

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA ELÉTRICA

Fernando Arruda Mendes de Oliveira

**Projeto de um sistema para aquisição
de dados e controle de um fluorímetro
Spex Fluorolog com microcontrolador
PIC e suporte a USB**

São Carlos
2013

Fernando Arruda Mendes de Oliveira

**Projeto de um sistema para aquisição
de dados e controle de um fluorímetro
Spex Fluorolog com microcontrolador
PIC e suporte a USB**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
à Escola de Engenharia de São Carlos, da
Universidade de São Paulo

Curso de Engenharia Elétrica com ênfase
em Eletrônica

ORIENTADOR: Prof. Dr. Luiz Antônio de Oliveira Nunes

São Carlos
2013

AUTORIZO A REPRODUÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO,
POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS
DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

048p Oliveira, Fernando Arruda Mendes de
Projeto de um sistema para aquisição de dados e
controle de um fluorímetro Spex Fluorolog com
microcontrolador PIC e suporte a USB / Fernando Arruda
Mendes de Oliveira; orientador Luiz Antônio de
Oliveira Nunes. São Carlos, 2013.

Monografia (Graduação em Engenharia Elétrica com
ênfase em Eletrônica) -- Escola de Engenharia de São
Carlos da Universidade de São Paulo, 2013.

1. microcontrolador. 2. fluorímetro. 3.
espectroscopia. 4. eletrônica. I. Título.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome: Fernando Arruda Mendes de Oliveira

Título: "Projeto de um sistema para aquisição de dados e controle de um fluorímetro Spex Fluorolog com microcontrolador PIC e suporte a USB"

Trabalho de Conclusão de Curso defendido e aprovado

em 29/11/2013,

com NOTA 10,0 (Dez, Zero), pela Comissão Julgadora:

Prof. Dr. Luiz Antônio de Oliveira Nunes - (Orientador -FFI/IFSC/USP)

Prof. Associado Evandro Luís Linhari Rodrigues - (SEL/EESC/USP)

Profa. Associada Liliane Ventura Schiabel - (SEL/EESC/USP)

Coordenador da CoC-Engenharia Elétrica - EESC/USP:
Prof. Associado Homero Schiabel

Aos meus pais, pelo apoio incondicional em toda minha trajetória.

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Luiz Antônio de Oliveira Nunes, pela orientação, conselhos e por dividir comigo sua paixão pela prática da ciência que, desde a Escola Avançada de Física de 2006, inspirou meus hobbies e posteriormente minha formação.

Aos professores da Escola de Engenharia de São Carlos pelos conhecimentos adquiridos, em especial ao também mineiro Prof. Adilson Gonzaga pela convivência, conselhos e conversas.

Aos familiares pelo apoio moral e financeiro, tornando possíveis meus estudos e, principalmente, por respeitarem minhas vontades e decisões acadêmicas, mesmo que tardias.

À minha companheira Thaísa, pelo amor, amizade, paciência, compreensão, dedicação, apoio, todos os momentos felizes que fazem parte da nossa história e por abrandar minhas saudades em todos esses anos longe de casa.

Aos amigos Aliel Kauchakje, André Oliveira, César Coelho, Dhiogo Corrêa, Diego Marques, Maurício Makoto, Petrônio Crisóstomo e Vitor Costa, pela companhia em São Carlos e pelas noites mal dormidas.

Sumário

Lista de Figuras

Resumo

Abstract

1	Considerações gerais	p. 19
1.1	Motivação e objetivos	p. 19
1.2	Origem histórica	p. 19
2	A espectroscopia	p. 23
2.1	Espectros de absorção	p. 23
2.2	Espectros de luminescência	p. 25
3	Fluorímetro Horiba Fluorolog	p. 29
3.1	Descrição física	p. 29
3.2	Óptica do fluorímetro	p. 31
3.2.1	Lâmpada	p. 31
3.2.2	Monocromador	p. 32
3.2.3	Compartimento de amostra	p. 32
3.2.4	Detector	p. 33
4	Técnicas de detecção	p. 37
4.1	Detecção Síncrona (Lock-in)	p. 37
4.2	Detecção Boxcar	p. 40
4.3	Contador de fótons	p. 42
4.4	Comparação	p. 44

5	Eletrônica desenvolvida	p. 47
5.1	Amplificador rápido	p. 47
5.2	Placa de comunicação e controle	p. 53
6	Softwares desenvolvidos	p. 57
6.1	Software embarcado	p. 58
6.2	Software (PC)	p. 60
7	Resultados e medidas	p. 69
8	Conclusão	p. 75
	Referências Bibliográficas	p. 77
	Apêndice A – Protocolo de comunicação	p. 81

Lista de Figuras

1.1	(a) Ilustração de solução de <i>Lignum nephriticum</i> ; (b) Solução alcalina de Coatline B	p. 22
2.1	Esquema do espectrofotômetro LAMBDA 900 UV/VIS/NIR	p. 25
2.2	Esquema de um fluorímetro convencional	p. 27
2.3	(a) Cédula de 100 €, (b) mesma cédula excitada em 245nm	p. 27
3.1	Fluorímetro Horiba Spex Fluorolog	p. 29
3.2	Esquema da disposição física e conexões do fluorímetro Spex Fluorolog . . .	p. 30
3.3	(a) Lâmpada de arco de xenônio; (b) Espectro de diferentes tipos de lâmpada	p. 31
3.4	Esquema de funcionamento de um monocromador	p. 32
3.5	Estrutura interna do compartimento de amostras	p. 33
3.6	(a) Tubo fotomultiplicador R928; (b) Representação esquemática do R928; (c) Resposta espectral do tubo fotomultiplicador R928	p. 34
3.7	(a) Sensor de InGaAs; (b) Resposta espectral de sensores de estado sólido (Si, Ge, InGaAs)	p. 35
4.1	Chopper e controlador Stanford	p. 37
4.2	Diagrama de funcionamento do amplificador síncrono	p. 38
4.3	Diagrama funcional do circuito integrado AD630	p. 39
4.4	Amplificador <i>lock-in</i> Stanford SR830	p. 40
4.5	Circuito integrador <i>boxcar</i>	p. 41
4.6	Diagrama funcional do circuito integrado ACF2101	p. 41
4.7	Sistema <i>boxcar</i> Stanford série SR200	p. 42
4.8	Diagrama de funcionamento de um contador de fótons	p. 43
4.9	Amplificador de 350MHz modelo SR445A (acima) e contador digital comercial de dois canais SR400 (abaixo) da Stanford Research Systems	p. 43
4.10	Comparação entre os métodos relacionados	p. 45
5.1	Esquema elétrico do amplificador rápido construído	p. 48

5.2	Placa de circuito impresso do amplificador rápido	p. 51
5.3	Montagem final do amplificador	p. 52
5.4	Esquema elétrico da placa de comunicação e controle	p. 53
5.5	Placa de circuito impresso do módulo de comunicação e controle	p. 55
5.6	Montagem final da placa de comunicação e controle	p. 55
6.1	Tela inicial (status do dispositivo)	p. 61
6.2	Aba de configurações	p. 62
6.3	Aba de posicionamento	p. 63
6.4	Aba de espectro de emissão	p. 64
6.5	Aba de espectro de excitação	p. 65
6.6	Aba de espectro de emissão no tempo	p. 66
6.7	Suavização da curva utilizando spline amortecida	p. 67
7.1	Diagrama de níveis de energia do Eu^{3+}	p. 69
7.2	(a) Espectro de luminescência de amostra de TTA:Eu	p. 70
7.3	Espectro de luminescência do TTA:Eu com: (a) 100% de excitação e 100ms de gate; (b) 1% de excitação e 100ms de gate; (c) 1s de gate; (d) 10s de gate	p. 72
7.4	Espectro de excitação do TTA:Eu	p. 72
7.5	Espectro Raman (a) com excitação de lâmpada de xenônio e (b) com excitação de laser em 405nm	p. 73
A.1	Estrutura do pacote de dados enviado ao microcontrolador	p. 81

Resumo

A evolução da tecnologia transforma instrumentos de medida valiosos em sucata, quando não mais se consegue integrá-los aos computadores modernos. Porém, com alguns circuitos eletrônicos e *softwares* desenvolvidos, esses equipamentos ganham valor agregado semelhante a equipamentos novos. Esse trabalho tem por objetivo mostrar a integração de circuitos eletrônicos e *softwares* modernos com um fluorímetro obsoleto para torná-lo equiparável a um equipamento comercial atual. Utilizando topologias de circuitos elétricos e métodos conhecidos, integrado ao desenvolvimento de um *software* amigável, pôde-se construir uma plataforma geral, adaptável a diversos equipamentos e podendo, inclusive, ser empregado no desenvolvimento de novos equipamentos. Construiu-se para tanto um módulo de amplificador rápido para o sinal de um tubo fotomultiplicador e um módulo de aquisição de dados e controle para a operação do fluorímetro. Como resultado, foram feitas medidas experimentais precisas e de alta sensibilidade comparáveis às obtidas em equipamentos comerciais modernos, até mesmo fornecendo dados para diversos artigos publicados em revistas internacionais de física aplicada e espectroscopia.

Palavras-chave: microcontrolador, fluorímetro, espectroscopia, eletrônica.

Abstract

The technology evolution turns valuable measuring instruments in scrap, when you can no more integrate them with modern computers. However, with some circuits and developed softwares, these devices gain value suchlike new equipments. This work aims to show the integration of electrical circuitry and modern software with an obsolete fluorometer, making it comparable to a current commercial equipment. Using known electrical circuit topologies and methods, along the development of an user friendly software, we could build a general platform, adaptable to various equipment and may even be employed in the development of new equipment. For this purpose, we constructed a fast amplifier module to the signal generated in a photomultiplier tube and a data acquisition and control module for the fluorometer operation. As a result, accurate and high sensitivity experimental measurements were made similarly to those found in modern commercial equipment, even providing data for several articles published in international journals of applied physics and spectroscopy.

Keywords: microcontroller, fluorometer, spectroscopy, electronic.

1 Considerações gerais

1.1 Motivação e objetivos

O estudo da interação da radiação com a matéria é uma das formas mais eficazes de se obter informações sobre propriedades microscópicas de sólidos, líquidos e gases. Atualmente, as técnicas espectroscópicas, que são baseadas no estudo da radiação com a matéria, são usadas em diversas aplicações científicas e tecnológicas. Portanto, o entendimento dos conceitos fundamentais envolvidos nos diferentes métodos espectroscópicos é parte fundamental dos currículos de todos os cursos de graduação em Química, Física e em algumas modalidades de Engenharia [1].

O avanço da eletrônica e computação torna equipamentos de laboratório obsoletos a cada dia. Porém, alguns componentes empregados na construção desses equipamentos não foram ainda ultrapassado como, por exemplo, as partes ópticas e mecânicas de um fluorímetro.

Valendo-se desse fato, esse trabalho se propõe a agregar os conhecimentos adquiridos no curso de engenharia elétrica a um equipamento de laboratório obsoleto para, ao fim, obter espectros de fluorescência comparáveis aos fluorímetros atualmente no mercado.

1.2 Origem histórica

A humanidade tem contato com a decomposição da luz desde os primórdios (observação do arco-íris, por exemplo). O físico inglês Isaac Newton em 1665 utilizou prismas de vidro para demonstrar, em seu laboratório que a luz solar podia ser decompostas em um espectro de cores. Em linguagem atual, os experimentos de Newton mostraram que a luz branca é constituída por uma distribuição contínua de radiação eletromagnética, e que suas componentes (diferentes cores) podem ser separadas através do fenômeno de refração [1].

O uso do prisma pelo inglês William Hyde Wollaston permitiu a descoberta de linhas escuras no espectro solar em 1802. Cerca de 20 anos mais tarde, o físico alemão Joseph von Fraunhofer "redescobriu" tais linhas escuras enquanto verificava a qualidade dos componentes ópticos que produzia em sua oficina. Fraunhofer utilizou tais linhas escuras como referência de comprimento de onda para a determinação precisa de índices de refração dos vidros que

utilizava na construção de prismas e lentes [1]. Fraunhofer também percebeu que o uso do fenômeno de difração podia produzir espectros de forma mais eficiente, criando assim a grade de difração (constituído por fios metálicos finos alinhados paralelamente e igualmente espaçados). Ele fora capaz de identificar 574 linhas escuras no espectro solar e, mais tarde, observou que a queima de algumas substâncias apresentavam um espectro de emissão com raias discretas características de cada elemento. [1]

Estudando o espectro de emissão solar, em 1868 o astrônomo Joseph Norman Lockyer observou algumas raias que seriam correspondentes a um elemento desconhecido na época, ao qual denominou hélio. Quase 30 anos depois, em 1890, o hélio foi detectado na Terra pelo químico escocês William Ramsay. Para se explicar esses fenômenos de emissão e absorção de luz, os modelos atômicos sofreram muitas transformações.

No ano de 1859, os químicos Robert Wilhelm Bunsen e Henry Enfield Roscoe desenvolveram um queimador a gás onde era possível observar o espectro de absorção ou emissão de uma substância quase sem influência do padrão de emissão proveniente da chama. Mais tarde, trabalhando em conjunto, Bunsen e o físico Gustav Kirchhoff desenvolveram um espectroscópio e o utilizaram para estudar o espectro de emissão de diversos sais, observando que algumas linhas de emissão coincidiam com linhas escuras que apareciam no espectro da luz do Sol. A partir dessa observação, Bunsen e Kirchhoff realizaram experimentos onde um feixe de luz branca atravessava o gás resultante da queima do sódio e observaram a presença de linhas escuras com os mesmos comprimentos de onda das linhas de emissão. Concluíram, então, que o sódio gasoso emite e absorve luz de mesma energia e que as linhas escuras observadas no espectro solar eram provenientes da absorção pelos diversos gases contidos na atmosfera terrestre e solar. Bunsen e Kirchhoff passaram a utilizar o espectroscópio para identificar elementos químicos e descobriram os elementos céσιο e rubídio [1]. Nessa época, poucos elementos químicos eram conhecidos. O estudo da espectroscopia de emissão possibilitou a descoberta de dezenas de novos elementos. Contudo, ainda se desconhecia a origem desse fenômeno. A busca pela explicação levou à criação de uma “nova física”: a mecânica quântica.

Apesar dos estudos científicos no tema só terem se aprofundado com a evolução dos instrumentos ópticos ao longo dos séculos, existem registros de que se observava fenômenos espontâneos de fluorescência desde o período das grandes navegações, quando os europeus tiveram contato com plantas medicinais exóticas trazidas das Américas. O físico e botânico espanhol Nicolás Monardes em sua obra “*La historia medicinal de las cosas que se traen de nuestras Indias Occidentales*” datada de 1565, descreve que a infusão de uma lasca de madeira retirada de uma pequena árvore nativa do México tornaria a água opaca com uma coloração peculiarmente azulada [2]. Na mesma época, o missionário franciscano Bernardino de Sahagún, em sua obra “*Florentine Codex*” descreve a mesma madeira chamada de “*coatli*” pelos astecas como um medicamento que torna a água azul e seu suco seria utilizado para tratar doenças do rim [3].

Uma tradução posterior da obra de Monardes pelo botânico flamengo Charles de L’Écluse em 1575, onde essa espécie fora denominada *Lignum nephriticum* (madeira do rim) (LN), aju-

dou a difundir a existência dessa planta pela Europa que se tornou muito popular entre os séculos XVI e XVII, devido às suas propriedades medicinais. Posteriormente, em 1646 o padre jesuíta alemão Athanasius Kircher escreve um livro onde observa que a luz que atravessa uma solução de LN tem coloração amarela, enquanto a luz refletida tem coloração azul. Essa espécie permaneceu esquecida até o princípio do século XX, quando foi catalogada como *Eysenhardtia polystachya* (EP).

Até que se fizessem estudos científicos mais profundos desse fenômeno, houveram várias tentativas de explicá-lo. Galileo Galilei (1612) tentou explicar a emissão do chamado “*lapis solaris*” (sulfato de bário) quando aquecido, como se a luz fosse “concebida dentro da pedra e saísse depois de algum tempo, como em um parto”. Em 1833, David Brewster observou que uma luz branca atravessando uma solução de folhas em álcool emitiria uma luz avermelhada quando visto lateralmente. Ele atribuiu equivocadamente esse fato à dispersão de luz na amostra.

As observações com método científico, entretando, começaram em 1842. Edmond Becquerel descreve a emissão de luz de sulfato de cálcio quando excitado na região do ultravioleta. Ele notou ainda que a emissão gerada nesse processo ocorria em um comprimento de onda distante da excitação. Esse fato o levou a criar, em 1858 o primeiro fosforoscópio, permitindo-lhe medir o tempo de decaimento de fosforescência.

Outra espécie das Américas que ajudou no estudo da fluorescência foi a *cinchona*, planta da qual se extrai a quinina. John Herschel, em 1845, observou pela primeira vez a fluorescência em sulfato de quinina [4]. A descoberta da fluorescência nesse composto gerou um grande avanço na área. Logo após, em 1852, George Gabriel Stokes publicou um extenso tratado onde estudava o que chamou de “reflexão dispersiva” em sulfato de quinina [5]. Em seu trabalho, Stokes comenta que esse termo não o agradava e se diz propenso a cunhar um novo nome, *fluorescence*.

Em seus experimentos, Stokes utilizou um prisma para separar o espectro da luz solar e iluminou sua solução de quinina com diversas cores do espectro obtido. Ele pôde perceber que a excitação em todo o espectro visível não gerava fluorescência aparente, até que posicionou a amostra de quinina na região do ultravioleta e ficou surpreso com o surgimento instantâneo de luminosidade expondo a amostra a raios invisíveis. Em tradução livre: “Era certamente um sinal curioso ver o tubo iluminado instantaneamente quando mergulhado em raios invisíveis: era literalmente escuridão visível. De modo geral, o fenômeno tinha algo que aparenta não ser deste mundo.”, certamente por observar algo incomum no cotidiano [5].

Até a época, só se obtinha a quinina através da extração vegetal. Na tentativa de sintetizar quinina artificialmente, o químico William Henry Perkin em 1856 quando aos 18 anos, acidentalmente produziu um corante orgânico cor de malva, derivado de alcatrão com base de anilina. Perkin ficou conhecido como pioneiro da indústria química. Mais tarde, em 1871, Adolph Von Baeyer sintetizou o composto conhecido como fluoresceína e foi contemplado com o Prêmio

Nobel de Química em reconhecimento aos avanços proporcionados à indústria química através de seus trabalhos com corantes orgânicos e compostos hidroaromáticos.

Com o avanço dos equipamentos de espectroscopia óptica e outras técnicas recentes, vários compostos da *Eysenhardtia polystachya* de Monardes foram enfim isolados e estudados, incluindo o chamado *Coatline B*, com pico de emissão no azul (466nm) responsável pela coloração da misteriosa infusão da planta [6]. A figura 1.1 mostra uma ilustração de uma infusão amarelada exibindo a coloração azul (a) e também uma solução aquosa em meio alcalino de Coatline B isolado (b). Acredita-se que essa foi a primeira observação do fenômeno de fluorescência relatado e desencadeou um enorme desenvolvimento científico.

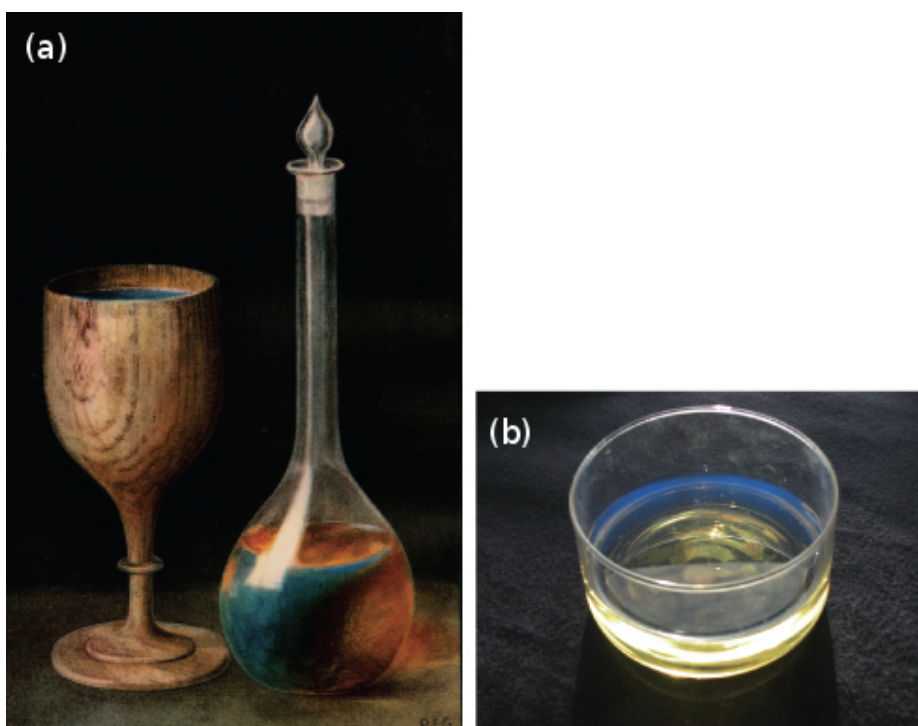


Figura 1.1: (a) Ilustração de solução de *Lignum nephriticum*; (b) Solução alcalina de Coatline B

2 *A espectroscopia*

A espectroscopia é o estudo da interação entre matéria e energia dela irradiada. A espectroscopia óptica utiliza como objeto de estudo dois tipos de espectros: espectros de absorção e de emissão. Quando a luz atravessa uma determinada amostra, comprimentos de onda dessa luz serão absorvidos e o espectro da luz resultante carregará consigo informações sobre a amostra gerando os espectros de absorção ou, depois de absorver essa radiação incidente, emitirá uma luz própria, cujo espectros de emissão também carrega informações sobre a amostra.

