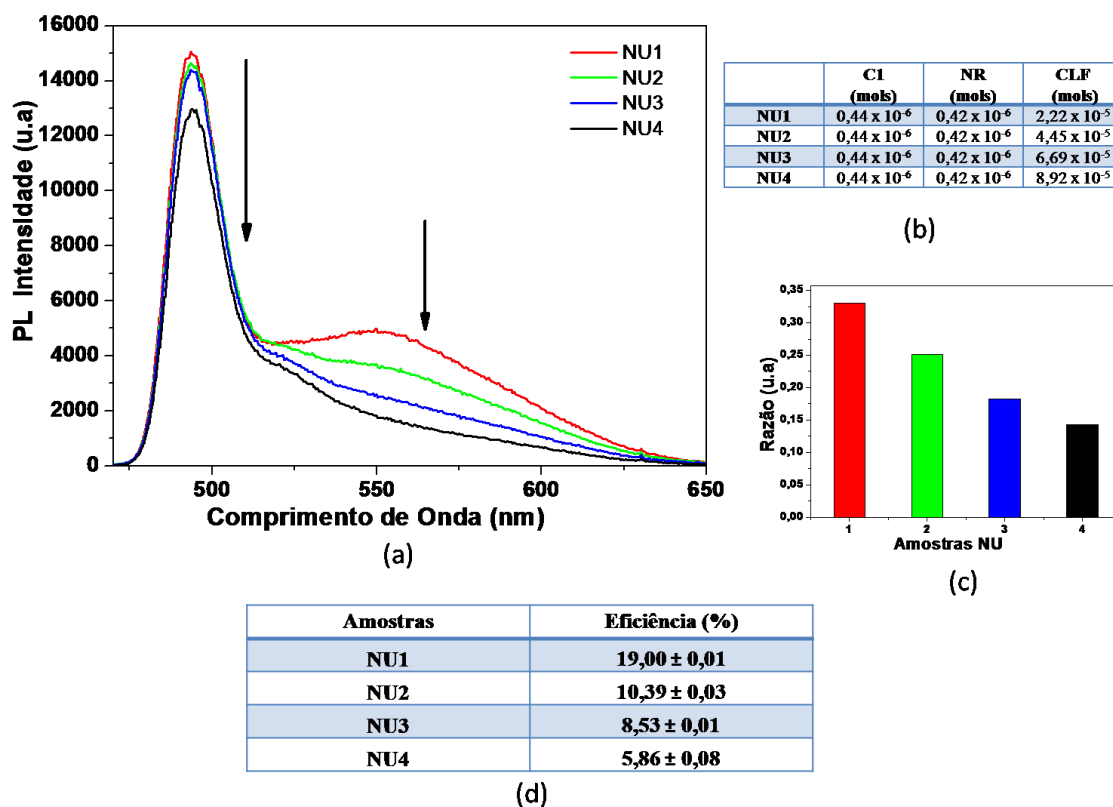


Figura 51- (a) PL das amostras NU; (b) Tabela de quantidades; (c) Razão das amostras e (d). Tabela da Eficiência

Na classe de amostras NW (Fig.52) reduziu-se a quantidade de C1 para $0,22 \times 10^{-6}$ mols, aumentou-se a de NR para $0,85 \times 10^{-6}$ mols e variou-se o solvente em quatro medidas no percentual $2,22 \times 10^{-5}$ mols para as quatro amostras desenvolvidas. Os resultados mostraram-se promissores, demonstrando que em baixa quantidade de solvente tem-se um acréscimo da luminescência do aceitante NR e redução da emissão do C1 (Fig.52-a). Entretanto, por resultar em um distanciamento entre as moléculas deste complexo, a grande quantidade de solvente promove drástica redução da emissão do aceitante, tornando-se um dificultador à ocorrência do FRET. Também verificou-se a ocorrência da supressão nas amostras NW, constatado pela diminuição da eficiência (Fig.52-d) com o acréscimo gradativo de clorofórmio, assim como também a diminuição da razão entre as intensidades de luminescência (Fig.52-c).

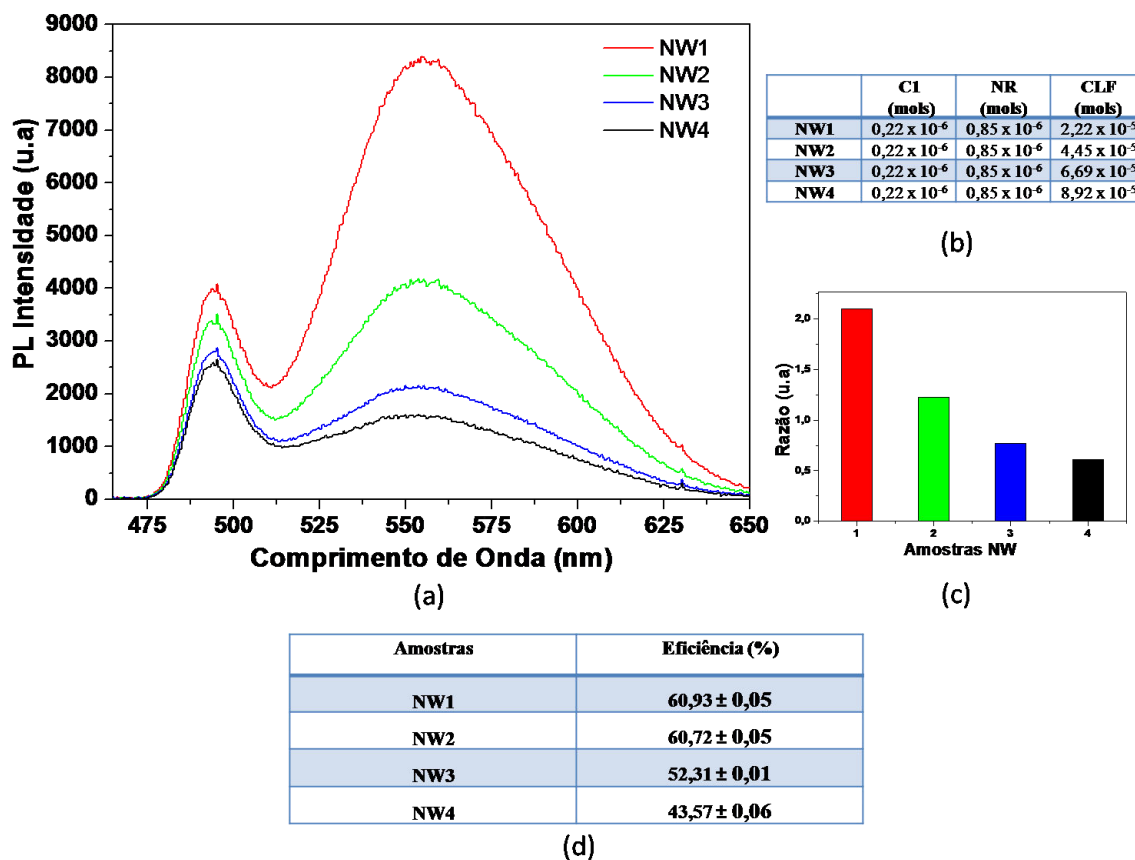


Figura 52 - (a) PL das amostras NW; (b) Tabela de quantidades; (c) Razão das amostras e (d). Tabela da Eficiência.

As medidas NA (Fig.53) foram as últimas da série envolvendo o ponto quântico C1 e o corante orgânico NR. A grande diferença entre as amostras preparadas anteriormente e esta atual refere-se ao fato de fixar-se o número de mols de C1 em $0,89 \times 10^{-6}$ mols e variar apenas a quantidade de corante NR sem diluir as amostras, conforme vistas em NS, NU e NW.

Observou-se também a supressão da luminescência acentuada do C1 pela adição de NR (Fig.53-a). As amostras do intervalo NA1 até NA4 apresentaram baixa eficiência, enquanto que para as de NA5 a NA9 ocorreu um aumento da eficiência (Fig.53- d). Isso sugere que em uma maior quantidade de C1 em relação aos receptores NR o processo tornou-se ineficiente para o propósito do FRET e, tal como foi constatado por experimentos anteriores, a elevada quantidade de ponto quântico em relação à de corante proporciona um sistema não adequado para o objetivo.

Tal como mostrado na (Fig.53-c), a razão entre as intensidades fornece a ideia de como o corante varia sua emissão em relação aos nanocristais CdSe/Zns sendo que, à medida em que o NR foi adicionado, ele atuou como supressor da fluorescência do nanocristal.

