

UNIVERSIDADE ANHEMBI MORUMBI

FERNANDO JOSÉ HABIB MORAES

**ESTUDO DE MODULAÇÃO ÓPTICA ATRAVÉS DO FENÔMENO DE AGREGAÇÃO
MOLECULAR DO CORANTE AZUL DE ORTO-TOLUIDINA**

TESE DE DOUTORADO

**DOUTORADO EM ENGENHARIA BIOMÉDICA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO STRICTO SENSU**

São José dos Campos, Junho/2024

UNIVERSIDADE ANHEMBI MORUMBI

FERNANDO JOSÉ HABIB MORAES

**ESTUDO DE MODULAÇÃO ÓPTICA ATRAVÉS DO FENÔMENO DE AGREGAÇÃO
MOLECULAR DO CORANTE AZUL DE ORTO-TOLUIDINA**

TESE DE DOUTORADO

Tese apresentada ao Programa de pós-Graduação Stricto Sensu em Engenharia Biomédica – Doutorado, da Universidade Anhembi Morumbi, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Engenharia Biomédica

Orientador: Prof. Dr. Egberto Munin

São José dos Campos, Junho/2024

**ESTUDO DE MODULAÇÃO ÓPTICA ATRAVÉS DO FENÔMENO DE AGREGAÇÃO
MOLECULAR DO CORANTE AZUL DE ORTO-TOLUIDINA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Engenharia Biomédica – Doutorado, da Universidade Anhembi Morumbi, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Engenharia Biomédica. Aprovada pela seguinte banca Examinadora:

Prof. Dr. Egberto Munin

Orientador

Universidade Anhembi Morumbi (UAM)

Profa. Dra. Rita de Cássia Mendonça Sales Contini (externo)

Faculdade de Tecnologia do Estado de São Paulo (Fatec-SP)

Dr. Jhonatha Ricardo dos Santos (externo)

Instituto de Pesquisa de Energéticas e Nucleares (IPEN)

Prof. Dr. Adjaci Uchoa Fernandes (interno)

Universidade Anhembi Morumbi (UAM)

Prof. Dr. Leandro Procópio Alves (interno)

Universidade Anhembi Morumbi (UAM)

Profa. Dra. Viviane Pilla (suplente)

Universidade Federal de Uberlândia (UFU)

Prof. Dr. Landulfo Silveira Junior (suplente)

Universidade Anhembi Morumbi (UAM)

São José dos Campos, Junho/24

Todos os direitos reservados. É proibida a reprodução total ou parcial do trabalho sem autorização da Universidade, do autor e do orientador.

FERNANDO JOSÉ HABIB MORAES

Doutorando em Engenharia Biomédica pela Universidade Anhembi Morumbi, Mestre em Ciência e Tecnologia dos Materiais pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Graduado em Engenharia Mecânica pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Ficha Catalográfica elaborada pela biblioteca UAM
Com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

M82e Moraes, Fernando José Habib
 Estudo de modulação óptica através do fenômeno de agregação
 Molecular do corante azul de orto-toluidina / Fernando José Habib
 Moraes – 2024.
 99f.; 30 cm.

 Orientador: Prof. Dr. Egberto Munin.
 Tese (Doutorado em Engenharia Biomédica) - Universidade Anhembi
 Morumbi, São José dos Campos, 2024.
 Bibliografia: f. 91-97.

 1. Engenharia Biomédica. 2. Laser. 3. Corante. 4. Relaxação Térmica.
 5. Terapia Fotodinâmica. I. Título.

CDD 610.28

*Dedico este trabalho à minha esposa Thamara e aos meus pais Fernando e Marinete,
pela constante inspiração e apoio em cada passo deste caminho.*

AGRADECIMENTOS

Com humildade e gratidão, elevo meus agradecimentos a Deus, que tem sido a força motriz desta jornada, iluminando meu caminho e me dando coragem para enfrentar cada desafio.

À minha amada esposa Thamara, agradeço por ser a âncora que sustentou minha determinação em todos os momentos. Tua crença inabalável em minha capacidade e teu apoio nas longas noites de experimentos no laboratório foram o combustível que impulsionou meu progresso.

A meus queridos pais, Fernando e Marinete, expresso minha gratidão pela confiança depositada em mim desde a infância. Vossas palavras de incentivo e amor moldaram minha jornada e me deram a confiança necessária para perseguir este objetivo.

Agradeço ao meu amigo pessoal e colega de laboratório, Fernando Torres, por nossa parceria contínua e mútuo incentivo nas horas tardias de pesquisa. Juntos, superamos obstáculos e compartilhamos conquistas, fortalecendo nossa jornada.

Ao meu orientador, Egberto, sou profundamente grato por suas orientações perspicazes e sabedoria compartilhada. Sua orientação moldou não apenas este trabalho, mas também minha compreensão mais ampla do campo.

Aos amigos Rodrigo, Maycon e Rafael, agradeço pelas discussões enriquecedoras e pela camaradagem nos momentos cruciais.

Aos professores e colaboradores do CITÉ, minha admiração por vossa dedicação ao compartilhar conhecimento e por criar um ambiente propício ao crescimento.

Neste marco, reconheço a sinergia de Deus e cada um de vocês como a base dessa realização. Com profunda gratidão, reafirmo que este sucesso é resultado da colaboração de amor, apoio e confiança mútua.

"O coração do sábio adquire conhecimento; os ouvidos dos sábios saem à sua procura."

Provérbios 18:15 (NVI)

A Terapia Fotodinâmica (TFD) é uma técnica terapêutica que utiliza a interação entre luz e um composto fotossensibilizante para tratar diversas condições, incluindo tumores, infecções bacterianas e doenças dermatológicas. Os corantes utilizados na TFD frequentemente sofrem um processo físico-químico chamado agregação molecular, o qual afeta suas propriedades ópticas, físicas e químicas. Compreender esse fenômeno de agregação é de importância crucial, pois ele influencia o desempenho terapêutico e industrial desses corantes. Recentes avanços na tecnologia de lasers de estado sólido possibilitaram investigar os processos de agregação dos corantes de forma mais precisa. Este estudo se concentra em estudar os efeitos e a capacidade de deposição térmica de lasers na solução de azul de orto-toluidina em água desmineralizada. Foram empregadas as técnicas de excitação por feixe único e teste de bombeio e prova. Nos experimentos de feixe único com os lasers de 663 nm e 532 nm, observou-se variação no sinal relacionado à perturbação no equilíbrio termoquímico da relação dímero e monômero. Para ambos os casos fica claro que se trata de um efeito ocasionado por processos de excitação e relaxação térmica das moléculas. A variação da concentração do corante influenciou ambos os experimentos de feixe único, ampliando a amplitude do efeito observado. Testes com variação de potência do laser demonstraram uma relação direta entre o efeito observado e a potência do laser. A interação de fótons com o corante resultou em sua excitação eletrônica, gerando aumento de energia e temperatura local durante o retorno ao estado fundamental, o que impactou a proporção de dímeros e monômeros. A análise da relação entre o sinal de entrada e saída indicou a existência de um ponto de transição, onde essa relação linear sofreu uma mudança de regime. Para o laser de 532 nm, a taxa de transmitância aumentou após esse ponto, enquanto para lasers de 663 nm, diminuiu. Um aumento na taxa de transmitância indica que a amostra se tornou menos absorvente, permitindo maior passagem de luz. Por outro lado, uma diminuição na taxa sugere que a amostra se tornou mais absorvente, reduzindo a passagem de luz. No experimento de bombeio e prova, a reversibilidade foi observada com a repetição do sinal ao alternar os estados do laser de bombeio. Os lasers foram essenciais para investigar a agregação molecular do Azul de Toluidina, revelando comportamentos complexos e a existência do ponto de transição da taxa de transmitância. Essa pesquisa destaca o valor da tecnologia laser na análise de sistemas moleculares complexos.

Palavra-chave: Engenharia Biomédica; Laser; Corante; Terapia Fotodinâmica; Relaxação Térmica.

Study of Optical Modulation through the Molecular Aggregation Phenomenon of Ortho-Toluidine Blue Dye

Photodynamic Therapy (PDT) is a therapeutic technique that utilizes the interaction between light and a photosensitizing compound to treat various conditions, including tumors, bacterial infections, and dermatological diseases. Dyes used in PDT often undergo a physical-chemical process called molecular aggregation, affecting their optical, physical, and chemical properties. Understanding this aggregation phenomenon is crucial as it influences the therapeutic and industrial performance of these dyes. Recent advances in solid-state laser technology have allowed for a more precise investigation of dye aggregation processes. This study focuses on examining the effects and thermal deposition capacity of lasers on ortho-toluidine blue solution in demineralized water. Single-beam excitation and pump-and-probe techniques were employed. In single-beam experiments with 663 nm and 532 nm lasers, signal variation related to perturbation in the thermochemical equilibrium of the dimer-monomer ratio was observed. For both cases, it is clear that this effect is caused by molecular thermal excitation and relaxation processes. The variation in dye concentration influenced both single-beam experiments, amplifying the amplitude of the observed effect. Assays with different laser powers tests demonstrated a direct relationship between the observed effect and laser power. Photon interaction with the dye resulted in electronic excitation, generating increased energy and local temperature during the return to the ground state, impacting the dimer-monomer ratio. Analysis of the relationship between input and output signals indicated the existence of a transition point, where this linear relationship underwent a regime change. For the 532 nm laser, the transmittance rate increased after this point, while for the 663 nm lasers, it decreased. An increase in transmittance rate suggests that the sample became less absorbent, allowing more light to pass through. On the other hand, a decrease in the rate suggests that the sample became more absorbent, reducing light passage. In the pump-and-probe experiment, reversibility was observed with the signal repeating when the pump laser states were alternated. Lasers were essential for investigating the molecular aggregation of Toluidine Blue, revealing complex behaviors and the existence of the transmittance rate transition point. This research highlights the value of laser technology in analyzing complex molecular systems.

Keywords: Biomedical Engineering; Laser; Dye; Photodynamic Therapy; Thermal Relaxation.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Processo de dimerização do monômero. (a) Dimerização tipo J. (b) Dimerização tipo H.	24
Figura 2 – Formação geométrica do dímero.	24
Figura 3 – Deslocamento das bandas do dímero do tipo J e H.	25
Figura 4 – Esquema da configuração eletrônica do dímero de formação J e H.	25
Figura 5 – Concentração teórica X Concentração real.	30
Figura 6 – Azul de orto-toluidina. a) Frasco de conservação utilizado pelo fabricante; b) em pó.	37
Figura 7 – Esquema geométrico da molécula azul de orto-toluidina.	38
Figura 8 – Estrutura molecular da água (solvente).	38
Figura 9 – Vista explodida dos componentes utilizados no porta amostra.	39
Figura 10 – Configuração da bancada óptica para o experimento de feixe único do laser vermelho.	42
Figura 11 – Configuração da bancada óptica para o experimento de feixe único do laser verde	42
Figura 12 – Método Knife Edge de verificação do diâmetro do feixe.	43
Figura 13 – Circuito eletrônico do fotodetector SGD-444.	44
Figura 14 – Configuração da bancada óptica para o teste de linearidade do fotodetector SGD-444. a) com o fotodetector; b) com o medidor de potência.	45
Figura 15 – Configuração do experimento de bombeio e prova.	46
Figura 16 – Resultado dos tempos de subida dos fotodetectores da classe SGD 444 em comparativo com o 818-BB-21 de 50 Ω	49
Figura 17 – Resultado dos tempos de descida dos fotodetectores da classe SGD 444 em comparativo com o 818-BB-21 de 50 Ω	50
Figura 18 – Espectro de absorção do corante Azul de Orto-Toluidina em solvente de água desmineralizada para as concentrações de 0,65 mM, 1,09 mM, 1,63 mM e 2,18 mM.	51
Figura 19 – Resultado dos espectros deconvoluídos em dímero (linha verde), monômero (linha vermelha) e a soma entre dímero e monômero (linha azul). a) concentração de 200 mg/l; b) concentração de 333 mg/l; c) concentração de 500 mg/l; d) concentração de 667 mg/l	52
Figura 20 – Resultado da razão entre a absorbância dos picos do dímero e monômero variando a concentração da amostra de Azul de Orto-Toluidina em solvente de água desmineralizada. ...	53
Figura 21 – Resposta temporal da amostra de azul de orto-toluidina irradiada pelo laser vermelho – 663 nm.	54
Figura 22 – Resposta temporal da amostra de azul de orto-toluidina irradiada pelo laser verde – 532 nm. ..	55
Figura 23 – Sinal obtido pela transmitância do laser vermelho com comprimento de onda de 663 nm, na amostra de AOT em solvente de água desmineralizada para as concentrações de 0,65 mM, 1,09 mM, 1,63 mM e 2,18 mM nos seguintes caminhos ópticos: a) 80 μ m; b) 160 μ m; c) 280 μ m.	56
Figura 24 – Sinal obtido pela transmitância do laser verde com comprimento de onda de 532 nm, na amostra de AOT em solvente de água desmineralizada para as concentrações de 0,65 mM, 1,09 mM, 1,63 mM e 2,18 mM nos seguintes caminhos ópticos: a) 80 μ m; b) 160 μ m; c) 280 μ m.	57
Figura 25 – Sinal obtido pela transmitância do laser vermelho com comprimento de onda de 663 nm, variando a potência incidente na amostra com concentração de 0,65 mM de AOT em água desmineralizada e caminho óptico: a) 80 μ m, b) 160 μ m, e c) 280 μ m.	59
Figura 26 – Sinal obtido pela transmitância do laser vermelho com comprimento de onda de 663 nm, variando a potência incidente na amostra com concentração de 1,09 mM de AOT em água desmineralizada e caminho óptico: a) 80 μ m, b) 160 μ m, e c) 280 μ m.	60