2.1 Espectros de absorção

A espectroscopia de absorção está baseada na medida da transmitância de um feixe luminoso por uma solução contendo um soluto absorvente (também chamado analito), ou seja, uma medida de quanto um analito absorve luz um determinado comprimento de onda.[7]

A transmitância (T) é a razão da potência luminosa que atravessa uma amostra (P), sobre a potência luminosa incidente (P_0), ou seja, representa a parcela da luz incidente que atravessa a amostra. Por sua vez, a absorbância (A) diz respeito à medida logarítmica de quanta luz a amostra absorveu, matematicamente representada por $A = \log T^{-1}$. Consideremos um recipiente com caminho óptico b de comprimento e um analito com concentração c . A lei de Beer estabelece uma relação entre essas grandezas e pode ser representada pela equação 2.1.

$$A = -\log T = \log \frac{P_0}{P} = \epsilon bc \quad (2.1)$$

O termo ϵ , chamado absortividade molar, é uma propriedade do material que, dentre outros fatores, assume valores diferentes para diferentes comprimentos de onda da luz incidente. Esse padrão espectral de absorção é característico do elemento químico absorvente, é análogo a uma “assinatura” do elemento, sua “impressão digital”. Portanto, a equação de Beer mostra a ligação que existe entre a absorção de potência luminosa em uma amostra, em função da concentração do soluto, caminho óptico e comprimento de onda da luz incidente. Baseado nessa afirmação, a espectroscopia de absorção estuda os diferentes comprimentos de onda absorvidos por uma amostra, podendo, a partir dessas informações, determinar a composição química da amostra e também a concentração de cada elemento que a compõe.[7]

Existem, contudo, limitações práticas para o uso da lei de Beer. Poucas exceções são encontradas contradizendo a linearidade da absorvância em função do caminho óptico. Porém, quando se trata da proporcionalidade da absorvância com a concentração para um caminho óptico constante, dois tipos de desvio podem ocorrer. O primeiro, conhecido como desvio instrumental, é consequência da maneira como se mede a absorvância, já o segundo, conhecido como desvio químico, é consequência de interações químicas na amostra decorrentes da alteração da sua concentração.

Os desvios instrumentais estão relacionados principalmente com radiações policromáticas. O fato de ϵ depender do comprimento de onda, leva a uma não linearidade da absorvância para diferentes concentrações quando a amostra é exposta a uma fonte de luz não monocromática. A obediência estrita à lei de Beer é observada apenas com radiação verdadeiramente monocromática. [7].

Quanto aos desvios químicos, um caso ocorre quando a concentração do analito é muito elevada. Esse desvio é decorrente do fato de que, quando a concentração está muito elevada, a distância média entre as moléculas é reduzida, fazendo com que uma molécula interfira na distribuição de cargas da outra, podendo alterar a capacidade de absorver um determinado comprimento de onda. Noutro caso, mesmo em baixas concentrações, a dissociação, associação ou reação do analito com o solvente pode gerar produtos com espectros de absorção diferentes.[7]

Os espectros de absorção óptica podem ser obtidos em diferentes faixas de comprimento de onda, seja na região de ultravioleta, visível ou infravermelho e são gerados em um equipamento chamado espectrofotômetro de absorção. A figura 2.1 mostra a montagem óptica do espectrofotômetro comercial LAMBDA 900 UV/VIS/NIR da fabricante Perkin Elmer. Esse espectrofotômetro opera nas regiões de ultravioleta (UV), visível (VIS) e infravermelho próximo (NIR) e, para tanto, é equipado com duas lâmpadas e dois sensores diferentes. As lâmpadas são de halogênio (L_1) que emite luz na região VIS-IV (350 a 3000nm) e a outra de deutério (L_2) que emite na região do UV(<300nm). Os dois sensores são um tubo fotomultiplicador (PM) sensível à radiação UV e VIS (315 a 800nm) e um sensor de estado sólido de sulfeto de chumbo (PbS) sensível na região do infravermelho (800 a 3000nm). A luz emitida pelas lâmpadas incide no espelho E_1 que seleciona qual lâmpada será utilizada. Em seguida, o feixe de luz percorre os espelhos E_2 e E_3 e passa por um conjunto de filtros (FW), é refletido pelo espelho E_4 , atravessa uma fenda (F), reflete em E_5 e segue para o monocromador M1. O monocromador difrata a luz incidente que retorna para o espelho E_5 , passa novamente por uma fenda que limita a largura do espectro do feixe e repete o procedimento anterior para o monocromador M2, reduzindo mais a largura do espectro, ou seja, tornando a luz mais monocromática. Depois de refletir nos espelhos E_7 e E_8 , atinge um *chopper* C que contém um espelho girante, ora deixando passar o feixe em direção a E_9 e E_{10} , ora refletindo no espelho em direção a E'_{10} . O feixe nesse ponto se divide em dois feixes intermitentes que seguem para o compartimento de amostra. Um dos feixes atravessa a amostra A, o outro a referência R e seguem ambos até o espelho E_{14} que direciona os feixes para o sensor que será utilizado (PbS ou PM). Sabendo a posição do *chopper*,

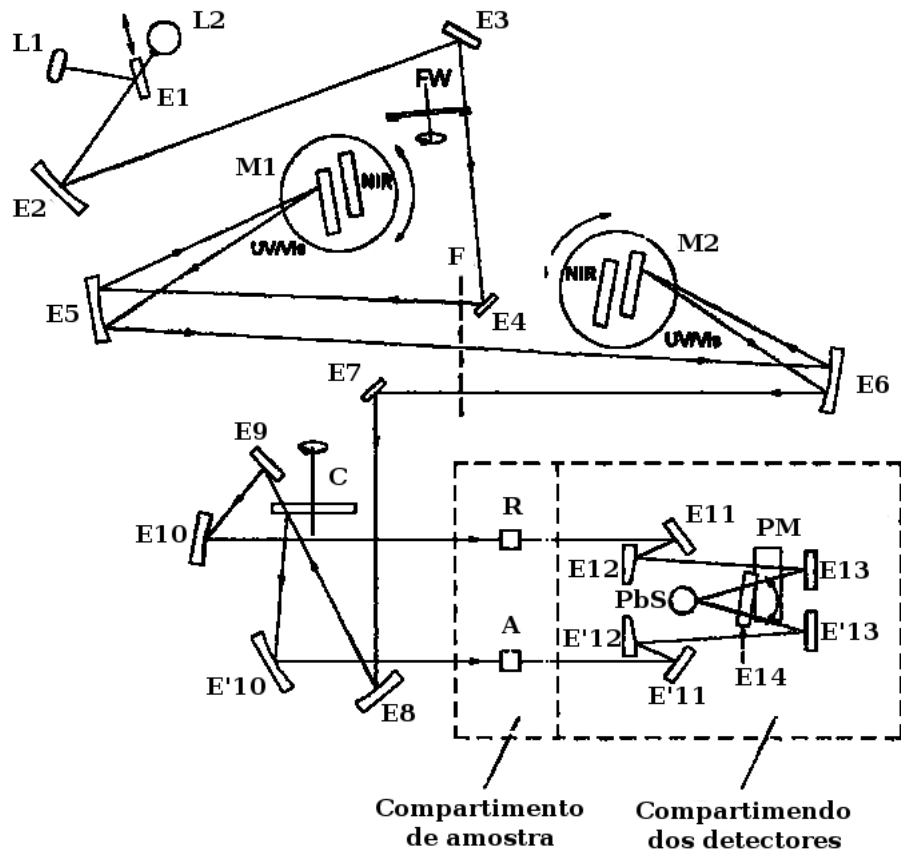


Figura 2.1: Esquema do espectrofotômetro LAMBDA 900 UV/VIS/NIR

pode-se utilizar um único sensor para medir a amostra e a referência.

Em operação, os monocromadores são ajustados para selecionar determinados comprimentos de onda, fazendo uma varredura na região desejada do espectro, obtendo ponto a ponto a potência luminosa na amostra P e na referência P_0 e, à partir da lei de Beer, calcular o log dessa relação (absorbância) em cada ponto da varredura, construindo o espectro de absorção. Mais detalhes sobre os componentes integrantes do espectrofotômetro são descritos no seu manual de funcionamento [8].

2.2 Espectros de luminescência

Uma outra técnica para se obter as informações dos níveis energéticos de um sistema atômico é capturar um espectro de luminescência. A fotoluminescência ocorre quando o sistema atômico absorve energia de um feixe incidente, transitando do estado fundamental para outro de maior energia, posteriormente fazendo uma transição para um estado de menor energia e, decorrente desse processo, ocorre a liberação na forma de luz dessa energia absorvida. A análise dessa luz emitida contém informações sobre os níveis de energia envolvidos nessa transição, os quais, por sua vez, são característicos de cada elemento, tornando seu espectro de emissão uma identidade única. As técnicas de luminescência têm uma sensibilidade até mil vezes maior que

a absorção, sendo assim, consegue-se identificar com essa técnica concentrações baixíssimas de dopantes em uma amostra (concentrações da ordem de parte por bilhão) [7].

O termo luminescência abrange três fenômenos de emissão luminosa: fluorescência, fosforescência e quimiluminescência. Os dois primeiros são similares quanto à excitação da amostra que é feita pela absorção de fótons e por isso são classificados como fotoluminescências. Já a quimiluminescência ocorre quando uma reação química gera emissão de luz em uma amostra (luz de um vagalume). A diferença fundamental entre fluorescência e fosforescência está na natureza da transição eletrônica no estado excitado, fazendo com que no primeiro caso, a amostra emita luz por um tempo curto, da ordem de microssegundos e, na fosforescência, o tempo de vida da emissão pode durar horas. O espectro de emissão luminosa das amostras pode, assim como o espectro de absorção, determinar a composição química da amostra, bem como sua concentração.[7]

Dentre os fatores que afetam a fotoluminescência estão a estrutura química (moléculas orgânicas), efeitos do solvente, concentração da solução, temperatura e rendimento quântico ou eficiência quântica, que é a razão do número de moléculas que luminescem pelo número total de moléculas excitadas.

Para medir a luminescência, faz-se uso de um equipamento chamado fluorímetro. A figura 2.2 mostra o esquema simplificado de um fluorímetro convencional. Basicamente, um fluorímetro necessita de uma fonte de luz (Lâmpada), um monocromador de excitação, uma câmara para a amostra, um monocromador de detecção e um detector. A lâmpada fornece ao primeiro monocromador um feixe de luz com um espectro amplo. Esse feixe entra no monocromador através de uma fenda, incide em uma grade de difração, atravessa outra fenda (o que torna esse feixe monocromático) e segue para a amostra. Quando esse feixe incide na amostra, ocorre uma absorção dessa luz (excitação da amostra) seguida de uma emissão. A luz emitida pela amostra entra no monocromador de detecção através de uma fenda, sofre difração em uma grade, passa por outra fenda e vai para um detector de luz.

Para que se obtenha um espectro de luminescência, é preciso fazer uma varredura utilizando o monocromador de detecção, manipulando a orientação da grade de difração para trocar o comprimento de onda incidente no sensor (monocromador de detecção).

Uma quantidade expressiva de elementos das chamadas terras-raras exibem fotoluminescência. As terras-raras compreendem todos os elementos das séries dos lantanídeos e actinídeos e também os elementos escândio e ítrio [9]. Alguns compostos orgânicos também exibem esse fenômeno e são, em sua maioria, moléculas contendo anéis aromáticos [7]. Existem inúmeras aplicações que utilizam a medida espectral de luminescência. Grande parte delas utilizam íons de terras-raras (TRs) por apresentarem, dentre outras qualidades, um alto rendimento quântico e finas linhas de emissão. Os TRs interagem com materiais biológicos substituindo íons como Ca, Zn, Fe (II) e Fe (III)[10]. Por essa razão, são utilizados como marcadores em sondas espectroscópicas para sistemas biológicos e, dentre os TRs, os íons Eu^{3+} , Tb^{3+} e Nd^{3+} são os mais

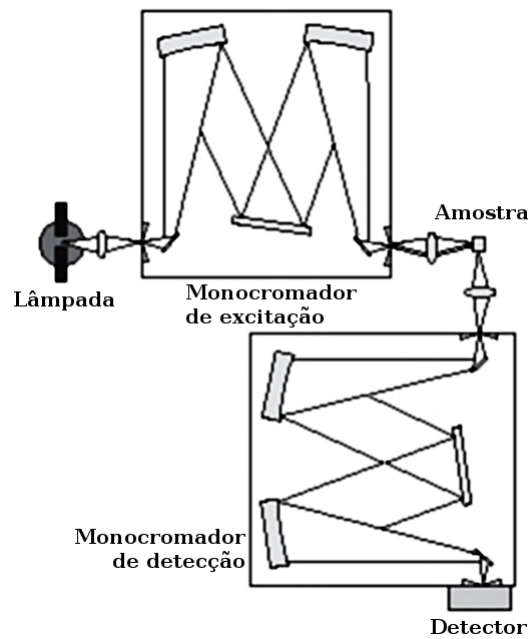


Figura 2.2: Esquema de um fluorímetro convencional



Figura 2.3: (a) Cédula de 100€, (b) mesma cédula excitada em 245nm

utilizados. Este método baseado no uso de marcadores luminescentes é chamado de fluoroimunoensaio e é utilizado na investigação de enzimas, anticorpos, hormônios, entre outros.[10]

Outro uso de luminescência de TRs é produzir marcadores para sistemas de segurança. Utilizou-se uma dopagem de európio para fazer marcações nas cédulas de Euro, como mostrado na figura 2.3. A cédula contém pigmentos com Eu^{3+} e Eu^{2+} e, quando iluminada com luz ultravioleta, é possível observar luminescência no vermelho, verde e azul.[10]

Os íons de TRs também são largamente utilizadas nas indústrias em diversas formas, seja em tubos de televisão, fibras ópticas, lâmpadas fluorescentes, LEDs, tintas, vernizes, marcadores ópticos luminescentes, telas de computadores, detecção de radiação (raios-g e elétrons), etc. [11] Em sua grande parte, são componentes dos chamados “fósforos”, compostos químicos como os presentes nas lâmpadas fluorescentes, que absorvem a irradiação ultravioleta gerada em uma descarga elétrica num gás de vapor de mercúrio, e emite um espectro complexo devido à fluorescência do chamado “fósforo”.

3 *Fluorímetro Horiba Fluorolog*

De acordo com o que fora dito no capítulo 2, o equipamento capaz de obter espectros de fluorescência é chamado fluorímetro. Nesse trabalho desenvolveu-se diversas ferramentas físicas e de software permitindo operar um fluorímetro Horiba modelo Spex Fluorolog (figura 3.1).

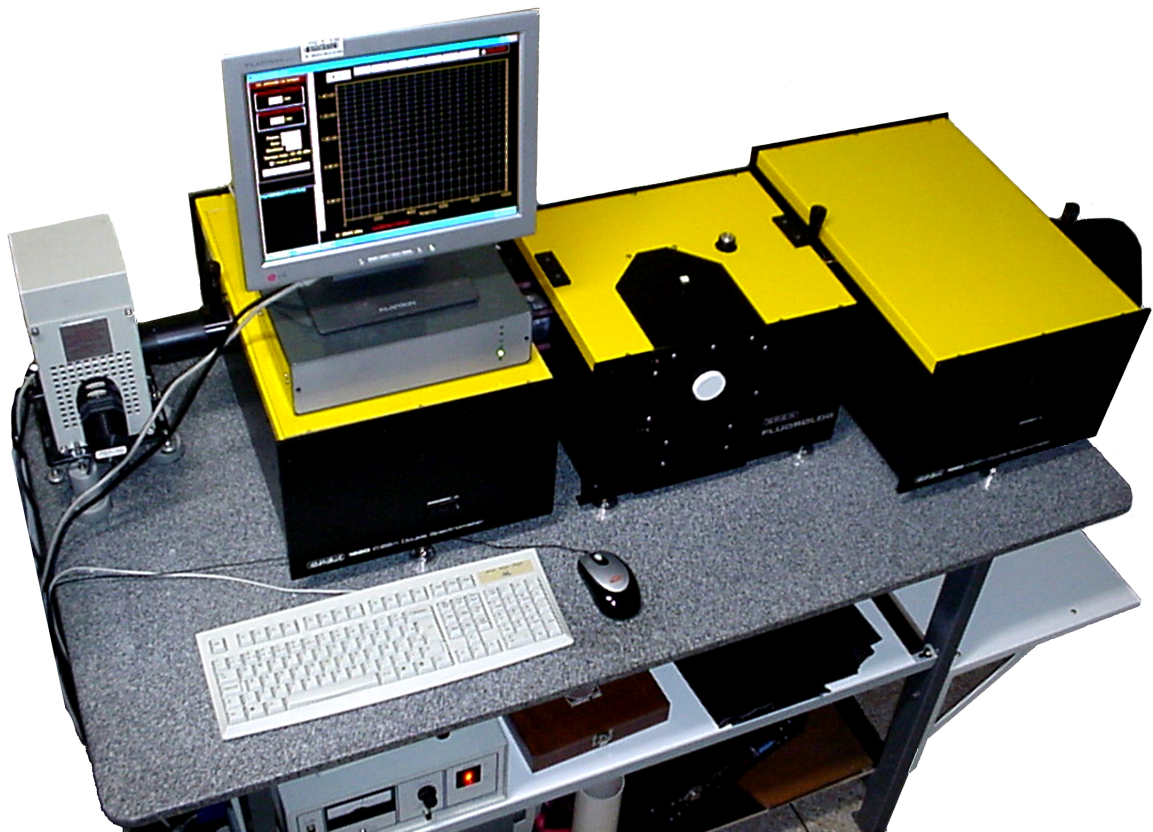


Figura 3.1: Fluorímetro Horiba Spex Fluorolog

Os próximos itens descrevem as características físicas do equipamento e seus principais componentes.

3.1 **Descrição física**

A figura 3.2 ilustra um esquema de disposição física e principais ligações elétricas. O modelo Spex Fluorolog é mais sofisticado que o mostrado anteriormente (capítulo 2, figura

2.2). Os monocromadores são duplos (têm duas grades de difração), o que torna a luz que os atravessa mais monocromática sem a perda de potência luminosa. A figura 3.2 mostra a parte óptica e também eletrônica.

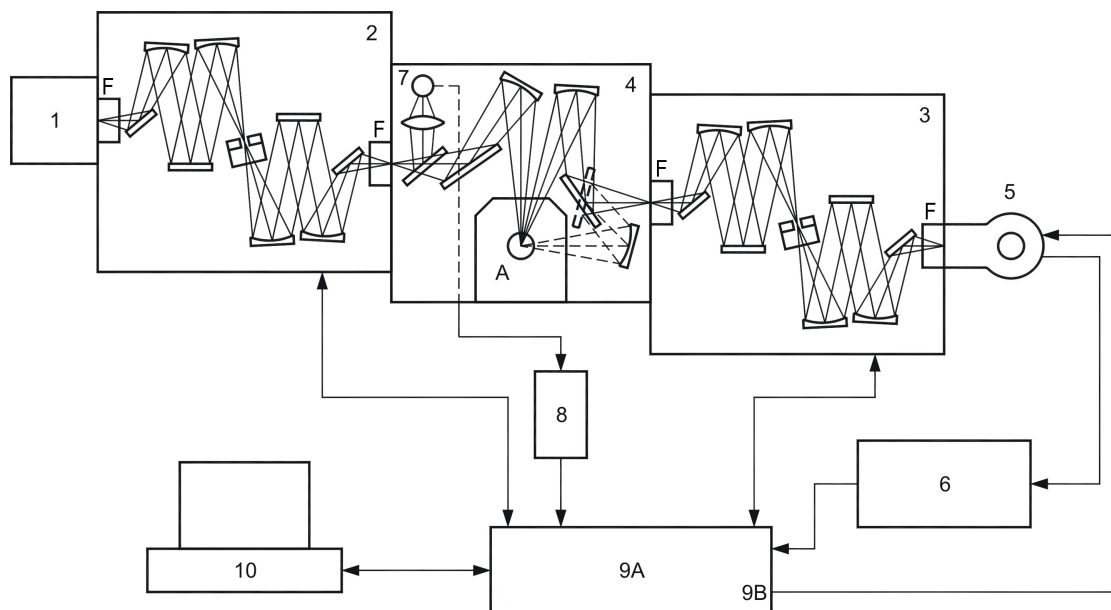


Figura 3.2: Esquema da disposição física e conexões do fluorímetro Spex Fluorolog

Cada componente desse esquema será melhor abordado futuramente. Em linhas gerais, o bloco (1) é a fonte de luz (lâmpada de xenônio), o bloco (2) é um monocromador duplo de excitação que fornece luz monocromática para o compartimento de amostras (4). Dentro desse compartimento, há um sensor de referência (7) que é irradiado por uma pequena parcela da luz refletida em um espelho semi-refletor. Após o compartimento (4), a luz emitida pela amostra (A) segue para o monocromador de detecção (3) idêntico ao primeiro, que entrega luz monocromática para o sensor (5). Integrando todos os elementos do fluorímetro estão as partes eletrônicas. O sensor esquematizado é o tubo fotomultiplicador que, para seu funcionamento, necessita de um amplificador rápido (6) e uma fonte de alta tensão (9B). A fonte de alta tensão está em uma caixa separada que, além dela, contém a placa de comunicação e controle (9A). Essa placa, por sua vez, é incumbida da leitura do sinal proveniente do amplificador (6) e do conversor tensão-frequência (8) que faz leitura de um sensor de referência (7). Além das leituras de sinal, essa placa também controla a posição dos monocromadores (2 e 3) e lê os seus sensores de fim de curso, além de comunicar-se com um computador (10) através de uma porta USB.

Nesse trabalho foram projetados os circuitos (além de confeccionadas as placas) do amplificador rápido (6) e de comunicação e controle (9A) e serão tratadas no capítulo 5. O funcionamento da comunicação e do controle dependem de softwares que foram elaborados e serão tratados no capítulo 6. As partes ópticas serão agora melhor descritas.

3.2 Óptica do fluorímetro

3.2.1 Lâmpada

A fonte de luz do fluorímetro (1) é uma lâmpada de xenônio operando em 150W. As lâmpadas de xenônio ou lâmpada de arco de xenônio, produzem radiação pela passagem de corrente elétrica em uma atmosfera de gás xenônio (Xe, número atômico $Z=54$) [7]. A figura 3.3 (a) mostra uma lâmpada de xenônio, semelhante à utilizada no fluorímetro. Pode-se ver na figura os eletrodos responsáveis pela descarga elétrica dentro do bulbo de gás. Essas lâmpadas são de alta pressão, o que gera um espectro quase contínuo de emissão.