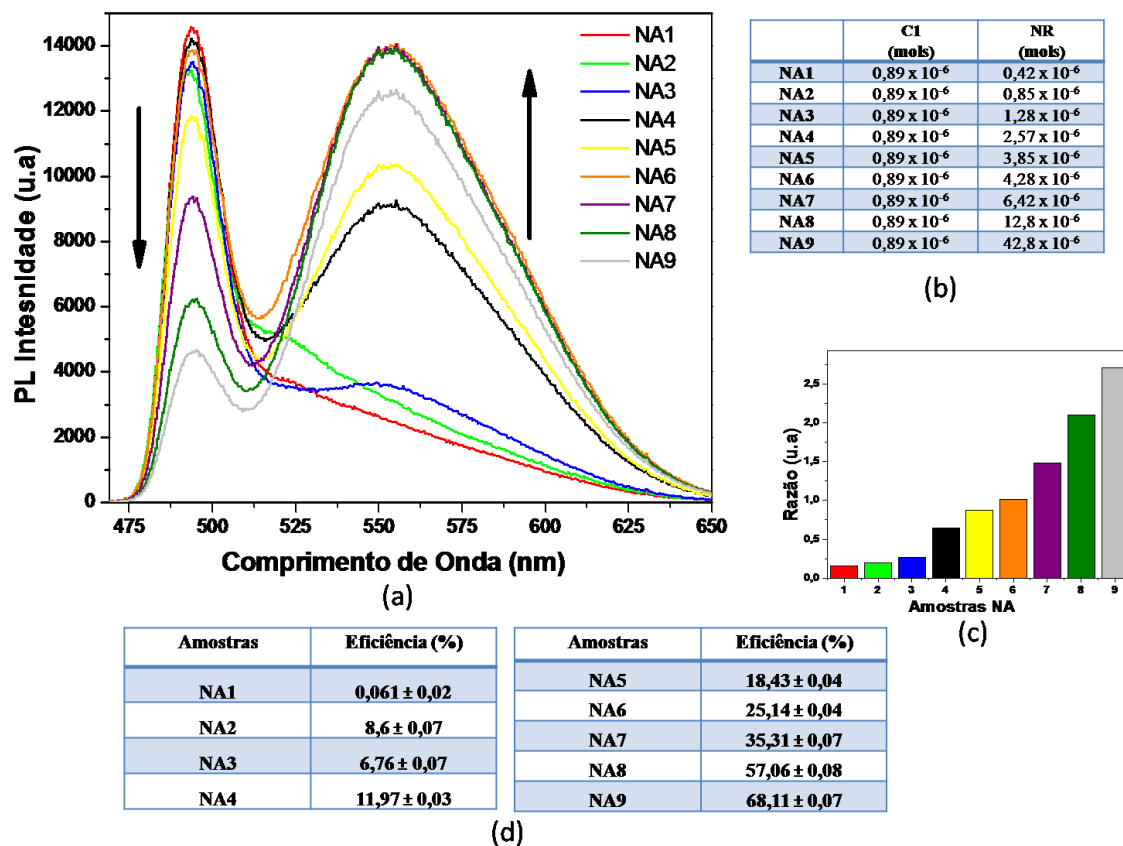


Figura 53 - (a) PL das amostras NA; (b) Tabela de quantidades; (c) Razão das amostras e (d). Tabela da Eficiência.

5.3 Sobreposição espectral

Uma das pré-condições essenciais para a dinâmica do FRET é que o espectro de absorção da partícula aceitante sobreponha o espectro de emissão de fluorescência da partícula doadora de energia (MA; YANG; ZHENG, 2014). Com base na literatura e na observação dos espectros de absorção e emissão, estabeleceu-se o corante como aceitador e o ponto quântico como partícula doadora. Os gráficos abaixo configuram a sobreposição espectral entre o ponto quântico C1 e o corante orgânico *Neutral Red* em dois solventes diferentes:

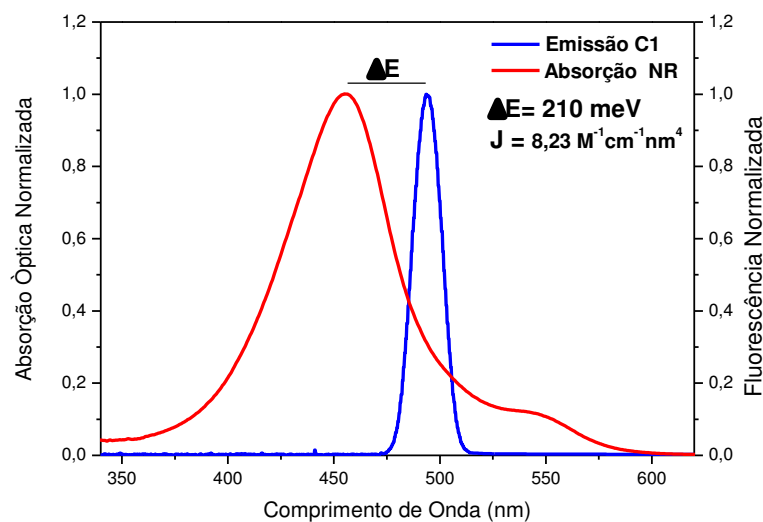


Figura 54 - Sobreposição Espectral entre a emissão do C1 e a absorção do NR, ambos diluídos em DMSO.

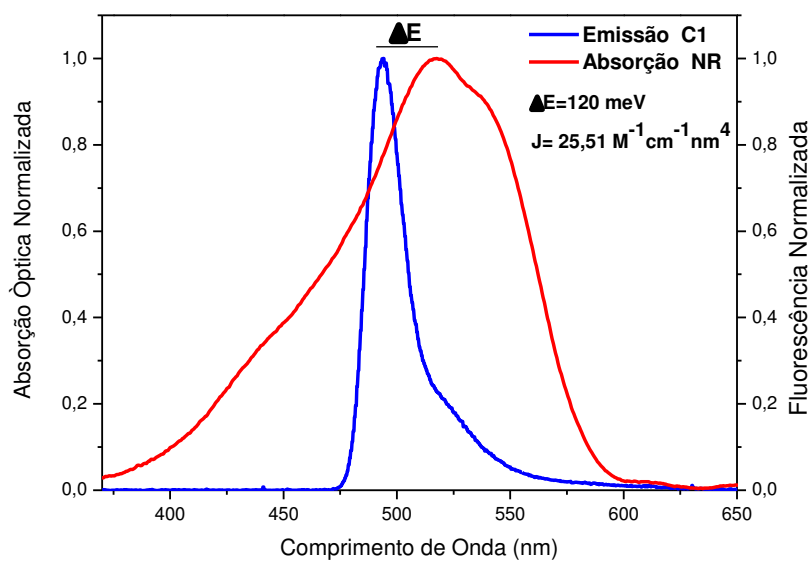


Figura 55 - Sobreposição Espectral entre a emissão C1 e a absorção do corante NR, ambos diluídos em CLF.

Em decorrência do corante e o nanocrystal terem formado uma sobreposição entre os espectros de emissão dos pontos quânticos e de absorção dos corantes, possibilitou-se a ocorrência de transferência de energia por ressonância (FRET) justificada pela supressão da fluorescência detectada nos espectros de luminescência. Na tabela 10 são listados os valores das integrais de sobreposição (J) dos espectros, correspondentes então ao cálculo da área da sobreposição dos espectros de absorção do receptor (corante) e de emissão do doador (ponto quântico).

Absorção do aceitador	Emissão do doador	Solvente	$J (M^{-1}cm^{-1}nm^4)$	$\Delta E (meV)$
NR	C1	CLF	25,51	120
NR	C1	DMSO	8,23	210

Tabela 10 - Valores da sobreposição (J) entre os espectros de emissão e absorção encontradas do cálculo da área sobreposta entre os gráficos.

5.4 Medidas de varredura por microluminescência (μPL)

Para a mensuração da microluminescência (μPL) foi utilizado o aparato experimental mostrado na figura 37 e a técnica de varredura superficial da imagem da microluminescência MSST (em inglês *microluminescence surface scan technique*, MSST) (MONTE *et al*, 1997), feita à temperatura ambiente (300K) e que utiliza como fonte de excitação um laser diodo com emissão em 405 nm para C1 .

A figura 56 apresenta o perfil transversal do feixe do laser diodo 405 nm após ser focalizado sobre uma amostra por uma objetiva com capacidade de amplificação em 10x e distância de trabalho (wd) com exatamente 2 cm.