Figura 27 – Sinal obtido pela transmitância do laser vermelho com comprimento de onda de 663 nm, variando a potência incidente na amostra com concentração de 1,63 mM de AOT em água desmineralizada e caminho óptico: a) 80 μ m, b) 160 μ m, e c) 280 μ m.....	61
Figura 28 – Sinal obtido pela transmitância do laser vermelho com comprimento de onda de 663 nm, variando a potência incidente na amostra com concentração de 2,18 mM de AOT em água desmineralizada e caminho óptico: a) 80 μ m, b) 160 μ m, e c) 280 μ m.....	62
Figura 29 – Ponto de aquisição de dados em regime estacionário para o experimento com o laser vermelho.	63
Figura 30 – Sinal de saída em regime estacionário para diferentes sinais de entrada em amostra com concentração de 0,65 mM de AOT em água desmineralizada para os caminhos ópticos 80 μ m, 160 μ m e 280 μ m, para o laser de 663 nm.....	64
Figura 31 – Sinal de saída em regime estacionário para diferentes sinais de entrada em amostra com concentração de 1,09 mM de AOT em água desmineralizada para os caminhos ópticos 80 μ m, 160 μ m e 280 μ m, para o laser de 663 nm.....	65
Figura 32 – Sinal de saída em regime estacionário para diferentes sinais de entrada em amostra com concentração de 1,63 mM de AOT em água desmineralizada para os caminhos ópticos 80 μ m, 160 μ m e 280 μ m, para o laser de 663 nm.....	67
Figura 33 – Sinal de saída em regime estacionário para diferentes sinais de entrada em amostra com concentração de 2,18 mM de AOT em água desmineralizada para os caminhos ópticos 80 μ m, 160 μ m e 280 μ m, para o laser de 663 nm.....	67
Figura 34 – Sinal obtido pela transmitância do laser verde com comprimento de onda de 532 nm, variando a potência incidente na amostra com concentração de 0,65 mM de AOT em água desmineralizada e caminho óptico: a) 80 μ m, b) 160 μ m, e c) 280 μ m.	69
Figura 35 – Sinal obtido pela transmitância do laser verde com comprimento de onda de 532 nm, variando a potência incidente na amostra com concentração de 1,09 mM de AOT em água desmineralizada e caminho óptico: a) 80 μ m, b) 160 μ m, e c) 280 μ m.	70
Figura 36 – Sinal obtido pela transmitância do laser verde com comprimento de onda de 532 nm, variando a potência incidente na amostra com concentração de 1,63 mM de AOT em água desmineralizada e caminho óptico: a) 80 μ m, b) 160 μ m, e c) 280 μ m.	71
Figura 37 – Sinal obtido pela transmitância do laser verde com comprimento de onda de 532 nm, variando a potência incidente na amostra com concentração de 2,18 mM de AOT em água desmineralizada e caminho óptico: a) 80 μ m, b) 160 μ m, e c) 280 μ m.	72
Figura 38 – Ponto de aquisição de dados em regime estacionário para o experimento com o laser verde. ..	73
Figura 39 – Sinal de saída em regime estacionário para diferentes sinais de entrada em amostra com concentração de 0,65 mM de AOT em água desmineralizada para os caminhos ópticos 80 μ m, 160 μ m e 280 μ m, para o laser de 532 nm.....	74
Figura 40 – Sinal de saída em regime estacionário para diferentes sinais de entrada em amostra com concentração de 1,09 mM de AOT em água desmineralizada para os caminhos ópticos 80 μ m, 160 μ m e 280 μ m, para o laser de 532 nm.....	75
Figura 41 – Sinal de saída em regime estacionário para diferentes sinais de entrada em amostra com concentração de 1,63 mM de AOT em água desmineralizada para os caminhos ópticos 80 μ m, 160 μ m e 280 μ m, para o laser de 532 nm.....	75
Figura 42 – Sinal de saída em regime estacionário para diferentes sinais de entrada em amostra com concentração de 2,18 mM de AOT em água desmineralizada para os caminhos ópticos 80 μ m, 160 μ m e 280 μ m, para o laser de 532 nm.....	76

Figura 43 – Experimento de bombeio (663 nm) e prova (532 nm) de número 1 com concentração de 666 mg/l e caminho óptico de 280 µm.	78
Figura 44 – Experimento de Bombeio (663 nm) e Prova (532 nm) de número 2 com concentração de 500 mg/l e caminho óptico de 280 µm.	79
Figura 45 – Experimento de bombeio (663 nm) e prova (532 nm) de número 3 com concentração de 500 mg/l e caminho óptico de 280 µm.	79
Figura 46 – Experimento de bombeio (663 nm) e prova (532 nm) de número 4 com concentração de 200 mg/l e caminho óptico de 1000 µm.	80
Figura 47 – Experimento de bombeio (663 nm) e prova (532 nm) de número 5 com concentração de 666 mg/l e caminho óptico de 1000 µm.	81
Figura 48 – Experimento de bombeio (532 nm) e prova (663 nm), teste número 6. Frequência de 1 Hz e duty cycle de 20%.	82
Figura 49 – Experimento de bombeio (532 nm) e prova (663 nm), teste número 7. Frequência de 0,8 Hz e duty cycle de 50%.	83

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Concentração resultante das amostras estudadas.....	39
Tabela 2 – Resultado dos valores de potência do laser e do diâmetro do feixe para os lasers vermelho e verde.	48
Tabela 3 – Resultado do comprimento de onda e da absorção nos picos do dímero e monômero dos espectros deconvoluídos.....	53
Tabela 4 – Valores do sinal de entrada, sinal de saída inicial e sinal de saída final da resposta temporal da amostra com 0,65 mM de AOT em água desmineralizada, laser vermelho.	59
Tabela 5 – Valores do sinal de entrada, sinal de saída inicial e sinal de saída final da resposta temporal da amostra com 1,09 mM de AOT em água desmineralizada, laser vermelho.	60
Tabela 6 – Valores do sinal de entrada, sinal de saída inicial e sinal de saída final da resposta temporal da amostra com 1,63 mM de AOT em água desmineralizada, laser vermelho.	61
Tabela 7 – Valores do sinal de entrada, sinal de saída inicial e sinal de saída final da resposta temporal da amostra com 2,18 mM de AOT em água desmineralizada, laser vermelho.	62
Tabela 8 – Resultado da relação entre sinal de entrada e sinal de saída para o teste realizado em concentração de 0,65 mM de AOT com laser vermelho.	65
Tabela 9 – Resultado da relação entre sinal de entrada e sinal de saída para o teste realizado em concentração de 1,09 mM de AOT com laser vermelho.	66
Tabela 10 – Resultado da relação entre sinal de entrada e sinal de saída para o teste realizado em concentração de 1,63 mM de AOT com laser vermelho.	67
Tabela 11 – Resultado da relação entre sinal de entrada e sinal de saída para o teste realizado em concentração de 2,18 mM de AOT com laser vermelho.	68
Tabela 12 – Valores do sinal de entrada, sinal de saída inicial e sinal de saída final da resposta temporal da amostra com 0,65 mM de AOT em água desmineralizada, laser verde.	69
Tabela 13 – Valores do sinal de entrada, sinal de saída inicial e sinal de saída final da resposta temporal da amostra com 1,09 mM de AOT em água desmineralizada, laser verde.	70
Tabela 14 – Valores do sinal de entrada, sinal de saída inicial e sinal de saída final da resposta temporal da amostra com 1,63 mM de AOT em água desmineralizada, laser verde.	71
Tabela 15 – Valores do sinal de entrada, sinal de saída inicial e sinal de saída final da resposta temporal da amostra com 2,18 mM de AOT em água desmineralizada, laser verde.	72
Tabela 16: Resultado da relação entre sinal de entrada e sinal de saída para o teste realizado em concentração de 0,65 mM de AOT com laser verde.	74
Tabela 17 – Resultado da relação entre sinal de entrada e sinal de saída para o teste realizado em concentração de 1,09 mM de AOT com laser verde.	75
Tabela 18 – Resultado da relação entre sinal de entrada e sinal de saída para o teste realizado em concentração de 1,63 mM de AOT com laser verde.	76
Tabela 19 – a Resultado da relação entre sinal de entrada e sinal de saída para o teste realizado em concentração de 0,65 mM de AOT com laser verde.	76
Tabela 20 – Configuração dos experimentos de bombeio e prova.	77
Tabela 21 – Configuração dos experimentos de bombeio e prova.	81

1.	INTRODUÇÃO	16
2.	HIPÓTESES E OBJETIVOS	19
2.1.	Hipótese	19
2.2.	Objetivo geral	19
2.3.	Objetivo Específico	19
2.4.	Justificativa	20
3.	REVISÃO TEÓRICA	21
3.1.	Equilíbrio Termoquímico	21
3.1.1.	Teoria do Equilíbrio Termoquímico em Agregação de Corantes	23
3.2.	Propriedades Ópticas versus Termoquímica de Corantes Orgânicos	30
3.3.	Espectroscopia e Laser	34
4.	MATERIAIS E MÉTODOS	37
4.1.	Preparo das Amostras de Azul de Toluidina em Água Desmineralizada para Estudo da Agregação Molecular	37
4.2.	Configuração da Bancada Óptica para os Testes de Feixe Único	41
4.3.	Método Knife Edge para Determinação do Diâmetro do Laser	43
4.4.	Teste de Linearidade de Resposta do Fotodetector	44
4.5.	Configuração da bancada Óptica para o Experimento de Bombeio e Prova	45
5.	RESULTADOS	47
5.1.	Instrumentação	47
5.1.1.	Medida de Potência e Diâmetro do Feixe dos Lasers Vermelho e Verde	47
5.1.2.	Teste do Tempo de Resposta de Subida e Descida do Fotodetector SGD-444	48
5.2.	Resultados Principais com Azul de Orto-Toluidina	50
5.2.1.	Espectro das Concentrações de Azul de Orto-Toluidina	51
5.2.2.	Experimento Feixe Único, Resposta Temporal do Azul de Orto-Toluidina	54
5.2.3.	Experimento Feixe Único para Diferentes Concentrações de Azul de Orto-Toluidina	56
5.2.4.	Experimento Feixe Único para Diferentes Potências Incidentes	58
5.3.	Experimento de Bombeio e Prova para a Amostra de Azul de Orto-Toluidina	77
5.3.1.	Bombeio no Vermelho (663 nm) e Prova no Verde (532 nm)	77
5.3.2.	Bombeio no Verde (532 nm) e Prova no Vermelho (663 nm)	81

6.	DISCUSSÃO	84
7.	CONCLUSÃO	89
	REFERÊNCIAS	91
	ANEXO A – Data Sheet do Azul de Orto-Toluidina	98
	ANEXO B – Data Sheet do Fotodetector SGD	99

1. INTRODUÇÃO

Durante séculos a luz vem tendo importância terapêutica na medicina. Porém, o uso terapêutico da luz, como é conhecido hoje, se iniciou em 1900 quando Raab observou que a combinação de laranja de acridina e luz poderia destruir organismos vivos (paramécio) (RAAB, 1900). A partir dessa observação inúmeros estudos foram realizados para compreender os efeitos fotodinâmicos da interação luz mais corante. Dessa forma, surgiu a Terapia Fotodinâmica (TFD), que envolve um composto fotossensibilizante (FS), corante, interagindo com a luz (radiação eletromagnética) em um determinado comprimento de onda (λ) característico, que coincide com λ de absorção do FS (DA SILVA et al., 2018; MAC DONALD & DOUGHERTY, 2001; DOUGHERTY et al., 1998). A partir da interação luz mais FS, ocorre produção da espécie reativa de oxigênio singleto (ERO), espécie esta responsável pela morte de células in situ.