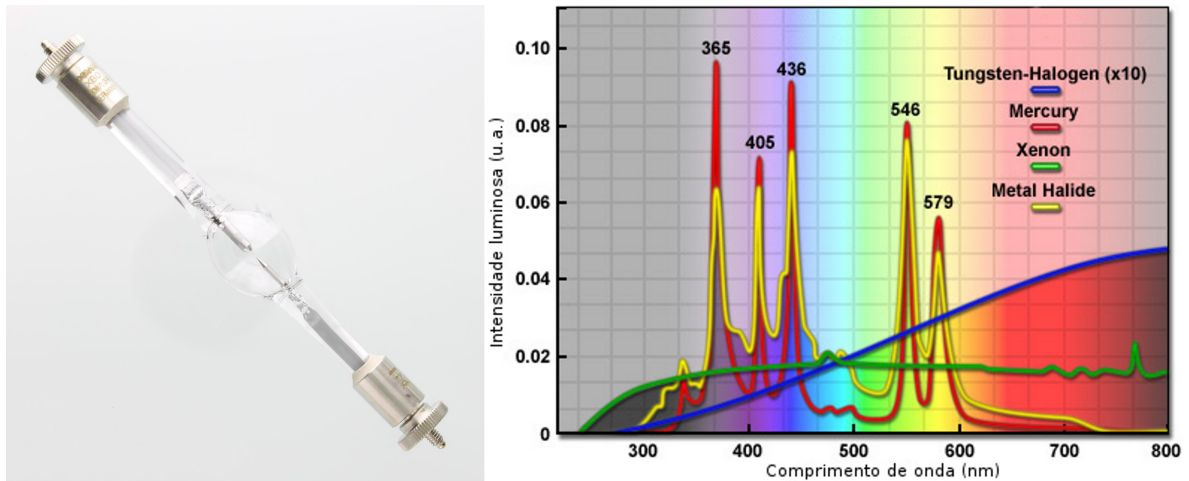


Figura 3.3: (a) Lâmpada de arco de xenônio; (b) Espectro de diferentes tipos de lâmpada

As lâmpadas de gás possuem alto rendimento, convertendo grande parte da potência elétrica em luminosa. Juntamente do bulbo é construído um conjunto óptico de modo a maximizar o aproveitamento da luz emitida, fazendo com que uma parcela muito alta da luz emitida seja focada na fenda de entrada do monocromador de excitação.

Essas lâmpadas possuem um espectro contínuo entre aproximadamente 200 e 1000nm, ou seja, abrange toda a região visível e parte da região ultravioleta [7]. A figura 3.3 (b) mostra comparativamente o espectro de alguns tipos de lâmpadas (tungstênio, mercúrio, xenônio e iodeto metálico).

Percebe-se pela figura que a lâmpada de xenônio tem o espectro praticamente contínuo. A lâmpada de tungstênio tem um rendimento muito baixo (gráfico tem fator de 10 vezes), praticamente não emitindo luz na região ultravioleta. Por outro lado, as lâmpadas de mercúrio e iodeto metálico possuem uma alta potência luminosa no ultravioleta, porém, a existência de intensos picos de emissão tornaria necessário um sistema de correção muito eficiente.

3.2.2 Monocromador

Os monocromadores duplos são equipamentos que, através da difração da luz, são capazes de gerar uma luz monocromática a partir de outra policromática. Atualmente os monocromadores, em sua maioria, possuem grades (ou redes) de difração. Porém, historicamente se utilizou prismas para a mesma função. Valendo-se de espelhos côncavos, fendas e grades de difração, os monocromadores do fluorímetro configuram o chamado monocromador duplo de rede Czerney-Turner [7]. A figura 3.4 mostra o esquema de funcionamento de um monocromador Czerney-Turner. Nesse esquema, o sinal luminoso (A) entra no monocromador através de uma fenda (B), reflete em um espelho esférico (C) que tem o seu foco na fenda de entrada e, por sua vez, reflete a luz em direção à grade de difração (D), que pode girar em torno de seu próprio eixo. A luz refratada pela grade de difração segue para um segundo espelho esférico (E) que tem seu foco noutra fenda (F). Ajustando a abertura das fendas e a rotação da grade de difração, escolhe-se a largura e o comprimento de onda central do espectro da luz que sairá do monocromador (G). Como as fendas não estão posicionadas no eixo óptico principal dos espelho esféricos, as suas reflexões levam a uma aberração óptica. Contudo, como os espelhos recebem a luz na mesma inclinação, um espelho corrige a aberração causada pelo outro. [7]

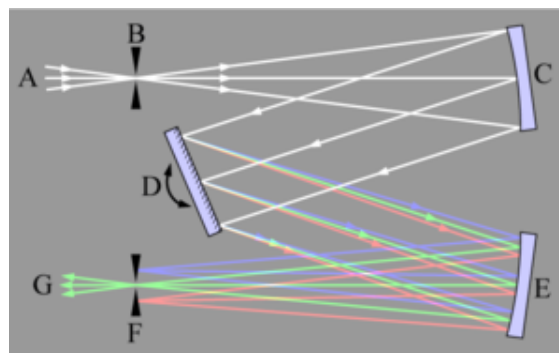


Figura 3.4: Esquema de funcionamento de um monocromador

Os monocromadores duplos do fluorímetro Spex Fluorolog são semelhantes ao da figura 3.4, porém possuem duas grades (detalhes construtivos na figura 3.2). Depois de passar por uma grade de difração, a luz passa por uma segunda grade que abre ainda mais o espectro, tornando-o mais monocromático sem perda excessiva de potência luminosa.

3.2.3 Compartimento de amostra

O fluorímetro possui um compartimento de amostras estruturado como mostra a figura 3.5. A luz monocromática vinda do monocromador de excitação entra no compartimento e é parcialmente refletida num espelho semi-refletor (ES) e passa por uma lente que focaliza um feixe de referência no sensor S. O sensor S informa ao software qual a potência luminosa incidente na amostra, para que ele corrija desvios de medidas causados por variações nessa intensidade luminosa. A parte da luz que não fora refletida no espelho ES segue para um outro espelho (E1)

que reflete o feixe para um espelho elíptico (E2). Esse espelho elíptico reproduz a imagem da fenda de entrada sobre a amostra (A).

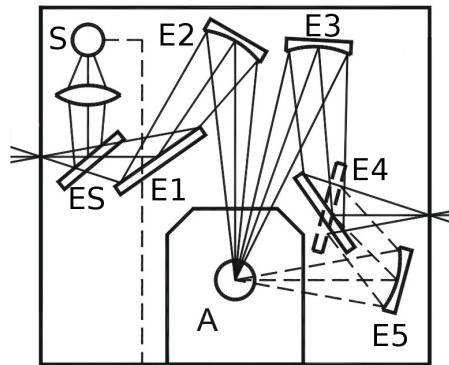


Figura 3.5: Estrutura interna do compartimento de amostras

Quando a amostra é excitada fluoresce, emitindo luz em todas as direções do compartimento. A imagem da amostra está em um dos focos do espelho elíptico E5. O outro foco do espelho está na fenda de entrada do monocromador de detecção. Dependendo das características da amostra analisada, a intensidade luminosa que chega a esses espelhos pode ser maior em E3 (detecção frontal) ou em E5 (detecção lateral), cabendo ao espelho E4 (que pode assumir duas posições diferentes) selecionar entre esses dois caminhos.

Todos os componentes ópticos integrantes desse fluorímetro são reflexivos, uma grande vantagem para a espectroscopia, já que a refração das lentes depende do comprimento de onda da luz que as atravessa.

3.2.4 Detector

Tubo fotomultiplicador

Os tubos fotomultiplicadores, também conhecidos como PMTs (do inglês *PhotoMultiplier Tubes*) são sensores de luz capazes de amplificar internamente o sinal elétrico gerado pela luz incidente, sendo utilizado em medidas de baixas potências radiantes [7].

O modelo de tubo fotomultiplicador utilizado chama-se R928 da fabricante Hamamatsu. A figura 3.6 mostra o tubo fotomultiplicador R928 (a), uma representação esquemática da sua estrutura interna (b) e o espectro de sensibilidade do fotocátodo e sua eficiência quântica (c).

Os tubos fotomultiplicadores contém um eletrodo de nome fotocátodo (K) que é coberto por uma camada de material fotoemissor de elétrons, ou seja, quando atingido por fótons, ocorre a liberação de elétrons na superfície do material devido ao efeito fotoelétrico. Dentro do tubo existem outros eletrodos chamados dinodos (DY1 a DY9). Esse fotocátodo (K) é alimentado com uma tensão negativa elevada (faixa de kilovolts) em relação aos dinodos, através de uma rede resistiva como ilustrado na figura 3.6(b). A tensão se distribui pelos resistores criando

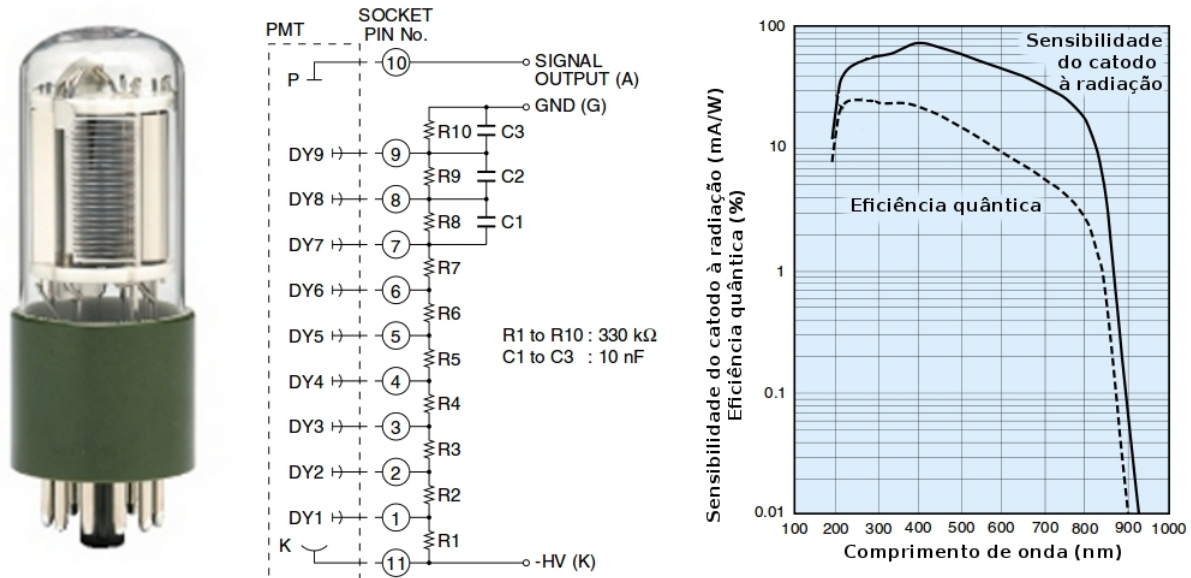


Figura 3.6: (a) Tubo fotomultiplicador R928; (b) Representação esquemática do R928; (c) Resposta espectral do tubo fotomultiplicador R928

uma diferença de potencial de aproximadamente 100V entre cada dinodo. Quando os elétrons ejetados do fotocatodo entram no campo elétrico produzido pela diferença de potencial entre K e DY1, é acelerado em direção ao dinodo, ganhando energia do campo elétrico nesse processo. Ao colidir com o dinodo, os elétrons promovem um fenômeno intitulado emissão secundária, ejetando da superfície do dinodo um número de elétrons maior, devido à energia adquirida do campo elétrico. Esses elétrons recém ejetados, por sua vez, são acelerados rumo ao dinodo seguinte. Esse processo se repete para cada par de dinodos, amplificando o número de elétrons ejetados a cada estágio. Depois de repetido nove vezes esse processo, cerca de 10^6 a 10^7 elétrons são coletados no ânodo (P) formando picos de corrente elétrica que serão posteriormente amplificados e eletronicamente contados. Tipicamente, esse processo ocorre em alguns nanossegundos gerando pulsos da ordem de centenas de microvolts em um resistor de carga de 50Ω [12][7][13][14].

Devido à composição do fotocatodo (K), ele apresenta maior sensibilidade para certos comprimentos de onda de luz incidente como mostrado na figura 3.6 (c). Pode-se perceber que a tanto a sensibilidade do catodo quanto a eficiência quântica cobrem todo o espectro visível juntamente com a região de ultravioleta emitida pela lâmpada de xenônio (veja figura 3.3). Pela escala de sensibilidade, pode-se perceber que esse sensor só deve ser usado em uma intensidade muito baixa de luz pois, já que a sensibilidade está na faixa de mA/W de potência luminosa e o ganho de corrente do sensor é aproximadamente 10^7 .

A resposta espectral do tubo R928 está na faixa de 185 a 900nm (UV-VIS), com pico máximo em 400nm. A sensibilidade é muito baixa para comprimentos de onda no infravermelho devido à baixa energia dos fótons que não são capazes de produzir o efeito fotoelétrico no fotocatodo. Já a limitação do tubo fotomultiplicador para o ultravioleta ocorre pois a janela de vidro por onde entra a luz é composta de sílica fundida absorvendo comprimentos de onda inferiores

a 185nm. Existem modelos de tubo fotomultiplicador com janela de quartzo, como é o exemplo do modelo R955 da Hamamatsu, que tem resposta espectral de 160 a 900nm. Mais informações sobre os tubos fotomultiplicadores R928 e eR955 podem ser encontradas em [13].

Sensor de estado sólido (InGaAs)

Como mostrado anteriormente, os tubos fotomultiplicadores têm uma resposta espectral restrita aos comprimentos de onda da região visível e ultravioleta. Caso se queira fazer espectroscopia de luminescência no infravermelho próximo (NIR), os tubos fotomultiplicadores são incapazes de gerar sinal nessa região. Os sensores ideais para essa aplicação são de estado sólido como de silício (Si), germânio (Ge) e arsenieto de índio e gálio (InGaAs). A figura 3.7 mostra um sensor de InGaAs (a) e a resposta espectral dos sensores de estado sólido mencionados (Si, Ge e InGaAs) (b).

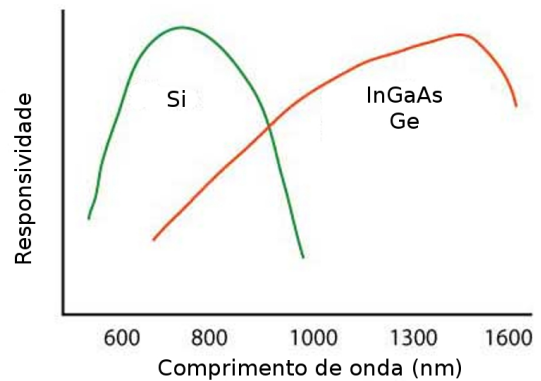
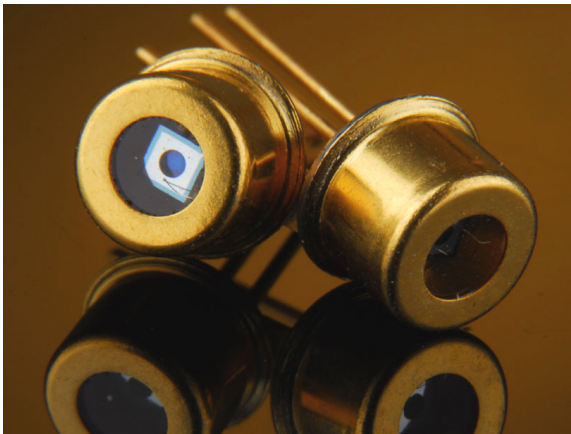


Figura 3.7: (a) Sensor de InGaAs; (b) Resposta espectral de sensores de estado sólido (Si, Ge, InGaAs)

O fluorímetro possui um monocromador de detecção adequado para a região do infravermelho acoplado a um sensor de InGaAs. A escolha desse sensor se deve a duas razões: a sua resposta espectral complementar a resposta dos tubos fotomultiplicadores (ao contrário dos sensores de Si) e sua eficiência ser maior que os sensores de Ge.

A saída desses sensores é analógica em tensão e, no presente projeto, é amplificada através de um amplificador *lock-in* (será discutido posteriormente) para a leitura em conversor analógico interno ao circuito de comunicação e controle.

4 Técnicas de detecção

Uma vez escolhido o sensor mais adequado à aplicação, é necessário fazer a aquisição do sinal capturado pelo sensor. Existem diversas técnicas de detecção de sinal, e características do sinal e/ou do sensor dirão qual a melhor técnica.

Nos próximos itens serão expostas as técnicas comumente utilizadas.

4.1 Detecção Síncrona (Lock-in)

Na espectroscopia de emissão, uma amostra é excitada por uma fonte de luz. A amostra, por sua vez, emite radiação luminosa que atinge um sensor óptico, gerando um sinal elétrico. Coadjuvante à radiação proveniente da amostra, há também iluminação do ambiente responsável por formar, juntamente com ruídos elétricos no sensor e circuito de detecção, um ruído de fundo. A detecção síncrona (ou *lock-in*) é uma técnica que utiliza modulação do sinal luminoso para fazer uma distinção entre sinal e ruído de fundo, melhorando assim a relação sinal-ruído.

A modulação do sinal luminoso pode ser feita com o uso do *chopper*, um dispositivo mecânico composto de hélices igualmente espaçadas, dispostas em um disco que bloqueia a passagem de luz em uma frequência regular determinada. A figura 4.1 mostra um chopper e controlador comerciais da Stanford Research Systems.



Figura 4.1: Chopper e controlador Stanford

Um diagrama simplificado do amplificador síncrono pode ser visto na figura 4.2. O diagrama contém entradas para o sinal e a referência. A entrada de sinal passa por um amplificador e filtro para condicionamento de sinal e, posteriormente, segue para um multiplicador. Esse multiplicador recebe também o sinal de referência, depois de processado por um *trigger* e um deslocador de fase.

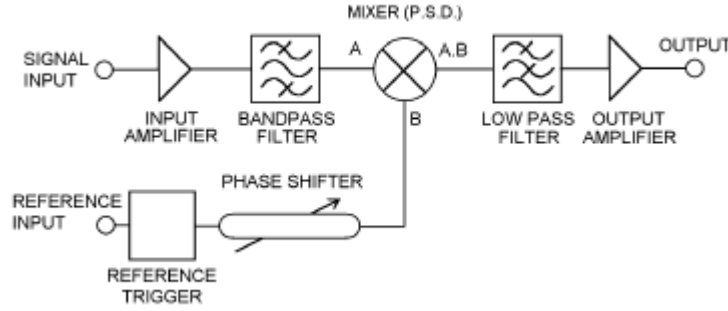


Figura 4.2: Diagrama de funcionamento do amplificador síncrono

Numa abordagem inicial, consideremos que uma tensão V_s é aplicada na entrada de sinal e uma outra tensão V_{ref} é aplicada na referência. Ignoremos por ora os blocos responsáveis pelo tratamento dos sinais e, portanto, serão esses os sinais de entrada do multiplicador. Seja V_p a tensão de saída do multiplicador, tomemos por simplicidade o seguinte caso:

$$\begin{cases} V_s = A \cdot \cos(\omega t) \\ V_{ref} = B \cdot \cos(\omega t + \theta) \\ V_p = V_s * V_{ref} \end{cases} \quad (4.1)$$

$$\Rightarrow V_p = A \cdot \cos(\omega t) \cdot B \cdot \cos(\omega t + \theta) \quad (4.2)$$

$$V_p = A \cdot B \cdot \cos(\omega t) \cdot [\cos(\omega t) \cdot \cos(\theta) - \text{sen}(\omega t) \cdot \text{sen}(\theta)] \quad (4.3)$$

$$V_p = A \cdot B \cdot [\cos^2(\omega t) \cdot \cos(\theta) - \cos(\omega t) \text{sen}(\omega t) \cdot \text{sen}(\theta)] \quad (4.4)$$

$$V_p = A \cdot B \cdot \left[\frac{\cos(2\omega t) + 1}{2} \cdot \cos(\theta) - \frac{\text{sen}(2\omega t)}{2} \cdot \text{sen}(\theta) \right] \quad (4.5)$$

$$V_p = \frac{1}{2} \cdot A \cdot B \cdot \cos(\theta) + \frac{1}{2} \cdot A \cdot B \cdot [\cos(2\omega t) \cos(\theta) - \text{sen}(2\omega t) \text{sen}(\theta)] \quad (4.6)$$

$$V_p = \frac{1}{2} \cdot A \cdot B \cdot \cos(\theta) + \frac{1}{2} \cdot A \cdot B \cdot \cos(2\omega t + \theta) \quad (4.7)$$

O resultado encontrado para esse caso particular reflete a solução geral para qualquer sinal periódico, tendo em vista que qualquer função periódica pode ser decompostas uma superposição de senoides.

O sinal proveniente do multiplicador é composto de dois termos. Como esse produto é filtrado na saída, o segundo termo que é função de $2\omega t$ é atenuado, restando apenas o primeiro e, portanto, a tensão de saída V_o para as entradas em questão pode ser expressa pela equação 4.8.

$$V_o = A_v \cdot A \cdot B \cdot \cos(\theta), \quad (4.8)$$

onde A_v denota o ganho de tensão de malha aberta. Retomando as estruturas outrora ignoradas, o defasador do sinal de referência pode ser ajustado de modo a maximizar $\cos(\theta)$, bem

podem enviar os sinais lidos para um computador ou ainda controlar o ganho e ajuste de fase automaticamente. Os modelos SR810 e SR830 da Stanford Research System têm ajuste automático de ganho, fase e offset, comunicação externa GPIB e RS-232, sinal de entrada com sensibilidade de 2nV a 1V (impedância de entrada de 10M Ω), ruído de entrada de $6nV/\sqrt{Hz}$, filtro *notch* em 60 e 120Hz e capacidade de "dynamic reserve" máxima de 60dB, ou seja, para um sinal de amplitude 1 μ V, é possível filtrar um ruído de amplitude 1mV sem que haja saturação no integrador. O modelo SR810 tem um único canal de saída, diferente do SR830 (figura 4.4) que tem dois canais, permitindo mostrar a saída em fase e quadratura com a referência, ou ainda em coordenada polar (amplitude e fase), não necessitando de ajustes na defasagem da referência para obter maior sinal [16].



Figura 4.4: Amplificador *lock-in* Stanford SR830

4.2 Detecção Boxcar

A técnica *boxcar* (ou *boxcar averaging*) consiste em integrar o sinal durante um período restrito de tempo (denominado *gate* de integração) uma ou mais vezes. A vantagem desse método em relação à detecção síncrona é a possibilidade de detectar um sinal com um tempo de duração extremamente pequeno, bastando para tanto utilizar um *gate* de integração igualmente pequeno, por exemplo, um caso comum de utilização dessa técnica é capturar excitação gerada por um laser com largura de pulso de 100ns e repetição em 100ms. Com o *gate* desativado, a entrada é ignorada, favorecendo a relação sinal-ruído. Outra vantagem dessa técnica é a possibilidade de controlar o tempo entre a exposição e a leitura, possibilitando fazer medidas resolvidas no tempo, ou seja, analisar o comportamento da emissão luminosa ao longo do tempo.

A figura 4.5 ilustra um sistema genérico de detecção *boxcar*. O sistema contém 2 estágios: buffer e integrador.