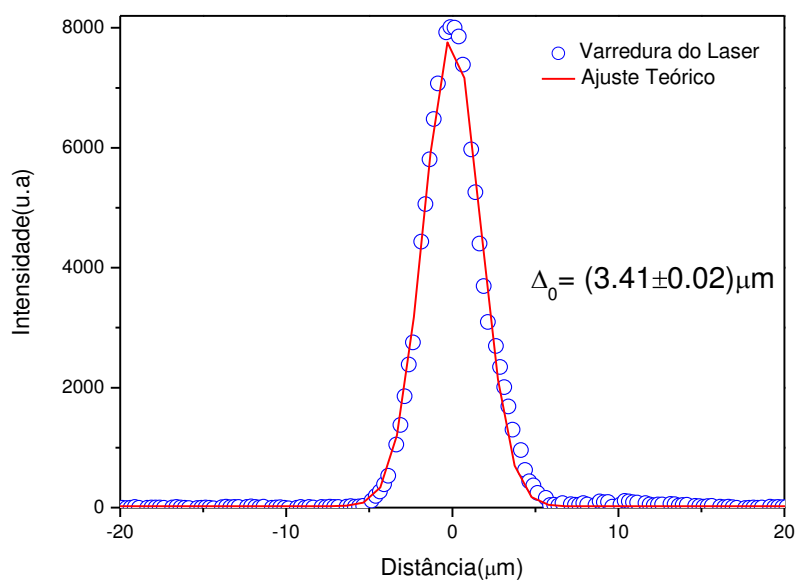


Figura 56 - Perfil espacial para o laser diodo 405nm utilizado nas medidas de fotoluminescência. Os dados foram ajustados usando uma função gaussiana em que o símbolo Δ_0 corresponde à largura a meia altura da emissão do laser e o valor obtido é $(3.41 \pm 0.02) \mu m$.

O perfil transversal da emissão do referido laser foi ajustado segundo a função gaussiana

$$W(x) = G_0 e^{-\left(x^2/2\Delta_0^2\right)}, \quad (5.1)$$

em que G_0 consiste em uma constante de normalização dependente apenas da intensidade do laser e Δ_0 representa o diâmetro do feixe.

A figura 57 é elucidativa do processo nas medidas de varredura superficial a qual o feixe do laser foi focalizado em um ponto da amostra excitando uma área com diâmetro com aproximadamente $3,5 \mu\text{m}$ e, posteriormente ao processo de absorção, a energia de excitação foi difundida por transferência ou migração com parte remetida para sítios aceitadores, os quais após absorvê-la a reemitiram. Tal processo aconteceu de forma exponencial ao longo da amostra, sendo então medida a luminescência emitida pela amostra pela técnica de μPL e com resolução espacial.

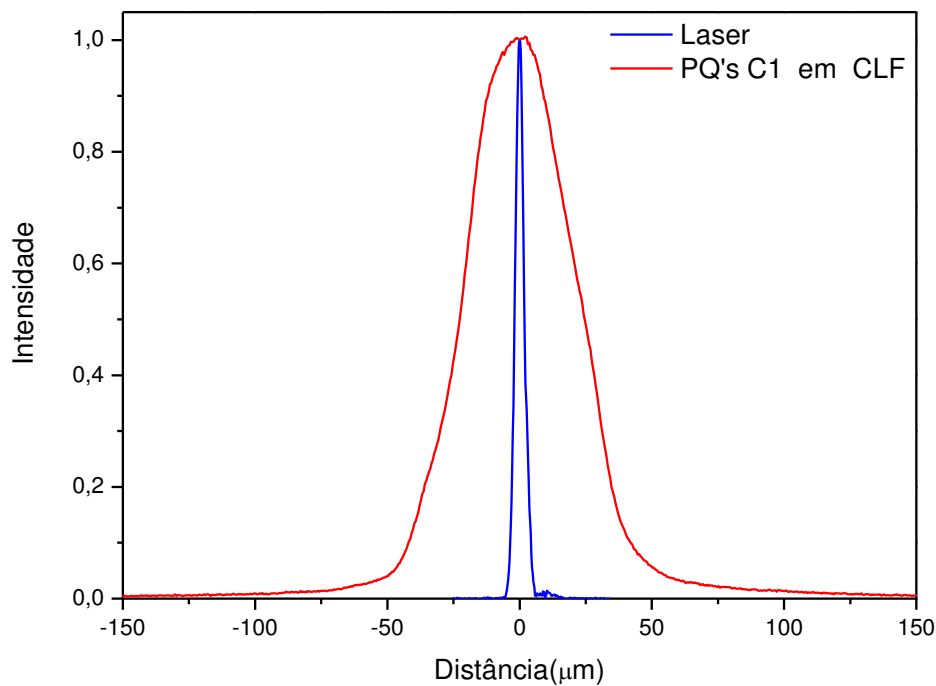


Figura 57 - Laser e luminescência resolvidos espacialmente do C1 em CLF.

Observou-se pela figura 56 a excitação de uma área de aproximadamente 3,5 micrometros tomando como referência o ponto de excitação do laser na amostra. Posteriormente, foi medida a luminescência do C1 afastado da área do diâmetro de focalização do laser com distâncias da ordem de 150 μm . A referida técnica possibilita a medição e o estudo de variações até os limites da amostra, em que o material apresenta a luminescência possível de ser detectada.

As medidas de varreduras de μPL foram efetuadas duas vezes para cada amostra e sintonizadas nos respectivos comprimentos de onda de emissão tanto para o ponto quântico quanto para o corante utilizado. Os resultados encontrados foram comparados em um único gráfico contendo doador e aceitador, o que auxiliou na análise da diferença no comprimento de difusão da energia entre as amostras para evidenciar o FRET.

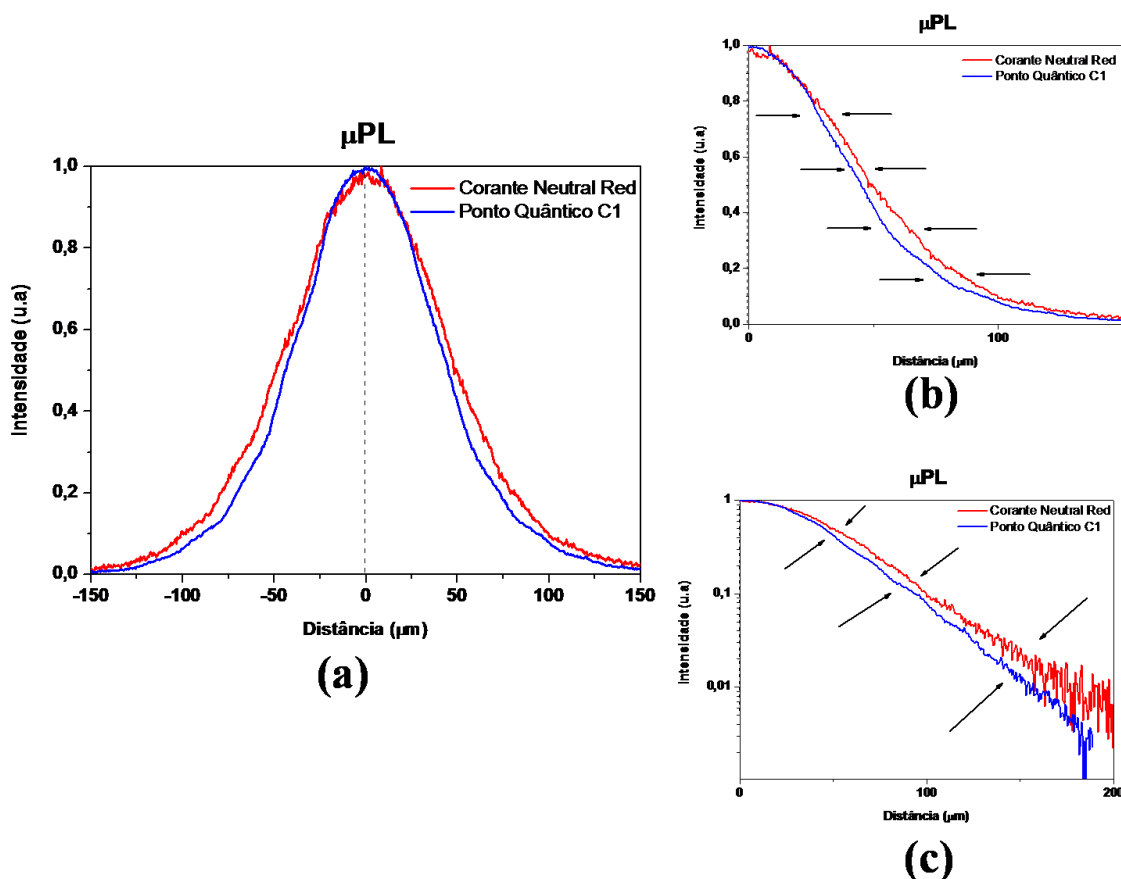


Figura 58 - (a) μPL da amostra NS6 (tabela 5), em que as varreduras de μPL são plotadas juntas e centralizadas tanto do ponto quântico C1 ($\lambda_{\text{em}}=495\text{nm}$) e do corante NR ($\lambda_{\text{em}}=560\text{nm}$) e a representação do lado direito do gráfico (a) em escala linear em (b) e na escala logarítmica em (c). As setas em negrito indicam o comportamento de decaimento espacial das curvas.

