

Danyellen Dheyniffer Monteiro Galindo

Estudo da dinâmica de interação soluto-solvente nas propriedades fotofísicas do perileno

Trabalho de Conclusão de Curso – Monografia apresentado ao curso de graduação em Física Computacional no Instituto de Física de São Carlos da Universidade de São Paulo, como requisito para obtenção do título de Bacharel em Física Computacional.

Orientador: Prof. Dr. Leonardo De Boni

São Carlos
31 de outubro de 2019

Sumário

1. Resumo	3
2. Introdução	3
3. Transições eletrônicas em moléculas.....	5
3.1. Absorção	5
3.2. Fluorescência.....	5
3.3. Fluorescência mediada via absorção simultânea de dois fótons	7
4. Materiais e Métodos	8
4.1. Absorção e emissão	8
4.2. Fluorescência resolvida no tempo – FRT	9
4.3. Fluorescência excitada via absorção simultânea de dois fótons.....	12
5. Resultados e Discussões	13
5.1. Espectros de Absorção e emissão de Fluorescência	13
5.2. Fluorescência resolvida no tempo – FRT	16
5.3. Fluorescência mediada via A2F	18
6. Conclusões e Considerações Finais	19
7. Referências	20

1. Resumo

Este trabalho teve como principal foco o estudo e a compreensão das características fotoquímicas e fotofísicas de uma molécula de perileno sintetizada pelo Grupo de Polímeros do IFSC. O estudo foi concentrado em boa parte na compreensão da dinâmica de relaxação do estado excitado em função da mistura binária de DMSO/água em diferentes proporções. Durante o período regente do projeto de TCC foram estudados e compreendidos conceitos relacionados à espectroscopia de absorção, emissão e relaxamento via emissão radiativa. Foi observado que o caráter prótico dos solventes influencia no deslocamento dos espectros de absorção e emissão. Uma dependência equivalente foi observada na medida de fluorescência resolvida no tempo para a molécula em função da proporção de solventes. Ainda, medidas de fluorescência induzidas por uma absorção simultânea de dois fótons foram feitas no intuito de se observar algum comportamento no campo da óptica não linear. Esses resultados indicaram que, embora a molécula apresente uma distribuição simétrica de cargas, a mesma apresenta uma certa probabilidade do primeiro estado excitado ser permitido pela absorção de dois fótons. Os resultados preliminares obtidos mostraram que a molécula tem alto potencial como corante fluorescente via absorção de um ou dois fótons, e o principal resultado é que a eficiência quântica de emissão é máxima na mistura do perileno na proporção 7:3 dos solventes DMSO/água, sendo esse valor da eficiência quântica de fluorescência de aproximadamente 40%. A molécula estudada é uma candidata em potencial para aplicações como uma sonda fluorescente para o mapeamento de tecidos biológicos.

2. Introdução

O surgimento de lasers pulsados com pulsos com largura temporal ultracurta tornou possível o desenvolvimento de técnicas de espectroscopia resolvida no tempo em que a resolução temporal pode ser aumentada fortemente, levando os pesquisadores a obterem respostas temporais na escala de picossegundos até nanossegundos. Essa evolução nas técnicas ópticas resolvidas no tempo permitiram o estudo de processos fotoquímicos e fotofísicos extremamente rápidos, conhecidos como processos rápidos ou ultrarrápidos, como, por exemplo, a quebra e a formação de ligações químicas induzidas por luz, transferência intramolecular de carga, transferência protônica no estado excitado do material, cruzamento intersistema e outros mais. O ramo relacionado ao estudo que leva a utilização de tais técnicas é uma área nova dentro da espectroscopia, esta estuda conceitos como transferência de energia, dinâmica estrutural das ligações químicas, e ligações de hidrogênio, fotodegradação, entre outros [1]. Ainda o efeito da interação do solvente em uma molécula orgânica

é assunto de grande interesse na área de ciência dos materiais, as propriedades fotofísicas dos materiais relacionadas ao relaxamento e a sua dependência com o meio, reorientação molecular e interação com o solvente, o que resulta em alterações no momento de dipolo elétrico e cruzamento intersistema, estão diretamente relacionadas às propriedades da matéria. A polaridade do solvente bem como as forças intermoleculares que ocorrem durante a mistura soluto-solvente influenciam nessa dinâmica alterando significativamente os espectros de absorção e emissão, além da eficiência quântica de fluorescência e a resposta temporal da fluorescência, podendo ser observadas à medida que se têm diferentes solventes, ou uma mistura de solventes para diferentes proporções [2].

O foco principal desse trabalho foi estudar as propriedades fotofísicas de uma molécula de perileno sintetizada pelo Grupo de Polímeros, essa molécula é nova e nenhuma propriedade fotofísica tinha sido obtida até o presente trabalho. Além disso, essa classe de moléculas (perilenos) são excelentes cromóforos devido a sua estrutura molecular composta por anéis aromáticos e, portanto, a relevância desse estudo mostra as relações de transferência de carga interna na molécula, e como essa vem a influenciar no processo de relaxação do estado excitado. Moléculas cromóforas por apresentarem grupos doadores e receptores de elétrons distintos, são denominados ICT's (*internal charge transfer*) e são base de sensores e outros dispositivos optomoleculares como por exemplo células fotovoltaicas, ou mesmo na determinação de diagnósticos médicos como o câncer, como apresentado na Fig.1.

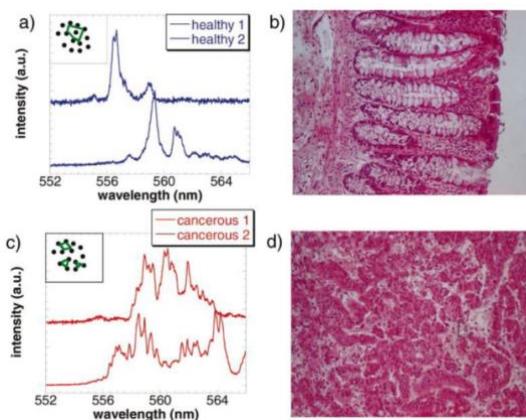


Figura 1 – Detecção de câncer em um tecido humano pela técnica de random laser utilizando o corante Rodamina B para obtenção de ganho médio (a) dois espectros de emissão em um tecido saudável (b) amostra de tecido saudável (c)espectro de um tecido com câncer (d) amostra de tecido com câncer. [Fonte: R. C. Polson and Z. V. Vardeny, "Random lasing in human tissues," Appl. Phys. Lett. 85, 1289-1291, 2004]

Neste trabalho foram empregadas técnicas de espectroscopia óptica linear de absorção e emissão e não linear de fluorescência induzida pela absorção simultânea de dois fótons. Além disso, a técnica de fluorescência resolvida no tempo (FRT) foi usada para compreender as propriedades fotofísicas da molécula orgânica dissolvida em dois diferentes solventes.