Os corantes utilizados na TFD estão sujeitos a um processo físico-químico denominado agregação molecular (MENG et al., 2022; LI et al., 2022). A agregação molecular possui a capacidade de alterar as propriedades ópticas da molécula conforme o nível de agregação. Tal fenômeno está presente em diversos sistemas químicos, seja em sistemas naturais – cadeias do DNA, proteínas, vírus – ou artificiais – corantes, tintas, moléculas orgânicas. A agregação molecular trata da união de duas ou mais moléculas em agregados ou clusters através de uma força “fraca”, como as Forças de Van der Waals. Os corantes são um exemplo de molécula orgânica que tende a formar agregados (MENG et al., 2022). Muito importante para a indústria, eles são utilizados na fabricação de tintas, medicamentos, lasers, dispositivos optoeletrônicos, e, como dito anteriormente, aplicados em terapias médicas, como o caso da terapia fotodinâmica (LI et al., 2022).

Nos corantes, o mecanismo de agregação molecular ocorre através da criação de um momento de dipolo (WÜRTHNER, 2016). A molécula de corante excitada, via absorção de um fóton, interage com outra molécula de mesma espécie formando dímero de estrutura geométrica do tipo J ou H (WÜRTHNER; KAISER; SAHA-MÖLLER, 2011). Em muitos corantes, como azul de toluidina, as bandas de absorção do dímero e do monômero diferem em comprimento de onda, dependendo da formação geométrica são deslocadas para o azul (tipo H) ou para o vermelho (tipo J) (VALLEAU et al., 2013). Assim, a intensidade de absorção varia conforme a quantidade de centros absorvedores formados por dímeros (CASTILLO-SEOANE et al., 2022). A quantidade de agregado molecular resultante em uma solução de soluto (corante) mais solvente é afetado por diversos fatores, dentre os quais a concentração de soluto, polaridade do solvente e a temperatura se destacam (BERTOCCHI et al., 2023). Portanto, entender os mecanismos

de agregação é fundamental para a boa aplicação dos corantes, posto que tal fenômeno afeta suas propriedades físicas e químicas.

Durante toda a história da humanidade, os materiais possuem um papel importante na sociedade, em virtude disso a designação dos nomes das civilizações é de acordo com a importância do material para a sociedade naquele momento (Idade da Pedra, Idade do Bronze, Idade do Ferro, etc). Nos dias de hoje, desde 1950, a sociedade vive no que é chamado de a Idade dos Semicondutores, tal material é a base para a fabricação dos dispositivos eletrônicos (HUMMEL, 1998), tecnologia crítica para a conservação do estilo de vida do homem da era moderna.

O desenvolvimento tecnológico dos materiais está intrinsicamente conectado com o crescimento do conhecimento científico destes. Durante o final do século 19 e início do século 20 ocorreu um dos maiores saltos de descobertas para a ciência moderna. Neste período começou a se desvendar os mistérios da constituição da matéria. Assim, uma série de modelos sobre a constituição do átomo foram desenvolvidos até chegar no modelo de Niels Bohr, em 1913.

Dentre as ferramentas que são de grande importância para a ciência dos materiais destacam-se as técnicas de caracterização (SIBILIA, 1996). Essas, por suas vezes, extraem informações sobre as propriedades físico-químicas dos materiais através de métodos específicos (CALLISTER JR., 2008).

As técnicas de caracterização são divididas em dois grandes blocos; as técnicas destrutivas e as técnicas não destrutivas. Dentre os métodos não destrutivos, destacam-se as técnicas espectroscópicas (HOLLAS, 2004). A espectroscopia é a ciência que estuda a absorção, transmissão, reflexão, emissão ou o espalhamento da radiação eletromagnética pelo meio material (átomos ou moléculas), ou seja, estuda a interação da radiação eletromagnética com a matéria.

Existem diversos estudos sobre agregação molecular dos corantes utilizados em Terapia Fotodinâmica através das técnicas espectroscópicas (BERTOCCHI et al., 2023) (BACELLAR et al., 2015) (YUZHAKOV, 1992). Porém, até o presente, a caracterização de foto-processos em compostos foto-sensíveis tem sido feita principalmente com fontes de luz do tipo extensas. Este tipo de fonte não permite os elevados fluxos de fótons em banda estreita que podem ser obtidos utilizando um laser. Nos últimos anos houve um grande desenvolvimento na tecnologia de lasers de estado sólido. Os modernos lasers em estado sólido oferecem diversos comprimentos de onda no visível e permitem trabalhar no modo contínuo e pulsado com modulação digital de até 150 MHz de largura de banda e tempos de subida e de descida da ordem de 2ns. Com modulação analógica, vai até 350 kHz de largura de banda e tempos de subida e de descida <1µs. Esta

capacidade permite estudar a cinética de processos em escala temporal de nanossegundos no modo digital e de microsegundos no modo analógico. Com estas ferramentas pode-se modular o feixe de excitação e monitorar o transiente produzido no feixe de prova, via absorção óptica transiente.

A partir do conhecimento apresentado, emerge a importância de entender como a fonte laser pode influenciar o equilíbrio entre dímeros e monômeros no corante azul de orto-toluidina. Além disso, este estudo procura correlacionar essa perturbação do equilíbrio termoquímico com a sensibilidade do fenômeno de agregação molecular às variações térmicas promovidas pelo laser. Ao examinar essas relações, esperamos contribuir para um conhecimento mais aprofundado das propriedades e comportamentos complexos deste sistema molecular, com possíveis implicações para a terapia fotodinâmica e outras aplicações práticas, ampliando nosso entendimento no campo da ciência e tecnologia.

2. HIPÓTESES E OBJETIVOS

2.1. Hipótese

É viável controlar o equilíbrio entre dímeros e monômeros do corante azul de orto-toluidina através do uso de uma fonte de laser para a deposição de energia térmica, resultando na perturbação do equilíbrio termoquímico.

2.2. Objetivo geral

O objetivo principal deste estudo é investigar os efeitos e a capacidade de deposição térmica de lasers na solução de azul de orto-toluidina em água desmineralizada.

2.3. Objetivo Específico

Os objetivos específicos incluem:

- 1) - Estudar a relação espectral entre dímero e monômero para diferentes concentrações de soluto
- 2) - Monitorar a resposta temporal da solução de azul de orto-toluidina em água desmineralizada, utilizando fonte de radiação eletromagnética do tipo laser para comprimentos de onda na faixa de absorção do dímero e do monômero.
- 3) - Monitorar a resposta temporal do objetivo específico 2) para diferentes concentrações de soluto;
- 4) - Monitorar a resposta temporal do objetivo específico 2) para diferentes caminhos ópticos;
- 5) - Monitorar a resposta temporal do objetivo específico 2) para diferentes potências de radiação eletromagnética;
- 6) - Extrair informações do sinal de entrada e saída para diferentes potências de radiação eletromagnética;
- 7) - Estudar a reversibilidade do processo.

2.4. Justificativa

A pesquisa das propriedades de agregação molecular do corante azul de orto-toluidina é de extrema importância devido às diversas aplicações em áreas como biomedicina e química. Esse estudo propõe uma abordagem diferente, utilizando fonte laser para monitorar e perturbar o equilíbrio termoquímico entre dímeros e monômeros, possibilitando o estudo da cinética do fenômeno de agregação molecular em tempo real. Os resultados desse estudo têm potencial para melhorar a qualidade das análises microscópicas, contribuir para o avanço da ciência fundamental, possibilitar o desenvolvimento de novos materiais e tecnologias e ajudar a entender as interações moleculares em soluções. Além disso, desempenha um papel crucial na terapia fotodinâmica, uma abordagem terapêutica importante no tratamento de condições médicas, incluindo câncer e doenças dermatológicas.

A pesquisa promete oferecer melhorias significativas na qualidade das análises microscópicas, aumentando a sensibilidade e especificidade das técnicas de visualização molecular. A capacidade de monitorar a formação e dissociação de agregados moleculares em tempo real permitirá ajustes precisos nos protocolos experimentais, validando e otimizando métodos de microscopia para estudar estruturas dinâmicas em solução.

Além disso, a compreensão aprofundada das propriedades de agregação do corante azul de orto-toluidina pode revolucionar a terapia fotodinâmica. Espera-se que esse estudo contribua para o desenvolvimento de novos agentes fotossensibilizadores mais eficazes e específicos. Isso poderá otimizar os protocolos de tratamento, aumentando a eficácia terapêutica e reduzindo os efeitos adversos nos pacientes. A pesquisa também promete avançar significativamente na compreensão dos mecanismos de ação da terapia fotodinâmica, abrindo caminho para melhorias substanciais na prática clínica e na qualidade de vida dos pacientes.

3. REVISÃO TEÓRICA

3.1. Equilíbrio Termoquímico

O equilíbrio termoquímico é uma área de estudo dentro da termodinâmica química que se desenvolveu ao longo do tempo à medida que os cientistas buscavam compreender e descrever os fenômenos relacionados às reações químicas.

Os fundamentos da termodinâmica química foram estabelecidos por volta do século XIX, com contribuições de vários cientistas renomados. Um dos primeiros a investigar o tema foi o químico e físico francês Joseph Louis Gay-Lussac, que realizou experimentos para determinar as relações quantitativas entre volumes de gases em reações químicas a temperaturas constantes (ATKINS & DE PAULA, 2006)

A noção de equilíbrio químico começou a ser desenvolvida por volta da metade do século XIX, principalmente através dos trabalhos do químico francês Claude Louis Berthollet (BERTHOLLET, 1803), do químico norueguês Cato Maximilian Guldberg e do físico-químico norueguês Peter Waage. Os dois últimos estabeleceram a lei da ação das massas, que descreve a relação entre as concentrações dos reagentes e produtos em um sistema químico em equilíbrio (GULDBERG & WAAGE, 1864).

Também em meados da segunda metade do século 19 o químico francês Henry Louis Le Chatelier descobriu, de forma generalizada, o comportamento de sistemas em equilíbrio ao serem perturbados. Esse comportamento foi denominado como Princípio de Le Chatelier. Tal princípio mostra que um sistema em equilíbrio quando alterado, adquirirá uma nova configuração de equilíbrio, fenômeno conhecido como deslocamento de equilíbrio. O deslocamento favorece a um dos sentidos da reação, seja na formação de mais produto (deslocamento para direita), ou na formação de reagente (deslocamento para esquerda) (LE CHÂTELIER, 1888).

Dois fatores capazes de influenciar o estado dinâmico do equilíbrio químico são a concentração de reagentes e produtos, bem como variáveis externas como pressão e temperatura.

Em relação à concentração, alterações nas concentrações de reagentes ou produtos podem perturbar a posição de equilíbrio. Quando há um aumento na concentração de um reagente, o equilíbrio se deslocará para a produção de mais produto. Por outro lado, um aumento na concentração do produto fará com que o equilíbrio se desloque, favorecendo a produção de mais reagente.

A pressão também desempenha um papel significativo na alteração dos equilíbrios químicos. Por exemplo, mudanças na pressão podem afetar equilíbrios que

envolvem reagentes e produtos gasosos. De acordo com a lei de Boyle, um aumento na pressão leva a uma diminuição no volume. Como consequência, o equilíbrio se deslocará para o lado com um menor número de moles de moléculas de gás, minimizando o volume do sistema. Por outro lado, uma diminuição na pressão fará com que o equilíbrio se desloque para o lado com um maior número de moléculas de gás, resultando em uma expansão do sistema.

A temperatura é outro fator crucial que influencia os equilíbrios químicos. O princípio de Le Chatelier afirma que um aumento na temperatura favorece a direção endotérmica de uma reação, enquanto uma diminuição na temperatura promove a direção exotérmica. Isso implica que o equilíbrio se deslocará para a reação endotérmica com o aumento da temperatura, pois mais calor é absorvido para compensar o aumento de temperatura. Por outro lado, uma diminuição na temperatura favorecerá a reação exotérmica, pois calor é liberado para compensar a diminuição de temperatura.

Em conclusão, concentrações, pressão e temperatura são variáveis essenciais que podem afetar a posição do equilíbrio químico. A temperatura em especial influencia na constante de equilíbrio de processos de agregação molecular dos corantes orgânicos e, por conseguinte, altera a proporção de dímero e monômero.

A seguir é apresentado a teoria do equilíbrio termoquímico dos corantes orgânicos que são propensos ao processo de agregação molecular. Compreender esses fatores e seus respectivos efeitos é crucial para prever e controlar o processo de agregação molecular.