Para melhor visualização e análise, todos os gráficos de μPL serão apresentados à maneira da figura 58 (c) anteriormente apresentada.

5.4.1 Varredura de Microluminescência em função da quantidade de doador e aceitador

Seguem abaixo as figuras contendo os respectivos números de mols dos reagentes (tabelas de quantidade) utilizados, assim como os gráficos de μPL os quais o eixo-y foi dimensionado na escala logarítmica por possibilitar maior precisão na comparação entre as amostras avaliadas e para compreender mudanças significativas no início, meio e final das respectivas curvas mensuradas pela respectiva técnica. Ainda, com a intenção de aprimorar as informações a respeito do caminho percorrido por um fóton até um aceitador, incluíram-se os gráficos referentes ao estudo da difusão da energia em função do conjunto de amostras analisadas.

Sendo assim, para cada curva de μPL tomou-se a respectiva medida em uma região afastada do diâmetro de focalização do laser e, para a análise teórica desta curva, utilizou-se uma solução pertencente à equação de difusão caracterizada como uma função Bessel, modificada de ordem zero de segundo tipo e representada a seguir (MONTE, 2000):

$$N(r) = K_0 \left(\frac{r}{L_D} \right) \quad (5.2)$$

Assim, tal solução assintótica é dada por

$$N(r) = n_0 \frac{1}{\sqrt{r/L_D}} e^{-r/L_D} ; (r \rightarrow \infty), \quad (5.3)$$

em que o único parâmetro de ajuste é o comprimento de difusão (L_D).

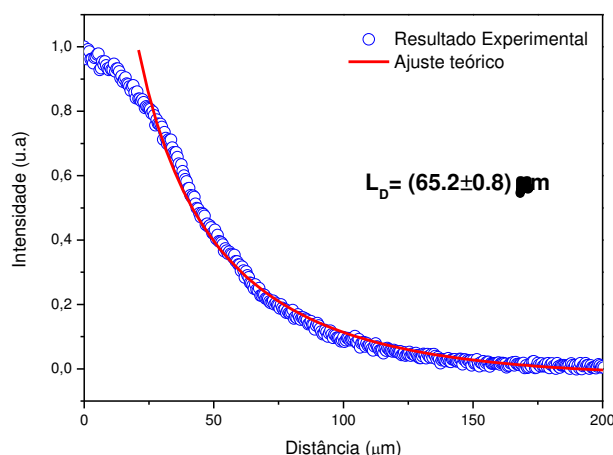


Figura 59 - Ajuste teórico usando a solução (Eq. 5.3) da difusão para uma das amostras envolvendo C1 e corante NR em clorofórmio em região de ajuste $r \geq 25 \mu m$.

5.4.2 Amostras E – Ponto quântico C1 e corante NR em solvente DMSO

Na análise da figura 60 referente às amostras E1, E2, E3 e E4 (Fig.60 - b) variou-se o número de mols de doadores em percentuais de $0,45 \times 10^{-6}$ mols mantendo-se constantes a quantidade de NR em $1,28 \times 10^{-6}$ mols e o solvente DMSO em $4,46 \times 10^{-5}$ mols. Constatou-se que as curvas de μPL E1, E2 e E3 e E4 apresentaram significativos alargamentos à medida que a quantidade de pontos quânticos aumenta conforme (Fig.60 - a) e, de acordo com a literatura, tal ocorrência decorre de processos de migração e transferência de energia, uma vez que são competitivos entre si.

Além disso, a elevação do comprimento de difusão L_D (Fig.60 - c) com acréscimo de ponto quântico sugere que na amostra E1 existe maior probabilidade de um doador estar próximo de um aceitador, o que favorece eventos de transferência de energia. Entretanto, observa-se que na amostra E4 (devido a sua alta quantidade de nanocristais (doadores)) ocorre o fenômeno de migração, em que um ponto quântico absorve um fóton proveniente de outro ponto quântico de modo que seja “retransferido” para outros doadores, e, uma vez que os fótons são emitidos sem direção preferencial, esse processo pode se repetir até que o fóton seja emitido para o meio exterior ou na direção de um aceitador localizado a uma distância mais afastada explicitando aumento de L_D . Contudo, o fato da sobreposição entre os espectros

de emissão do doador e de absorção do aceitador se comportar como ressonantes, este os habilitam implicitamente a apresentarem transferência de energia não radiativa.

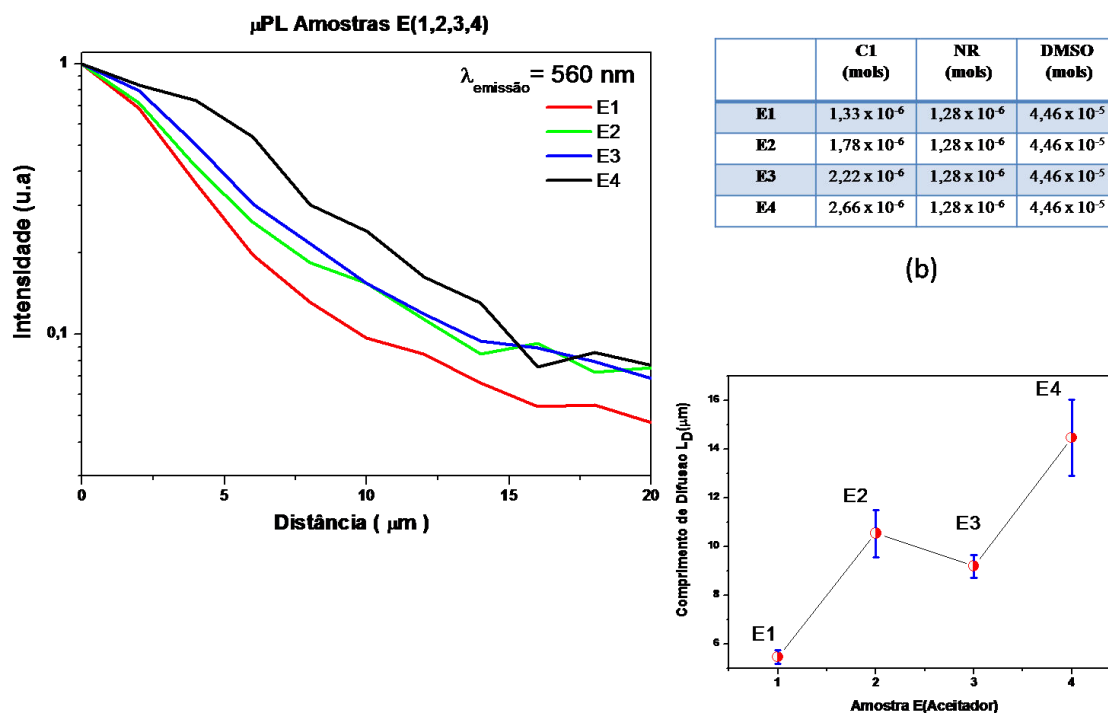


Figura 60 - (a) μPL das amostras E; (b) tabela das quantidades e (c) Gráfico da difusão para as amostras E.

Inversamente à anterior, na figura 61 referente às amostras E5, E6, E7 e E8 (Fig. 61 - b) alterou-se o número de mols dos aceitadores em percentuais de $0,43 \times 10^{-6}$ mols, mantendo-se constantes as quantidades dos doadores e do solvente DMSO respectivamente em $1,33 \times 10^{-6}$ e $4,46 \times 10^{-5}$ mols. Constatou-se ainda que à medida que cresciam a quantidade de mols do corante NR as curvas de μPL apresentaram redução do decaimento espacial, o que pela literatura decorre da diminuição de processos migratórios doador-doador e aumento do número de eventos com alta probabilidade de transferência de energia (Fig.61 - a).

A prevista redução do comprimento de difusão L_D com o aumento do número de mols do aceitador de acordo com a (Fig.61 - c) corresponde à evidência de transferência de energia do tipo Förster, uma vez que a eficiência da transferência não radiativa aumenta com a redução da distância entre espécies doadora e aceitadora. Para as amostras que possuíam

maior quantidade de corante há uma grande probabilidade de um doador estar a uma distância adequada de um aceitador, favorecendo então o FRET e reduzindo a migração entre doadores.