No primeiro estágio, o sinal de entrada é isolado por um *buffer*. Em seguida, há um amplificador integrador com a entrada interrompida por uma chave analógica, a qual exerce o controle do *gate* de integração, ou seja, quando a chave está aberta o integrador mantém a tensão no capacitor C constante, mas quando a chave é fechada, o amplificador carrega o capacitor C com uma taxa proporcional à tensão de entrada, seguindo a equação (4.9). Quando a chave *reset* é fechada, o capacitor C descarrega, zerando a saída do integrador, o que deve ocorrer ao início de

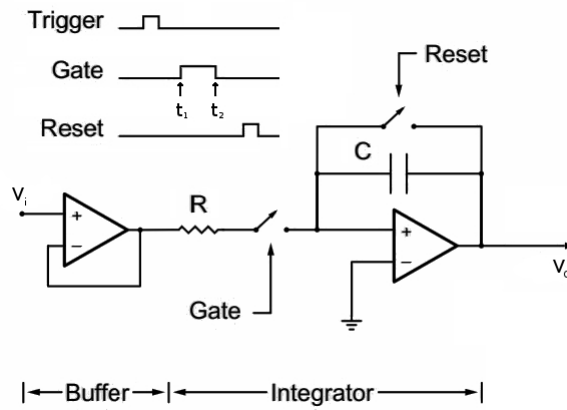


Figura 4.5: Circuito integrador *boxcar*

cada nova medida. Durante o tempo que a chave *gate* fica ligada, a tensão de entrada é integrada no tempo e , portanto, a tensão de saída é dada pela equação (4.9).

$$v_o = -\frac{1}{RC} \cdot \int_{t_1}^{t_2} v_i \cdot dt \quad (4.9)$$

Um circuito integrado ideal para essa implementação é o ACF2101 fabricado pela empresa Burr-Brown. O diagrama funcional desse circuito integrado está na figura 4.6. O circuito integrado contém dois canais possibilitando a operação simultânea de dois sistemas de aquisição. Contém internamente capacitores de 100pF para armazenar o tensão do integrador, e podem ser associados ou substituídos por outros capacitores caso necessário. As características desse circuito integrado como baixo ruído, levam-no a medir com precisão correntes elétricas da ordem de nanoampères [17].

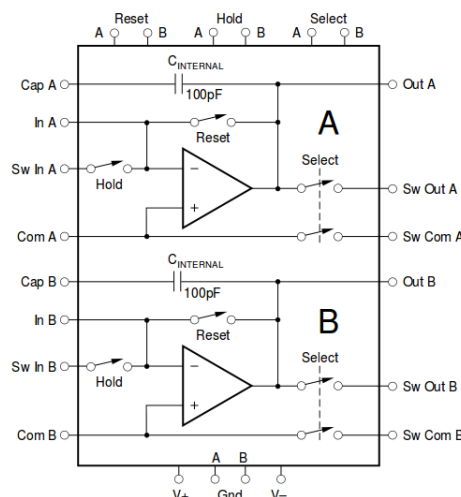


Figura 4.6: Diagrama funcional do circuito integrado ACF2101

Existem sistemas comerciais com integradores *boxcar* e diversas configurações e ferramentas, como o modelo SR200 da Stanford Research System, mostrado na figura 4.7, onde o usuário pode seleccionar os diferentes parâmetros como a janela de amostragem e ganho dos amplifica-

dores. Contudo, apesar da eletrônica analógica desses equipamentos se mostrarem de grande valia, atualmente a maior parte do processamento desses sinais é feito em computadores [18].



Figura 4.7: Sistema *boxcar* Stanford série SR200

4.3 Contador de fótons

O método de contagem de fótons é, dentre os citados, o mais utilizado para leitura de tubos fotomultiplicadores. Os fótons incidentes no fotocátodo dos tubos fotomultiplicadores liberam elétrons que, depois de sucessivas emissões secundárias, são multiplicados. Essa emissão secundária libera no último estágio cerca de 10^7 elétrons que viajam em um condutor conectado a uma carga resistiva. O pulso de corrente gerado pelo sensor é estreito, sendo portanto um sinal com componentes de alta frequência e necessita de atenção quanto a efeitos como reflexão de sinal. Por esse motivo, utiliza-se resistores de 50Ω para reduzir a reflexão de sinal, visto que essa é a impedância característica dos cabos coaxiais comumente utilizados. Se os elétrons compõem um pulso com 5ns de duração, observar-se-á um pulso estreito de tensão com cerca de 16mV no resistor de carga [12][14].

Conhecendo as características dos sinais de saída do tubo fotomultiplicador, o método de contagem de fótons se propõe a amplificar os pulsos rápidos gerados e criar um sinal devidamente condicionado para que contadores digitais acumulem um valor proporcional ao de fótons incidentes durante um certo período de tempo, valor esse proporcional à intensidade luminosa incidente no sensor. O diagrama da figura 4.8 explica a ideia básica por trás da contagem de fótons. Inicialmente, o sinal vindo do tubo fotomultiplicador passa por um pré-amplificador rápido, responsável por aumentar a amplitude do sinal sem alterar a largura dos pulsos. Um segundo estágio de amplificação, geralmente com ganho ajustável, coloca os pulsos dentro de uma faixa de tensão desejável, a fim de eliminar fontes de ruído, principalmente térmico, responsáveis pela formação da chamada "grama" no sinal. Após as etapas de amplificação, o sinal passa por um comparador digital. Em um último estágio, a saída do comparador alimenta um amplificador de potência, responsável por garantir sinais em nível lógico sobre uma carga de 50Ω , escolhida por motivos já citados. Por fim, o sinal em nível lógico pode ser acumulado e posteriormente contado com o auxílio de um contador digital.

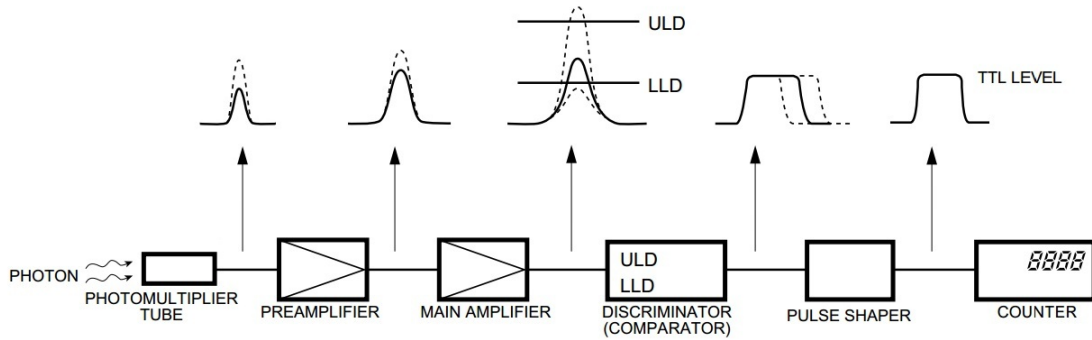


Figura 4.8: Diagrama de funcionamento de um contador de fótons

Esse método de contagem é mais eficiente que os demais para contagens pequenas, sendo capaz de detectar a incidência de poucos fótons em um intervalo ilimitado de tempo, e também valores elevados de contagem, como 10^7 Hz, ficando limitado à velocidade de operação dos circuitos lógicos digitais e à capacidade de discriminação dos pulsos de entrada.

Em alguns casos, juntamente do circuito responsável pela contagem de fótons, outros artifícios podem ser utilizados para desempenhar algumas funções semelhantes às do integrador *boxcar*. O controle de habilitação do contador pode ter o mesmo uso do sinal de *gate* de integração do *boxcar*.

Existem sistemas comerciais para contadores de fótons como o contador digital SR400 e o amplificador rápido SR445A, ambos da SRS. O contador tem dois canais de entrada e o amplificador tem quatro canais independentes, mas podem ser associados para obter um ganho maior [19].



Figura 4.9: Amplificador de 350MHz modelo SR445A (acima) e contador digital comercial de dois canais SR400 (abaixo) da Stanford Research Systems

4.4 Comparação

O sinal proveniente dos sensores, como já visto, pode ter pulsos estreitos ou largos, com alta ou baixa taxa de repetição. Dentre os fatores que levam à escolha da técnica de detecção, dois fatores fundamentais são a intensidade do sinal e a razão entre o tempo de exposição e o tempo entre exposições consecutivas. Com base nesses fatores, as três técnicas mostradas são comumente utilizadas: detecção síncrona (*lock-in*), integrador com *gate* (ou *boxcar averaging*) e contagem de fótons. A nota de aplicação [14] discute qual a melhor técnica para se utilizar e quais fatores devem ser levados em conta para essa escolha.

A detecção síncrona não é indicada para sinais com tempo de exposição muito assimétrico e sinais com ruídos sincronizados com a modulação, pois nesses dois casos a rejeição de ruído é ineficiente. Para sinais muito baixos essa técnica também não é tão eficiente pelas limitações físicas do integrador analógico (tempos muito longos).

A diferença de utilização entre a detecção síncrona e o *boxcar* ou integrador, está na razão entre o tempo de duração do sinal e o tempo de repetição entre exposições. A detecção síncrona é mais eficiente quando a razão entre o tempo de exposição e o tempo entre exposições é próxima de 50%. Já o *boxcar* é mais indicado quando o tempo de exposição é pequeno comparado com tempo entre exposições. Essa técnica executa uma operação de integração no sinal somente durante o período de exposição da amostra (denominado *gate* de integração), não acumulando ruídos até uma nova exposição. O *gate* de integração é ativado somente enquanto o sinal está presente, portanto, a integração ocorre durante pouco tempo (100ns no exemplo), enquanto o período sem sinal é ignorado, melhorando a relação sinal ruído. Porém, assim como a detecção síncrona, essa é uma técnica ineficiente para pequenos sinais. O circuito integrador impõe um limite de tempo de integração.

Já a contagem de fótons é um método digital que tem como principal vantagem a leitura de sinais de baixa intensidade. O contador de fótons é capaz de gerar pulsos com tensão de nível lógico a partir de fótons incidentes no sensor, armazenando o número de pulsos em um contador digital. Como o contador digital pode ficar ativo durante horas, o tempo de integração é superior às outras técnicas citadas, proporcionando leituras de sinais de baixíssima intensidade. Em diversos casos, o contador pode ser habilitado durante um período de *gate* como o detector *boxcar*. Devido à natureza digital dessa técnica, existem limitações em várias etapas do processo, como saturação do contador e velocidade limitada dos pulsos de clock. Utilizando um contador digital integrado a um microcontrolador, não há problema em atingir contagens elevadas.

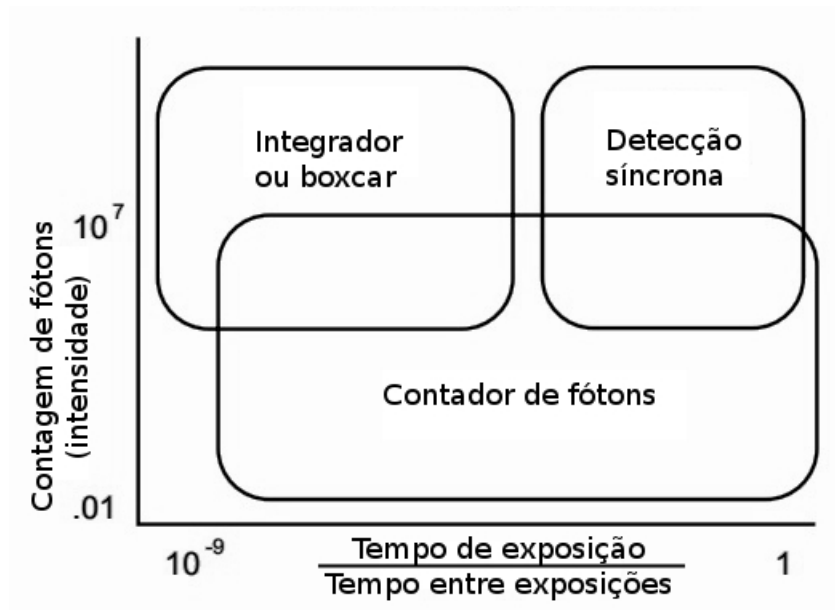


Figura 4.10: Comparação entre os métodos relacionados

A figura 4.10 resume as vantagens das técnicas citadas, expondo a faixa de utilização de cada uma relacionando a razão entre o tempo de exposição da amostra e o tempo entre exposições com a contagem de fótons (intensidade luminosa) à qual o sensor é exposto [14]. Dentre essas técnicas de medida, a contagem de fótons é preferida para espectroscopia de luminescência de baixo sinal (com uso de lâmpadas) e em espectroscopia Raman. O contador de fótons também é preferido em dispositivos comerciais devido à sua larga faixa dinâmica de operação, tornando mais simples a manipulação dos equipamentos.

5 *Eletrônica desenvolvida*

O controle e aquisição de dados do fluorímetro necessita de dois módulos que foram projetados e confeccionados (veja capítulo 3). Um módulo para amplificação rápida de sinal do tubo fotomultiplicador e outro para comunicação e controle do fluorímetro.

O circuito do amplificador rápido recebe o sinal proveniente do tubo fotomultiplicador e o amplifica para que seus pulsos possam ser contados em um contador digital TTL. O segundo circuito possui os contadores para conectar-se ao amplificador rápido, um microcontrolador PIC modelo 18F4553 com suporte a USB responsável pela comunicação com o computador, além de fazer leitura de sinais analógicos, controle dos monocromadores, controle de abertura dos obturadores (*shutters*) internos à câmara de amostras e leitura do sensor de referência.

Os próximos itens mostram as características, projetos e execução desses dois circuitos, aqui chamados: amplificador rápido e circuito de comunicação e controle.

5.1 Amplificador rápido

O sinal proveniente do tubo fotomultiplicador é composto de pulsos estreitos com amplitude máxima da ordem de microvolts, e largura da ordem de poucos nanossegundos, conferindo ao sinal componentes espectrais de alta frequência. O amplificador comercial SR445A da SRS utilizado para amplificar tais sinais, por exemplo, possui uma banda de passagem de DC até 350MHz (veja capítulo 4.3). Outra opção comercial é o amplificador modelo C5594 da fabricante Hamamatsu, o qual possui frequência de operação entre 50kHz e 1,5GHz e ganho de 36dB [20].

O amplificador rápido fora projetado resultando no esquema elétrico mostrado na figura 5.1. Como o sinal amplificado contém componentes de alta frequência, muitos componentes eletrônicos são críticos em sua posição de montagem, orientação, material de composição e também diversos outros fatores, como por exemplo, o desenho das trilhas na placa, qualidade dos cabos e conectores utilizados, blindagem elétrica, entre outros. Esse circuito é baseado no uso de um amplificador de vídeo UA733A de baixo custo. O uso desse tipo de amplificador é comum para essa aplicação [21]. Existem no mercado amplificadores mais eficientes para essa aplicação, porém com o custo muito elevado.

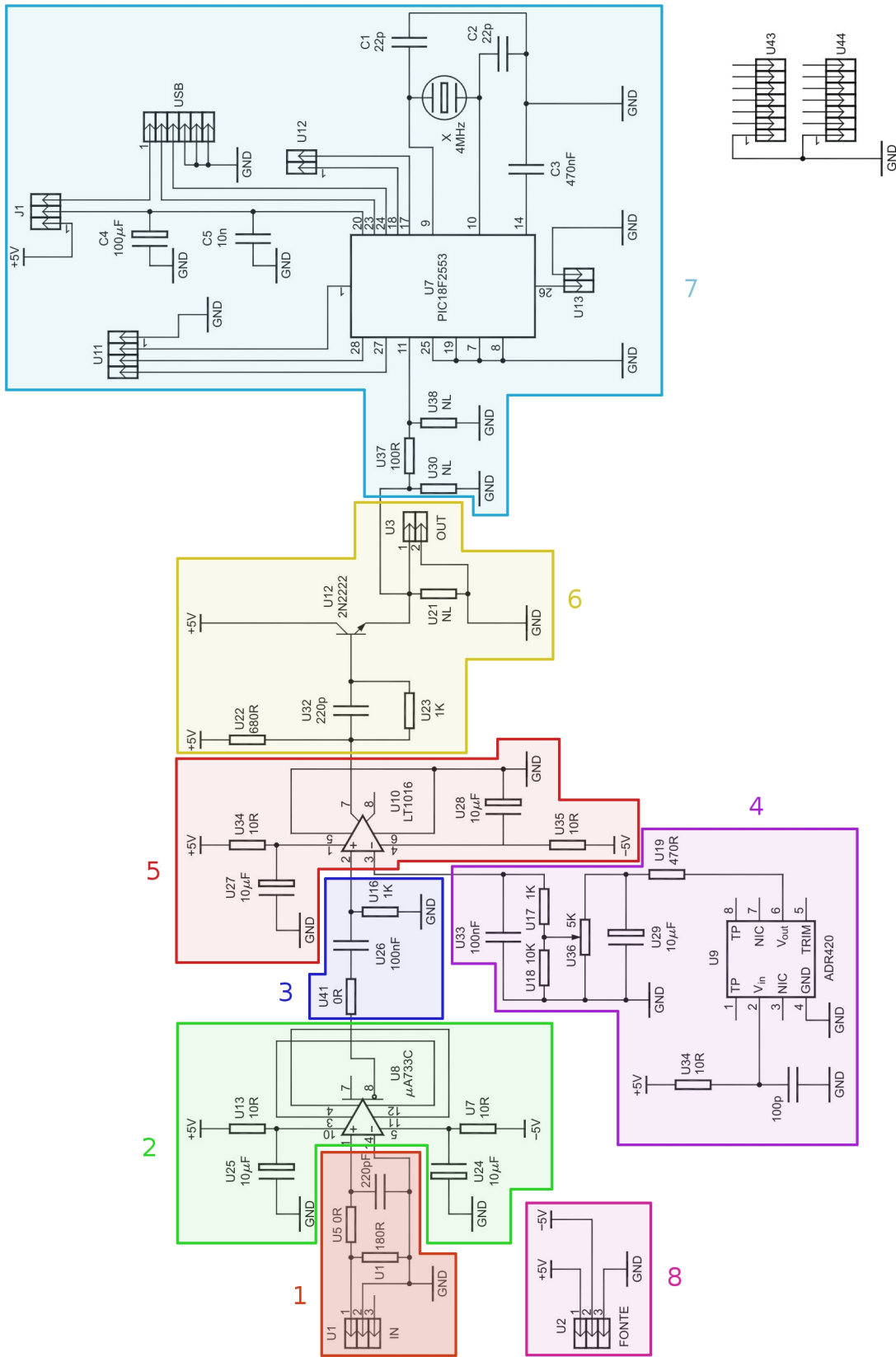


Figura 5.1: Esquema elétrico do amplificador rápido construído

O funcionamento do circuito pode ser explicado segmentando o esquema elétrico em 7 grupos com diferentes funções:

1. Entrada

Esse grupo contém os componentes responsáveis pelo casamento de impedância do circuito amplificador com a impedância característica do cabo de entrada de sinal, evitando reflexão do sinal de alta frequência. Os componentes inseridos nesse estágio devem ser criteriosamente escolhidos e testados e, por esse motivo, deixou-se previsto em projeto conexões para três componentes genéricos dispostos em configuração Δ (delta) para que fossem escolhidos posteriormente, durante a montagem. Como cada peça dos amplificadores de vídeo UA733C não são idênticas, a impedância de entrada dos amplificadores, por exemplo, é diferente para cada peça, o suficiente para que dois circuitos montados com componentes semelhantes nem sempre funcionem da mesma forma. Portanto, é preciso que se escolha novos componentes eletrônicos para cada placa montada. Esses componentes são críticos ao funcionamento do circuito pois, caso não sejam escolhidos adequadamente, podem atenuar o sinal de entrada em até 1000 vezes (ou -60dB).

2. Pré-amplificador

O pré-amplificador é composto basicamente pelo circuito integrado UA733C e seus componentes periféricos. Esse circuito integrado é um amplificador diferencial com ganho ajustável utilizado em sinais de vídeo, com banda de passagem de 200MHz e ganho de até 400V/V (em configurações distintas). É comum seu uso em contadores de fótons comerciais[21]. Esse circuito apresenta um compromisso entre a faixa de frequência de operação e o ganho de tensão, de modo que, quanto maior for o ganho, menor a banda de passagem e vice-versa. O estágio de entrada do amplificador possui um amplificador diferencial com resistores internos para controle de ganho. Entre cada ramo desse estágio amplificador diferencial existem dois resistores com acesso externo aos seus terminais que são utilizados para selecionar o ganho. A saída do amplificador também é diferencial, porém, esse projeto só utiliza um pino de saída para levar ao filtro e comparador. Esse circuito é responsável por fornecer ao sinal um ganho de tensão sem comprometer a faixa de frequência de interesse, elevando a tensão de entrada de alguns microvolts para décimos de volts [22].

3. Filtro passa altas

O filtro passa altas é responsável por remover a componente DC do sinal. Essa operação é essencial, já que o sinal segue para um comparador rápido LT1016, responsável por discernir os pulsos de maior tensão (sinal) do ruído de menor tensão. Esse processo será explicado à frente.

4. Referência de tensão

O circuito integrado ADR420 foi utilizado como gerador da tensão de referência. Esse circuito integrado se mostrou extremamente robusto quanto à interferência por ruídos conduzidos no circuito de alimentação e variação de temperatura (variação na tensão de saída $< 0,1\%$ em 100°C). A tensão gerada pelo ADR420 é levada então a um potenciômetro multivoltas de precisão que ajusta uma tensão de limiar entregue ao comparador rápido. Foram dispostos capacitores no circuito de referência para assegurar a estabilidade dessa tensão. O circuito integrado ADR420 tem saída de $2,048\text{V}$ com precisão de $0,05\%$ com desvio típico de $3\text{ppm}/^\circ\text{C}$. A regulação da linha é de $10\text{ppm}/\text{V}$, ou seja, se a entrada tiver uma variação de 1V , a saída vai ter uma variação de $10\mu\text{V}$ e o ruído natural de saída é tipicamente $1,75\mu\text{V}$ pico a pico [23]. A tensão de referência é usada como *threshold* para o comparador rápido.