3.1.1. Teoria do Equilíbrio Termoquímico em Agregação de Corantes

O primeiro a observar os efeitos da agregação molecular nas propriedades ópticas foi Sheppard em 1909 (SHEPPARD, S. E., 1909). Na ocasião, ele observou que a molécula de isocianina possui um espectro diferente quando diluída em diferentes tipos de solvente observando de forma clara que quando misturada em água, esta possui um pico na faixa 535 nm, diferentemente dos outros solventes.

Agregação molecular é o nome dado ao fenômeno ocasionado pela união espontânea de duas ou mais moléculas. Elas podem ocorrer em sistemas naturais – tais como uma gama de estruturas biológicas de proteínas como de vírus e organelas (WHITESIDES, G. M. *et al.*, 1991; PHILP, D., & STODDART, J. F., 1996; KARSENTI, E., 2008) – ou artificiais – corantes, tintas, moléculas orgânicas (SHEN *et al.*, 2021; HEYNE, 2016). A agregação molecular é comumente encontrada em moléculas polares devido a flutuações de polarização entre as moléculas vizinhas gerando forças de repulsão e atração, como as Forças de Van der Waals. Tais interações podem ocorrer por forças de orientação, quando causadas pela interação dipolo-dipolo. Por forças de indução quando ocorrer interação de dipolo-dipolo induzido. Também pode ser ocasionado por forças de dispersão, quando há presença instantânea de dipolos gerados pela perturbação da nuvem eletrônica da molécula (HEYNE, 2016).

Dentre as moléculas que apresentam esse efeito, estão as moléculas orgânicas que formam os corantes. Os corantes são agregados pela interação de uma molécula excitada com outra molécula, seja no estado fundamental (Figura 1a) ou excitado (Figura 1b), através da criação de um momento de dipolo entre elas (Figura 1).

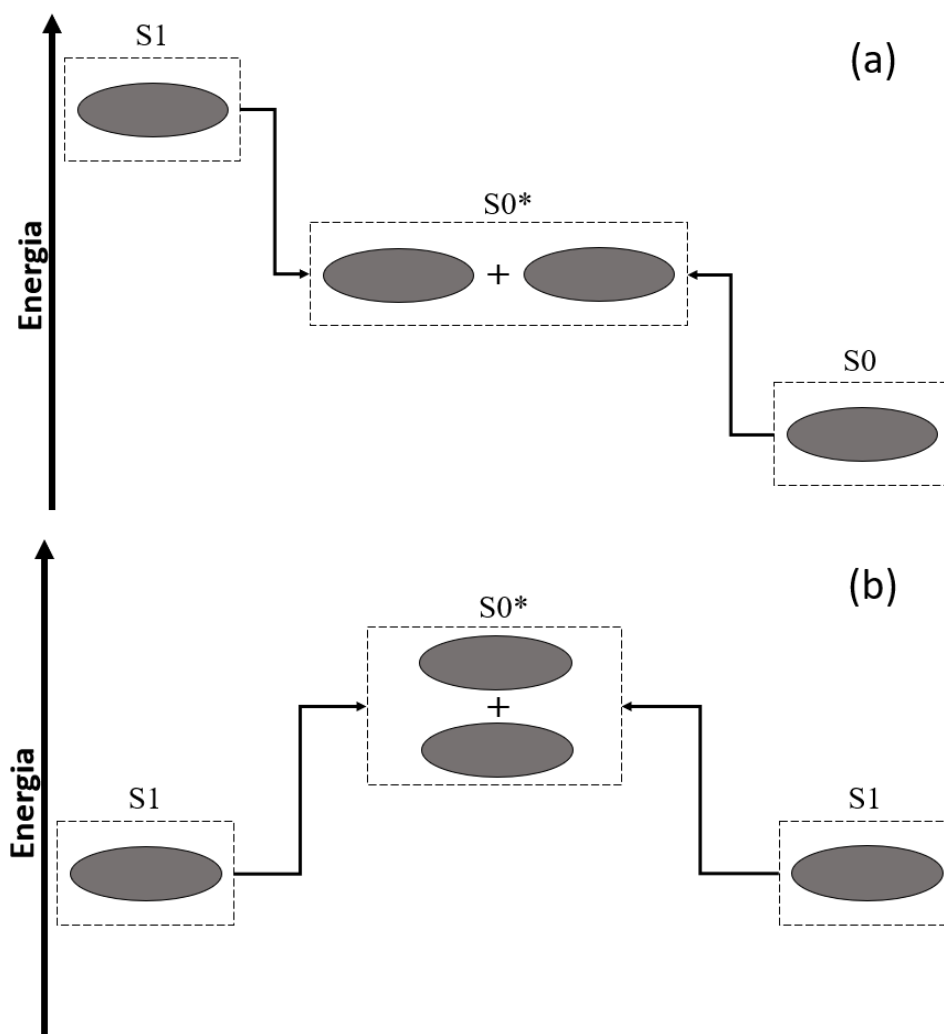


Figura 1 – Processo de dimerização do monômero. (a) Dimerização tipo J. (b) Dimerização tipo H.

Fonte: De autoria própria, 2022.

Dependendo do estado energético das moléculas que compõem a interação, têm-se duas possibilidades geométricas de agregação. Agregados do tipo J, de menor energia Figura 1a, onde as moléculas se unem de forma linear, e as do tipo H, de maior energia Figura 1b, formando uma geometria do tipo sanduíche. A Figura 2 mostra um esquema genérico de como seriam esses dois tipos de agregação.

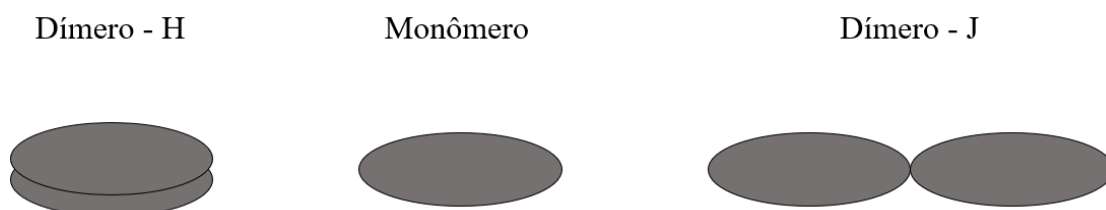


Figura 2 – Formação geométrica do dímero.

Fonte: De autoria própria, 2022.

Em termos espectroscópicos é possível diferenciar esses dois tipos de formação. Em relação a banda de absorção do monômero, as do tipo J gera uma banda de

absorção do dímero deslocada para o vermelho enquanto que as do tipo H uma banda deslocada para o azul (Figura 3) (WANG et al., 2020).

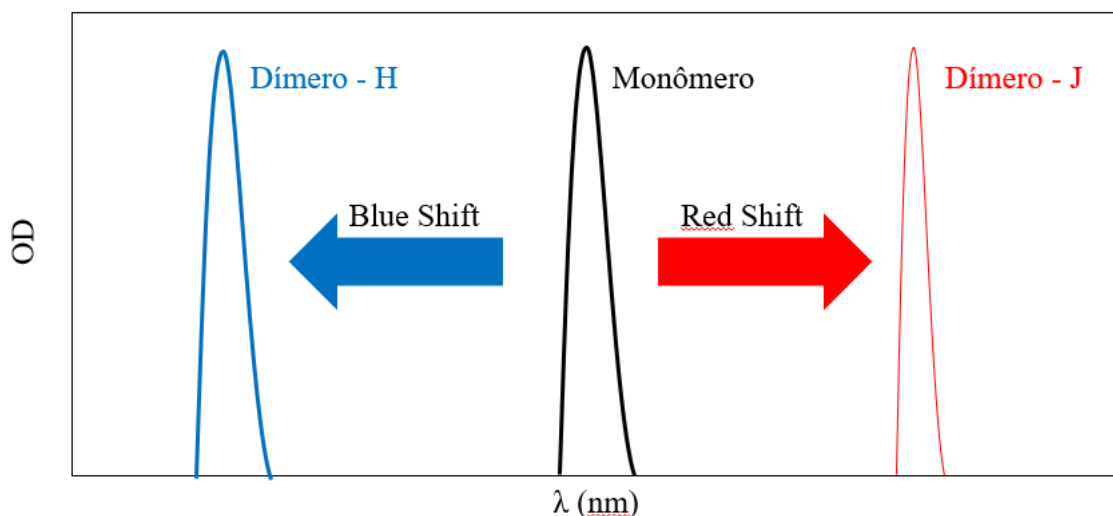


Figura 3 – Deslocamento das bandas do dímero do tipo J e H.

Fonte: De autoria própria, 2022.

Esse deslocamento pode ser explicado pelos níveis eletrônicos que são habilitados ou desabilitados. Os estados eletrônicos são habilitados ou desabilitados conforme o momento dipolar de transição da formação do agregado, quando este é diferente de zero ele é habilitado, quando igual a zero é desabilitado. Por exemplo, no caso das formações do tipo H o estado eletrônico de maior energia do tipo $*S''_1$ é habilitado, enquanto que o estado $*S'_1$ é desabilitado. Para as formações do tipo J o estado $*S'_1$ está habilitado enquanto $*S''_1$ desabilitada (HEYNE, 2016). O esquema eletrônico da Figura 4 mostra como ocorre nas duas formações de dímero.

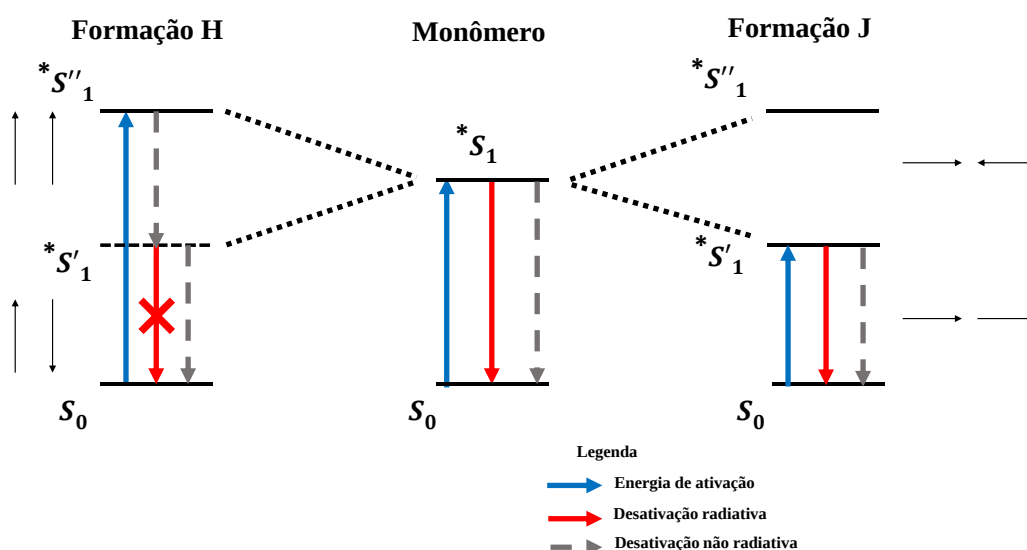


Figura 4 – Esquema da configuração eletrônica do dímero de formação J e H.

Fonte: De autoria própria, 2022.

Importante destacar que os dímeros com formações do tipo H não possuem por característica fluorescência. Todo o processo de desativação física ocorre por conversão interna (não radiativa) devido a desabilitação do estado $^*S'_1$. Mas, a formação J possui alta fluorescência, no entanto, de natureza diferente da fluorescência do monômero, sendo a variação energética entre os estados eletrônicos diferente. Em uma solução pode-se ter os dois tipos de agregação, dos tipos J e H, gerando um espectro com uma banda deslocada para o azul e outra para o vermelho.

Os agregados moleculares são afetados por diversos fatores. Dentre eles podem ser citados a concentração do soluto, polaridade do solvente e a temperatura.

A dependência da concentração de soluto na agregação molecular de corantes é um fenômeno complexo que pode variar de acordo com as propriedades específicas do corante e as condições experimentais. No entanto, existem algumas considerações gerais que podem ser feitas de forma científica para entender essa dependência. Uma delas é o efeito da concentração no equilíbrio de agregação. Neste caso, a concentração do corante em uma solução pode afetar o equilíbrio entre as espécies moleculares individuais e os agregados formados. Em concentrações baixas, a predominância será de moléculas dispersas individualmente, enquanto em concentrações mais altas, a tendência para a formação de agregados aumenta. Isso ocorre porque o aumento da concentração aumenta as chances de encontros entre as moléculas, favorecendo as interações necessárias para a agregação (WANG et al., 2020; FRIEDL, 2016; PIGNATARO, HERRERA, DODERO, 2020).