3. Transições eletrônicas em moléculas

3.1. Absorção

A medida de absorção de luz em moléculas orgânicas consiste na transição de um elétron localizado em um orbital molecular que representa o estado fundamental para um orbital que representa o estado excitado, utilizando-se para isso a energia dada pela absorção de um fóton. No âmbito da espectroscopia relacionado a processos de ICT, na maioria dos casos, estuda-se os orbitais moleculares relacionados ao HOMO (*highest occupied molecular orbital*) e LUMO (*lowest unoccupied molecular orbital*) que estão relacionados aos estados fundamental e excitado respectivamente [3]. Uma molécula no estado excitado pode ainda relaxar para o estado fundamental emitindo ou não fótons de acordo com a regra de Hund [4].

Experimentalmente a luz absorvida para um determinado comprimento de onda é dada pelas medidas de absorbância ou transmitância (Eq. (1)), em que a transmitância T é descrita pela razão de intensidades, I_0/I , em que I_0 é a intensidade da luz que chega na amostra, e I é a intensidade da luz transmitida pela amostra. Na Eq. (1), d representa o caminho óptico que a luz percorre (comprimento da amostra), c representa a concentração de absorvedores (em Mol.L^{-1}), no caso de uma solução, e ϵ é o coeficiente de extinção molar, expresso geralmente em $\text{Mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}.\text{L}$.

$$A(\lambda) = \log \frac{I_0}{I} = \epsilon(\lambda)dc \quad (1)$$

Essa equação obedece a Lei de Beer-Lambert, que correlaciona a absorção de luz pela matéria com o coeficiente de extinção molar, comprimento da amostra e concentração de absorvedores por unidade de volume, sendo o ϵ uma quantidade única para cada composto a ser analisado [4].

3.2. Fluorescência

O processo de fluorescência, ou emissão de fótons, por uma molécula é descrito pela relaxação do elétron, o qual estava no estado excitado, para o estado fundamental através da emissão de um quanta de energia. Esse processo é ilustrado por um diagrama de Jablonski, como apresentado na Fig. 2, em que ocorrem os processos de absorção (seta azul clara), conversão interna (seta sinuosa preta) e emissão radiativa (seta amarela). No processo de absorção já explicitado anteriormente, as moléculas são excitadas no estado fundamental e atingem níveis mais altos de energia, estados excitados. A partir de um estado excitado, a molécula pode relaxar para o estado fundamental via um processo conhecido como conversão interna (CI), este, o qual é uma forma de relaxação não radiativa, representa uma conversão de energia em calor. Se a eficiência quântica de

fluorescência for diferente de zero, existe, além do CI, um novo caminho de relaxação, conhecido como canal radiativo. Nesse caso, as moléculas relaxam do estado S_1 para o estado S_0 emitindo fôtons. Relaxações entre os níveis vibracionais de cada estado também fazem parte dos processos de relaxação, mas esses não afetam as taxas entre uma relaxação entre estados eletrônicos. Normalmente, as relaxações vibracionais apresentam um tempo da ordem de 10^{-15} – 10^{-10} s [5]. Sendo assim, quando a eficiência quântica de fluorescência é diferente de zero, a relaxação de S_1 para S_0 é mediada pelos processos de conversão interna e emissão radiativa, processos que competem entre si na relaxação molecular. A soma dessas duas taxas descreve o tempo de fluorescência do cromóforo.

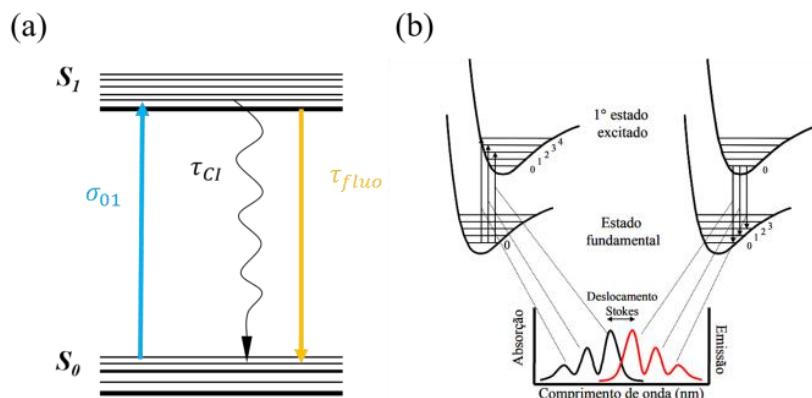


Figura 2–Em (a) é apresentado o diagrama de Jablonski representando os processos de absorção de luz (seta azul), emissão não radiativa (seta preta) e emissão radiativa (seta amarela). [Fonte: elaborada pelo autor] Em (b) tem-se a representação dos processos de absorção e emissão de luz por uma molécula orgânica. [Fonte: A. Glogauer, “Síntese e caracterização fotofísica de dois copolímeros eletroluminescentes: um completamente conjugado e outro multibloco tendo como unidade cromofórica o fluoreno-vinileno-ferileno” dissertação de mestrado 2004 Adaptada]

De acordo com o princípio de Frank-Códon, a emissão fluorescente, ilustrada por b), ocorre para um comprimento de onda (λ) maior, ou seja, uma energia menor que a energia relacionada com espectro de absorção de luz do material. Isso ocorre devido às perdas de energia durante os relaxamentos vibracionais intra banda, como é ilustrado na Fig.2. Na Fig. 2b), o espaçamento entre o pico menos energético da absorção (linha preta) com o máximo mais energético da fluorescência (linha vermelha) é conhecido como *desvio de Stokes* [4]. Moléculas no estado excitado S_1 podem permanecer nesse estado por dezenas de picossegundos a dezenas de nanossegundos dependendo do tipo da molécula estudada e da sua interação com o meio.

De forma quantitativa é possível medir com uma grande precisão o tempo de vida do estado excitado para uma molécula bem como a sua eficiência quântica de fluorescência. Esses processos podem ser observados através do monitoramento das taxas de decaimento radiativo, ou seja, na forma de luz, e não radiativo, por outros métodos experimentais. Normalmente, a relaxação do estado excitado para o estado fundamental apresenta um tempo característico, conhecido como

tempo de vida de fluorescência (τ_f). Para um decaimento simples com um único tempo característico, esse processo pode ser descrito pela Eq. (2) em que $I(t)$ é a intensidade de fluorescência observada em qualquer tempo, I_0 é a intensidade inicial da fluorescência medida no tempo $t = 0$, t representa a coordenada temporal.

$$I(t) = I_0(0)e^{\frac{-t}{\tau_f}} \quad (2)$$

A compreensão desses conceitos foram fatores determinantes para o processo de caracterização do objeto de estudo desse projeto, a análise detalhada desse tempo de fluorescência em função das misturas de solventes revelou um comportamento não esperado nas mudanças das taxas dos processos radiativos e de conversão interna. Para uma maior confiabilidade na obtenção desses tempos de fluorescência, foi empregado um método de análise de sinais, o qual forneceu uma precisão maior na determinação do tempo verdadeiro. Esse método será descrito mais adiante.