5. Comparador rápido (LT1016)

O comparador rápido efetua uma comparação entre a tensão de limiar gerada no bloco de referência de tensão e o sinal amplificado e filtrado. Esse processo faz com que os pulsos de alta tensão sejam discriminados em relação aos de menor tensão, processo essencial à contagem de fótons (ver item 4.3), sobrevivendo a esse processo somente os pulsos de tensão maior que o limiar. Dessa forma, quanto menor a tensão de limiar, maior a quantidade de pulsos na saída do comparador, entretanto, maior também será a presença de ruído, desfavorecendo a relação sinal ruído. Os pulsos gerados pelo comparador LT1016 têm tensão entre 0 e $3,5\text{V}$ tipicamente, tensão suficiente para o correto funcionamento do transistor de saída e são também de maior largura que os pulsos de entrada, tornando-os legíveis aos contadores digitais que geralmente têm a frequência máxima de entrada limitada na faixa de alguns MHz. Um uso comum desse comparador é para osciladores de alta frequência, na faixa de 10 a 25MHz e foi especialmente desenhado para aplicações em circuitos digitais.

6. Saída TTL

Os pulsos gerados no comparador precisam ser entregues ao circuito contador em nível TTL (amplitude de 5V). Como o circuito contador geralmente é externo ao amplificador, um cabo será usado para transmitir o sinal, criando novamente uma preocupação com a reflexão do sinal de alta frequência. Para evitar a reflexão, uma carga com a impedância característica do cabo (50Ω no caso) deve ser inserida ao fim do cabo. Porém, a inserção dessa carga requer o aumento significativo da potência do circuito, que agora deve fornecer pulsos de 5V em uma carga de 50Ω , ou seja, uma potência de pico de 500mW . Para fornecer essa potência a essa carga, o estágio de saída possui um transistor de potência 2N2222 configurado em modo coletor comum, configuração essa que não prejudica a resposta em frequência do amplificador.

7. Circuito digital

Para aplicações mais simples, onde só se deseja medir a intensidade do sinal gerado pelo

tubo fotomultiplicador, por exemplo, pode-se utilizar esse circuito digital. Dotado de um microcontrolador PIC modelo 18F2553, possui um módulo de contador em hardware com entrada limitada em 50MHz. Esse circuito digital pode ser usado alternativamente à saída em pulsos para outros sistemas, executando a função de contador e eventuais processamentos internos, comunicando com um computador por USB, por exemplo, ou comunicação serial, etc. Essa parte do circuito pode executar algumas funções simples, como comunicação com outro dispositivo.

8. Alimentação

Para os circuitos analógicos é necessária uma alimentação simétrica de 5V e, devido à alta frequência dos sinais, o consumo interno de corrente do comparador LT1016 e do amplificador UA733C são razoavelmente altos (da ordem de centenas de mW). O estágio de saída tem maior potência (cerca de 1W). O circuito digital não tem exigências preocupantes de alimentação. Tendo em vista essas necessidades, a alimentação é feita por uma fonte externa com capacidade suficiente de potência e, principalmente, baixa indutância de saída devido às altas frequências.

Para a construção do amplificador, elaborou-se o desenho da placa de circuito impresso (ou *layout*). O desenho fora produzido com o auxílio do software NI Ultiboard 11.0 da empresa National Instruments. Juntamente com o esquema elétrico, o desenho da placa teve uma evolução ao longo do tempo, devido ao fato de, em altas frequências, alguns fatores como comprimento das trilhas, posicionamento relativo das trilhas e componentes, capacitâncias parasitas, dentre outros, afetarem o funcionamento do circuito. A versão final da placa de circuito impresso é mostrada na figura 5.2.

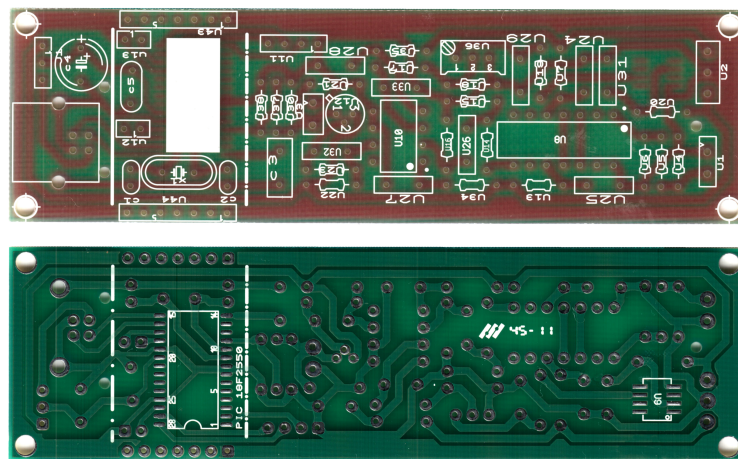


Figura 5.2: Placa de circuito impresso do amplificador rápido

Ao todo, foram desenhadas nove placas diferentes, obtendo-se resultados satisfatórios (ganho de tensão, relação sinal-ruído e banda de passagem semelhantes a um circuito comercial) e reprodutivos à partir da sexta tentativa. Os desenhos das placas estão dispostos no anexo digital que acompanha esse trabalho, sendo possível ver a evolução do projeto. Todas as versões do

layout utilizam uma única face de cobre (ou *layer*) da placa de circuito impresso. Isso se justifica pela maior facilidade de confecção de placas para protótipo, utilizando técnicas manuais durante o desenvolvimento e também para evitar interferências de alta frequência e imprevisibilidades causadas pelo uso de vias, por exemplo.

Depois de confeccionar e testar diversos protótipos, produziram-se exemplares da peça industrialmente e uma caixa de alumínio usinada para garantir uma melhor blindagem eletromagnética do circuito. O resultado final está na figura 5.3. Depois de montado, o amplificador foi conectado à fonte de alimentação externa, ao tubo fotomultiplicador e à segunda placa confeccionada, a placa de comunicação e controle.

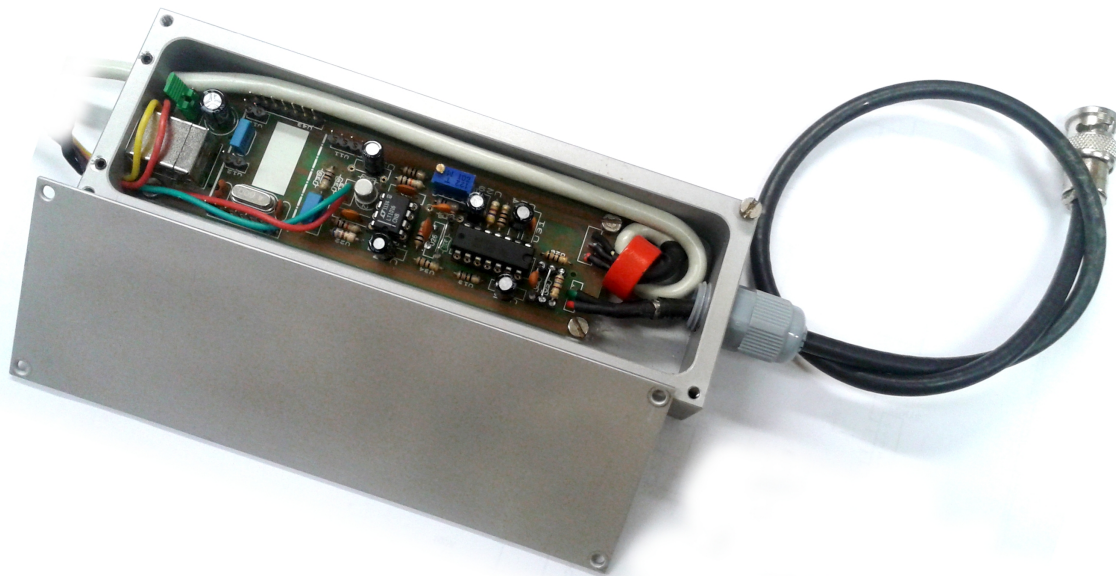


Figura 5.3: Montagem final do amplificador

5.2 Placa de comunicação e controle

O segundo módulo tem como função fazer a comunicação entre o fluorímetro e um computador e controlar o fluorímetro. Esse circuito possui um microcontrolador PIC 18F4553 que integra vários elementos do sistema, pois se comunica com o computador através da porta USB, faz uso de um conversor AD para ler dados de um amplificador lock-in externo e utiliza pinos de entrada/saída para ler os contadores digitais do contador de fótons, ler os sensores de fim de curso dos monocromadores, controlar a posição dos *shutters* da câmara de amostra e enviar comandos para movimentar os monocromadores. O esquema elétrico concebido do projeto está na figura 5.4.

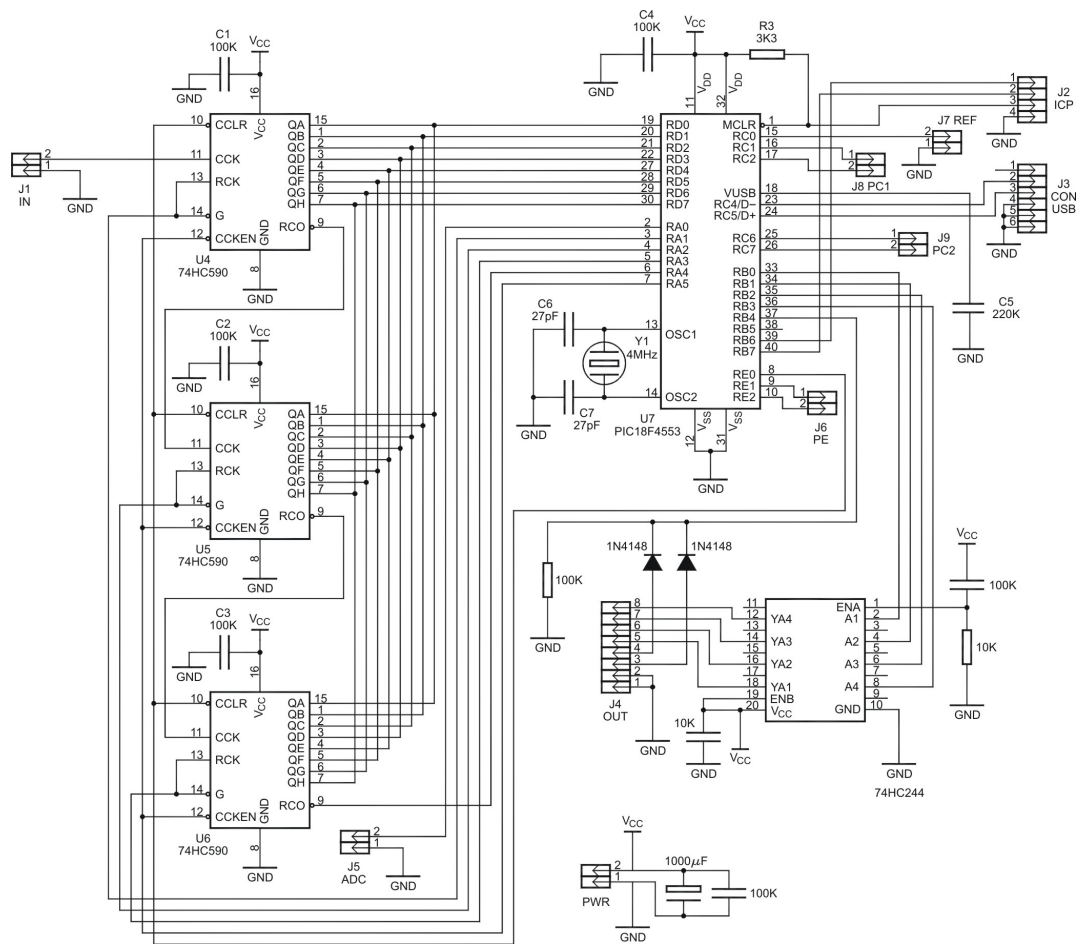


Figura 5.4: Esquema elétrico da placa de comunicação e controle

Nessa placa foram utilizados três circuitos integrados 74HC590, que são contadores binários de 8 bits que têm saída com tri-state e entrada com schmidt trigger. Todos os contadores têm os pinos de controle (zerar contagem, ativar saída e habilitar contagem) conectados ao microcontrolador. O primeiro contador (U4) recebe o sinal do amplificador rápido como fonte de clock (CCK) e tem o sinal de *carry* (RCO) ligado à fonte de clock (CCK) do segundo contador (U5). Por sua vez, esse tem o *carry* ligado ao terceiro contador, e nesse por fim, conectou-se o *carry* na entrada do módulo de contador/timer do microcontrolador. Dessa forma, os contadores da placa fornecem 24 bits de dados ao microcontrolador, que, juntamente com o módulo de con-

tador interno, compõe um contador de 32 bits ao todo (contagem máxima de aproximadamente $4,29 \cdot 10^9$ pulsos).

O circuito possui também um buffer digital, o 74HC244. Sua função é proteger o microcontrolador e conectá-lo ao circuito de controle interno aos monocromadores (veja capítulo 3). Os diodos ligados ao conector J4 fazem o papel de porta lógica “OU” entre os sensores de fim de curso dos monocromadores, detectando assim se algum sensor fora acionado. Além do conector que leva os sinais aos monocromadores (J4), existem outros conectores responsáveis por: leitura do amplificador lock-in externo através do canal AD (J5), conexão USB com o computador (J3), alguns conectores para controlar fechamento dos *shutters* (J6, J8 e J9) e leitura do sensor de referência (J7).

O sensor de referência é um foto-detector de silício, ligado a um conversor tensão-frequência. Portanto, para fazer a leitura do sinal de referência, um módulo de contador/timer do microcontrolador é utilizado como frequencímetro (mais detalhes da montagem no capítulo 3). O contador tem um registrador de 16 bits para armazenar o valor da contagem. Porém, administrando o estouro do contador em uma interrupção de software, consegue-se armazenar mais 16 bits somando 32 bits ao todo, assim como a leitura do contador de fótons. A frequência máxima permitida por esse módulo de contador é de 50MHz, limite esse imposto pelo tempo mínimo de subida e descida de borda do sinal de entrada (10+10ns). A frequência de operação do microcontrolador é de 48MHz, gerada por um circuito interno de PLL (*phase locked loop*) que usa como referência um cristal oscilador de 4MHz, mas esse módulo de contador específico é assíncrono e, portanto, não sofre interferência do clock interno.

O desenho da placa de circuito impresso, foi feito utilizando o software NI Ultiboard 11.0 da National Instruments. Uma imagem da placa de circuito impresso está na figura 5.5. O desenho utilizou duas faces de cobre (*layers*), já que os circuitos digitais têm muitas conexões entre si, dificultando o processo de roteamento das trilhas em uma face simples. A figura mostra à esquerda a face inferior e à direita a face superior da placa.

Depois de ter montado e testado protótipos, produziram-se exemplares da placa com qualidade industrial, assim como o amplificador rápido. Essas placas têm furos metalizados, trilhas estanhadas, máscara de solda e legendas em tinta branca. Diferentemente do circuito de amplificador rápido, essa placa não tem pontos críticos no seu desenho. Essas características conferem à placa, além de um melhor acabamento, mais facilidade para soldar e menor índice de erro de montagem, principalmente devido ao furo metalizado. A figura 5.6 mostra a montagem final da placa integrada ao fluorímetro. A placa montada é integrada a uma caixa metálica que contém, além dessa placa, circuitos de filtro para a alimentação, uma chapa perfurada ao fundo com conectores e cabos para ligar os circuitos à uma fonte de alimentação externa, ao fluorímetro e ao computador e uma fonte de alta tensão para alimentação do tubo fotomultiplicador.

Essa fonte de alta tensão é um módulo produzido pela HiTek Power montada em uma placa simples produzida no laboratório. O módulo é do modelo GMA12-1KNSE, um conversor DC-

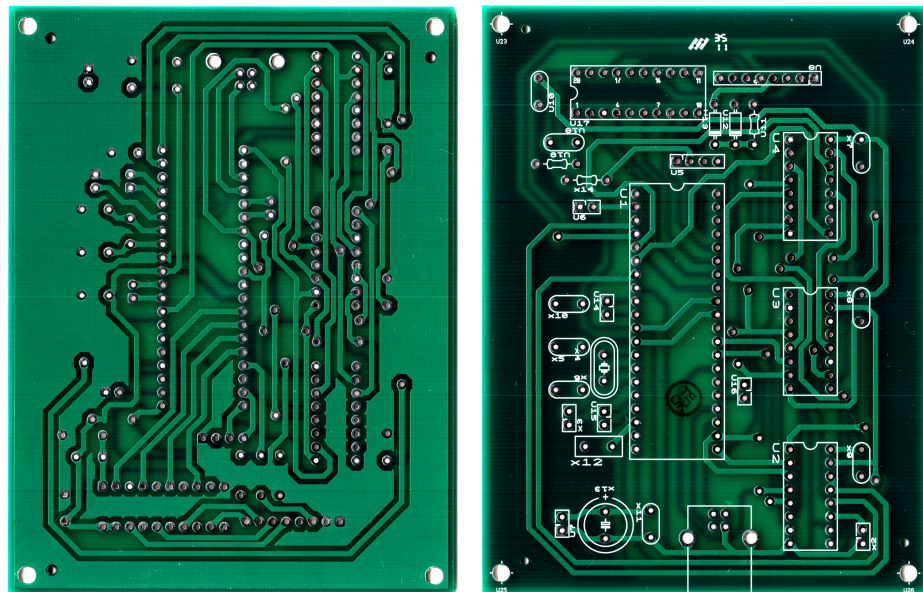


Figura 5.5: Placa de circuito impresso do módulo de comunicação e controle

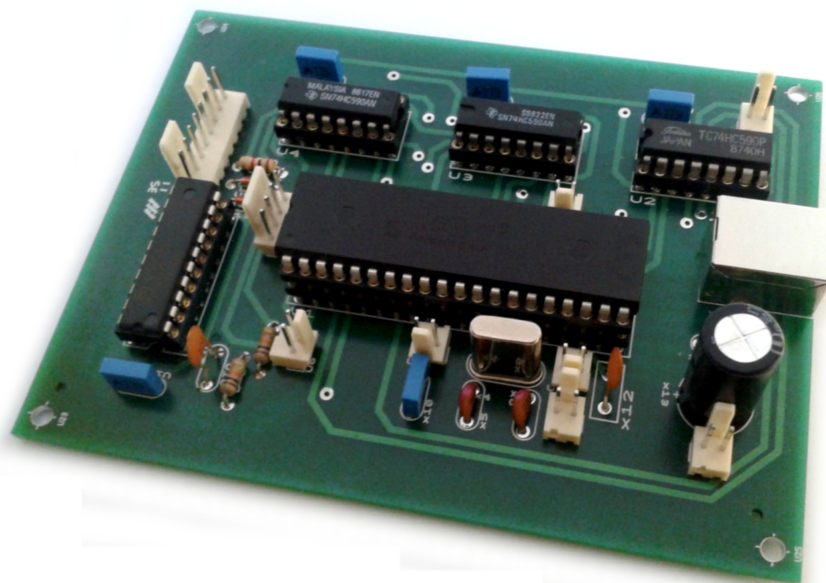


Figura 5.6: Montagem final da placa de comunicação e controle

DC que gera uma tensão negativa de saída de $1\text{kV} @ 1,5\text{W}$ proporcional a uma entrada de 12V . Existem modelos com saída negativa ou positiva. Como o ganho dos tubos fotomultiplicadores é alto, uma variação de $0,1\%$ na tensão de alimentação causa uma variação de até 1% no sinal gerado e, portanto, a fonte de alta tensão deve ser estável.

Os dois circuitos projetados têm um desempenho comparável aos produtos comerciais equivalentes. Os testes do equipamento revelaram uma alta sensibilidade, alta linearidade e boa relação sinal-ruídos (como será mostrado no capítulo 7).

6 *Softwares desenvolvidos*

Visando a obtenção de um espectro luminoso produzido pelo fluorímetro, dois *softwares* foram desenvolvidos: o primeiro embarcado no microcontrolador do circuito de comunicação e controle; um segundo executado no computador para manipulação de dados e interface humana.

Os dois *softwares* comunicam entre si utilizando protocolo USB, mais especificamente a classe HID (*Human Interface Device*), se valendo para tanto de uma estrutura de pacotes idealizada e construída, responsável pelo tráfego de dados entre computador e o microcontrolador, dentro das limitações da classe HID.

A comunicação USB (ou *Universal Serial Bus*) é uma arquitetura que permite com que um computador pessoal ou dispositivo semelhante se conecte com uma grande variedade de dispositivo utilizando somente quatro fios [24]. A comunicação é feita serialmente através de dois fios de dados denominados D+ e D− (os dois restantes são uma alimentação de 5V), que compõem um sinal complementar, ou seja, os bits com nível lógico alto em D+ têm simultaneamente nível lógico baixo em D− e vice versa. Em algumas circunstâncias, os sinais D+ e D− apresentam o mesmo valor para sinalizar, por exemplo, o fim de uma transição. Essa sinalização é comumente chamada de *handshake* e é necessário ao funcionamento do protocolo.

Sinais complementares são reconhecidamente mais eficientes no tocante à imunidade a ruídos e robustez na integridade do sinal, como é o caso de outros tipos de comunicação serial como RS-485, permitindo sua alta velocidade de comunicação ou uso em ambientes hostis. A leitura dos sinais complementares são imunes a ruídos de modo comum, ou seja, interferências iguais presentes nos dois sinais. Isso porque a leitura de dados é obtida pela diferença dos sinais, e qualquer ruído comum ao par de dados se cancela naturalmente. Graças a esse fato, os cabos são enrolados de modo a aumentar a indutância mútua entre sinais complementares, para que qualquer ruído indesejado em um condutor seja induzido também no seu par.

Quando se opta por utilizar a comunicação USB, é preciso escolher uma classe. Existem diversas classes nativas no protocolo USB, criadas para diversos fins, como transferência de arquivos e execução de músicas e cada classe tem suas vantagens e desvantagens. A classe preferida para transferência de arquivos (ou *mass storage*) foi arquitetada para transferir um alto volume de dados preservando sua integridade e o mais rapidamente possível. Já uma classe para execução de músicas deve prezar pela métrica, os pacotes devem ser enviados numa taxa constante para não haver distorções sonoras. A dita classe HID, comumente utilizada para

comunicação com periféricos para interface humana como teclados e *mouses*, combina a integridade de pacotes com o controle do *timing* de envio dos pacotes. Dessa forma, essa classe não é muito eficiente para envio de grande quantidade de dados, mas sempre que se desejar executar um comando imediato, ela o fará. Essa característica é especialmente útil para tarefas simples e objetivas como comandos para movimentação de motores ou para habilitar a leitura de um sensor.