A concentração do corante também pode influenciar a velocidade de formação de agregados moleculares. Concentrações mais elevadas proporcionam maior probabilidade de colisões entre as moléculas, o que acelera as reações de agregação. Por outro lado, concentrações muito altas podem levar a uma maior competição por colisões e, potencialmente, reduzir a taxa de agregação (RÁPÓ & TONK, 2021; BARZAN & HAJIESMAEILBAIGI, 2018).

Além disso, a concentração pode influenciar no tamanho médio dos agregados formados. Em geral, concentrações mais altas podem levar à formação de agregados maiores, uma vez que há mais moléculas disponíveis para se juntarem ao agregado em crescimento. Contudo, estas concentrações mais elevadas podem aumentar a estabilidade dos agregados, com mais interações moleculares presentes para manter a estrutura do agregado (WAGNER, 2016; SLAVNOVA, CHIBISOV, GÖRNER, 2002).

A concentração do corante na solução é capaz de alterar suas propriedades ópticas, como a absorção de luz e a emissão de fluorescência. Ela pode influenciar essas propriedades, pois a formação de agregados pode alterar o espectro de absorção e a

eficiência de emissão. Em algumas situações, concentrações mais altas podem levar a um deslocamento do pico de absorção para comprimentos de onda mais longos e a uma diminuição na intensidade da absorção (D'ILARIO & MARTINELLI, 2006; HEYNE, 2016).

O corante pode sofrer agregação molecular causado pela polaridade do solvente. Os mecanismos de agregação molecular dos corantes causados pela polaridade do solvente envolvem interações intermoleculares entre as moléculas do corante e as moléculas do solvente. Essas interações podem levar à formação de estruturas supramoleculares, como dímeros, oligômeros ou agregados maiores.

Quando um corante é dissolvido em um solvente polar, as moléculas do solvente, que possuem cargas parciais positivas e negativas devido à sua polaridade, interagem com as moléculas do corante por meio de forças intermoleculares. As principais interações envolvidas são:

- **Ligações de hidrogênio:** Em solventes polares, como água ou álcoois, as moléculas de corante podem formar ligações de hidrogênio com as moléculas do solvente. Essas ligações podem ocorrer entre grupos doadores de hidrogênio no corante, como hidroxilas (OH), aminas (NH) ou amidas (NH), e grupos aceitadores de hidrogênio no solvente, como oxigênio (O) ou nitrogênio (N). A formação de ligações de hidrogênio favorece a agregação das moléculas do corante.
- **Interações dipolo-dipolo:** Solventes polares possuem dipolos moleculares, ou seja, uma distribuição assimétrica de cargas elétricas, o que resulta em dipolos permanentes nas moléculas. As moléculas do corante, por sua vez, também podem possuir dipolos. Assim, as interações dipolo-dipolo entre as moléculas do corante e do solvente contribuem para a agregação molecular.
- **Forças de dispersão de London:** Mesmo em solventes polares, as forças de dispersão de London ainda são presentes. Essas forças são de natureza temporária e ocorrem devido à distribuição momentânea de cargas nas moléculas. As interações de dispersão podem ocorrer entre as moléculas do corante e do solvente, contribuindo para a agregação.

Essas interações intermoleculares, como ligações de hidrogênio, dipolo-dipolo e forças de dispersão de London, podem promover a aproximação e o alinhamento das moléculas do corante. Isso pode levar à formação de dímeros, onde duas moléculas de

corante se ligam entre si por meio das interações mencionadas (BUJDÁK, 2006; HEYNE, 2016; SPANGE, WEIß, MAYERHÖFER, 2022).

Além dos dímeros, em alguns casos, em solventes com caráter altamente polar, pode ocorrer a formação de agregados maiores, onde múltiplas moléculas de corante se ligam, formando estruturas supramoleculares. A formação desses agregados é influenciada pelas propriedades estruturais e químicas do corante, bem como pelas propriedades do solvente (YAO et al., 2004).

A variação da temperatura é outro fator que influencia as interações entre as moléculas do corante e, conseqüentemente, a formação de agregados. A temperatura está diretamente relacionada à energia térmica das moléculas. À medida que a temperatura aumenta, a energia cinética das moléculas também aumenta, levando a uma maior agitação molecular. Isso pode facilitar a quebra das interações moleculares que mantêm os agregados intactos, reduzindo a estabilidade dos agregados.

A solubilidade dos corantes em um solvente pode ser influenciada pela temperatura. Em alguns casos, o aumento da temperatura pode levar a um aumento na solubilidade do corante, o que pode resultar em uma maior dispersão das moléculas individuais em vez da formação de agregados. Por outro lado, em certos sistemas, a diminuição da temperatura pode favorecer a formação de agregados, uma vez que a solubilidade do corante diminui (GHASEMI, NIAZI, KUBISTA, 2005; YAZDANI et al., 2012; TAMIJI, YAZDANIPOUR, NIAZI, 2018).

O corante azul de toluidina é conhecido por formar agregados moleculares quando presente em certas condições. Ele é um corante básico sintético que tem sido amplamente utilizado em histologia e microscopia para a coloração de tecidos e células. O corante foi sintetizado pela primeira vez no final do século XIX durante o desenvolvimento da indústria de corantes sintéticos (GARFIELD, 2006). A descoberta do azul de toluidina foi parte de um esforço maior para desenvolver corantes sintéticos como alternativas aos corantes naturais.

O azul de toluidina é um corante básico que se liga a componentes celulares ácidos, como ácidos nucleicos e proteínas. O azul de toluidina também tem sido usado em outras áreas da ciência, como microbiologia e neurobiologia (SILVERMAN JR; MIGLIORATI; BARBOSA, 1984; SRIDHARAN & SHANKAR, 2012).

Este corante tem sido usado para estudar a estrutura da cóclea no ouvido interno (MA et al., 2000; HANDZEL, BURGESS, NADOL JR., 2006), além da estrutura e função do sistema nervoso (TRUMAN & BATE, 1988). Também tem sido usado em vários estudos para investigar os efeitos de vários tratamentos em tecidos e células biológicas.

Por exemplo, para estudar os efeitos da radioterapia na estrutura e função da glândula salivar (ZHU, *et al.* 2019).

Os principais tipos de agregação molecular observados para o azul de toluidina são:

- **Agregação Heterogênea:** O azul de toluidina pode se agregar em meio aquoso, formando agregados heterogêneos, que podem ser visualizados como partículas ou grumos suspensos na solução. Esses agregados podem ser causados por interações hidrofóbicas entre as moléculas do corante em um meio polar, como a água.
- **Empilhamento π - π :** O azul de toluidina contém uma estrutura cromófora que permite interações de empilhamento π - π . Essas interações ocorrem entre os sistemas eletrônicos conjugados das moléculas do corante, resultando na formação de agregados lineares ou planares. O empilhamento π - π é influenciado por fatores como a concentração do corante, solvente e pH.
- **Inclusão em Ciclodextrinas:** As ciclodextrinas são moléculas cíclicas compostas por unidades de glicose. O azul de toluidina pode formar complexos de inclusão com ciclodextrinas, onde as moléculas do corante são encapsuladas dentro da cavidade hidrofóbica das ciclodextrinas. Essa interação pode afetar as propriedades do corante, como sua solubilidade e estabilidade.

É importante destacar que a agregação do azul de toluidina pode ter implicações nas propriedades ópticas e físico-químicas do corante, incluindo sua capacidade de absorção de luz e fluorescência. Essas propriedades podem ser afetadas pela presença de agregados moleculares e pelas interações entre as moléculas do corante.

A compreensão dos diferentes tipos de agregação molecular do azul de toluidina é relevante para diversas aplicações, como em coloração histológica e investigações em química analítica e bioquímica (D'ILARIO & MARTINELLI, 2006; KIERNAN, 2006; SRIDHARAN & SHANKAR, 2012; DE CAMPOS VIDAL & MELLO, 2019).

Na próxima seção é demonstrado matematicamente a dependência das propriedades ópticas dos corantes orgânicos com a temperatura devido ao processo de agregação molecular, conforme a teoria termoquímica apresentada.

3.2. Propriedades Ópticas versus Termoquímica de Corantes Orgânicos

Como dito na seção anterior, diversos são os fatores que afetam o fenômeno de agregação molecular, sendo uma delas a temperatura. Segundo a equação de Van't Hoff (Eq. 1) a constante de equilíbrio químico, constante que relaciona a concentração molar de duas substâncias em um solvente, é dependente da temperatura.

$$\ln(K_D) = -\frac{\Delta H^\circ}{RT} + \frac{\Delta S^\circ}{R} \quad [1]$$

K_D = constante de equilíbrio químico;

ΔH° = variação de entalpia-padrão (J/mol);

R = constante universal dos gases (J/mol.K);

ΔS° = variação da entropia-padrão (J/mol.K);

T = temperatura do sistema em Kelvin (K);

Para uma dada quantidade de massa (m), em uma molécula de corante orgânico qualquer, sabe-se o número de mols (n) pela relação com a massa molecular (M) da molécula ($n=m/M$). Quando misturada em solvente tem-se a concentração teórica de soluto em solvente, $[S]_0$. Para moléculas que sofrem agregação, a concentração real é diferente da teórica, uma vez que parte das moléculas de corante se transformam em dímeros. A Figura 5 ilustra a diferença entre a concentração teórica e a real.

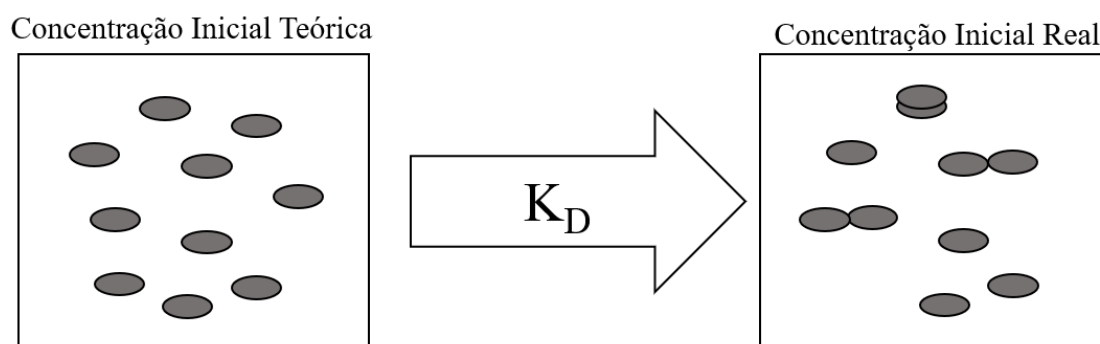


Figura 5 – Concentração teórica X Concentração real.

Fonte: De autoria própria, 2022.

A concentração inicial teórica é uma concentração calculada com base na pesagem de soluto misturado em uma quantidade volumétrica de solvente, que também foi previamente calculada, levando em conta apenas a quantidade de monômero. Já a

concentração real é a parcela de corantes que permanece na forma monomérica, $[M]$, somada a concentração de dímeros, $[D]$.