3.3. Fluorescência mediada via absorção simultânea de dois fótons

Em 1931 foi proposto teoricamente por Maria Goppert-Mayer o conceito de absorção simultânea de dois fótons (A2F) [6]. O conceito dá-se pela adição de um nível intermediário virtual de energia (estado de interação não ressonante entre a luz e a matéria, ou seja, estado de espalhamento), como ilustrado na Fig. 3 baseando-se na teoria quântica da interação da radiação com a matéria. Esse processo é um fenômeno classificado como óptico não linear pois necessita de altas quantidades de fótons por unidade de tempo. Nesse processo, dois fótons, cada um com a metade da energia necessária para transicionar o elétron do estado fundamental S_0 para o estado excitado S_1 são absorvidos simultaneamente (setas azuis claras) por uma molécula em um mesmo evento quântico [7].

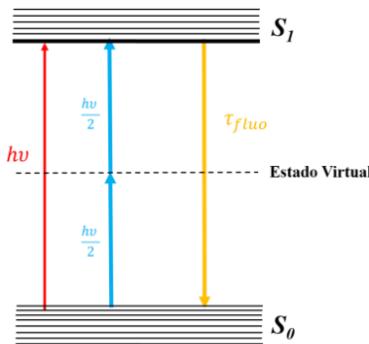


Figura 3 - Ilustração de transições entre distintos estados eletrônicos mediados pelos processos de absorção de um fóton (seta vermelha), dois fótons (setas azuis) e relaxação fluorescente (seta amarela) [Fonte: elaborada pelo autor]

A eficiência do processo de absorção de dois fótons é característica de cada cromóforo e similar à espectroscopia de absorção de um fóton, mas com uma probabilidade muito menor de acontecer. No entanto, para o processo de absorção de dois fótons, quando esse é comparado com o de absorção de um fóton, a taxa de transição do estado inicial para o estado final, aumenta com o quadrado do número de fótons incidentes sobre a amostra por unidade de área e por unidade de tempo. Além de aplicações como a limitação óptica de potência de luz, terapia fotodinâmica, e microfabricação, a A2F é útil para estudar transições eletrônicas para estados cujas transições por um fóton não são permitidas pela regra de seleção de dipolo elétrico.

4. Materiais e Métodos

4.1. Absorção e emissão

A Fig. 4 ilustra a estrutura molecular do perileno com peso molecular de 706.7 g/mol e fórmula química $C_{36}H_{22}N_2O_{10}S_2$, a qual foi sintetizada no Grupo de polímeros do IFSC. A parte central da estrutura formada por anéis aromáticos define uma alta rigidez a molécula de perileno, característica estrutural da molécula já conhecida na literatura [8]. Nesse perileno, em especial, a estrutura foi modificada possuindo radicais compostos de SO_3H , os quais permitem uma maior dissolução de perilenos em solventes polares como a água e o Dimetilsulfóxido (DMSO), solventes importantes em estudos biológicos. Para um estudo detalhado das propriedades ópticas desse cromóforo, foram preparadas, em separado, duas soluções de 7 ml utilizando a água e o DMSO como solventes, ambas soluções com concentração de 5.4×10^{-4} M. Em seguida nove soluções de 1 ml cada, originadas a partir das duas primeiras, foram feitas através da mistura desses solventes em diferentes proporções, sendo essas de 9:1 até 1:9 DMSO/água respectivamente. Esse procedimento foi repetido várias vezes, para medida diferentes e em diferentes dias.

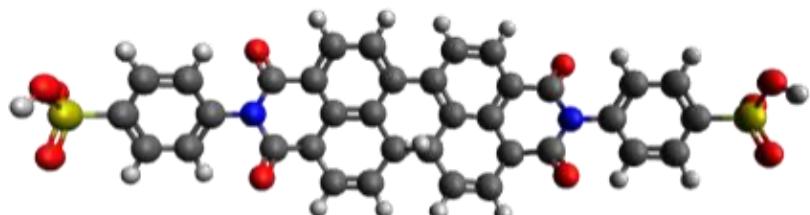


Figura 4- Estrutura molecular do perileno. 4,4'-(1,3,8,10-tetraoxo-1,3,3a,5a,5b,7a,8,10-octahydroanthra[2,1,9-def:6,5,10-d'e'f']diisoquinoline-2,9-diyl) dibenzenesulfonic acid. [Fonte: elaborada pelo autor]

Ao final obtiveram-se onze soluções com concentração de 5.4×10^{-4} molar, as quais foram feitas medidas de absorção estacionária (UV-Vis) utilizando uma cubeta de quartzo com 2 mm de comprimento afim de determinar os coeficientes de extinção molar de cada solução. Para as

medidas de emissão de fluorescência, um fluorímetro e uma cubeta de quartzo com 10 mm de caminho óptico foram utilizados. A excitação foi mantida fixa em 515 nm, dentro da banda de absorção do material, e a emissão, coletada perpendicularmente em relação a excitação, foi obtida com uma varredura a partir de 520 nm até 900 nm. Em seguida foi calculada a eficiência quântica de fluorescência (EQF) utilizando o mesmo equipamento e fazendo uso do método de Brower, descrito pela Eq. (3) [9]:

$$\phi_f = \phi_{ref} \times \frac{\int_{\lambda_0}^{\lambda} F(\lambda) d\lambda}{\int_{\lambda_0}^{\lambda} F_{ref}(\lambda) d\lambda} \times \frac{f_{ref}(\lambda)}{f(\lambda)} \times \frac{n^2}{n_{ref}^2} \quad (3)$$

Em que, ϕ_{ref} é a EQF de uma amostra padrão de referência, neste caso foi utilizada como referência a Rodamina 6G dissolvida em água em que o valor é de 96% [10]. As integrais descrevem a área constituída pelos espectros de emissão obtidos para as amostras de estudo e para a amostra de referência, mantendo o equipamento nas mesmas condições. Na equação, $f = 1 - 10^{-A(\lambda_{ex})}$, representa a função que leva em conta a quantidade de luz absorvida pelas amostras no comprimento de onda de excitação (no caso, $f \sim 0.4$), e n são os índices de refração dos solventes. No caso da mistura de água ($n = 1.37$) e DMSO ($n = 1.47$) foi considerado como índice de refração o valor proporcional à quantidade de cada solvente na mistura.

4.2. Fluorescência resolvida no tempo – FRT

Para a realização da medida de fluorescência resolvida no tempo, foi utilizado um sistema laser pulsado, operando em femtossegundos. Nesse sistema têm-se um feixe laser que é dobrado em frequência por um cristal gerador de segundo harmônico do mesmo, sintonizando o comprimento de onda em 515 nm. Esse laser é utilizado como feixe pulsado para excitar a amostra, o qual incide sobre uma lente convergente de foco em torno de 12 cm que focaliza o feixe na amostra líquida que se encontra em uma cubeta de 2 mm. O sistema, recentemente montado por nós, veja Fig. 5, possibilita que a excitação dos compostos seja feita com pulsos ultracurtos, da ordem de 200 femtossegundos. O laser possui uma potência média máxima de 5W e taxa de repetição máxima de 60 kHz. Através do software do sistema pode-se controlar a frequência de repetição da excitação e a potência média, de modo a diminuir essa frequência e potência para que seja evitada possíveis degradações do material. No caso da medida de FRT para o perileno, essa taxa de repetição foi de 1kHz e uma potência média 200 mW para todas as amostras.