Verifica-se que este sistema cumpriu o objetivo propositado mostrando evidências de FRET pelo fato do aumento do volume de corante ter ocasionado uma redução do decaimento espacial das curvas de μ PL proporcional à redução de L_D .

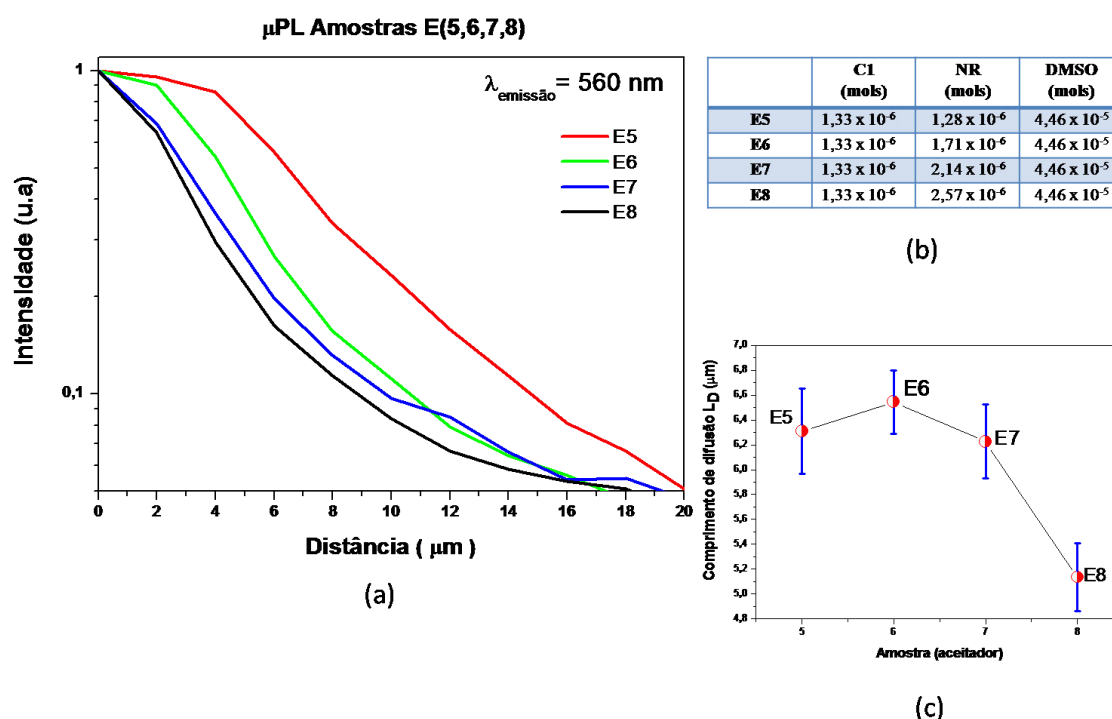


Figura 61 - (a) μ PL das amostras E; (b) tabela das quantidades e (c) Gráfico da difusão para as amostras E.

5.4.3 Amostras NS – Ponto Quântico C1 e corante NR em solvente CLF

Na análise da figura 62 referente às amostras NS, variou-se apenas o número de mols do solvente em $2,22 \times 10^{-5}$ mols gradativamente, mantendo-se constantes as quantidades de doadores e aceitadores em $0,89 \times 10^{-6}$ e $0,42 \times 10^{-6}$ mols, respectivamente (Fig.62 - b).

Constatou-se então que as curvas de μ PL em NS (Fig.62 - a) apresentaram significativos alargamentos à medida que as amostras sofreram diluição, pois proporciona uma variação da distância entre as partículas. Sendo assim, é importante ressaltar que, uma vez que a quantidade de doadores seja maior, há uma possibilidade de prevalecer uma migração de fótons entre espécies de mesmo tipo (doador–doador). Assim, tais amostras são

inadequadas ao processo de transferência não radiativa quando altamente diluídas, fato que pode ser visualizado pela análise do comportamento de L_D em função da distância entre doador-aceitador (Fig.62 - c). Entretanto, em tal processo as amostras em baixa diluição tem grande probabilidade de habilitarem-se ao FRET, mesmo porque há uma sobreposição dos espectros de emissão do doador e absorção do aceitador mostrando-se ressonantes.

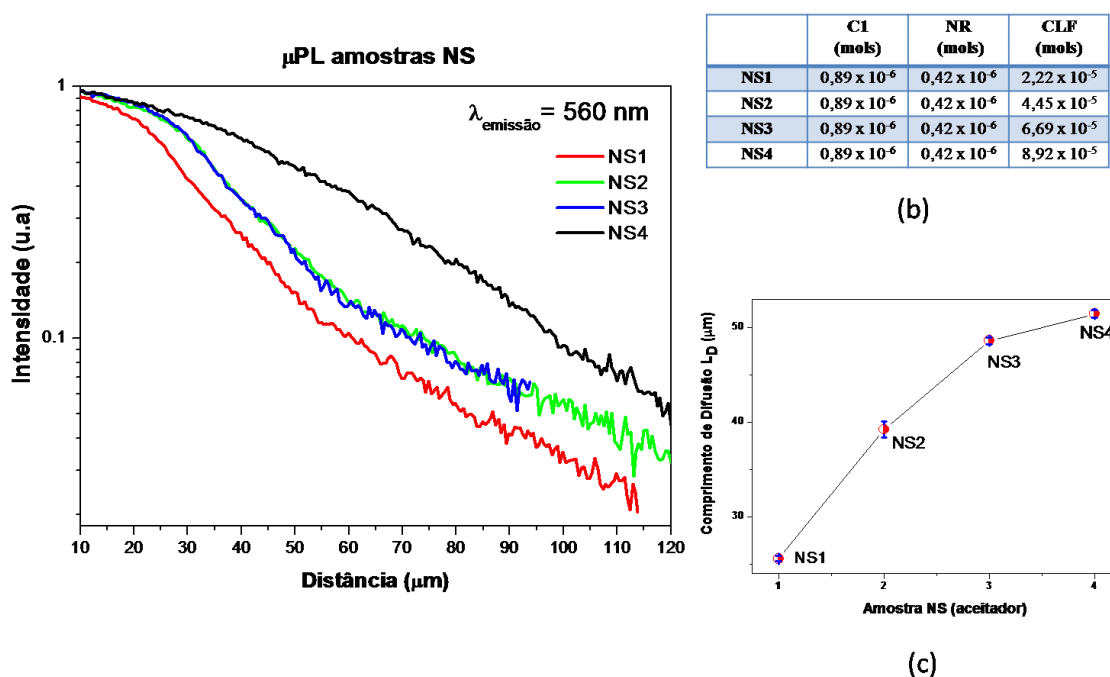


Figura 62 - (a) μPL das amostras NS; (b) tabela das quantidades e (c) Gráfico da difusão para as amostras NS.

5.4.4 Amostras NU - Ponto Quântico CI e corante NR em solvente CLF

Na análise da figura 63 referente às amostras NU, variou-se apenas a quantidade de solvente em percentuais de $2,22 \times 10^{-5}$ mols, mantendo-se constantes as respectivas quantidades de doadores e receptores em $0,44 \times 10^{-6}$ e $0,42 \times 10^{-6}$ mols (Fig.63 - b). Dessa forma, constatou-se que as curvas de μPL em NU (Fig.63 - a) apresentaram similares decaimentos espaciais com alargamentos equivalentes e superposição, possivelmente resultado da diluição e adição gradativa do solvente.

Tal procedimento mostrou-se indiferente à transferência de energia e aos eventos de migração de energia, pois as quantidades de mols de doadores e aceptores sendo equivalentes ainda foram altamente diluídas com aumentos progressivos de solvente, fazendo

com que as partículas se afastassem. Assim, este sistema NU torna-se inadequado para evidenciar o FRET, o qual é altamente dependente da distância. Entretanto, o comportamento da difusão aparenta um melhor resultado para as amostras menos diluídas (Fig.63 - c).