A classe HID é limitada em 64 bytes por pacote e 1 pacote por milissegundo, o que não confere a ela uma velocidade muito alta de transmissão de dados (64kB/s), porém, percebeu-se durante o processo de desenvolvimento que esse fator não é limitante na aplicação em questão. Também pôde-se perceber durante o desenvolvimento que não houve pacotes perdidos, salvo em condições anômalas causadas por eventuais erros de programação. Por fim, vale a pena salientar que fez-se uso de bibliotecas de comunicação USB fornecidas com o compilador PCWHD Compiler, da CCS Inc [25], que oferece, juntamente do hardware, uma solução robusta de transmissão de dados, o que levou à menor exigência de mecanismos de segurança no protocolo implementado (como uso de redundâncias e verificação de integridade). Por parte do computador, o pacote *JEDI Visual Component Library* faz a comunicação através de um componente específico chamado JvHIDController, que faz o controle das rotinas de baixo nível da comunicação USB.

6.1 Software embarcado

O chamado *software embarcado* constitui um conjunto de rotinas e procedimentos programados na linguagem C com o auxílio do editor e compilador PCWHD Compiler, gravado e executado em um microcontrolador PIC18F4553 da fabricante Microchip. Sua função básica é controlar os dispositivos físicos do equipamento e comunicar-se com o computador.

No protocolo de comunicação desenvolvido, descrito detalhadamente no apêndice A, o microcontrolador fica sempre aguardando instruções do computador para executar as tarefas programadas. O microcontrolador desempenha as funções de controle dos motores de passo dos monocromadores, controle dos obturadores (*shutters*) internos à câmara de amostras e aquisição de dados dos contadores digitais (contador de fótons) e conversor A/D (amplificador *lock-in*). Para desempenhar essas funções, o software fica monitorando o recebimento de pacotes por USB e, ao receber um pacote, interpreta as funções que deve executar e os argumentos para cada função, como por exemplo, se o programa receber comando para mover algum motor dos monocromadores, fará uso também dos valores enviados para sentido de movimentação e número de passos. Escolheu-se não dotar o microcontrolador de muitas capacidades autônomas, deixando esse dependente (ou escravo) dos comandos enviados do computador.

Sua função principal *void main(void)* é responsável por:

- Definir as variáveis locais dessa função;

- Ajustar as configurações de hardware com definições dos pinos de entrada e saída, conversor analógico e estado de algumas saídas;
- Inicializar as funções de comunicação USB;
- Gerar um laço infinito para receber comandos do computador, interpretá-los e chamar as funções pertinentes para desempenhar as ações requeridas pelos comandos.

Dentro do laço infinito mencionado, a cada pacote de dados recebido, o microcontrolador quebra o pacote em várias partes, salvando cada parte em uma variável diferente. A partir daí, o comando enviado pelo computador fora traduzido para nomes mais intuitivos e pode ser decifrado com o uso de estruturas lógicas. Por exemplo, o trecho “*if(leitura_adc) acquire(2);*” interpreta o conteúdo do pacote salvo na variável *leitura_adc*, e usa seu valor como critério para chamar a função *acquire()* com o número 2 como argumento, executando assim a leitura do conversor AD (opção de medida número 2). Caso o argumento fosse 1, a leitura seria efetuada no contador de fótons (opção de medida número 1).

A função principal (ou *main*), faz o gerenciamento das atividades desempenhadas pelo microcontrolador. Existem além dela outras funções menores cujas funções são:

- Gerar sinais para movimentação dos monocromadores;

Os monocromadores possuem internamente um motor de passo, responsável pela movimentação do seu sistema mecânico, além de um circuito de *driver* para o motor, que solicita um comando de *clock* e outro de direção, para assim avançar ou regredir a rotação do motor. Essa função gera esses sinais de *clock* e direção.

- Fazer a aquisição de dados de diferentes sensores.

O software faz a leitura de sensores com resposta em frequência (contador de fótons e sensor de referência) e com sinal analógico (amplificador lock-in externo). Essa função recebe como argumento qual dos dois tipos de aquisição deve executar. No caso da aquisição de um sinal analógico, a rotina faz a leitura do conversor analógico interno do microcontrolador. Caso contrário, o microcontrolador chama outra função que faz o gerenciamento dos contadores e depois lê o valor de contagem acumulado.

- Gerenciar o funcionamento dos contadores (contador de fotons);

Os contadores requerem alguns sinais elétricos e instruções para seu gerenciamento. Os contadores digitais são inicialmente zerados, depois habilita-se os contadores durante o tempo de integração, desabilita-se a contagem e por fim se transfere o valor acumulado nos contadores. O microcontrolador possui contadores internos, e esses contadores também são utilizados, estendendo o valor máximo de contagem para 32 bits.

- Criar tempo de espera em software (*delay*);

Essa função é chamada para criar os tempos de *gate* ou integração para o contador de fótons.

A cada tarefa realizada, o microcontrolador retorna ao computador um pacote de resposta. Essa resposta, além de certificar o perfeito funcionamento do equipamento, carrega informações sobre a condição em que se encontram os monocromadores, já que esses possuem, por exemplo, sensores de fim de curso, além das informações requeridas, como a leitura de sinal.

6.2 Software (PC)

O chamado *software (PC)* é um programa executável para plataforma Windows, compilado em linguagem *Delphi* com auxílio do software *Borland Delphi 7* [26] e diversos pacotes, destacando o pacote de código livre intitulado *JEDI Visual Component Library* [27] e o pacote *SDL (Software Development Lohninger)* [28] produzido pela empresa *Lohninger*. O uso desse ambiente de programação propicia interface gráfica com o usuário e diversos recursos listados nesse tópico. O presente *software* fora instalado em um computador com arquitetura IBM PC e sistema operacional Windows XP, com um monitor, mouse e teclado, conectado através de uma porta USB ao microcontrolador, integrando juntamente com o fluorímetro e circuitos construídos, uma estação de trabalho para operar o equipamento. A interface visual do software fora desenhada de modo similar aos softwares comerciais existentes, de modo a facilitar sua operação para usuários com experiência anterior e oferecer as ferramentas sabidamente necessárias. Apesar de programado em uma linguagem robusta e para uma plataforma popular, o software não foi confeccionado visando uma elevada compatibilidade de sistemas operacionais. Contudo, uma vez configurado corretamente, testou-se o software em duas distribuições diferentes do Windows para três diferentes computadores, apresentando funcionamento adequado.

O Delphi é uma linguagem orientada a objetos, mais especificamente, o compilador contém um ambiente gráfico integrado a um código fonte escrito em *object pascal*. Isso faz com que a compreensão do código fonte necessite dos elementos gráficos. O código fonte da aplicação está disposto no anexo digital que acompanha esse trabalho. A interface com o usuário deve prover todos os recursos necessários para manipulação automática do fluorímetro, bem como ferramentas para análise e tratamento dos dados obtidos nos experimentos. A seguir serão exibidas e comentadas as principais ferramentas e funções do software.

A figura 6.1 mostra a tela inicial do aplicativo. O layout da janela tem uma barra de menu à esquerda com várias abas. São elas:

- Conexão
- Configurações
- Posicionar

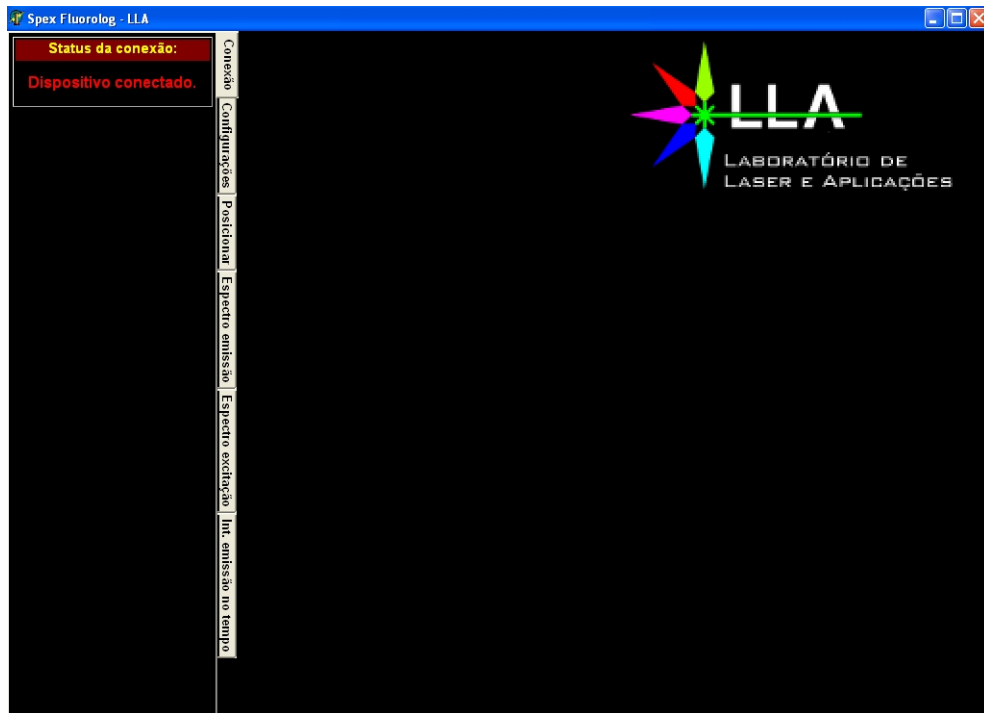


Figura 6.1: Tela inicial (status do dispositivo)

- Espectro emissão
- Espectro excitação
- Esp. emissão no tempo

A tela inicial tem selecionado a aba conexão. A função dessa aba é mostrar o status de conexão do dispositivo USB no computador. Na tela disposta na porção direita da janela, são posicionados quaisquer elementos necessários à aba selecionada, como janelas de gráficos, por exemplo. Na posição atual há somente o logo do Laboratório de Lasers e Aplicações e um fundo preto. O esquema de cores foi escolhido a fim de exercer uma perturbação mínima aos equipamentos do laboratório, por isso o fundo preto (menor emissão luminosa no ambiente). Uma vez conectado o dispositivo USB, o campo “Status de conexão:” exibe a mensagem “Dispositivo conectado.” e passa automaticamente para a próxima aba (configurações).

A figura 6.2 contém a próxima aba, “Configurações”. Com essa aba selecionada, são exibidos diferentes campos para configuração do equipamento. O campo “Modo de aquisição” diz respeito a como os dados serão captados. O fluorímetro possui dois monocromadores de detecção que são intercambiáveis na montagem experimental (ver capítulo 3). Um deles possui grades de difração adequadas para observação de espectros de luz visível, o outro para a região de infra-vermelho próximo. A primeira opção de configuração deve ser qual dos dois monocromadores está atracado ao fluorímetro (luz visível ou infra-vermelho). A segunda configuração “Fonte de dados” indica qual deve ser a técnica de aquisição ativa: contagem de fótons ou conversor AD (ligado a um amplificador *lock-in* externo). Se o monocromador de detecção possuir uma célula fotomultiplicadora, o contador de fótons é mais adequado, mas para foto-detectores

(Si, Ge, InGaAs), o ideal é que se use um amplificador *lock-in* externo, e portanto, faz-se necessário o uso do conversor AD. O próximo campo é a posição atual dos monocromadores de excitação e detecção. Os monocromadores são dotados de relógios mecânicos informando a posição em nanômetros com resolução de 0,1nm. O valor da posição atual deve ser informado a cada vez que o software é inicializado, caso contrário, todas as abas ficam bloqueadas. O usuário só pode iniciar o uso do programa depois de inserir um valor válido nos campos de texto e pressionar o botão OK abaixo. Vale ressaltar que todos os campos de texto utilizados aceitam somente entradas de texto pertinentes. Dessa forma, os campos para números inteiros só aceitam números, de números fracionários só aceitam números e o divisor decimal, e assim por diante.

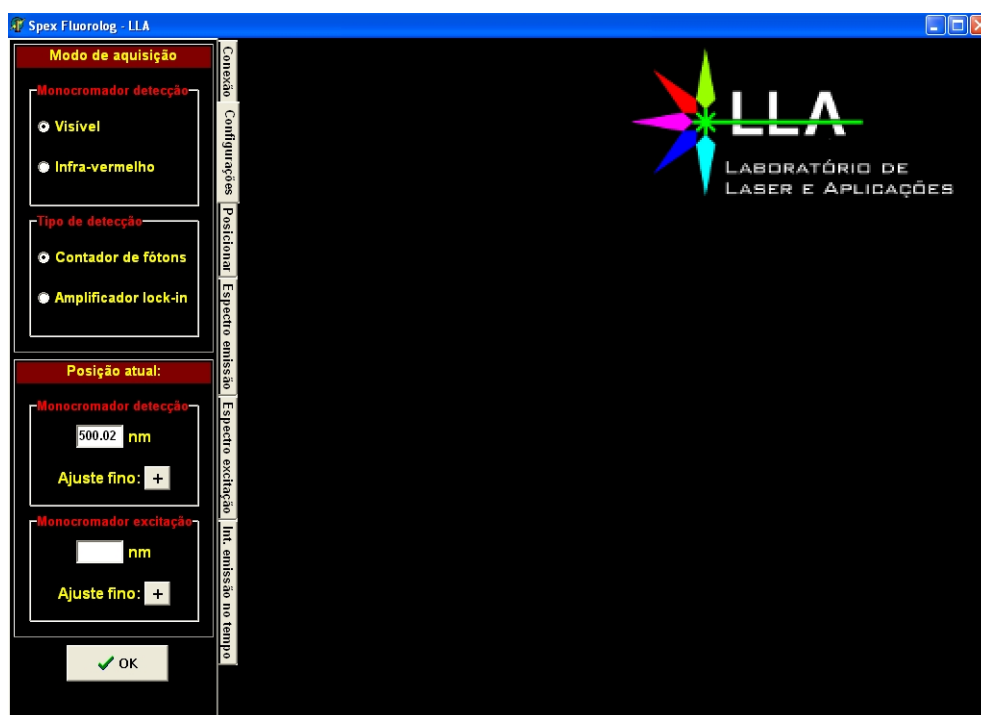


Figura 6.2: Aba de configurações

A próxima aba do software, chamada “Posicionamento”, contém as informações mostradas na figura 6.3. Na janela foram dispostas caixas de texto para ajustar a posição dos monocromadores, enquanto o valor lido no sensor de detecção e também no sensor de referência (veja capítulo 5) são exibidos na tela a cada 500ms. Essa ferramenta permite a leitura dos sensores em tempo real e, dessa forma, proporciona ao operador um diagnóstico de funcionamento de todo o sistema, além de um auxílio para posicionar amostras no fluorímetro. Na montagem experimental, a amostra deve estar bem posicionada, no foco da luz incidente para obter maior sinal no sensor. Desse modo, o usuário pode ajustar o melhor posicionamento da amostra, procurando por um valor de máximo na leitura dos sensores.

Depois de ter o fluorímetro configurado, o software oferece três opções de modos de operação: espectro de emissão, espectro de excitação e intensidade de emissão no tempo. Os três modos têm aparência semelhante, com as configurações necessárias à esquerda e a janela grá-

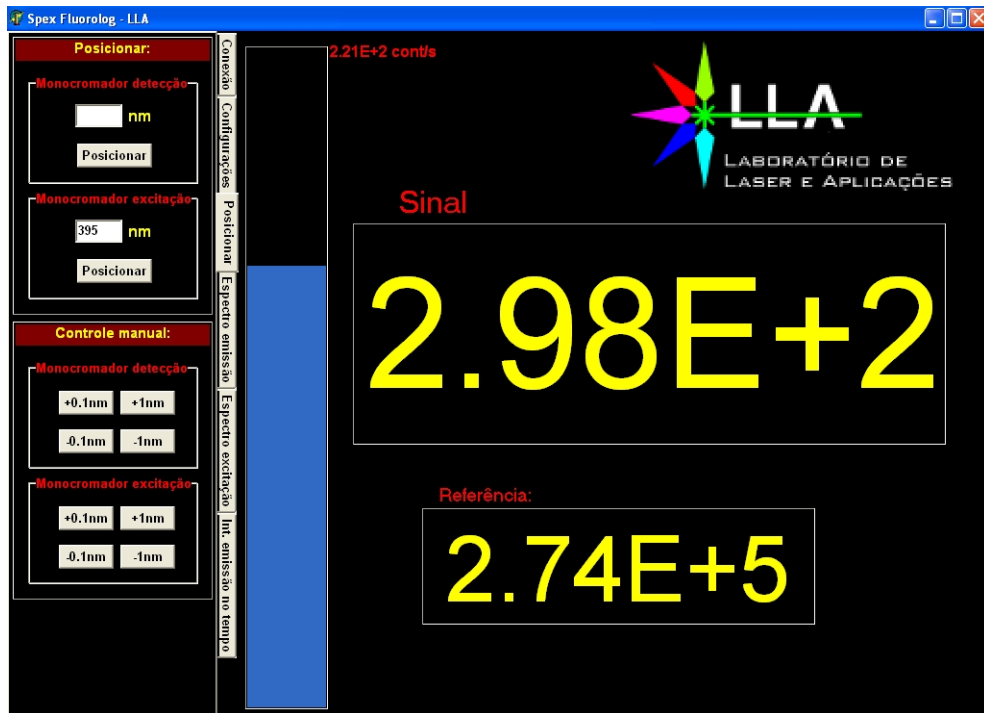


Figura 6.3: Aba de posicionamento

fica à direita. A figura 6.4 mostra o primeiro modo de operação, o espectro de emissão. Nessa modalidade, o monocromador de excitação permanece em uma posição fixa determinada e o monocromador de detecção faz uma varredura. Dessa forma, o espectro obtido mostra a decomposição da luz emitida pela amostra quando excitada pelo comprimento de onda fixado no monocromador de excitação. Nesse modo, os gráficos gerados são também chamados de espectro de luminescência (ver figura 6.4). Por exemplo, uma excitação com uma faixa estreita de luz ultra-violeta pode fazer com que a amostra emita diferentes cores do espectro visível, gerando uma “assinatura” característica dos elementos componentes da amostra, pois sistema atômico absorve energia da luz incidente, transitando para um nível de maior energia e, quando retorna ao nível mais estável, emite fótons em um comprimento de onda característico dessa transição, o que leva à formação de picos no gráfico nos comprimentos de onda característicos das transições eletrônicas dos elementos constituintes da amostra. O software oferece a opção de “usar correção”. Esse é um artifício, no qual o valor obtido pela leitura do sensor posicionado no monocromador de detecção é dividido pela leitura do sensor de referência posicionado antes da amostra, eliminando erros causados por eventuais variações na intensidade de luz incidente ao longo do tempo (variações na potência da lâmpada).

O espectro mostrado na área gráfica da figura 6.4 foi obtido de uma amostra de água tônica excitada em 350nm. A água tônica exibe fluorescência devido à presença de quinina em sua composição, a mesma substância estudada por Stokes (ver capítulo 1). Pode-se perceber pelo espectro que visivelmente a luz emitida pela amostra tem a coloração azulada (pico próximo de 440nm), mesmo sendo iluminada na região do ultravioleta, como percebido por Stokes.

As opções para os modos de espectro de emissão e excitação são muito semelhantes, são

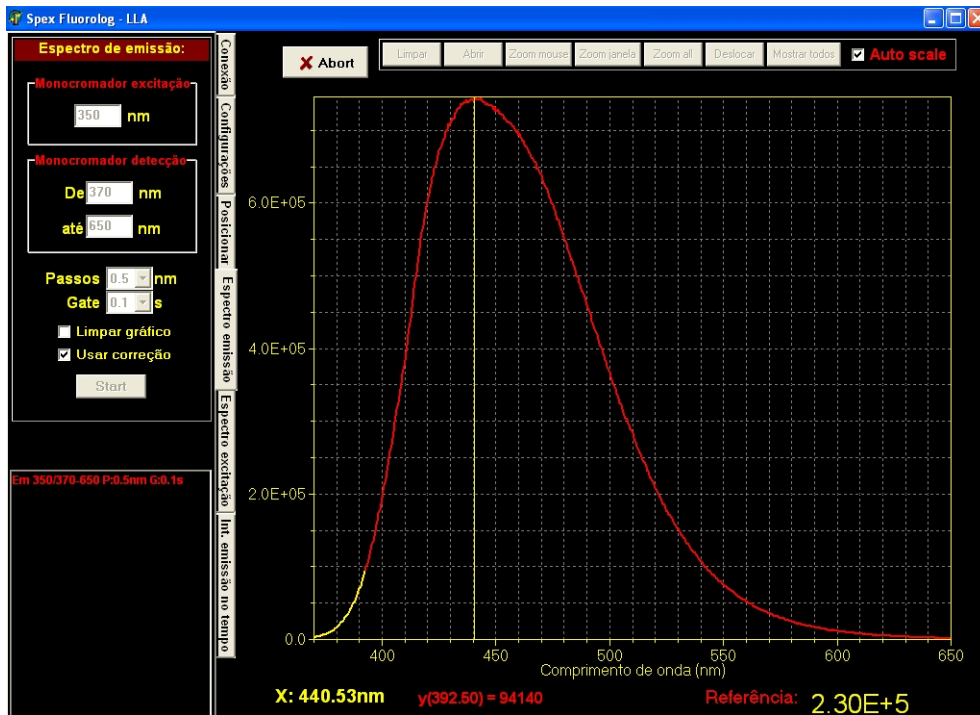


Figura 6.4: Aba de espectro de emissão

elas: a posição e faixa de varredura dos monocromadores de excitação e detecção, o passo entre cada amostragem da varredura, o tempo de gate (ou número de médias caso de usar o conversor AD), a opção de limpar a área do gráfico para a nova medida e aplicar correção, além do botão “Start” que inicia o processo de medida. Para normalizar dados com diferentes tempos de gate, o valor obtido é dividido pelo tempo de exposição (ou número de médias), havendo alteração somente na relação sinal ruído da leitura.

O segundo modo de operação gera espectros de excitação. A aba “Espectro de excitação” mostrada na figura 6.5 desenha esse tipo de espectro. De modo similar à aba do espectro de emissão, o usuário deve indicar a posição do monocromador de detecção que permanecerá estático e a faixa de varredura do monocromador de excitação. Com o monocromador de detecção parado, o sensor permanece “observando” uma determinada transição eletrônica, varrendo a excitação para encontrar qual o melhor comprimento de onda para excitar essa transição específica. A correção pelo sensor de referência imprescindível nesse caso, já que a intensidade de luz incidente na amostra dependerá não só da variação de potência luminosa da lâmpada no tempo, mas também do próprio espectro emitido pela lâmpada de xenônio. O espectro exibido na figura 6.5 pertence à mesma amostra de água tônica da figura 6.4 e é observado em 590nm, onde a amostra já apresenta pouca sensibilidade. A figura nos leva à conclusão de que a transição eletrônica que gera a emissão em 590nm, tem maior intensidade com um bombeio em 360nm.