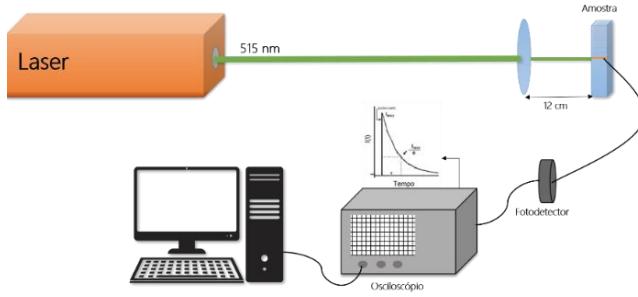


Figura 5- Diagrama esquemático da técnica experimental de fluorescência resolvida no tempo que se encontra no Grupo de Fotonica. [Fonte: elaborada pelo autor]

A fluorescência é coletada através de uma fibra óptica multimodo posicionada muito próxima da região excitada da amostra. Essa fibra óptica é posicionada perpendicularmente em relação ao feixe de excitação para evitar a cotela da luz do laser e provável queima e saturação do detector. O sinal óptico de fluorescência é direcionado pela fibra para um detector de silício com resolução temporal mínima de 700 ps. O sinal elétrico produzido por este detector foi analisado e feito médias durante 5 minutos por um osciloscópio digital de 1GHz de resolução, permitindo a visualização em tempo real do decaimento exponencial da fluorescência em função do tempo, da qual foi determinado o tempo de vida da amostra nas diferentes misturas. Por serem curtos os tempos de vida obtidos, ou seja, da ordem temporal da resposta do detector, foi necessária a utilização do método de convolução de sinais para que se pudesse obter com uma melhor precisão a relaxação temporal da molécula nas onze diferentes misturas estudadas. A função da convolução de sinais, apresentada na Eq. (4), em que F_{mod} representa o decaimento da fluorescência real da amostra sem os efeitos das respostas eletrônicas dos equipamentos é convoluída com a resposta elétrica do sistema experimental, IRF completo (*Instrument Response Function*) [11]. Essa convolução produz a curva experimental obtida pelo aparelho, I_{mod} que é alongada temporalmente devido à resposta temporal do sistema não ser instantâneo.

$$I_{mod} = F_{mod} * IRF \quad (4)$$

O processo de convolução é feito em um software elaborado por nós, em que são processados os dados adquiridos do I_{mod} e IRF , este último obtido através do espalhamento da luz do laser sem a amostra. No programa, a resposta temporal do detector mais a resposta temporal do sistema eletrônico (cabos coaxiais, osciloscópio) é convoluída com uma função teórica formada por três exponenciais com tempos bem distintos, como mostra a equação Eq.(5). Essa equação vai trazer a mesma informação que a Eq.(2) citada anteriormente, no entanto dois novos parâmetros foram adicionais e são necessários apenas para ajustes de *offset*, para que se obtenha/desloque a função

convoluída com a função que descreve a fluorescência experimental (I_{mod}) e assim o melhor ajuste do decaimento exponencial.

$$I_{fluo} = I_0(0)e^{\frac{-t}{\tau_{rapido}}} + I_1(0)e^{\frac{-t}{\tau_f}} + I_2(0)e^{\frac{-t}{\tau_{lento}}} \quad (5)$$

Ainda no próprio programa, as amplitudes da função, I_0 , I_1 e I_2 , são ajustadas. A convolução dessa função com o tempo de resposta eletrônicos do sistema de detecção sem a incidência do sinal de fluorescência gera um ajuste o qual modela o sinal experimental da fluorescência. Sendo assim, a melhor exponencial no ajuste, que reproduz a resposta experimental da fluorescência com o método de convolução, fornecerá o valor de tempo de vida de fluorescência do material corrigido. A Fig.6 ilustra um exemplo do processo de convolução feita para se obter os tempos de vida de fluorescência do perílido nas diferentes misturas de solventes. Nessa figura, os quadrados pretos no detalhe do gráfico representam o sinal da referência eletrônica do equipamento, ou seja, resposta temporal do equipamento frente à incidência de um pulso laser com distribuição temporal Gaussiana com largura total à meia altura (do inglês, FWHM) de 200 femtossegundos. A linha vermelha é a combinação das funções exponenciais teóricas geradas pela Eq. (5). O importante do gráfico no detalhe Fig. 6 é mostrar o quanto o pulso de 200 fs é alargado temporalmente devido à resposta do detector. Em outras palavras, o pulso de 200 fs passa a ter uma resposta eletrônica de aproximadamente 700 picossegundos a FWHM. Esse alargamento temporal reflete também em um aumento “falso” dos tempos de vida de fluorescência obtidos experimentalmente, por isso do uso do método de convolução.

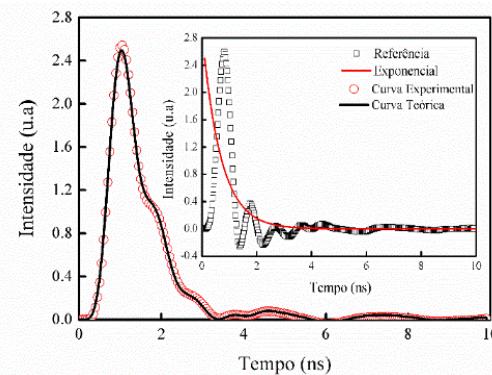


Figura 6—Gráfico da convolução dos sinais para obtenção do tempo de vida de fluorescência. A linha preta representa o resultado da convolução, e os círculos vermelhos a curva experimental da medida da fluorescência. No detalhe, curvas representando a resposta temporal do sistema devido ao espalhamento da luz do laser (quadrados) e a função gerada com as três exponenciais da Eq. (5). [Fonte: elaborada pelo autor]

Já a Fig. 6 apresenta o resultado convoluído (linha sólida) das duas funções apresentadas no interior da Fig. 6, a qual se ajusta a fluorescência (círculos vermelhos) obtida experimentalmente

pelo sistema experimental. Sendo assim, na Eq. (5) a primeira exponencial de amplitude I_0 e com tempo muito rápido, alguns picossegundos, é usada para gerar um pequeno alargamento da resposta temporal do detector devido à instabilidade e efeitos de oscilação eletrônica. Esse tempo afeta apenas em torno do máximo da curva, e em muitos casos nem é necessário. A segunda exponencial, correspondente à amplitude I_1 , é a desejada de se obter, pois é responsável para nos informar o tempo de vida da fluorescência “mais real” e suas variações devido a influência do solvente e das misturas utilizadas na amostra de perileno. Por fim, têm-se a terceira exponencial de ordens de grandeza temporal muito maior da do tempo de vida obtido e que é responsável em corrigir ruídos e acumulo de sinais de fundo do equipamento de medida que apresentem de tempos longos. Normalmente, esse o tempo dessa exponencial é de muitos microssegundos, e a amplitude dessa exponencial é muito pequena, fornecendo um leve *offset* linear de fundo.