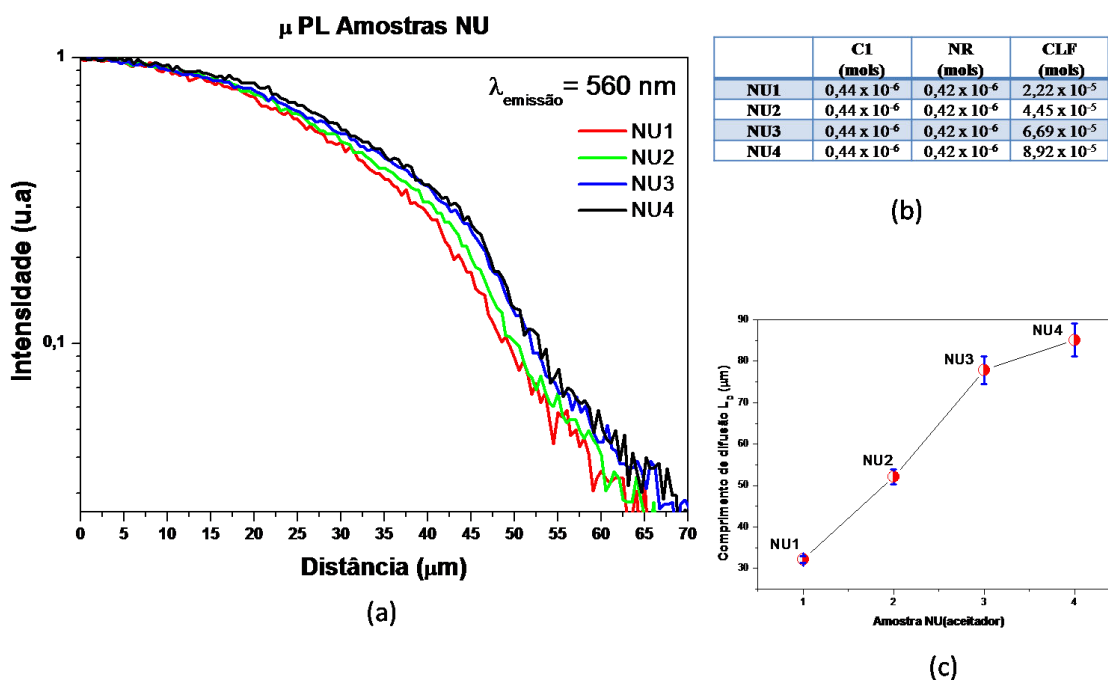


Figura 63 - (a) μPL das amostras NU; (b) tabela das quantidades e (c) Gráfico da difusão para as amostras NU.

5.4.5 Amostras NW - Ponto Quântico C1 e corante NR em solvente CLF

Na análise da figura 64 referente às amostras NW, variou-se apenas o número de mols do solvente em $2,22 \times 10^{-5}$ mols, mantendo-se constantes as quantidades de doadores e aceitadores em $0,22 \times 10^{-6}$ e $0,85 \times 10^{-6}$ mols.

Constatou-se então que as curvas de μPL (Fig.64 - a) (especificamente NW1 e NW2 cujas amostras se encontraram menos diluídas que as demais) obtiveram menor alargamento que as outras e, em conformidade com a literatura, por haver elevada quantidade de aceitadores NR há a possibilidade de que seja menor a distância entre o ponto quântico e o corante. Desse modo, os eventos de transferência de energia doador-aceitador são mais prováveis de ocorrer do que uma migração entre doador-doador.

Neste sistema as quantidades de pontos quânticos e corante NR em desequilíbrio foram ainda altamente diluídas pelos aumentos progressivos de solvente, ocasionando maior

distanciamento entre as partículas, isto é, demonstrado no comportamento do comprimento de difusão de fótons (Fig.64 - c) para as amostras mais diluídas, pois o processo exibe alta dependência da distância.

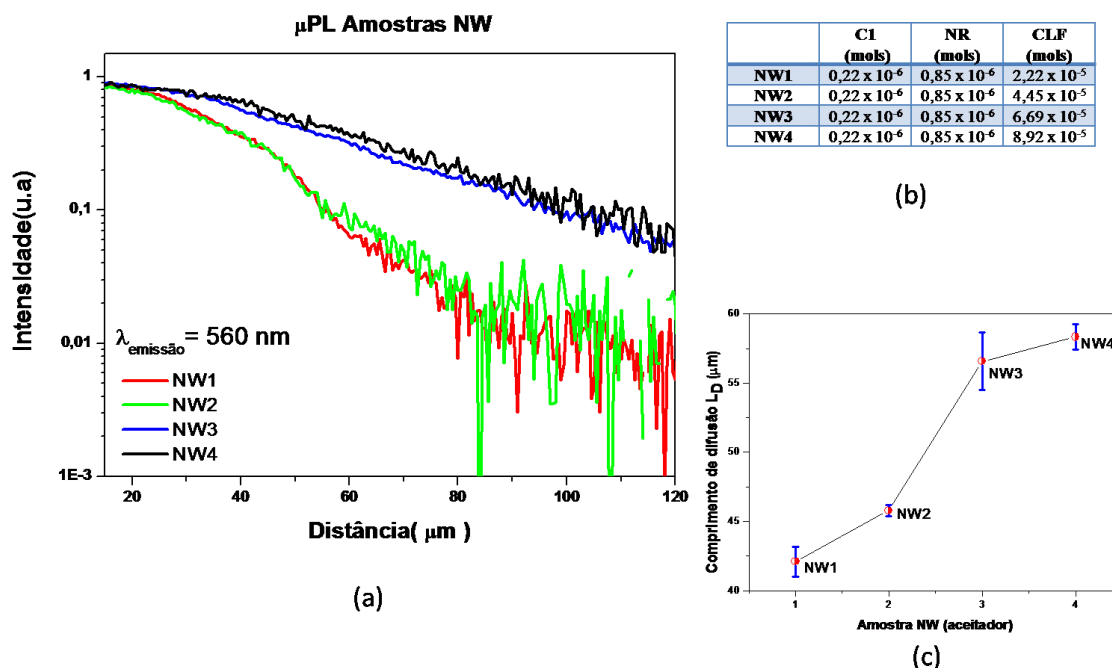


Figura 64 - (a) μPL das amostras NW; (b) tabela das quantidades e (c) Gráfico da difusão para as amostras NW.

5.4.6 Amostras NA - Ponto Quântico C1 e corante NR na ausência de CLF

Na análise da figura 65 (b) referente às amostras NA manteve-se constante a quantidade de doador em $0,89 \times 10^{-6}$ mols e variou-se os receptores em restritos intervalos sem acréscimo de solvente para diluição deles, experimento contrário aos anteriores, porém similar às amostras E realizada em DMSO.

Observa-se que à medida que a quantidade de corante NR é adicionado à solução ultrapassando a quantidade de nanocristais semicondutores, as curvas de μPL sofrem decaimento espacial mais intensamente conforme figura 65 (a). Além disso, há uma forte evidência do processo de FRET a partir da amostra NA3 e a probabilidade de ocorrer eventos por transferência de energia entre doador-aceitador pode ser mais provável que uma migração doador-doador.

Outro fator que evidencia condições para demonstração experimental do processo de FRET é o comprimento de difusão L_D , visualizado na figura 65 (c). Este diminui à medida que uma quantidade maior corante é adicionada. Desta forma, com o acréscimo de NR é mais provável que o doador esteja numa distância adequada ao processo de transferência de energia não radiativa (1-10nm). Logo, esse sistema mostra-se adequado ao objetivo deste trabalho.