A última aba do programa tem a função de medir a intensidade de emissão para um determinado comprimento de onda no tempo. A figura 6.6 mostra a aba em questão ativa. O fluorímetro possui internamente alguns dispositivos chamados *shutters* que são controlados eletricamente e bloqueiam ou permitem a passagem de luz dentro da câmara de amostras. A principal fun-

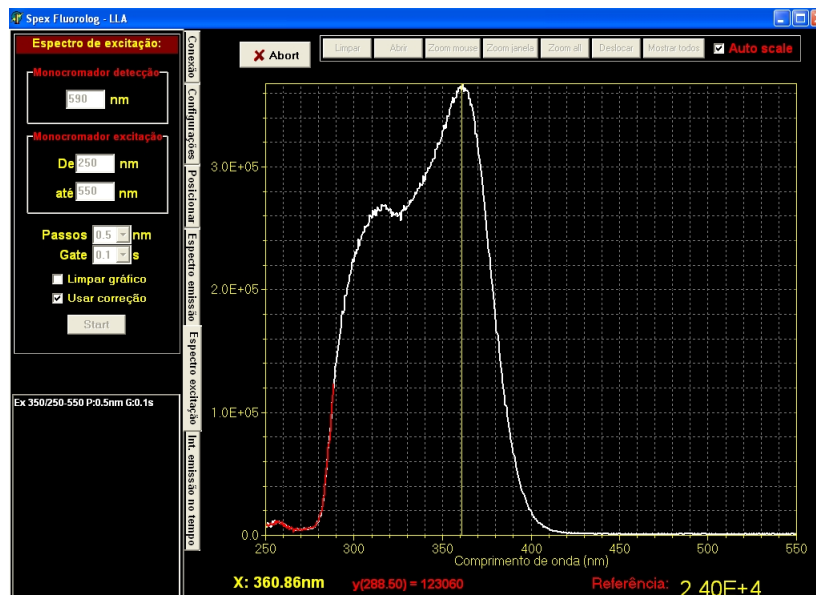


Figura 6.5: Aba de espectro de excitação

ção desses *shutters* é de proteger o operador, a amostra e/ou o sensor de exposição luminosa excessiva. Algumas amostras possuem a propriedade de fosforescência, um caso particular de fotoluminescência, podendo emitir um sinal luminoso por um tempo prolongado (consegue-se medir horas de emissão luminosa). Assumindo o controle dos *shutters*, pode-se controlar o tempo de excitação de uma amostra e posteriormente medir a luminescência da amostra ao longo do tempo. A amostra utilizada para obter o gráfico exibido na figura 6.6 é o fósforo dopado com európio $\text{MgAl}_2\text{O}_4:\text{Eu}$ que exibe o fenômeno de fosforescência, emitindo luz por minutos.

As opções de configuração são as posições dos monocromadores para excitação e posterior detecção, o tempo entre amostragem (taxa de amostragem), a duração de cada amostragem e o número de medidas. Há ainda, além do botão de “Start”, um novo botão de exposição. Uma vez determinado o número de medidas e o tempo entre medidas, o programa calcula quanto tempo levará para construir todo o gráfico. Depois de acionar o botão de exposição, o programa envia um comando por USB para abrir o *shutter* de excitação e dispara um cronômetro (exibindo a contagem no próprio botão). Quando o operador achar por bem começar a aquisição, deve acionar o botão de start. A partir de então, o *shutter* de excitação é fechado, cessando o processo de excitação da amostra, e o *shutter* de detecção é aberto, iniciando o processo de medida.

O gráfico para esse tipo de medida tem configuração monolog, ou seja, tem o eixo das abscissas em escala linear e o eixo das ordenadas em escala logarítmica, para melhor visualizar o comportamento de decaimento ao longo do tempo.

O software foi dotado de ferramentas para manipulação das janelas de gráfico, gerenciamento de arquivos e tratamento matemático das curvas obtidas. Na porção direita das figuras 6.4, 6.5 e 6.6, estão dispostos a área de plotagem dos gráficos, uma barra de opções de gráfico e caixas de texto com informações das medidas. Durante o processo de aquisição de dados,

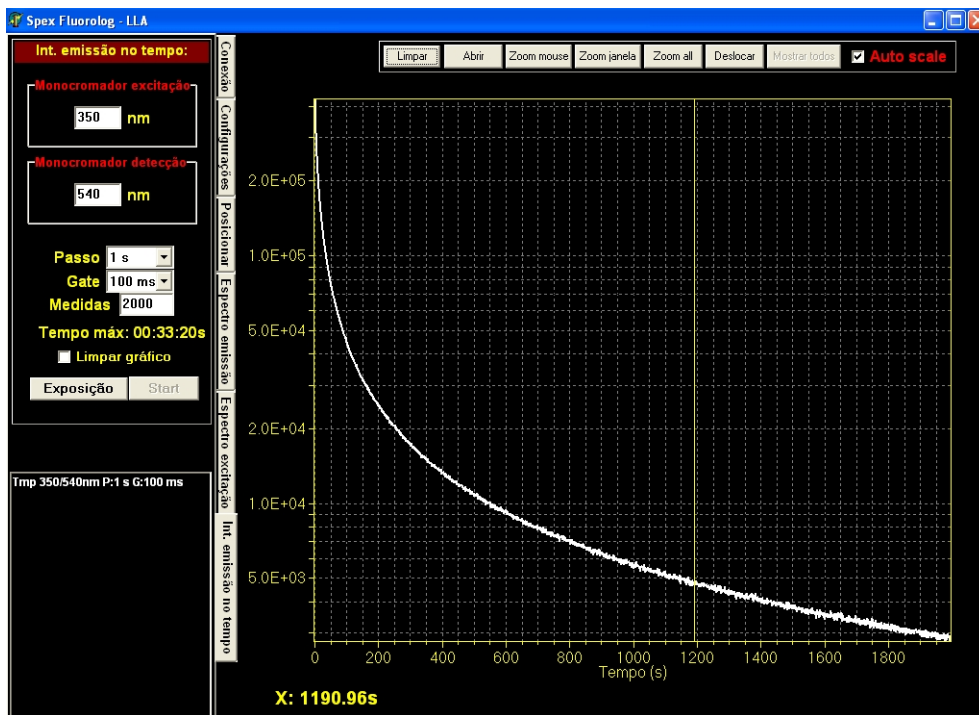


Figura 6.6: Aba de espectro de emissão no tempo

diversos botões e ações do programa são bloqueados para não interferir no processo acidentalmente e tornam-se visíveis um botão para abortar o processo, o valor da coordenada do último ponto desenhado e uma caixa de texto com a posição de uma régua que acompanha o mouse quando esse circula sobre o gráfico. O gráfico é parte da biblioteca de componentes SDL que contém diversas ferramentas para *softwares* científicos. A barra de opções do gráfico contém os botões “limpar”, “abrir”, “zoom mouse”, “zoom janela”, “zoom all”, “deslocar” e “mostrar todos” além da opção de “auto scale”. “Limpar” apaga o gráfico e os registros dos dados ativos; “abrir” abre uma janela de diálogo e depois insere dados salvos anteriormente em arquivo; “zoom mouse”, “zoom janela” e “zoom all” são opções dinâmicas de zoom; “deslocar” arrasta os dados na janela; “mostrar todos” desenha todos os pontos de dados ativos e “auto scale” efetua um zoom automático a cada ponto desenhado no gráfico (pode reduzir performance do programa). A cada nova varredura feita, os dados são plotados em uma cor diferente, os dados coletados são armazenados e um título é adicionado no índice de dados ativos (caixa posicionada abaixo do botão “Start”, no canto esquerdo inferior da janela). O título tem a mesma cor do traçado do gráfico equivalente e exibe as configurações do equipamento para aquela curva. Quando o usuário clica com o mouse em um dos elementos do índice, o traçado correspondente é mostrado isoladamente no gráfico e um menu popup surge na tela com as opções de salvar dados, exportar dados e aplicar B-spline. A opção salvar difere da opção de exportar dados, pois a primeira, juntamente com os dados numéricos, também salva um cabeçalho com dados do equipamento na ocasião da medida. A função de aplicar B-spline cria uma curva do tipo spline amortecida interpolando a curva selecionada sendo um artifício para suavizar os dados obtidos. Nesse processo de interpolação, o software calcula uma curva com 400 vezes o número de pontos da original, usando um algoritmo de amortecimento, ou seja, a nova curva não

precisa necessariamente conter os pontos da anterior no seu traçado, somente uma tendência a encontrar esses pontos, assim como é mostrado na figura 6.7. Outros tipos de filtros e suavizações foram testados, tendo esse o melhor resultado. O programa utiliza diversos fatores e dados estatísticos para calcular a suavização ideal para a curva, contudo, nem sempre o valor calculado se mostrou satisfatório. Portanto, é disponibilizada uma escala para que o usuário ajuste manualmente o melhor fator de amortecimento para a curva, evitando assim filtrar dados importantes e/ou criar valores falsos. Nas curvas obtidas para os diversos espectros de emissão, por vezes o sinal é excessivamente ruidoso, necessitando de uma filtragem para isolar somente os picos de emissão. A interpolação spline amortecida mostrou ser eficiente nessa filtragem, suavizando os ruídos sem descaracterizar os picos de emissão.

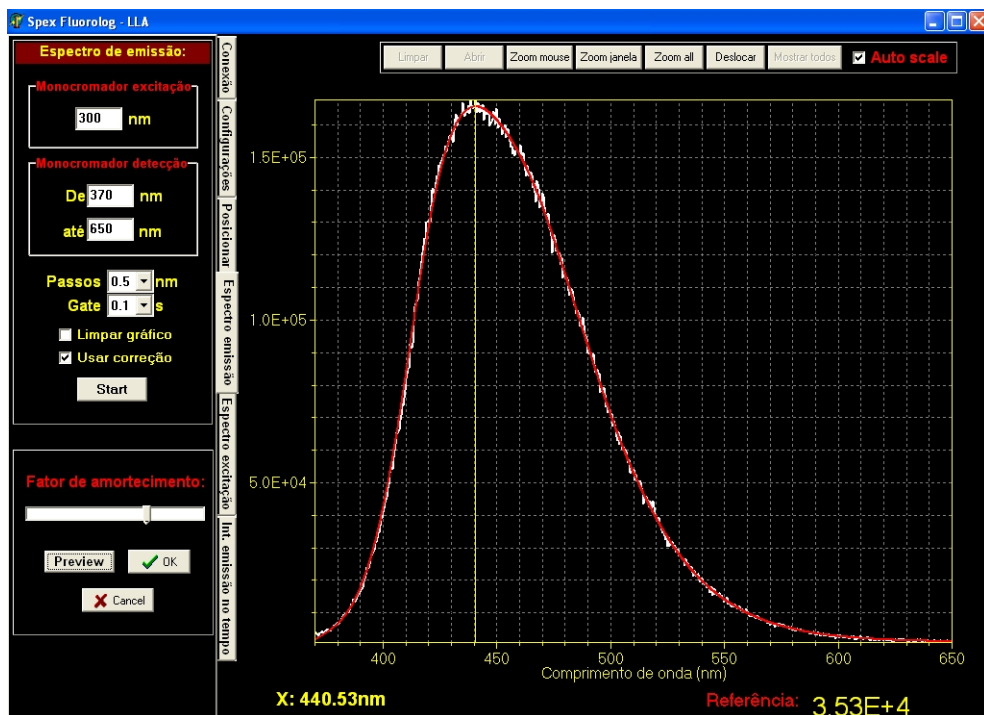


Figura 6.7: Suavização da curva utilizando spline amortecida

O software implementado funcionou em comunhão com o hardware e foi severamente testado se mostrando amigável e de fácil utilização. As imperfeições que surgiram com o uso foram corrigidas tornando-se cada vez menos frequentes. O software executável, bem como seu código fonte, estão anexos no material digital que acompanha esse trabalho.

7 *Resultados e medidas*

Para atestar o perfeito funcionamento do fluorímetro, realizamos medidas de luminescência, excitação e medidas do espectro Raman em sistemas conhecidos. O objetivo principal da realização das mesmas foi de avaliar as características do sistema de aquisição de dados: linearidade, relação sinal-ruído e sensibilidade. Para tanto, utilizou-se o composto tenoiltrifluoroacetato de európio(III) [Eu(TTA)3(H2O)3], aqui chamado TTA:Eu por simplicidade, um conhecido marcador fluorescente contendo o íon trivalente de terra-rara Eu^{3+} [29]. Foram realizadas também medidas de espalhamento Raman em água e acetona [30].

Um sistema atômico tem níveis de energia característicos e podem ser representados por um diagrama de níveis. A figura 7.1 mostra o diagrama simplificado dos níveis de energia do íon Eu^{3+} . O európio possui outros níveis que, por simplicidade, foram omitidos para ilustrar mais especificamente os dados observados.

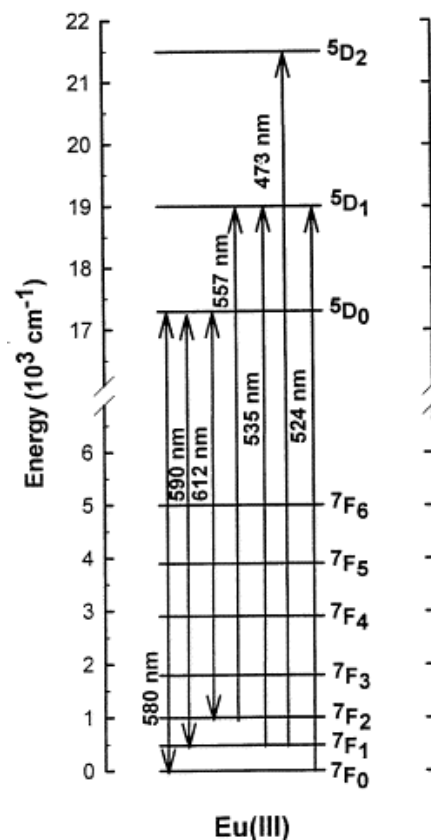


Figura 7.1: Diagrama de níveis de energia do Eu^{3+}

Quando fótons de alta energia (350nm) incidem sobre a amostra, o íon európio absorve essa

energia e elétrons inicialmente no estado 7F_0 transicionam para um estado excitado correspondente. Levado algum tempo, o sistema relaxa para estados de mais baixa energia, e a partir destes níveis podem ocorrer as emissões característica do íon Eu^{+3} , como mostrado na figura 7.2. Os três grupos de raias observadas no espectro têm energia característica das transições do estado 5D_0 para os estados ${}^7F_{2,1,0}$, como mostra a figura 7.2. Os espectros obtidos estão em perfeita concordância com os mostrados na literatura, tanto em comprimento de onda como em intensidade [29].

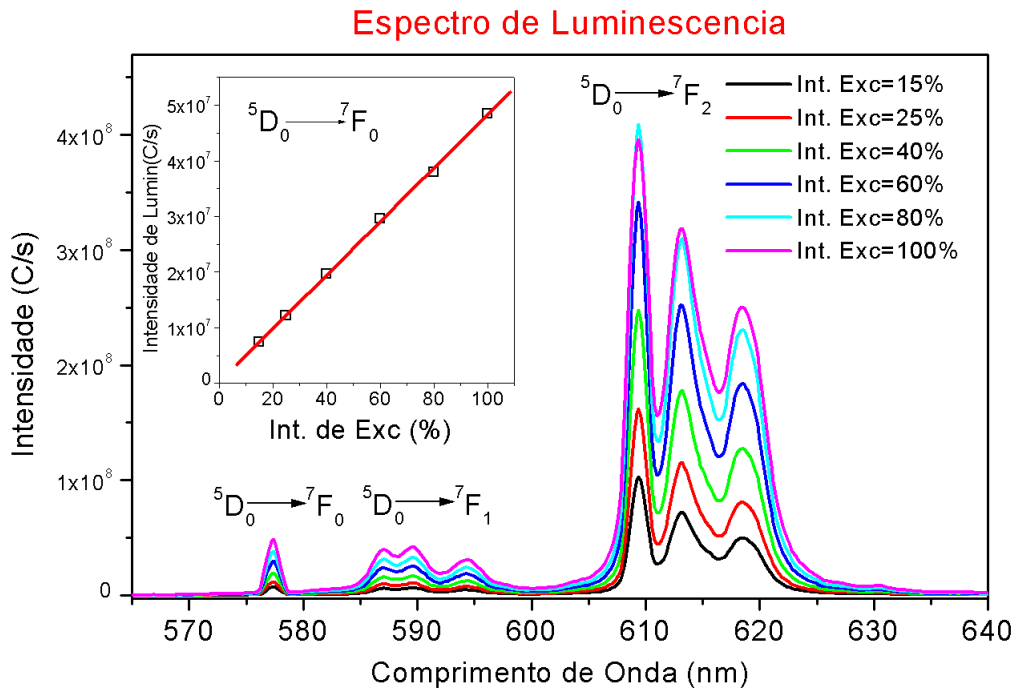


Figura 7.2: (a) Espectro de luminescência de amostra de TTA:Eu

Pode-se observar três picos na região de 612nm produzidos na transição ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_2$ (na realidade são cinco picos, com alguns sobrepostos), três picos na região de 590nm, produzidos na transição ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_1$, e ainda um último pico na região de 580nm produzido na transição ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_0$. Os dados experimentais exibem mais de um pico nas posições correspondentes aos níveis de energia mostrados no diagrama da figura 7.1. Isso se deve ao levantamento da degenerescência dos níveis de energia pelo campo cristalino.

No *inset* da figura 7.2 mostramos a relação linear entre a intensidade de luz da fonte luminosa e o sinal lido no sensor. Para tanto, a intensidade da fonte de excitação foi variada através da inserção de filtros neutros (filtros de transmissão variável), permitindo a passagem de 15, 25, 40, 60, 80 e 100% da intensidade da fonte de excitação. Pode-se notar que a intensidade luminosa medida no pico da transição ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_0$ mantém uma proporção constante com o aumento da intensidade de excitação. A linearidade do sistema de detecção é importante para manter sempre a relação correta entre a intensidade luminosa de emissões de diferentes transições eletrônicas. Como a relação mostrada é linear, podemos concluir que o sistema de

detecção também o é, pois caso contrário haveriam desvios nessa reta.

Entretanto, uma análise mais apurada das curvas revela que tal linearidade não é observada para a transição ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_2$. Nesse caso, o pico de emissão tem uma intensidade muito maior que as outras transições, provocando uma saturação no sensor. Essa situação foi provocada propositalmente a fim de mostrar que o detector utilizado nesse caso (tubo fotomultiplicador) só deve ser usado para sinais de baixa intensidade luminosa.

A figura 7.3 mostra outra característica desejada do fluorímetro: boa relação sinal-ruído. Para avaliarmos essa característica foram realizadas medidas de luminescência na faixa de 570 a 600nm da amostra de TTA:Eu, região essa que possui os picos de menor intensidade observados. Inicialmente, temos no gráfico (a) o espectro original com 100% de intensidade luminosa utilizando *gate* de integração de 100ms, ou seja, cada ponto da curva foi obtido depois de uma exposição do sensor por 100ms. Posteriormente, utilizou-se um filtro que permite a passagem de apenas 1% da intensidade luminosa de excitação, esse filtro foi mantido para a obtenção das demais curvas. Mantendo-se o tempo de integração em 100ms (b), o sinal detectado apresenta uma baixa relação sinal-ruído, não permitindo a visualização inequívoca de todos os picos. Porém, quando se estende esse tempo de *gate* para 1s (c), percebe-se que o sinal fica mais evidente em relação ao ruído. Isso se deve ao fato de que as fontes de ruído são aleatórias (ruído branco) e, como tais, são atenuadas quando se toma médias das medidas. Aumentar o tempo de exposição é um processo semelhante à calcular médias do sinal. Em um tempo de integração 100 vezes maior (d), o sinal que foi atenuado também em 100 vezes já exhibe as mesmas características do original. Para ficar mais clara a comparação entre os espectros, os mesmos foram sempre normalizados.

Outra forma de investigar as relações entre os níveis de energia de um sistema atômico é através dos espectros de excitação. A figura 7.4 mostra um espectro de excitação do TTA:Eu. Tal espectro é obtido variando-se o comprimento de onda de excitação sobre a amostra, enquanto se observa a emissão luminosa em uma determinada faixa de comprimento de onda. O espectro exhibe a intensidade luminosa emitida pela amostra no comprimento de onda 618nm (transição ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_2$, veja figura 7.2), enquanto bombeia na faixa de 510 a 600nm.