4.3. Fluorescência excitada via absorção simultânea de dois fótons

Para a medida de fluorescência excitada por absorção de dois fótons, foi montado um aparato experimental similar ao da medida de fluorescência resolvida no tempo. Nesse, foi empregado como excitação da amostra o mesmo laser, mas agora, utilizando o comprimento de onda de 1030 nm (primeiro harmônico), o qual é não ressonante por um fóton com a banda de absorção do perileno. A Fig.7 ilustra o diagrama do experimento modificado na parte de detecção da fluorescência. O sistema de detecção usado na coleta dos espectros de emissão foi um espectrômetro Ocean Optics de alta resolução. A fluorescência é guiada da região excitada até o espectrômetro por uma fibra óptica. Os espectros de emissão são coletados para diferentes potências médias do laser, potência registrada com um medidor de potência comercial (Ophir). Essa medida consiste em se obter espectros de emissão fluorescente em função da potência do laser e se obter uma relação quadrática com a mesma. Sendo assim, várias potências do laser foram utilizadas nessa medida afim de construir uma curva com vários pontos.

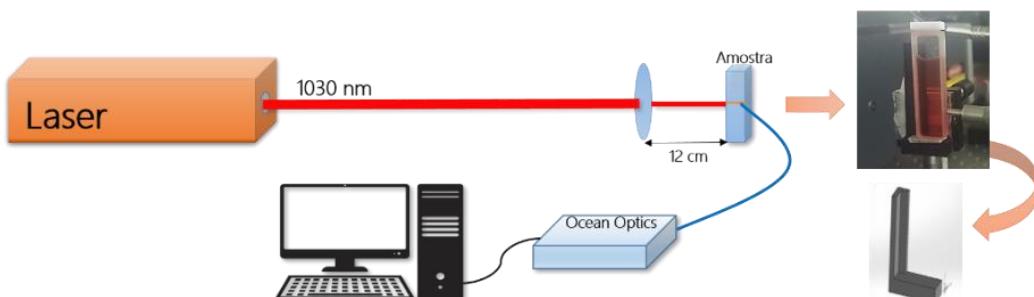


Figura 7- Diagrama esquemático da técnica experimental de fluorescência induzida por absorção de dois fótons, que se encontra no Grupo de Fôtonica. [Fonte: elaborada pelo autor]

5. Resultados e Discussões

5.1. Espectros de Absorção e emissão de Fluorescência

As primeiras medidas para se identificar as regiões em que os estados excitados se localizam são feitas através de medidas de absorção (linha preta na Fig. 8). Ao mesmo tempo, medidas de fluorescência (linha vermelha na Fig. 8) podem ser executadas para se identificar a presença de canais de relaxação radiativos. Primeiramente, essas medidas foram feitas no perileno dissolvido DMSO (Fig. 8(a)) e água destilada (Fig. 8(b)), e assim pode-se determinar as janelas de absorção e emissão antes das medidas para as misturas binárias de diferentes proporções DMSO/água, essas apresentadas na Fig. 9. Os valores de absorvidade molar para moléculas de perileno desse trabalho são similares às encontradas na literatura, que são da ordem de $\sim 34000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ mas que podem sofrer alterações de acordo com o solvente utilizado [4] e os grupos laterais ligados à estrutura central do perileno.

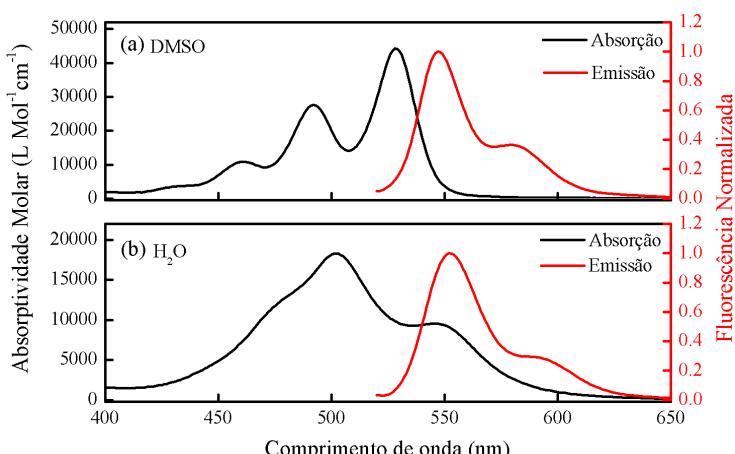


Figura 8 - (a) Espectros de absorção (linha preta) e emissão (linha vermelha) para o perileno dissolvido em DMSO. (b) Espectros de absorção (linha preta) e emissão (linha vermelha) para o perileno dissolvido em água.

Existe uma diferença visível nos espectros de absorção do perileno em DMSO e água puros. Com relação aos gráficos das Fig. 8 e 9, é possível notar que os espectros de absorção sofrem alterações tanto na sua forma como no seu valor de absorvidade molar, tendo seus valores aumentados monotonicamente desde $20000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ quando dissolvidos em água pura até $42000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ em DMSO puro. Em relação à forma, é possível notar que as réplicas de fônons do espectro de absorção da Fig. 10, observadas para o DMSO puro, vão diminuindo, e uma banda alargada vai surgindo a medida em que se aumenta a proporção de água. Essa alteração começa a ser mais significativa a partir da quantidade de 70% de proporção DMSO/água, em que existem duas bandas de mesma amplitude. Uma das causas dessa alteração espectral pode estar associada com a maneira que os diferentes solventes se ligam à molécula de perileno.