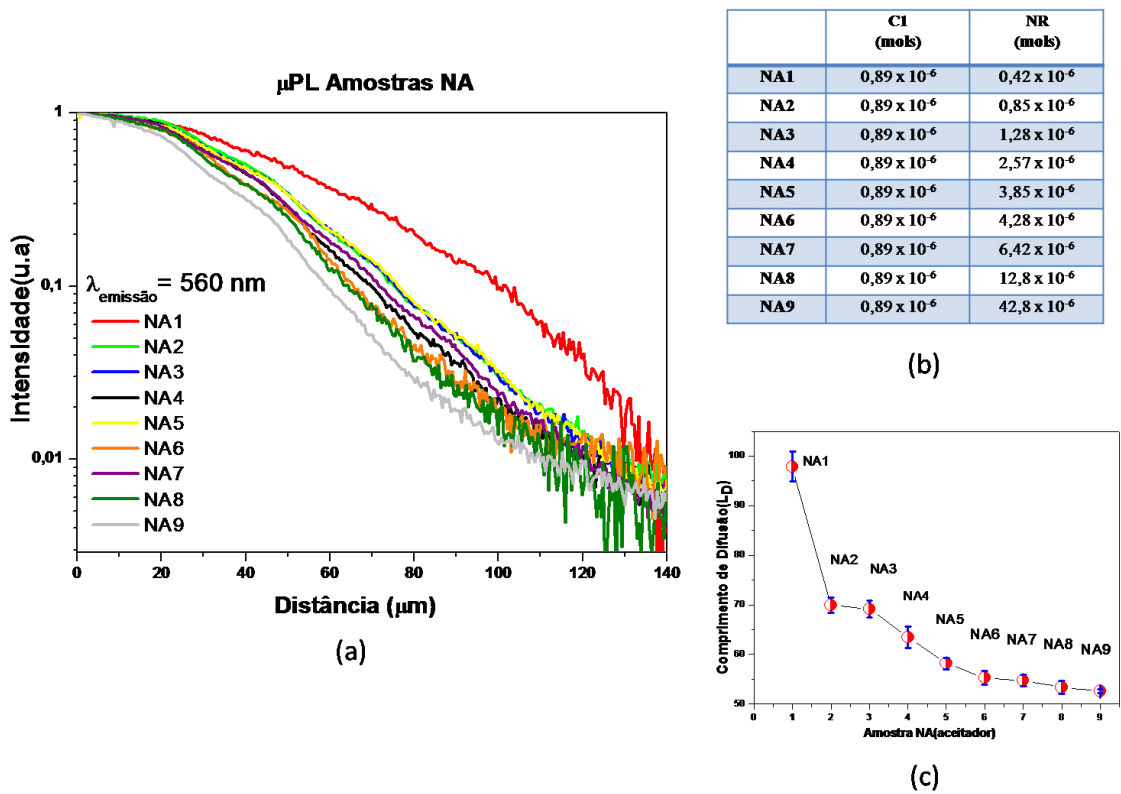


Figura 65 - (a) μ PL das amostras NA; (b) tabela das quantidades e (c) Gráfico da difusão para as amostras NA.

6 CONCLUSÃO

Neste trabalho foi realizado o estudo da transferência de energia fluorescente ressonante (FRET) entre nanopartículas semicondutoras (CdSe/Zns) do tipo núcleo - casca e o corante orgânico *Neutral Red*. Sendo assim, como objetivo principal houve interesse em observar evidências do FRET em diferentes sistemas relacionando a quantidade de pontos quânticos e corante diluídos no mesmo meio e também a difusão de fótons gerada pela transferência de energia do ponto quântico ao corante.

Para a investigação dos sistemas mais apropriados a manifestação do processo de FRET, foram utilizadas as referidas técnicas: absorção óptica (Ab), fotoluminescência (PL) e varredura de microluminescência (μ PL).

No sistema em questão, em que o ponto quântico foi considerado como doador e o corante como aceitador de energia, observou-se a sobreposição dos espectros de emissão do doador e de absorção do receptor. Esta é uma condição essencial à ocorrência do FRET e verifica-se a partir das observações experimentais que há variação da área de sobreposição espectral (J) quando o nanocristal semicondutor C1 e o corante NR foram inseridos juntos em CLF e DMSO. Dessa forma, o solvente clorofórmio afigurou-se mais adequado para o sistema C1 e NR em comparação com o dimetilsulfóxido, pois este apresenta menor J do que o do CLF.

As propriedades ópticas dos doadores e receptores foram explicitadas de forma individual (doador e aceitador separados, porém em mesmo solvente) e em conjunto (doador e aceitador juntos em mesmo meio solvente) com a utilização das técnicas de absorção óptica e fotoluminescência. A análise dos espectros de fotoluminescência com interação de doador e aceitador em mesmo solvente mostrou que o ponto quântico sofreu supressão do corante quando as concentrações de doadores foram inferiores às de receptores e, assim a redução da luminescência do nanocristal evidenciou a ocorrência de processo de FRET.

A caracterização óptica encerrou-se pelas medidas de varredura da microluminescência (μ PL), a qual possibilitou aferir os fenômenos de migração e transferência por intermédio do processo de difusão de energia. Sendo assim, este mostrou-se altamente dependente da quantidade de corante adicionado e da diluição da solução. Aferiu-se então que há maior alargamento das curvas de varredura quando as quantidades de doadores forem maiores que de aceitadores e quando ocorre uma maior diluição das amostras. Outro

método que constatou o resultado anterior foi realizado por intermédio dos gráficos relacionando amostras por comprimento de difusão L_D .

Em suma, conclui-se que as amostras que mais se adequaram para o objetivo do FRET estão relacionadas ao fato de apresentarem baixa quantidade de doador e elevada quantidade aceitador, bem como uma baixa quantidade de solvente. Desse modo, há uma alta probabilidade de que um ponto quântico e um corante possam se encontrar na distância que favoreça a explicitação do processo de FRET e não da migração entre doador–doador, sendo que esta última inibe e reduz a eficiência da transferência de energia não radiativa.

6.1 Perspectivas para trabalhos futuros

- Realizar cálculos teóricos de transferência de energia para estimar a distância entre os pontos quânticos e os corantes em solução, bem como simulações computacionais para diferentes sistemas.
- Desenvolver amostras (em particular compostas por materiais biológicos e novos corantes) utilizando diferentes doadores como nanopartículas de ouro (Au).
- Em razão da técnica de μ PL, utilizada por possuir resolução micrométrica (μm), propõe-se então aprimorá-la com resolução nanométrica (nm) para detalhar os estudos de difusão de energia em diferentes materiais.
- Utilizar os dados deste trabalho para uma possível aplicação em biosensor.

REFERÊNCIAS

- ALGAR, W. R.; KRULL, U. J. Quantum dots as donors in fluorescence resonance energy transfer for the bioanalysis of nucleic acids, proteins, and other biological molecules. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v. 391 (5), p. 1609-18, 2008.
- ALVES, G. A. Estudo da dependência da transferência espacial de energia com a concentração e com o tamanho de pontos quânticos de CdSe. Dissertação - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Física, Uberlândia, Julho, 2011.
- BARNHAM, K.; VEDNSKY, D. Low-dimensional semiconductor structures: Fundamentals and device applications, Cambridge University Press, UK, 2001.
- BELJONNE, D; CURUTCHET, C; SCHOLE, G. D; SILBEY, R. J. Beyond Förster resonance energy transfer in biological and nanoscale systems. *Journal of Physical Chemistry B*, v. 113 (19), p. 6583-99, 2009.
- BERNARDES, C. D. Determinação direta de Trans- Resveratrol em plasma humano usando Espectrofluorimetria e Adição-padrão de segunda ordem. Universidade Estadual de Goiás, Mestrado em Ciências Moleculares, Anápolis, 2009.
- BRADY, J. E; HUMISTON, G. E. Química Geral. JC Livros Técnicos e Científicos Editora. v. 1, 2ª Edição, p.117-140, 1986.
- CACHETAS, J. H. R. S. Desenvolvimento e Ensaio Biológicos de Bionanossistemas baseados em Pontos Quânticos de CdSe/ ZnS. Dissertação de Mestrado em Biofísica e Bionanossistemas, Universidade do Minho, Escola de Ciências, Portugal, Fevereiro, 2013.
- CALLISTER JR, W.D.; RETHWICSH, D.G. Materials Science and Engineering Introduction. John Wiley & Sons, Inc. United States of America, 8ª edição, 2010.
- CHEN, N. T.; CHENG, S. H.; LIU, C. P.; SOURIS, J. S.; CHEN, C. T.; MOU, C. Y.; LO, L. Recent Advances in Nanoparticle-Based Förster Resonance Energy Transfer for Biosensing, Molecular Imaging and Drug Release Profiling. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 13 (12), 16598-623, 2012.
- EISBERG, R. RESNICK, R. Física Quântica. Átomos, Moléculas, Sólidos, Núcleos e Partículas, Editora Campus, Rio de Janeiro, 1979.
- FÖRSTER, T. Zwischenmolekulare Energiewanderung und Fluoreszenz. *Annalen der Physik*, v. 437, p. 55-75, 1948.
- FRASCO, M. F.; CHANIOTAKIS, N. Bioconjugated quantum dots as fluorescent probes for bioanalytical applications. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v. 396 (1): p. 229-40, 2010.
- GE, S.; LU, J.; YAN, M.; YU, F.; YU, J; SUN, X. Fluorescence resonance energy transfer sensor between quantum dot donors and neutral red acceptors and its detection of BSA in micelles. *Dyes and Pigments*, v. 91 (3), p. 304-308, 2011.

GEDAM, S. C.; DHOBLE, S. J. Luminescence and evaluation of trapping parameters in NaMgSO₄Cl: X (X=Cu or Ce) phosphor. *Journal of Luminescence*, v. 132: p. 2670-2677, 2012.

GENGER, U. R.; GRABOLLE, M.; JARICOT, S. C.; NITSCHKE, R.; NANN, T. Quantum dots versus organic dyes as fluorescent labels. *Nature Methods* 5, p. 763 - 775, 2008.

HERING, V. R. Interação entre Proteínas Fluorescentes e Nanocristais de CdSe/ZnS. Tese de doutorado, Universidade de São Paulo, Instituto de Química. São Paulo, 2007.