Para a formação de um dímero são necessárias duas moléculas de monômero, assim tem-se as seguintes relações.

$$M + M = D \quad [2]$$

$$K_D = \frac{[D]}{[M]^2} \quad [3]$$

$$[M] + 2[D] = [S]_0 \quad [4]$$

A Equação 4 correlaciona as concentrações de dímero e monômero com a concentração teórica. Dividindo os dois lados dessa equação por $[S]_0$, tem-se:

$$f_m + f_d = 1 \quad [5]$$

Onde,

$$f_d = \frac{2[D]}{[S]_0} \quad [6]$$

$$f_m = \frac{[M]}{[S]_0} \quad [7]$$

Substituindo a concentração do dímero e do monômero na Equação 4 pela relação das Equações 6 e 7, tem-se:

$$K_D(T) = \frac{f_d}{2[S]_0 f_m^2} \quad [8]$$

Onde $f_d = 1 - f_m$, portanto

$$K_D(T) = \frac{1 - f_m}{2[S]_0 f_m^2} \quad [9]$$

Assim, tem-se que

$$f_m = \frac{2}{(1 + 8K_D[S]_0)^{1/2} + 1} \quad [10]$$

Uma equação de relação entre a absorbância e a temperatura da amostra é possível utilizando a equação de Beer-Lambert (Equação 11). Mas para isso é necessário considerar os coeficientes de extinção molar do dímero e do monômero constantes quando se varia a temperatura.

$$A = \varepsilon \cdot [S]_0 \cdot l \quad [11]$$

A = Absorbância;

ε = Coeficiente de extinção molar da substância (L/mol.cm);

$[S]_0$ = Concentração inicial de corante (mol/L);

l = passo óptico (cm);

$$A_t = A_d + A_m \quad [12]$$

A_t = Absorbância total;

A_d = Absorbância do dímero;

A_m = Absorbância do monômero;

$$A_t = (\varepsilon_m[M] + \varepsilon_d[D]) \cdot l \quad [13]$$

A_t = Absorbância total;

ε_m = Coeficiente de extinção molar do monômero (L/mol.cm);

ε_d = Coeficiente de extinção molar do dímero (L/mol.cm);

$[M]$ = Concentração de monômero (mol/L);

$[D]$ = Concentração de dímero (mol/L);

l = passo óptico (cm);

Substituindo as concentrações da Equação 13 pelas relações das Equações 6, 7 e 8, têm-se:

$$A_t = \left(\varepsilon_m f_m + \varepsilon_d \frac{f_d}{2} \right) \cdot [S]_0 l = \left(\varepsilon_m f_m + \varepsilon_d \frac{(1 - f_m)}{2} \right) \cdot [S]_0 l \quad [14]$$

$$\frac{A_t}{[S]_0 l} = \varepsilon_m f_m + \frac{\varepsilon_d}{2} - \frac{\varepsilon_d f_m}{2} = f_m \left(\varepsilon_m - \frac{\varepsilon_d}{2} \right) + \frac{\varepsilon_d}{2} \quad [15]$$

$$f_m = \left(\frac{\frac{A_t}{[S]_0 l} - \frac{\varepsilon_d}{2}}{\varepsilon_m - \frac{\varepsilon_d}{2}} \right) \quad [16]$$

Substituindo a Equação 10 na 16 e deixando K_D em evidência, tem-se:

$$K_D = \frac{\left[2 \left(\frac{\varepsilon_m - \frac{\varepsilon_d}{2}}{\frac{A_t}{[S]_0 l} - \frac{\varepsilon_d}{2}} \right) - 1 \right]^2 - 1}{8[S]_0} \quad [17]$$

Utilizando a equação de Van't Hoff na Equação 17 e isolando a Temperatura, tem-se:

$$T = -\frac{\Delta H^\circ}{R} \cdot \frac{1}{\ln \left\{ \frac{\left[2 \left(\frac{\varepsilon_m - \frac{\varepsilon_d}{2}}{\frac{A_t}{[S]_0 l} - \frac{\varepsilon_d}{2}} \right) - 1 \right]^2 - 1}{8[S]_0} \right\} - \frac{\Delta S^\circ}{R}} \quad [18]$$

Também pode-se isolar o termo A (Absorbância) da Equação 18. Assim, tem-se a seguinte equação:

$$A = [S]_0 l \left[\frac{\varepsilon_d}{2} + \frac{2\varepsilon_m - \varepsilon_d}{\left(1 + 8[S]_0 e^{\left(-\frac{\Delta H^\circ}{RT} + \frac{\Delta S^\circ}{R}\right)}\right)^{1/2} + 1} \right] \quad [19]$$

Vale lembrar que as Equações 18 e 19 modelam a dependência da absorbância com a temperatura em uma situação de equilíbrio químico, ou seja, quando a taxa de transformação de monômero em dímero é igual a taxa de transformação de dímero em monômero ($\frac{d[M]}{dt} = \frac{d[D]}{dt}$).

Ao monitorar o equilíbrio entre dímeros e monômeros, é possível obter informações valiosas sobre as interações moleculares e a estabilidade dos agregados. As técnicas espectroscópicas exploram as mudanças nas propriedades ópticas dos corantes orgânicos durante a agregação, permitindo a identificação e quantificação dos estados de agregação em tempo real. O uso de lasers como fonte de irradiação oferece vantagens significativas, como alta intensidade e capacidade de ajuste de comprimento de onda, tornando essas técnicas poderosas para investigar as transições de equilíbrio em sistemas de corantes orgânicos com alta precisão e sensibilidade

3.3. Espectroscopia e Laser

A caracterização de materiais é uma das áreas mais fundamentais e imprescindíveis na ciência dos materiais. Seu papel é de extrema importância na compreensão das propriedades e comportamentos dos materiais, permitindo o desenvolvimento de novos materiais com propriedades específicas, melhorias nos processos de fabricação e avanços em diversas aplicações tecnológicas.

As técnicas de caracterização de materiais podem ser classificadas em duas categorias principais: destrutivas e não destrutivas. As técnicas de caracterização destrutiva envolvem a preparação de amostras, geralmente com o uso de técnicas de corte ou desgaste, para análise. Essas técnicas permitem uma avaliação detalhada da estrutura interna e das propriedades dos materiais, mas podem alterar permanentemente ou destruir a amostra original no processo. Em contraste, as técnicas de caracterização

não destrutiva permitem a análise dos materiais sem comprometer sua integridade, o que é particularmente importante para materiais valiosos ou de uso restrito. Essas técnicas incluem, por exemplo, a microscopia óptica, a espectroscopia de raios X e as técnicas de ressonância magnética nuclear. Ambas as abordagens têm suas vantagens e desvantagens, e a escolha da técnica adequada depende dos objetivos específicos da análise e das características do material a ser estudado.

Em ciência dos materiais a espectroscopia é uma categoria de técnicas de caracterização usadas para revelar a composição química, variação da composição, estrutura cristalina e propriedades fotoelétricas dos materiais. Técnicas espectroscópicas envolvem a medição da resposta de um material a diferentes frequências de radiação eletromagnética (CALLISTER JR., 2008). Espectroscopia UV-vis, espectroscopia IR, espectroscopia Raman, espectroscopia de raios X e espectroscopia de RMN são algumas das técnicas espectroscópicas comumente utilizadas (HOLLAS, 2004).

O laser é uma fonte de radiação altamente versátil e eficiente, com diversas aplicações dentro do contexto das técnicas espectroscópicas. O laser pode ser utilizado como uma fonte de excitação para interagir com os materiais, levando a respostas únicas e específicas. Por exemplo, na espectroscopia de absorção, o laser pode ser sintonizado para comprimentos de onda específicos, permitindo a detecção seletiva de transições eletrônicas em materiais (PARK et al., 2010). Na espectroscopia Raman, o laser é usado para dispersar a luz e proporcionar informações sobre as vibrações moleculares (DE OLIVEIRA PENIDO et al., 2016). Ele também pode ser utilizado em técnicas de fluorescência, fotoluminescência e espalhamento de luz, permitindo uma ampla gama de análises em diferentes materiais, desde moléculas orgânicas até nanomateriais e semicondutores, tornando-o uma ferramenta importante na caracterização e investigação de propriedades materiais (THOMPSON, 1985; ZHU et al., 2020).

Uma característica interessante do laser, que pode ser explorada em diversas aplicações, é a sua capacidade de depositar calor de maneira controlada. O laser pode ser usado para aquecer seletivamente regiões específicas de um material, proporcionando precisão e controle no tratamento térmico.

Na medicina, o laser é usado em procedimentos cirúrgicos, onde a energia do laser é direcionada para cortar, vaporizar ou coagular tecidos de forma precisa. Essa precisão permite a realização de cirurgias menos invasivas e com menor dano aos tecidos circundantes (KHALKHAL et al., 2019).

Além disso, o laser também é utilizado em processos industriais, como soldagem e corte, onde o feixe de alta energia é focado em um ponto específico tanto para fundir

e unir materiais quanto para cortá-los e separá-los. A soldagem e corte a laser são amplamente empregados em setores como a indústria automotiva, aviação, eletrônica e metalúrgica, devido à sua alta precisão e eficiência (DEEPAK., ANIRUDH, SUNDAR, 2023).

Outra aplicação notável é a tecnologia de impressão a laser, onde a capacidade do laser de depositar calor em pontos específicos é aproveitada para criar imagens ou textos em papel, plástico ou outros materiais.

Em resumo, o laser desempenha um papel crucial nas técnicas espectroscópicas, fornecendo uma fonte de luz altamente coerente e direcionada. Além disso, sua capacidade de depositar calor de forma precisa é explorada em uma ampla gama de aplicações, desde a medicina até a indústria, permitindo avanços significativos em diversas áreas.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Preparo das Amostras de Azul de Toluidina em Água Desmineralizada para Estudo da Agregação Molecular

O corante selecionado como soluto para os testes e estudo de agregação molecular é o azul de orto-toluidina (AOT). Ele é uma variante do corante azul de toluidina. É um corante metacromático que tem alta afinidade por componentes ácidos de tecidos e células, como DNA e RNA (SRIDHARAN & SHANKAR, 2012). O corante é frequentemente usado em estudos de patologia para a detecção de lesões pré-malignas e malignas (LEOSARI, HADIATI, AGUSTINA, 2009). O azul de orto-toluidina também tem sido usado em estudos de fotodinâmica antimicrobiana para o tratamento de infecções fúngicas (WIENCH et al., 2021).

O azul de orto-toluidina é um pó orgânico de coloração azulada (Figura 6), da família das fenotiazinas, prontamente solúvel em água e etanol, possui peso molecular de 305,83 g/Mol, fórmula química $C_{15}H_{16}ClN_3S$ e número CAS 92-31-9. Opticamente, apresenta máxima absorção luminosa perto de 650 nm, região espectral de interesse dos tratamentos foto-terapêuticos, sobretudo pela alta penetrabilidade luminosa tecidual dessa região. A geometria planar do AOT, vista na Figura 7, é mais uma característica que promove a agregação molecular. O corante dos experimentos é fabricado e registrado pela empresa Sigma-Aldrich (ANEXO).



Figura 6 – Azul de orto-toluidina. a) Frasco de conservação utilizado pelo fabricante; b) em pó.

Fonte: De autoria própria, 2022.

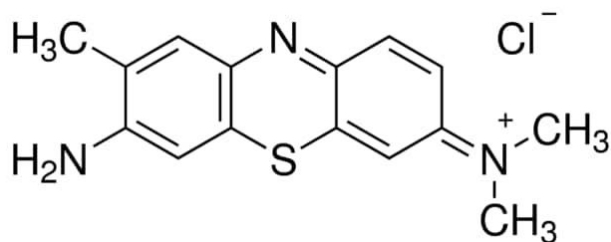


Figura 7 – Esquema geométrico da molécula azul de orto-toluidina.

Fonte: De autoria própria, 2022.

Como solvente a água desmineralizada é composta por dois átomos de hidrogênio e um átomo de oxigênio covalentemente ligados (H_2O). Devido a sua não linearidade geométrica e a eletronegatividade maior do oxigênio frente a do hidrogênio, que puxa a nuvem eletrônica para mais próxima de si, a água possui um caráter polar com região positiva e negativa bem definida em sua molécula. Tal característica promove o fenômeno de agregação molecular. A Figura 8 mostra a estrutura química da água.

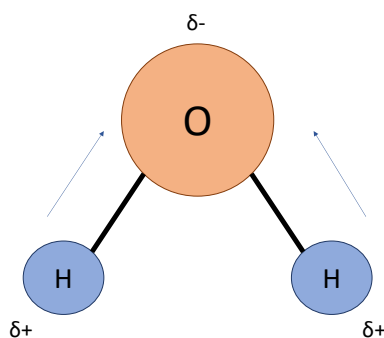


Figura 8 – Estrutura molecular da água (solvente).

Fonte: De autoria própria, 2022.

As concentrações estudadas neste trabalho foram produzidas a partir da diluição de uma solução estoque, previamente preparada, com o solvente de água desmineralizada. Portanto, a solução estoque foi confeccionada a partir da mistura de 100 mg de azul de orto-toluidina (soluto) pesado em uma balança analítica calibrada (Shimadzu, modelo BL320H) e 100 ml de água desmineralizada (solvente) coletada via balão volumétrico. Com o auxílio de uma barra magnética (“peixinho”) mergulhado na solução é realizado a mistura através de um agitador magnético (Barnstead International, modelo Thermolyne Cimarec 2) por 10 minutos. Em seguida, a solução estoque é conservada em recipiente vedado dentro de refrigerador a uma temperatura de 5 °C.

As amostras foram preparadas diluindo volumes de solução estoque em água desmineralizada em quatro concentrações diferentes. A Tabela 1 mostra a quantidade

em volume de solução estoque e solvente utilizada, além da concentração [S] resultante em mg/l.

Tabela 1 – Concentração resultante das amostras estudadas.