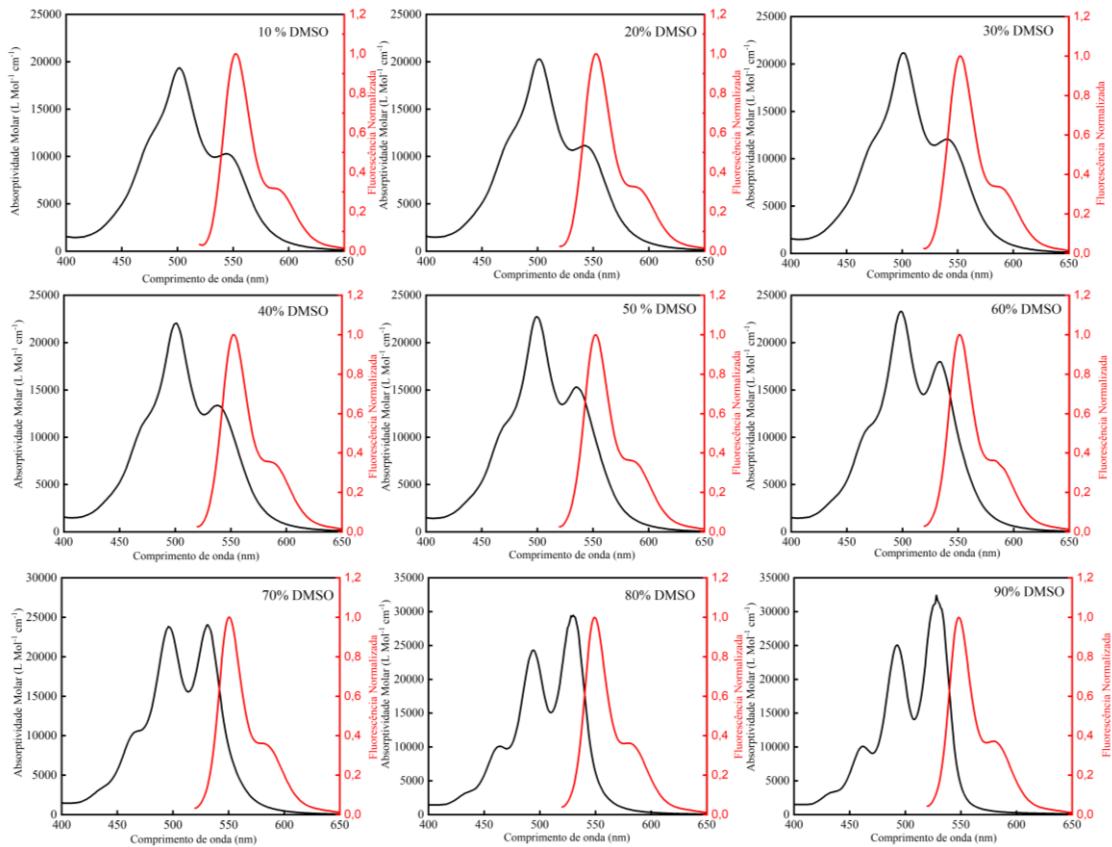


Figura 9 - Espectros de absorção (linha preta) e emissão (linha vermelha) para o náftaleno dissolvido em diferentes proporções DMSO/água. No interior do gráfico estão especificadas a porcentagem de DMSO para cada solução.

A fluorescência, representada pelas linhas vermelhas, apresenta uma forma que é pouco alterada com a mistura de solventes. Dessas curvas, é possível observar um leve deslocamento para o vermelho com o aumento da proporção de água, remetendo a um deslocamento Stokes ($\Delta\lambda$) ou ($\Delta\nu$). Quando se compara a diferença entre o comprimento de onda do máximo da fluorescência com o comprimento de onda da banda de menor energia do espectro de absorção, se observa um aumento de ($\Delta\lambda$) com a proporção de DMSO. Esse solvato-cromismo descreve uma alteração da energia entre o estado fundamental e o estado excitado devido à modificação da constante dielétrica do meio e rearranjo das cargas na molécula. Esse fenômeno ocorre quando se têm diferentes polaridades para os solventes utilizados, nesse caso, os espectros de absorção e emissão para uma mesma molécula podem sofrer deslocamentos em comprimentos de onda de até centenas de nanômetros. Quando esse deslocamento é para o vermelho, tem-se um *red-shift (Stokes)* e para o azul um *blue-shift (anti-Stokes)*. A Fig. 10 apresenta o desvio de *Stokes* em termos da função Osanger, essa descrita pela Eq. (6). O comportamento observado sugere uma leve mudança da energia potencial elétrica em torno do náftaleno devido à alteração da constante dielétrica do meio, alterando as energias entre os estados fundamental e excitado.

$$F(n, \xi) = 2 \left[\frac{\xi - 1}{2\xi + 1} - \frac{n^2 - 1}{2n^2 + 1} \right] \quad (6)$$

Em que, ξ é a constante dielétrica do solvente, no caso das misturas binárias à proporção da constante dielétrica de cada um, e n representa o índice de refração.

O interessante dessa solvatação, é que existe uma saturação do efeito a partir de 70% de DMSO, em que a interação entre os dois solventes parece não alterar mais a distribuição de cargas do perileno. Essa perturbação do meio na molécula, por exemplo, altera as taxas de decaimento, aumentando ou diminuindo os tempos de decaimento radiativo e não radiativa de energia, citados anteriormente. Essas possibilidades serão discutidas posteriormente.

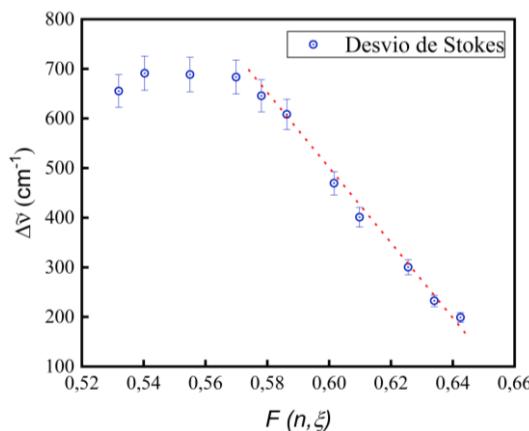


Figura 10 –Desvio de Stokes em função da Função de Polaridade de Osanger. A linha tracejada ilustra uma região em que o comportamento é linear.

O comportamento de saturação, em altas proporções de DMSO, pode indicar uma condição em que o DMSO preferencialmente solvata o perileno nas camadas de primeiros vizinhos, isolando o perileno da água. Esse fato pode estar relacionado com a energia de interação do DMSO com a molécula de perileno ser menor do que com a água. A medida que a quantidade de água na solução é aumentada, esse passa a ter um desvio de Stokes. Neste caso, dois processos de interação entre a molécula de perileno e os solventes passam a competir, as forças intermoleculares do DMSO com o perileno (tipo dipolo elétrico) e as ligações de hidrogênio da água com o perileno. Essa competição entre interações com os diferentes solventes pode fazer com que os graus de liberdade para possíveis modos vibracionais da molécula, aparentemente rígida, sejam alterados. O comportamento linear indicado pela linha tracejada no gráfico é característico dos efeitos solvatocrônicos e, quando possui coeficiente angular negativo diz respeito ao momento de dipolo da molécula. Neste caso, o momento de dipolo elétrico permanente da molécula no estado fundamental é maior que o momento de dipolo elétrico permanente no estado excitado.

5.2. Fluorescência resolvida no tempo – FRT

Utilizando o método de convolução de sinais, foi possível determinar com uma melhor precisão as variações nos tempos de vida de fluorescência τ_f da molécula de perileno para os dois solventes, DMSO e água, bem como para as misturas binárias em diferentes proporções dos mesmos. A Fig.11 (a) ilustra o comportamento do tempo de vida de fluorescência, (quadrados pretos) e o comportamento da EQF, ϕ_f , (círculos vermelhos), ambos em função da porcentagem de DMSO na solução. A EQF (foi determinada pelo método de Brower, esse descrito na seção 4.1. Observa-se um comportamento não linear de ambas as medidas com o aumento da proporção de DMSO. O valor máximo obtido para o tempo de vida de fluorescência encontra-se em 3.4 ± 0.2 ns para uma solução de 30% DMSO/água, enquanto que o máximo da EQF foi de 40%, obtido na proporção de 70% DMSO/água. Essa diferença de comportamento está relacionada aos canais de relaxação do estado excitado para o estado fundamental, que podem ser radiativos (emitindo luz) ou via conversão interna. As equações 7 e 8 mostram como os dados relativos aos canais de retorno do estado excitado podem ser determinados uma vez conhecidos τ_f e ϕ_f .

$$\phi_f = \frac{\tau_f}{\tau_{rad}} \quad (7) \quad \text{e} \quad \frac{1}{\tau_{fluo}} = \frac{1}{\tau_{rad}} + \frac{1}{\tau_{ci}} \quad (8)$$

Com essas equações, os valores dos tempos de vida radiativo (τ_{rad}) e via conversão interna (τ_{ci}) foram calculados e são apresentados na Fig. 11 (b), em especial, como taxas de decaimento (k), sendo essas o inverso dos respectivos tempos de vida.