JAGOSICH, F.H. Estudos Espectroscópicos para o Desenvolvimento dos Meios Laser Ativos de Ho³⁺ e Er³⁺ no YLF que operam na região de 3 micros. Dissertação de mestrado, IPEN, Área de Tecnologia Nuclear – Materiais, SAO PAULO, 2000.

KAWATA, G.; OGAWA, Y.; MINAMI, F. Density dependence of photoluminescence lifetime of CdSe/ZnS core-shell colloidal quantum dots. *Journal of Applied Physics*, v.110, p. 4323, 2011.

KITTEL, C. Introdução à Física do Estado Sólido. Guanabara Dois, 5ª ed. Rio de Janeiro, 1975.

LAKOWICZ, S. Principles of Fluorescence Spectroscopy. Springer Science, 3rd, 2006.

LAWRENCE, H.; VLACK, V. Princípio de Ciência dos Materiais. Editora Edgard Blucher Ltda. 13ª reimpressão, São Paulo, 2000.

LEÃO, A. F. Abordagem Teórico-Experimental do Efeito do Tunelamento Quântico em Dispositivos Semicondutores. Dissertação de mestrado, Universidade Federal do Vale do São Francisco, Juazeiro, 2009.

LIU, B.; GUO, Y.; WANG, J.; XU, R.; WANG, X.; WANG, D.; ZHANG, L.; XU, Y. Spectroscopic studies on the interaction and dynamic damage of neutral red (NR) to bovine serum albumin (BSA). *Journal of Luminescence*, v.130, p. 1036-1043, 2010.

MA, L.; YANG, F.; ZHENG, J. Application of fluorescence resonance energy transfer in protein studies. *Journal of Molecular Structure*, 2014.

MANSUR, H. S. Quantum dots and nanocomposites. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, v. 2, p. 113–129, 2010.

MARQUES, F. A. M. Investigação da difusão de portadores em pontos quânticos sob campo elétrico externo por meio da varredura de microluminescência. Dissertação de mestrado, Instituto de Física, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2009.

MARQUEZIN, C. A. Técnicas de fluorescência no monitoramento de membranas modelo. Tese de Doutorado, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, 2008.

MONTE, A. F. G. Estudo dos processos de transporte de portadores em semicondutores usando a imagem da microluminescência. Tese de doutorado, Instituto de Física, Universidade de Brasília, Brasília, 2000.

MONTE, A. F. G.; CRUZ, J. M. R.; MORAIS, P. C. *Rev. Sci. Instrum.*, v. 68, p. 3890, 1997.

NETO, P. C. V. Desenvolvimento de síntese alternativa para a produção de corante orgânico. Tese de doutorado, Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Rio de Janeiro, 2008.

OLIVEIRA, I. S.; Jesus, V. L. B. de. *Introdução à Física do Estado Sólido*. Editora Livraria da Física, São Paulo, 1ª Edição, p. 360, 2005.

PADILHA; F. A. *Materiais de engenharia: Microestrutura e propriedades*. Editora Hemus, Curitiba, 1ª Edição, Paraná, p.185-207, 2000.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S. *Introduction to Spectroscopy: A guide for students of organic chemistry*. Brooks/Colle, United States of America, 3rd, 2001.

PILLA, V.; ALVES, L. P.; MUNIN, E.; PACHECO, M. T.A. Radiative quantum efficiency of CdSe/ZnS quantum dots suspended in different solvents. *Optics Communications*, v. 280, p. 225-229, 2007.

POWELL, R. C. *Physics of Solid-State Lasers Materials*. 1ª ed. New York: Springer-Verlag, 1998.

PRASUHN, D. E.; FELTZ, A.; CANOSA, J. B.C.; SUSUMU, K.; STEWART, M. H.; MEI, B. C.; YAKOVLEV, A. V.; LOUKOV, C.; MALLET, J.M.; OHEIM, M.; DAWSON, P. E; MEDINTZ, I. L. Quantum dot peptide biosensors for monitoring caspase 3 proteolysis and calcium ions. *ACS Nano*, v. 4 (9), p. 5487-97, 2010.

QUEIROZ, T. B. de. Estudo espectroscópico de sistemas luminescentes hóspede/hospedeiro. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, Pós-Graduação em Física em São Paulo, São Carlos, 2013.

RAMANERY, F. P. Síntese e caracterização de nanopartículas semicondutoras com estrutura tipo “Núcleo/Casca” CdSe/CdS obtidas por rota coloidal aquosa. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Minas Gerais, Engenharia Metalúrgica, Materiais e de Minas, Belo Horizonte, 2012.

RAUF, M. A.; SOLIMAN, A. A; KHATTAB, M. Solvent effect on the spectral properties of Neutral Red. *Chemistry Central Journal*, v. 2, p. 19, 2008.

RAY, P. C.; FORTNER, A.; DARBHA, G. K. Gold nanoparticle based FRET assay for the detection of DNA cleavage. *Journal of Physical Chemistry B*. v.110 (42): p. 20745-8, 2006.

REZENDE, S. M. *Materiais e Dispositivos Eletrônicos*. Livraria da Física, São Paulo, 2ª ed., 2004.

SABNIS, R. W. *Handbook of biological dyes and stains: synthesis and industrial applications*. Pfizer Inc., United States of America, New Jersey, 2010.

SANTOS, A. B. dos. Dispositivos baseados no preenchimento de fibras de cristal fotônico por líquidos e materiais nanoestruturados. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica São Carlos, 2012.

SANTOS, B. S.; FARIAS, P. M. A.; FONTES, A. Handbook of Self Assembled Semiconductor Nanostructures for Novel Devices in Photonics and Electronics. Semiconductor Quantum Dots for Biological Applications. Amsterdam: Elsevier, p.773-798 2008.

SANTOS, H. F. dos. Estudo das interações entre polianilina e semicondutores nanocristalinos coloidais de CdTe e CdSe. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de São João del-Rei, Faculdade de Engenharia Mecânica, São João del-Rei, 2013.

SAPSFORD, K. E.; BERTI, L.; MEDINTZ, I. L. Materials for fluorescence resonance energy transfer analysis: beyond traditional donor-acceptor combinations. *Angewandte Chemie International Edition*, v. 45 (28), p. 4562-89, 2006.

SCHATKOSKI, V. M. Síntese e caracterização de nanopartículas semicondutoras com estrutura tipo “Núcleo/Casca” $Cd_xMn_{1-x}S/CdSe$ obtidas por rota coloidal aquosa. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Física, Belo Horizonte, 2011.

SHACKELFORD, J.F. Ciência dos Materiais. Pearson Education do Brasil, São Paulo, 6^a Edição, São Paulo, 2008.

SHAHABADI, N.; Moghadam, N. H. P. Study on the interaction of the antiviral drug, zidovudine with DNA using neutral red (NR) and methylene blue (MB) dyes. *Journal of Luminescence*, v.134, p. 629-634, 2013.

SHIVKUMAR, M. A.; ADARSH, K. S.; INAMDAR, S. R. Quantum dot based FRET to cresyl violet: Role of surface effects. *Journal of Luminescence*, v.143: p. 680-686, 2013.

SILVA, A. G. da. Propriedades Ópticas e Elétricas de Pontos Quânticos Semicondutores de InAs. Tese de doutorado. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, Junho, 2008.

SVELTO, O. Principles of Lasers. Springer Science+Business Media, LLC. 5ed, 2010.

VAASA, A.; LUST, M.; TERRIN, A.; URI, A.; ZACCOLO, M. Small-molecule FRET probes for protein kinase activity monitoring in living cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v.397 (4), p. 750-5, 2010.

VACCHI, F. I. Eco/genotoxicidade do corante comercial CI Disperse Red 1 e seus subprodutos clorados. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Pós-Graduação em Tecnologia para o Ambiente Limeira, 2012.

VENTURINI, C. G. Estudos do Comportamento de corantes solvatocrômicos em soluções de ciclodextrinas. Dissertação de mestrado, Universidade Regional de Blumenau, Pós-Graduação em Química, Blumenau, 2005.

VLACK, V. H. L. Arranjos Atômicos. In: Princípios de Ciência dos Materiais. São Paulo, Ed. Edgard Blucher Ltda, p. 45-75, São Paulo, 1970.

VOGEL, S. S.; VAN DER MEER, B. W.; BLANK, P.S. Estimating the distance separating fluorescent protein FRET pairs. *Methods*, v. **66** (2), p. 131-8, 2014.

XU, F.; WEI, L.; CHEN, Z.; MIN, W. "Frustrated FRET for high-contrast high-resolution two-photon imaging". *Optic Express*, v. 21, 14097, 2013.