Amostra	Solução estoque	Solvente	[S] (mg/l)
(a)	1 Volume	4 Volumes	200
(b)	1 Volume	2 Volumes	333
(c)	1 Volume	1 Volume	500
(d)	2 Volumes	1 Volume	667

Os porta amostras utilizados são compostos por duas lâminas de vidros circulares e um espaçador circular com um furo central fabricado em filme polimérico com três espessuras distintas: 80 μm ; 160 μm e 280 μm . Para garantir o aprisionamento do porta amostra, foi utilizado um componente hidráulico de PVC chamado comercialmente de “união roscável”. A Figura 9 mostra os componentes utilizados nos porta amostras.

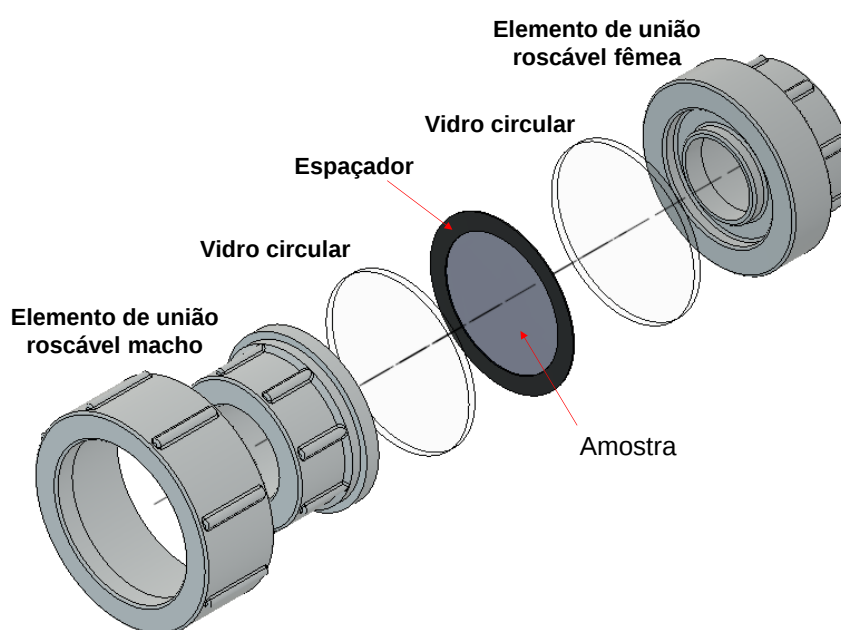


Figura 9 – Vista explodida dos componentes utilizados no porta amostra.

Fonte: De autoria própria, 2022.

O preparo das amostras para a realização dos experimentos ocorre conforme a sequência descrita abaixo:

- 1) Retira-se a solução estoque do refrigerador, e a deixe aguardando por cerca de 15 minutos na bancada para que a termalização com o ambiente ocorra;
- 2) Em seguida, a solução estoque é levada para o agitador magnético por 10 minutos para mitigar possíveis problemas de sedimentação;

- 3) Com o auxílio de uma pipeta (HTL, modelo Labmate PRO 100 – 1000 μ l), é depositado em um béquer o volume de solução estoque e de água desmineralizada conforme a concentração desejada na Tabela 1;
- 4) Retira-se a solução do béquer com uma seringa, e a despeja novamente no béquer para garantir a que os compostos foram devidamente misturados;
- 5) Novamente retira-se a solução do béquer com a seringa, e a despeja no centro do vidro circular do porta amostra;
- 6) Posicione o espaçador sobre o vidro com a amostra, conforme o comprimento óptico desejado;
- 7) Posicione o segundo vidro do porta amostra sobre o espaçador, com cuidado suficiente para que espalhe a solução por toda a superfície do vidro e não gere bolhas ao final do processo.
- 8) Por fim, o porta amostra é posicionado dentro do componente fêmea da união roscável e travado em seguida pelo componente macho.

4.2. Configuração da Bancada Óptica para os Testes de Feixe Único

Após o preparo de uma das concentrações, esta é reservada em um dos três porta amostras com passo óptico distintos, descritos na seção anterior (80, 160 e 280 μm). Em seguida, a amostra passa por um estudo espectroscópico UV-VIS entre 400 – 800 nm, via espectrômetro da marca Ocean Optics modelo USB4000, para obter os espectros de absorção e identificar a relação de densidade óptica entre as espécies dímero e monômero.

Após a espectroscopia, é realizado o experimento de feixe único (*single beam*) na amostra. Tal experimento consiste em bombardear a amostra, através da incidência de radiação eletromagnética, utilizando a técnica espectroscópica de transmissão. Foram montadas duas configurações na bancada óptica, um para o laser vermelho (663 nm) e outra para o laser verde (532 nm).

A bancada para o experimento com o laser vermelho utiliza de uma fonte de radiação eletromagnética do tipo laser semiconductor com comprimento de onda de 663 nm e potência de 100 mW capaz de modulação eletrônica do tipo TTL (Laserland®, China). Assim, além da fonte laser, a configuração conta com um gerador de onda (FY2300 12MHz/12bits – Feeltech, China); lente com distância focal de 100 mm para aumentar a densidade de energia na área irradiada; além de fotodetector (SGD-444) conectado a um osciloscópio para a aquisição dos dados (Tektronix, EUA).

O experimento para o laser verde ocorre em uma configuração experimental semelhante. Porém, a fonte de radiação eletromagnética trata-se de um laser em estado sólido com comprimento de onda de 532 nm com uma potência de 150 mW, sem a modulação TTL, de fabricação americana (MGL-III) e uma lente com distância focal de 80 mm em relação a amostra.

Por se tratar de um laser de emissão contínua, foi incorporado à configuração óptica um modulador eletromecânico associado a um equipamento de controle. Ambos equipamentos, modulador eletromecânico e o equipamento de controle, foram concebidos pelos colaboradores do Laboratório de Biofotônica.

Na Figura 10 é apresentado na forma de esquema a configuração da bancada óptica para o laser vermelho, enquanto que a Figura 11 mostra o esquema da bancada óptica do laser verde. Ambos os lasers possuem dupla função no experimento, a de estimular a amostra e de monitorá-la (teste *single beam*).

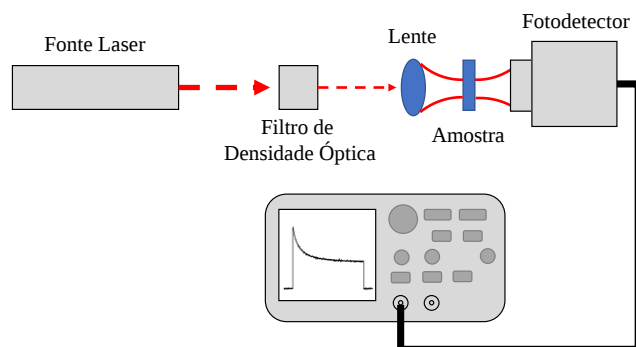


Figura 10 – Configuração da bancada óptica para o experimento de feixe único do laser vermelho.

Fonte: De autoria própria, 2022.

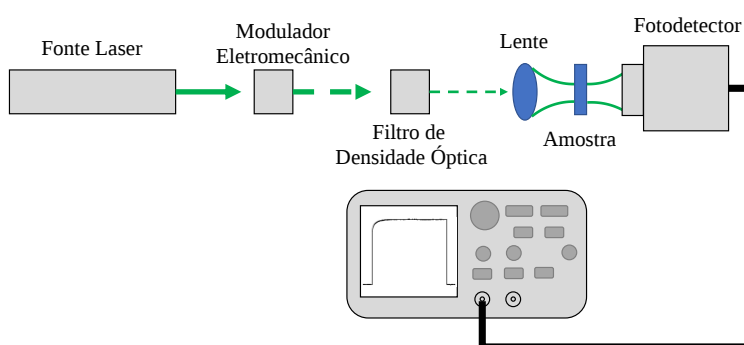


Figura 11 – Configuração da bancada óptica para o experimento de feixe único do laser verde

Fonte: De autoria própria, 2022.

As Figura 10 e Figura 11 revelam a utilização de filtros de densidade óptica. Estes são utilizados nos ensaios de variação da intensidade luminosa incidente sobre a amostra. Tal experimento tem como objetivo analisar o paralelismo do comportamento da solução frente a diferentes densidades de deposição luminosa, e verificar se há alguma região de mudança de regime na relação dímero/ monômero.

Ao final de cada experimento realizado, os dados obtidos via osciloscópio são salvos através de um pen drive em formato CSV. O arquivo é então encaminhado para um microcomputador, onde os dados coletados anteriormente são armazenados e tratados via softwares das plataformas Excel e OriginLab.

4.3. Método Knife Edge para Determinação do Diâmetro do Laser

A área iluminada pelo o laser na amostra é uma importante medida para a realização de cálculos energéticos envolvidos nos fenômenos de absorção da luz. O procedimento adotado para a verificação experimental desta variável foi de utilizar a técnica Knife Edge. Tal técnica consiste em bloquear o laser através de uma lâmina girante posicionada perpendicularmente ao caminho em que o laser está percorrendo. A lâmina girante deve possuir largura muito superior ao diâmetro do laser, de modo que este seja apenas um ponto na superfície da lâmina ao ser eclipsado. Além disso, o bloqueio da lâmina sobre o laser deve ocorrer o mais linear possível. A Figura 12 mostra o método Knife Edge para a determinação do diâmetro do feixe.

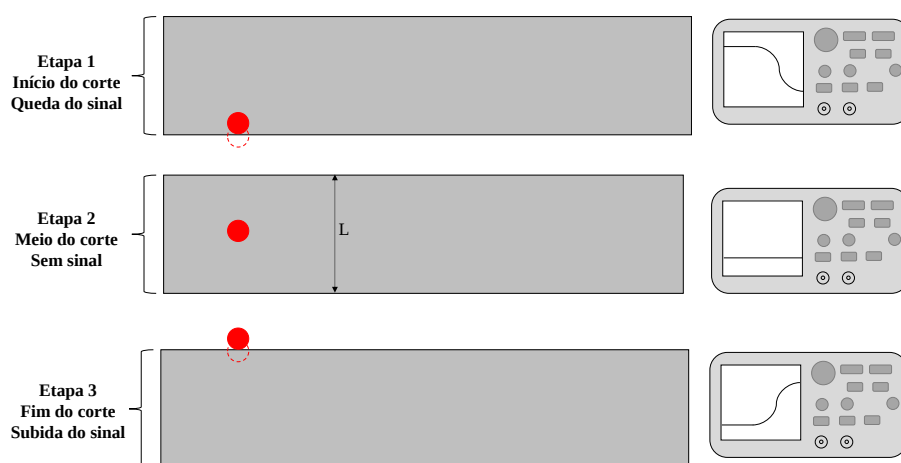


Figura 12 – Método Knife Edge de verificação do diâmetro do feixe.

Fonte: De autoria própria, 2022.

A configuração da bancada óptica para a utilização da técnica Knife Edge é semelhante ao esquema da Figura 10, porém sem filtro de densidade óptica, e no lugar da amostra, o dispositivo com a lâmina para eclipsar o feixe do laser. Além disso, o laser não inicia modulado como na figura, a lâmina é quem fará esse efeito nele. Antes da lâmina bloquear o laser a luz é captada pelo fotodetector e o sinal é exibido na tela do osciloscópio. À medida em que a lâmina começa a interromper a passagem do laser, o sinal começa a cair até o laser ser completamente encoberto pela lâmina e a passagem de luz é suspensa – Etapa 1 da Figura 12. Em seguida o laser passa por toda extensão da lâmina (Etapa 2 da Figura 12), até chegar a sua borda, a partir desse momento o sinal começa a subir a medida em que a lâmina permite a passagem de luz até que esta seja inteiramente liberada, Etapa 3 da Figura 12. Com os dados das 3 etapas coletados, e com o valor da largura da lâmina conhecido, o tamanho do diâmetro do laser (ϕ_l) é revelado pela seguinte equação.

$$\phi_f = \frac{\text{Comprimento da lâmina} \times \text{Tempo de descida}}{\text{Tempo de eclipsamento}}$$

[20]

4.4. Teste de Linearidade de Resposta do Fotodetector

O fotodiodo SGD-444 possui área de detecção de 100 mm² para a faixa espectral de 400 nm até 1150 nm, e responsividade espectral de 0,400 – 0,500 A/W na banda de 550 – 800 nm (EG&G OPTOELETRONICS, 2000). Este foi implementado em um circuito eletrônico dotado de uma chave seletora de resistência que possibilita modificar a relação amplitude de sinal e velocidade de resposta. O compartimento do aparato eletrônico foi construído em alumínio usinado. O esquema eletrônico do fotodetector SGD-444 pode ser visto na Figura 13, onde R1, R2 e R3 são os três resistores que possibilitam a seleção da relação entre amplitude e velocidade de resposta. O resistor de 10 kΩ (R1) possibilita o sinal de maior amplitude em detrimento de ter a menor velocidade de resposta. O de 1 kΩ (R2) possui característica intermediária entre as três possibilidades. E o de 500Ω (R3) possui o menor sinal e a resposta mais rápida entre os três.