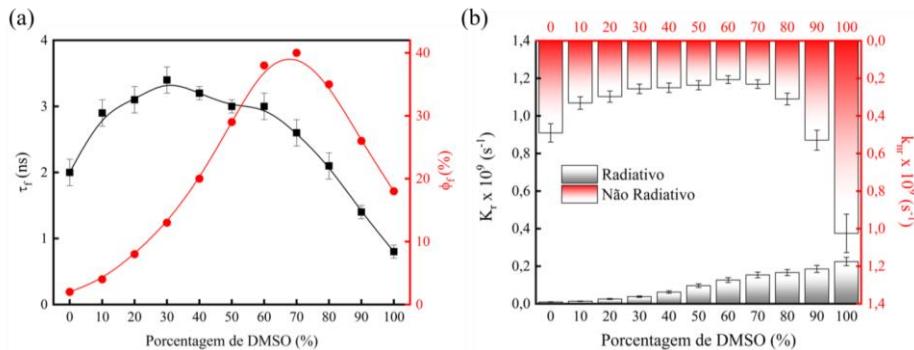


Figura 11 - (a) Medidas de tempo de vida de fluorescência (quadrados pretos) e eficiência quântica de fluorescência (círculos vermelhos) em função do perileno dissolvido em diferentes proporções DMSO/água. (b) Taxas de decaimento radiativo (preto) e não radiativo (vermelho).

Nota-se que os processos são preferencialmente via conversão interna. O maior valor dessa taxa de conversão interna é encontrado para o perileno em DMSO puro. Ainda pode ser observado no gráfico da Fig. 11 (a), entre as porcentagens de 10 e 60 % DMSO/água, que o tempo de vida de fluorescência permanece em torno de 3 ns, sem uma variação muito significativa, entretanto os valores de ϕ_f , nesse mesmo intervalo, aumentam monotonicamente. Esse comportamento pode ser

relacionado com a Fig. 11 (b), em que a taxa não radiativa (barras vermelhas) apresenta uma leve diminuição de seu valor, indicando que os processos de relaxação radiativa começam a ser mais significativos (barras pretas). A taxa radiativa aumenta monotonicamente exercendo influência no processo do aumento da eficiência quântica. A partir de 70% DMSO/água, os processos não radiativos aumentam novamente, seguidos ainda pelo aumento da taxa dos processos radiativos, o que indica que o tempo total da fluorescência diminui, chegando a um valor mínimo na proporção 100% DMSO/água. Esses resultados mostram que as proporções em torno de 70% DMSO/água são as melhores para aplicações como LASER randômico.

Uma hipótese acerca do comportamento não linear das propriedades fotofísicas da molécula de perileno pode ser explicada pela dinâmica de interação entre os solventes DMSO e água. Por se tratarem de dois solventes de caráter polar a miscibilidade dos mesmos é extremamente elevada na temperatura ambiente, e a medida em que se mudam as proporções dos solventes misturados mudam-se as interações do tipo ligações de hidrogênio entre eles e entre o cromóforo. Sabe-se que a água é doadora e aceitadora de ligações de hidrogênio enquanto que o DMSO é apenas aceitador. Em soluções com uma porcentagem maior que 50% de DMSO, têm-se uma molécula de água ligada para duas moléculas de DMSO [12], enquanto que para soluções onde a água prevalece em maior proporção, os oxigênios provenientes da molécula de DMSO irão agir como aceitadores de ligações de hidrogênio para hidroxilos (OH). Ainda assim haverá ligações água-água em maior quantidade. No final, para cada proporção de DMSO em água, se terá um caráter distinto de interação desses com o cromóforo.

O interessante é observar o comportamento da taxa de decaimento radiativo com a porcentagem de DMSO/água. Essa cresce com o aumento da proporção de DMSO. Um modelo fenomenológico simplificado para descrever o comportamento dessa taxa com as proporções dos solventes foi feito e o mesmo apresenta uma boa concordância com os valores experimentais. Esse modelo leva como condições iniciais os valores das taxas radiativas para os solventes puros $k_{rad}^{\text{água}}$ e k_{rad}^{DMSO} normalizados por coeficientes que são funções das proporções molares, $\%M_{\text{água}}$ e $\%M_{\text{DMSO}}$, dos solventes e uma constante K que define a dependência desses coeficientes com os solventes. Esse modelo é apresentado na Eq. (9):

$$k_{rad}^{total} = \%M_{\text{água}} k_{rad}^{\text{água}} + \%M_{\text{DMSO}} k_{rad}^{\text{DMSO}} \quad (9)$$

Em que, $\%M_{\text{água}} = \frac{K(1-\%DMSO)}{\%DMSO + K(1-\%DMSO)}$ e $\%M_{\text{DMSO}} = \frac{\%DMSO}{\%DMSO + K(1-\%DMSO)}$.

Na Figura 12, são apresentados os resultados simulados através da Eq. (9) para diferentes valores de K . Nota-se uma boa concordância quando $K = 2$, mostrando que o canal de relaxamento radiativo segue um padrão proporcional a alteração do meio em torno do perileno, o que não foi possível observar no relaxamento não radiativo. Essa via de relaxamento é mais complexa e um modelo simplificado equivalente ao apresentado na Eq. (9) não consegue descrever o processo como um todo.

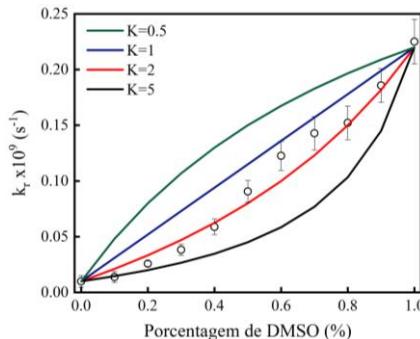


Figura 12 – Comportamento da taxa radiativa com a proporção de DMSO em água (círculos). As linhas sólidas são as simulações fenomenológicas obtidas com a Eq. (9) para quatro diferentes valores de K .

De uma forma mais qualitativa, a alteração das taxas de decaimento pode ser entendida pelo fato de que a energia do estado excitado pode ser influenciada no seu valor pela alteração da constante dielétrica do meio. Em uma mistura de solventes, pode ser possível encontrar uma distribuição de moléculas solvatadas por diferentes proporções dos mesmos, o que pode implicar em pequenas alterações da geometria da molécula e consequentemente pequenas variações do valor de energia do estado excitado.

5.3. Fluorescência mediada via A2F

Uma vez conhecida as propriedades ópticas lineares dessa molécula em misturas de solventes e visando aumentar o possível espectro de aplicações da mesma, foram feitas medidas de absorção de dois fótons determinadas através da emissão fluorescente. Essas medidas tiveram como intuito identificar absorção instantânea de dois fótons na região em que a molécula é transparente, visando uma possível aplicação para biomarcadores fluorescentes. Além disso, uma comparação entre o comportamento da fluorescência induzida pela A1F e A2F foi feita.