Quando o comprimento de onda de excitação está na região de 530nm, ocorre absorção na transição ${}^7F_0 \rightarrow {}^5D_1$ que tem essa energia característica, resultando em um conjunto de picos. Esse espectro é semelhante ao espectro de absorção discutido no capítulo 2, pois mostra picos onde existe absorção de energia. A segunda transição observada é ${}^7F_0 \rightarrow {}^5D_0$ que tem uma menor probabilidade de ocorrência que a primeira (menor amplitude do pico) e, por fim, observa-se uma nova sucessão de picos de menor energia com comprimento característico da transição ${}^7F_1 \rightarrow {}^5D_0$. Esta transição só é revelada no espectro de excitação devido à amostra estar em temperatura ambiente, isto é, o nível 7F_1 estar termicamente populado. Caso a amostra fosse resfriada, o nível ficaria despovoado, não havendo a absorção nesse nível de energia e, portanto, nada se observaria na emissão em 618nm. Esse gráfico mostra que, para obter uma maior emissão no comprimento de onda 618nm, o bombeio deve ser feito no pico da região de

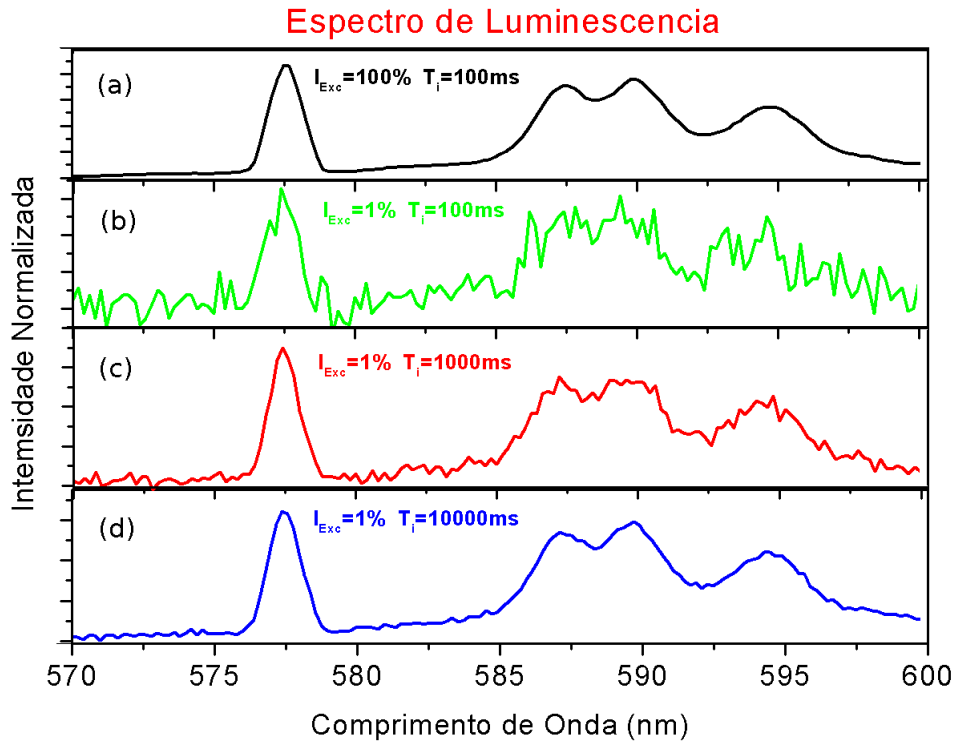


Figura 7.3: Espectro de luminescência do TTA:Eu com: (a) 100% de excitação e 100ms de gate; (b) 1% de excitação e 100ms de gate; (c) 1s de gate; (d) 10s de gate

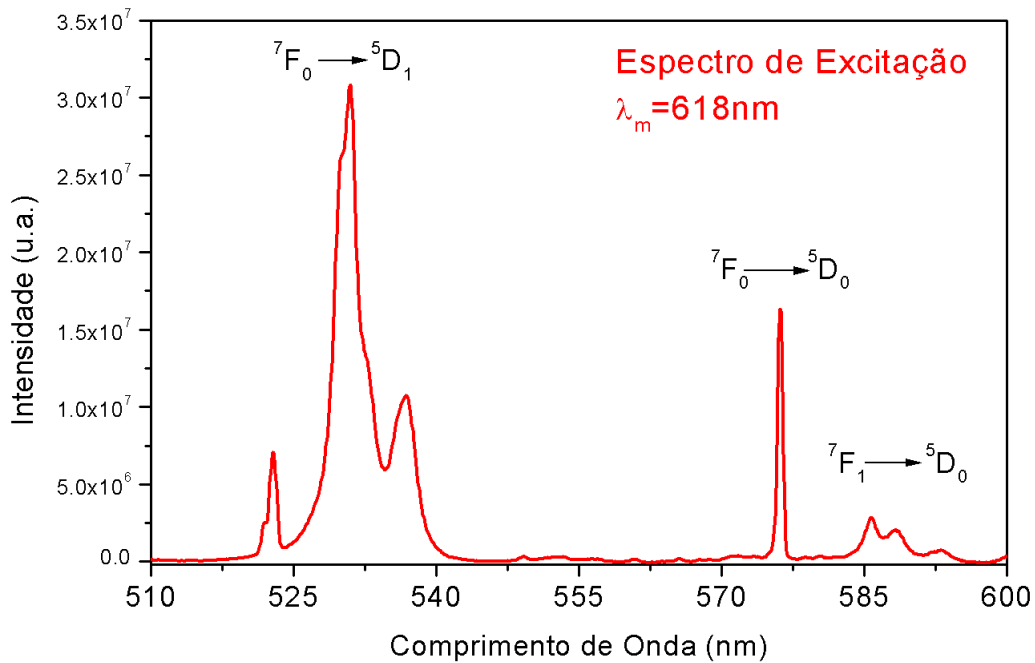


Figura 7.4: Espectro de excitação do TTA:Eu

530nm.

Por fim, é preciso atestar a sensibilidade do sistema de aquisição de dados desenvolvido

e, para tal, foram realizadas medidas do espectro Raman em água e acetona. Na obtenção do espectro Raman, uma amostra é irradiada com uma luz monocromática. Parte dessa radiação pode ser espalhada de modo elástico e inelástico. No espalhamento elástico, a luz incidente é espalhada sem sofrer alteração em seu comprimento de onda. Já no espalhamento inelástico, parte da energia do feixe incidente pode ser capturada pelo sistema atômico espalhador, conferindo ao feixe espalhado menor energia (espalhamento Stokes). Neste caso, a diferença de energia entre o feixe incidente e o feixe espalhado é justamente a energia capturada pelo sistema atômico espalhador. Portanto, o feixe espalhado carrega informações sobre o sistema atômico espalhador, por exemplo informações energéticas dos níveis vibracionais.

Uma das potencialidades da espectroscopia Raman é a possibilidade de interrogar de maneira indireta os níveis vibracionais de um sistema atômico, isto é, pode-se analisar níveis vibracionais (localizados na região do infravermelho) através da utilização de fontes, detectores e óptica operante na região visível do espectro. Outra vantagem é o fato de conseguir interrogar um sistema atômico na região espectral onde o mesmo é completamente opaco.[30]

A espectroscopia Raman necessita de equipamentos muito sensíveis, já que a detecção ocorre próximo ao comprimento de onda do feixe incidente e com intensidade cerca de 10^{10} vezes menor [30]. A figura 7.5 mostra dois espectros Raman excitados com a lâmpada de xenônio (a) e com um laser de 405nm (b).

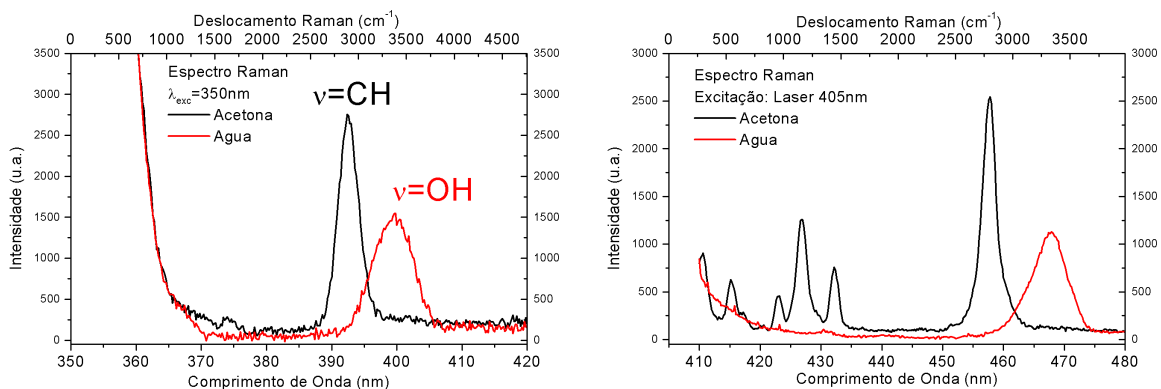


Figura 7.5: Espectro Raman (a) com excitação de lâmpada de xenônio e (b) com excitação de laser em 405nm

A escala superior dos gráficos da figura 7.5 indica a diferença de energia entre o feixe incidente e espalhado chamado “Deslocamento Raman”. Essa diferença de energia coincide com os níveis de energia vibracionais absorvidos pelo sistema.

A molécula de água possui um modo de estiramento simétrico localizado em torno de 3233cm^{-1} e outro antissimétrico localizado em aproximadamente 3393cm^{-1} , gerando o pico visualizado no gráfico. Existem ainda outros modos de vibração que não puderam ser observados.

Já a acetona (CH_3COCH_3) apresenta 24 modos vibração, todos eles compreendidos no intervalo observado na figura 7.5 (b). Os modos de estiramento estão localizados em 796, 1223,

1717, 2847, 2920, 2972 e 3004cm^{-1} , os modos oriundos das deformações da molécula estão localizados em 533, 1351, 1426 e em 2686cm^{-1} e os modos *Rocking* estão localizados em 905 e 1072cm^{-1} [30].

Como a probabilidade de ocorrência do espalhamento Raman é extremamente pequena, a intensidade da luz espalhada em um comprimento de onda diferente da fonte de luz é muito baixa. Com o fluorímetro foi possível observar com distinção os picos de espalhamento na região observada, demonstrando a alta sensibilidade do sistema de aquisição. Também com os espectros de luminescência mostrou-se que o sistema de detecção, além de sensibilidade, possui uma elevada linearidade e boa relação sinal-ruído.

8 *Conclusão*

Com os resultados obtidos, pode-se concluir que o equipamento opera perfeitamente e semelhante aos comerciais, e o sistema de aquisição de dados possui sensibilidade, linearidade e relação sinal-ruído desejados. A Horiba, atual fabricante da linha de fluorímetros Fluorolog, mostra em seu site na internet como comparar a sensibilidade de fluorímetros. O fabricante defende a técnica de utilizar a espectroscopia Raman da água e comparar diferentes fluorímetros.

Dessa forma, segundo o fabricante Horiba, as medidas de Raman em amostras de água atestam a qualidade do fluorímetro como um todo, do sensor utilizado, do amplificador rápido construído, do sistema de aquisição de dados e também do software desenvolvido. O valor agregado ao fluorímetro fez com que ele adquirisse um valor financeiro 40 vezes maior, partindo de uma sucata custando não mais que U\$2.500,00 e ao fim competindo com um equipamento novo de U\$100.000,00.

O software desenvolvido é intuitivo, robusto e de uso amigável, contendo as ferramentas necessárias ao operador. A eletrônica desenvolvida é confiável, robusta e com alta rejeição de ruídos externos, propiciando a obtenção de espectros limpos, mas ainda assim com alta sensibilidade e precisão.

Como melhoramentos futuros, algumas facilidades podem ser implementadas, como fazer uma detecção automática das configurações de cliente do sistema operacional Windows e suas configurações, criar um disco de instalação para o software desenvolvido, identificar automaticamente a posição dos monocromadores, controle automático de abertura das fendas e possibilidade de configurar o programa para prover portabilidade a diferentes fluorímetros, além da implementação de uma solução mais poderosa de microcontrolador para uma programação embarcada mais abrangente, eliminando a necessidade de um computador na montagem experimental.

Os circuitos elétricos desenvolvidos e construídos foram severamente testados em diversas condições de ambiente até que se obtivessem soluções confiáveis, robustas e reprodutivas. Várias placas foram confeccionadas e montadas para uso futuro no laboratório e, devido à característica generalista dos circuitos, esses podem ser utilizados para diversos fins em diversas montagens experimentais no futuro.

Por fim, vale salientar que o fluorímetro se tornou uma ferramenta de uso regular do laboratório, onde fora utilizado como instrumento de medida de espectros utilizados em vários artigos

científicos publicados em revistas internacionais [31][32][33][34][35].

Contíguo à formação acadêmica, esse trabalho fora fonte de conhecimentos diversos, tanto na área de Física quanto no tocante à eletrônica, técnicas de aquisição de sinal e, principalmente, na destreza necessária à resolução de problemas de origem prática, enriquecendo e complementando em muitos aspectos minha formação como engenheiro eletricitista.

Referências Bibliográficas

- [1] DE AZEVEDO, E. R.; NUNES, L. A. D. O. Construção de um espectrógrafo de projeção e sua utilização em demonstrações de espectroscopia óptica. *Química Nova*, v. 31, n. 8, p. 2199–2204, 2008.
- [2] MONARDES, N. *La historia medicinal de las cosas que se traen de nuestras indias occidentales (1565-1574)*. Madrid: Ministerio de Sanidad y Consumo, 1989.
- [3] SAHAGUN, B. *Historia general de las cosas de nueva espana*. City: Cambridge Univ Pr, 2011.
- [4] HERSCHEL, J. F. W. Formula No. I. On a Case of Superficial Colour Presented by a Homogeneous Liquid Internally Colourless. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, v. 135, n. 0, p. 143–145, Jan. 1845.
- [5] STOKES, G. G. On the Change of Refrangibility of Light. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, v. 142, n. 0, p. 463–562, Jan. 1852.
- [6] BELTRAMI, E.; BERNARDI, M. D.; FRONZA, G.; MELLERIO, G.; VIDARI, G.; VITA-FINZI, P. Coatline A and B, two C-glucosyl- α -hydroxydihydrochalcones from *Eysenhardtia polystachya*. *Phytochemistry*, v. 21, n. 12, p. 2931–2933, 1980.
- [7] SKOOG, D. *Princípios de análise instrumental*. Porto Alegre: Bookman, 2002.
- [8] LAMBDA 800/900 User's Guide, Oct. 2001.
- [9] ROCCO, D. L. *Estudo espectroscópico dos vidros sódio aluminofosfatos: Matrizes não dopadas e dopadas com Eu^{3+} e Nd^{3+}* . Oct. 2002. p. 93. Dissertação (Mestrado em Física) - IFSC, Instituto de Física de São Carlos, USP, Oct. 2002.
- [10] TERRA, I. A. A. *Estudos espectroscópicos de vidros sódio aluminofosfatos co-dopados com Yb^{3+} e Tm^{3+}* . Oct. 2007. Dissertação (Mestrado em Física) - IFSC, Instituto de Física de São Carlos, USP, Oct. 2007.
- [11] MARTINS, T. S.; ISOLANI, P. C. Terras raras: aplicações industriais e biológicas. *Química Nova*, v. 28, n. 1, p. 111–117, Feb. 2005.
- [12] BAROODY, E. M. A theory of secondary electron emission from metals. *Phys. Rev.*, v. 78, p. 780–787, Jun 1950.
- [13] PHOTOMULTIPLIER tube R928. Disponível em: <<http://www.hamamatsu.com/jp/en/R928.html>>. Acesso em: 29 out. 2013.
- [14] SIGNAL Recovery with PMTs: Application Note #4, Mar. 2012.
- [15] BALANCED Modulator/Demodulator AD630, June 2004.
- [16] LOCK-IN Amplifier SR810 and SR830. Disponível em: <<http://www.thinksrs.com/products/SR810830.htm>>. Acesso em: 29 out. 2013.

- [17] LOW noise, dual switched integrator ACF2101, Sept. 1994.
- [18] BOXCAR Averager SR200 Series. Disponível em: <<http://www.thinksrs.com/products/Boxcar.htm>>. Acesso em: 29 out. 2013.
- [19] PREAMPLIFIER SR445A. Disponível em: <<http://www.thinksrs.com/products/SR445A.htm>>. Acesso em: 29 out. 2013.
- [20] AMPLIFIER unit C5594. Disponível em: <<http://www.hamamatsu.com/eu/en/product/alpha/A/3049/C5594/index.html>>. Acesso em: 29 out. 2013.
- [21] BOYD, L. J. An Automated Photometer. *International Amateur-Professional Photoelectric Photometry Communication*, 1983.
- [22] UA733C differential video amplifier, Nov. 1970.
- [23] ULTRAPRECISION, Low Noise, 2.048V/2.500V/3.00V/5.00V XFET Voltage References, May 2001.
- [24] UNIVERSAL Serial Bus Specification, Apr. 2000.
- [25] PCW IDE Compiler for Microchip PIC PIC10, PIC12 and PIC16 M. Disponível em: <http://www.ccsinfo.com/product_info.php?products_id=PCW_full>. Acesso em: 29 out. 2013.
- [26] BORLAND Delphi 7 Enterprise. Disponível em: <<http://www.borland.com/>>. Acesso em: 29 out. 2013.
- [27] JEDI Visual Component Library. Disponível em: <<http://jvcl.delphi-jedi.org/>>. Acesso em: 29 out. 2013.
- [28] SOFTWARE Development Lohninger. Disponível em: <<http://www.lohninger.com/>>. Acesso em: 29 out. 2013.
- [29] LOURENÇO, A. V. S.; KODAIRA, C. A.; RAMOS-SANCHEZ, E. M.; FELINTO, M. C. F.; GOTO, H.; GIDLUND, M.; MALTA, O. L.; BRITO, H. F. Luminescent material based on the [Eu(TTA)₃(H₂O)₂] complex incorporated into modified silica particles for biological applications. *Journal of Inorganic Biochemistry*, v. 123, p. 11–17, 2013.
- [30] ASSIRATI, L.; TERRA, I. A. A.; NUNES, L. A. O. Utilização do sensor linear de luz ILX554 em espectroscopia óptica. *Química Nova*, v. 35, n. 1, p. 213–217, 2012.
- [31] BORRERO-GONZÁLEZ, L.; NUNES, L.; CARMO, J.; ASTRATH, F.; BAESSO, M. Spectroscopic studies and downconversion luminescence in OH-free Pr³⁺-Yb³⁺ co-doped low-silica calcium aluminosilicate glasses. *Journal of Luminescence*, v. 145, p. 615–619, 2014.
- [32] TERRA, I. A. A.; BORRERO-GONZÁLEZ, L. J.; CARVALHO, J. M.; TERRILE, M. C.; FELINTO, M. C. F. C.; BRITO, H. F.; NUNES, L. A. O. Spectroscopic properties and quantum cutting in Tb³⁺-Yb³⁺ co-doped ZrO₂ nanocrystals. *Journal of Applied Physics*, Woodbury, v. 113, n. 7, p. 073105, Feb. 2013.
- [33] BORRERO-GONZÁLEZ, L. J.; NUNES, L. A. O.; BIANCHI, G. S.; ASTRATH, F. B. G.; BAESSO, M. L. Near-infrared quantum cutting in OH-free Nd³⁺-Yb³⁺ co-doped low-silica calcium aluminosilicate glasses. *Journal of Applied Physics*, Woodbury, v. 114, n. 1, p. 013103, July 2013.

- [34] TERRA, I. A. A.; Borrero-González, L. J.; ALMEIDA, J. M. P.; HERNANDES, A. C.; MALTA, O. L.; NUNES, L. A. O. Near-infrared Quantum Cutting in Tb³⁺-Yb³⁺ Co-doped Calibo Glasses. In: . Washington, D.C.: OSA, c2012. p. FW3A.8.
- [35] BORRERO-GONZÁLEZ, L. J.; NUNES, L. A. O. Near-infrared quantum cutting through a three-step energy transfer process in Nd³⁺-Yb³⁺ co-doped fluoroindogallate glasses. *Journal of physics. Condensed matter : an Institute of Physics journal*, v. 24, n. 38, p. 385501, Sept. 2012.

APÊNDICE A – Protocolo de comunicação

O pacote enviado ao microcontrolador tem uma estrutura simples e bem definida, conforme esquematizado na figura A.1.

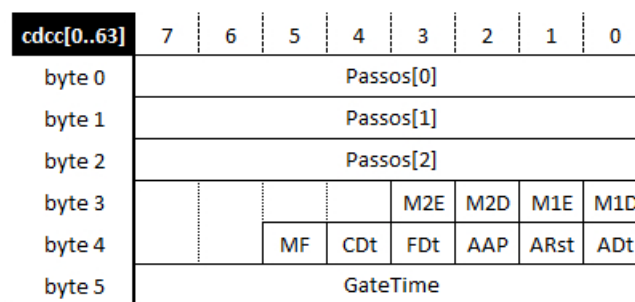


Figura A.1: Estrutura do pacote de dados enviado ao microcontrolador

A tabela A.1 descreve mais precisamente os comandos/dados enviados para o microcontrolador conforme exposto na figura A.1. Os bytes de 0 a 2 compõem um dado de 24 bits informando o número de passos que os motores devem deslocar (caso algum sinal de habilitação esteja ativo). O byte 3 é o controle dos motores, especificando direção e habilitação dos motores de passo (E=*Enable*, D=*Direction*). O byte 4 controla a aquisição de dados e interface serial do amplificador lock-in. O byte 5 especifica a largura da janela de aquisição de dados. O valor de "*GateTime*" depende do tipo de aquisição selecionado e corresponde a um índice de

Nome	Descrição
Passos[0..2]	Número de passos para movimentação dos motores de passo
M1D	Direção de movimento do motor 1
M1E	Sinal para habilitar movimento no motor 1
M2D	Direção de movimento do motor 2
M2E	Sinal para habilitar movimento no motor 2
ADt	Aquisição de dados com amplificador lock-in por RS-232
ARst	Reservado para comando por RS-232
AAP	Reservado para comando por RS-232
FDt	Aquisição de dados do contador de fótons (célula fotomultiplicadora)
CDt	Aquisição de dados do conversor analógico (saída do lock-in)
MF	Forçar movimentação dos motores (ignora sensores de fim de curso)
GateTime	Configura tempos de amostragem para aquisição de dados

Tabela A.1: Descrição dos comandos enviados ao microcontrolador

valores pré-definidos para cada tipo de aquisição. Todos os sinais lógicos são ativos em 1. A tabela A.2 mostra um exemplo de como podem ser enviados bytes ao microcontrolador para requisitar a leitura do contador de fótons com gate time de 500ms.

Byte	Valor	Função
0	0x00	Número qualquer de passos (LSB)
1	0x00	Número qualquer de passos
2	0x00	Número qualquer de passos (MSB)
3	0x00	Nenhum motor movimentado
4	0x04	Bit 4 (FDt) em nível alto
5	0x02	Delay de índice "2"(500ms)

Tabela A.2: Exemplo de comando para ler contador de fótons

A natureza da aplicação levou à criação de um protocolo para atender às necessidades que surgiram ao longo do desenvolvimento, não havendo, por exemplo, mecanismos de proteção contra comandos impróprios ou ilógicos, ficando a cargo do software de PC gerenciar os comandos enviados de forma inteligente, para evitar operações indevidas. Contudo, nenhuma combinação de caracteres poderia gerar um comando potencialmente danoso ao equipamento ou ao funcionamento da aplicação.

Como o *software* do computador recebe uma variedade maior de dados, sua estrutura do pacote recebido é um pouco mais complexa. A cada tarefa executada pelo dispositivo, há uma resposta enviada ao PC. Quando o dispositivo movimenta os motores dos monocromadores, envia um retorno com dados da movimentação, indicando a quantidade de passos movimentados efetivamente e possíveis problemas, como algum dos motores atingiu o fim de curso. Quando a tarefa é a leitura de algum sensor, a resposta contém dois valores de 32bits com a leitura dos sensores, junto de uma identificação do tipo de dado. Porém, apesar do *software* receber somente dois tipos diferentes de dados, o processamento que faz com eles depende de diversas condições. Por exemplo, se o *software* estiver produzindo um gráfico com um espectro de emissão, a cada leitura do sensor, o computador deve armazenar esse dado em um lugar específico na memória, colocar o ponto equivalente à leitura no gráfico, enviar um novo comando de movimento ao monocromador, etc. Existem diversas ramificações dentro da função que trata os dados recebidos para as diversas funcionalidades do *software* dependentes do dispositivo. Essas ramificações se fazem necessárias a cada funcionalidade adquirida pelo *software* e, portanto, constituem detalhes construtivos do *software* em si. Para informações mais detalhadas, o código fonte do *software* está disposto no anexo digital que acompanha esse trabalho.