A Fig.13 (a) ilustra, em um gráfico log-log, a dependência da intensidade de fluorescência induzida pela absorção de dois fótons com a energia do pulso laser, obtida com o aparato experimental descrito na seção 4.3. Os valores de β representam o coeficiente angular do ajuste linear dos dados experimentais, uma vez que a taxa de transição do estado fundamental para o

estado excitado aumenta com o quadrado do número de fótons incidentes sobre a amostra estudada. Na Fig.13 (a), pode ser observado que as retas possuem aproximadamente a mesma inclinação, próximo a $\beta = 2$. No gráfico, cinco diferentes proporções de solução de perileno em DMSO/água foram expostas e em todos os casos se observa o mesmo comportamento quadrático.

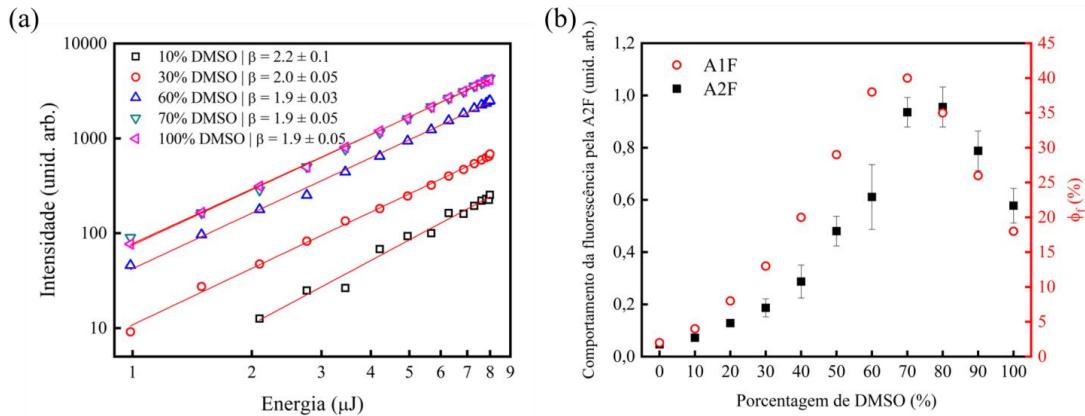


Figura 13 - Em (a) se observa a dependência da intensidade de fluorescência com a energia do pulso laser, e em (b) é apresentada uma comparação dos comportamentos da fluorescência induzida por A1F e A2F.

A Fig. 13(b) apresenta o comportamento da fluorescência induzida via absorção de dois fótons em função da mistura de solventes. A menos de uma normalização pela seção de choque de absorção de dois fótons (não determinada até o presente momento), pode-se observar que a tendência é similar a eficiência quântica de fluorescência. Isso, como é de se esperar, indica que a eficiência quântica independe da forma que o material é excitado, via um ou dois fótons, respeitando a regra de Kasha.

6. Conclusões e Considerações Finais

Neste trabalho foi realizado o estudo da caracterização de uma molécula orgânica de perileno afim de compreender as propriedades fotofísicas e os processos de distribuição de carga desse cromóforo. Para uma caracterização óptica linear, espectros de absorção e fluorescência foram medidos e analisados em função de uma mistura de solventes. Através dessas medidas foram determinadas as eficiências quânticas de fluorescência e os tempos de vida da fluorescência. Com relação a medida de EQF, foi obtido um valor máximo de 40% para uma proporção de 70% DMSO/água. No caso do tempo de vida de fluorescência, e os resultados mostraram que o caráter prótico dos solventes influenciou de forma distinta as taxas de relaxação radiativa e não radiativa. Tanto para as medidas de EQF quanto para as de fluorescência resolvida no tempo, foi observado um comportamento não linear a medida em que a proporção da mistura era alterada.

Com isso, pode-se descrever um modelo fenomenológico aproximado para relacionar as taxas radiativas diretamente com as frações molares de cada solvente, mostrando uma boa concordância com os valores experimentais. Isso mostra, de forma qualitativa, que a energia do estado excitado pode ser influenciada pela alteração do meio ao qual se encontra o material. Por último, foi feita uma caracterização óptica não linear através da medida de fluorescência via A2F, em que foi demonstrado que o estado excitado também é acessado via uma A2F. Uma comparação qualitativa entre a EQF de A1F e A2F mostrou uma similaridade entre ambas as medidas.

O trabalho tem caráter promissor devido a alta miscibilidade do perileno com solventes polares de cunho biológico. Um estudo mais profundo em óptica não linear será feito afim de trazer mais informações sobre a estrutura molecular e a dinâmica de relaxação.

7. Referências

- [1] Marcelo Gonçalves Vivas et al. “ (2017)”. Em: Materials 10.5(2017), p.512
- [2] *Study of Solvent Effects on the Fluorescence of 1-(Dimethylamino)-5naphthalenesulfonic Acid and Related Compounds*. Ying-Hsia Li, Lai-Man Chan et al. 1974. April de 1974, p. 97:11.
- [3] **Hyungjoo Kim, Sehoon Lee and Young-A Son†.** 2013. Study of HOMO and LUMO Energy Levels for Spirolactam Ring Moiety. *The Korean Society of Dyers and Finishers*. 10 de Junho de 2013, p.7.
- [4] **Valeur, Bernard.** 2002. *Molecular Fluorescence*. France: WILEY-VCH, 2002. 69469.
- [5] Sônia Renaux Wanderley Louro. “Estudos de fluorescência estacionária e resolvida no tempo de anestésicos locais e de antibióticos da classe das fluoroquinolonas”. Tese de doutorado. PUC-Rio, 2009.
- [6] Goeppert-Mayer M. On elementary acts with two quantum jumps. *Annalen der Physik*, v. 8, n. 1, p.273-294, 1931.
- [7] Marcelo Gonçalves Vivas. “Relação entre a estrutura molecular e as propriedades de absorção multi-fôtons em compostos orgânicos π - conjugados”, Tese de doutorado, IFSC USP, 2011.
- [8] Mazmira Mohamad et al. “Structure-dependent optoelectronic properties of perylene, diindenoperylene (DIP) isolated molecule and DIP molecular crystal”. Em: *Chemistry Central Journal* (2017), p. 9.
- [9] A. M. Brouwer. “Standards for photoluminescence quantumyield measurements in solution”. PhD thesis, 2011.
- [10] M. Fischer J. Georges , “Fluorescence quantum yield of rhodamine 6G in ethanol as a function of concentration using thermal lens spectrometry”, 1998.
- [11] Clifford B. Talbott et al. “Correction Approach for Delta Function Convolution Model Fitting of fluorescence Decay Data in the Case of a Monoexponential Reference Fluorophore”. Em: *Original Paper* (2015), p. 25.
- [12] D. Wong, K. Sokolowsky, M. El-Baghouthi, C. Giannanco, A. Sturlaugson and M. Fayer. *J. Phys Chem B* 2012, 116, 5479-5490.