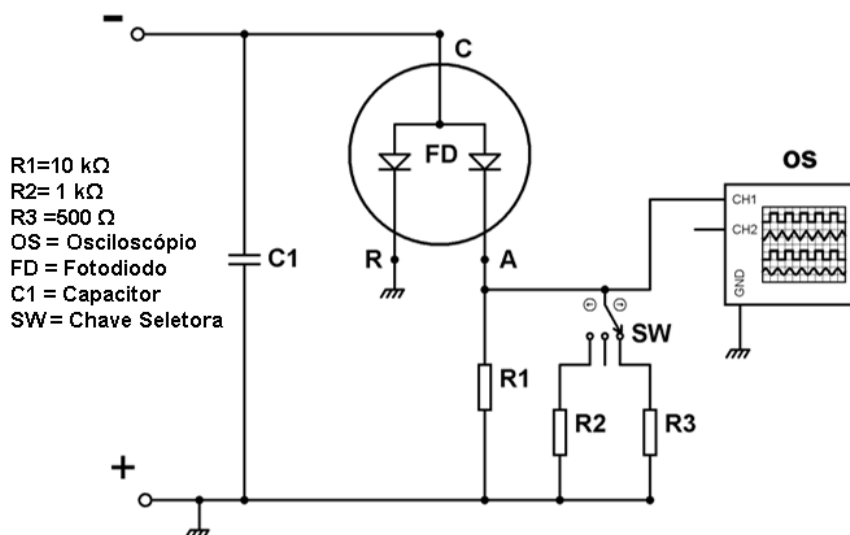


Figura 13 – Circuito eletrônico do fotodetector SGD-444.

Fonte: De autoria própria, 2022.

A garantia de bons resultados passa pela confiabilidade no sistema de medição utilizado. O fotodetector SGD-444, possui uma faixa de detecção onde sua resposta à quantidade de luz incidida sobre o diodo é linear à tensão gerada em seus terminais. Em metrologia essa é a região ideal de funcionamento de um equipamento. Portanto, o teste

de linearidade de resposta é conduzido para assegurar que os experimentos deste estudo sejam realizados dentro das capacidades do sistema de detecção.

O ensaio consiste em medir a incidência de luz via sistema de detecção (fotodetector SGD-444) para uma variedade de intensidades luminosas e comparar os resultados com um medidor de potência (*power meter*). O limite do fotodetector será a região do gráfico em que a linearidade entre os resultados se perder. Para o ensaio é utilizado como fonte luminosa o laser vermelho (663 nm e 100 mW, Laserland®), enquanto que para a atenuação do laser foram utilizados filtros de densidade óptica, posicionados entre o laser e o fotodetector ou medidor de potência. Os esquemas das configurações da bancada óptica para o teste de linearidade do fotodetector pode ser visto na Figura 14.

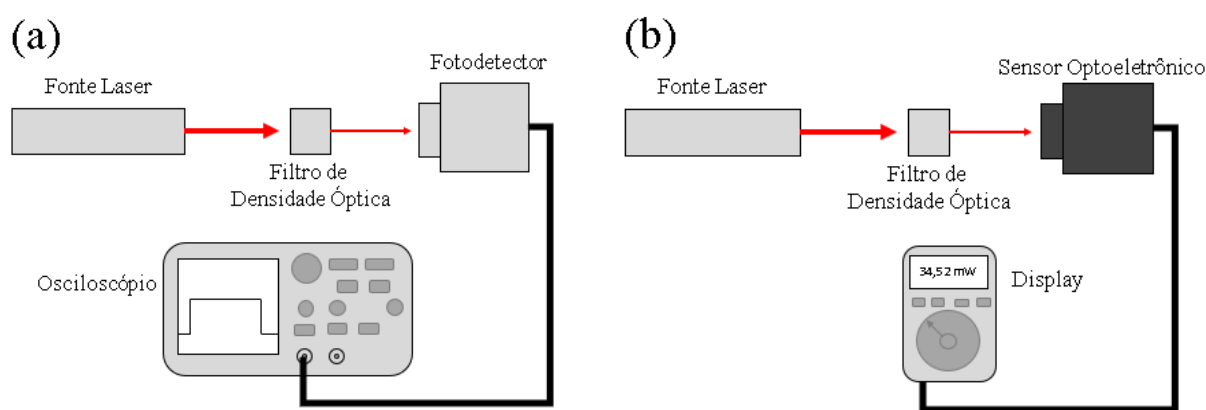


Figura 14 – Configuração da bancada óptica para o teste de linearidade do fotodetector SGD-444. a) com o fotodetector; b) com o medidor de potência.

Fonte: De autoria própria, 2022

4.5. Configuração da bancada Óptica para o Experimento de Bombeio e Prova

A técnica de bombeio e prova – *pump-probe* – é uma poderosa ferramenta utilizada em diversas áreas da ciência, especialmente na física e na química. Ela é amplamente aplicada para investigar reações ultra rápidas e processos dinâmicos em sistemas moleculares, materiais e até mesmo em sistemas biológicos.

Essa técnica baseia-se em um conceito relativamente simples, mas extremamente eficaz: são utilizados dois pulsos de laser distintos e controlados temporalmente. O primeiro pulso (bombeio – *pump*) é responsável por excitar o sistema em estudo, promovendo mudanças no seu estado inicial. Esse pulso de energia é geralmente muito curto, permitindo o acesso a fenômenos extremamente rápidos. Após a excitação pelo pulso de bombeio, o sistema entra em um estado energético diferente e evolui ao longo do tempo. É nesse momento que entra o segundo pulso de laser (prova

– *probe*), que é atrasado em relação ao primeiro. O pulso de prova serve para sondar as mudanças ocorridas no sistema durante a sua evolução temporal. O sinal resultante da interação entre o pulso de prova e o sistema em evolução é então detectado e analisado. Através dessa análise, é possível obter informações valiosas sobre os estados intermediários, os tempos de vida, os caminhos de reação e outras características cruciais dos sistemas estudados.

Neste trabalho é utilizado uma variante da técnica bombeio e prova. O laser de bombeio será acionado dentro da janela de acionamento do laser de prova. Ou seja, durante o experimento, inicialmente será ligado o laser de prova, dando início ao registro temporal do experimento. Em seguida, o laser de bombeio é acionado e incidido na amostra e o resultado da sua interferência é observado.

Para que o registro do experimento seja assertivo, são necessários alguns requisitos na configuração experimental. Uma delas é a necessidade de que o laser de prova tenha um diâmetro de incidência na amostra menor que a do laser de bombeio. Assim, o laser de prova deve estar completamente dentro da área iluminada do laser de bombeio. Desta maneira, todas as moléculas iluminadas pelo laser de prova que participam do sinal gerado na resposta temporal, serão também iluminadas pelo laser vermelho. Outro requisito experimental é filtrar o laser de bombeio após a amostra. Tal requisito é necessário para que este não participe diretamente do sinal registrado, mantendo apenas a iluminação do laser de prova incidido no fotodetector.

Em um dos testes o laser de bombeio utilizado possui um comprimento de onda de 663 nm (vermelho), enquanto que o laser de prova possui 532 nm (verde). Em outro, o laser com 532 nm é utilizado como bombeio e o de 663 nm como prova. Se tratando da amostra de azul de orto-toluidina, o laser verde está próximo da região de agregação do dímero, enquanto que o laser vermelho está na região espectral da molécula monomérica.

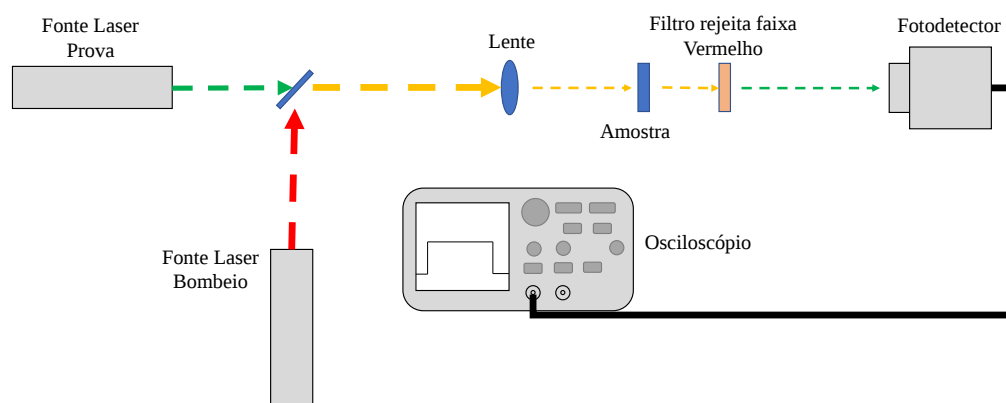


Figura 15 – Configuração do experimento de bombeio e prova.
Fonte: De autoria própria, 2022.

5. RESULTADOS

Nesta seção os resultados serão apresentados na seguinte ordem. Primeiramente é validado toda a parte de instrumentação que foram utilizadas nos experimentos principais com a amostra de AOT em solução aquosa. Durante essa exposição são mostrados os testes espectroscópicos de emissão, de medida de potência e de diâmetro do feixe para os lasers vermelho e verde. Também os testes feitos para a caracterização do tempo de subida e descida, e da resposta linear do fotodetector SGD-444. Em seguida são apresentados os resultados principais com a amostra de AOT em solução aquosa para as diferentes concentrações e caminhos óticos utilizados. Nesta etapa são apresentados os resultados espectroscópicos da amostra em diferentes concentrações. Também é apresentado um estudo da resposta temporal da amostra quando bombardeada por radiação eletromagnética do tipo laser, tanto para o laser vermelho quanto o verde. Por fim, serão expostos os resultados do experimento de variação de potência incidente sobre a amostra.

5.1. Instrumentação

Antes de realizar os testes nas amostras de AOT em água desmineralizada é imprescindível caracterizar a instrumentação utilizada. Para os lasers foram realizados testes espectrais, suas potências foram medidas através de um power meter, e a área de incidência de luz – diâmetro do feixe – na posição da amostra foi adquirida via método Knife Edge. Os fotodetectores tiveram medidos os seus tempos de subida e descida, e também foi verificada a linearidade de sua resposta para diferentes intensidades de luz incidente. Por fim, o outro dispositivo testado foi o modulador eletromecânico utilizado na bancada do laser verde, este teve seu tempo de subida e decida caracterizado.

5.1.1. Medida de Potência e Diâmetro do Feixe dos Lasers Vermelho e Verde

O teste de medida de potência dos lasers leva em conta a quantidade de luz que incide na amostra. O laser também deve ser posicionado no mesmo local em que ficará durante os experimentos com a amostra e a luz deve passar pelo mesmo caminho. Os valores obtidos para os lasers vermelho e verde foram 75 mW e 115 mW, respectivamente, com o sensor do medidor de potência posicionado após a lente de focalização para contabilizar as reflexões na lente.

A medida do diâmetro do feixe foi feita pela técnica Knife Edge descrita na seção 4.3. Os resultados de diâmetro do feixe dos lasers vermelho e verde foram de 109 μm e 110 μm , respectivamente. Os valores do diâmetro do feixe foram obtidos com a lâmina giratória na posição da amostra no foco, utilizando as lentes de 100 mm (experimento com laser vermelho) e 80 mm (experimento com laser verde).

Tabela 2 – Resultado dos valores de potência do laser e do diâmetro do feixe para os lasers vermelho e verde.

Laser	Potência do Laser (mW)	Diâmetro do feixe (μm)
Vermelho	75	109
Verde	115	110

5.1.2. Teste do Tempo de Resposta de Subida e Descida do Fotodetector SGD-444

A velocidade de resposta do sistema de detecção é um parâmetro importante na identificação da capacidade que o instrumento possui em monitorar certos fenômenos. A difusividade térmica na água ocorre a uma taxa de 145 $\mu\text{m}^2/\text{ms}$. Portanto, o fotodetector ideal para o estudo da deposição de calor em uma solução aquosa deve possuir uma resposta mínima abaixo dos milissegundos para que seja capaz de realizar o monitoramento. O teste foi realizado para as três configurações de resistência, 10 k Ω , 1 k Ω e 500 Ω . A Figura 16 mostra os resultados do tempo de subida obtidos para as três diferentes configurações de resistência do fotodetector SGD-444. O fotodetector 818-BB-21 foi utilizado como referência do tempo de subida e descida do laser utilizado nos testes. O modelo fabricado pela Newport possui tempo de tanto de subida e quanto de descida de 300 ps.

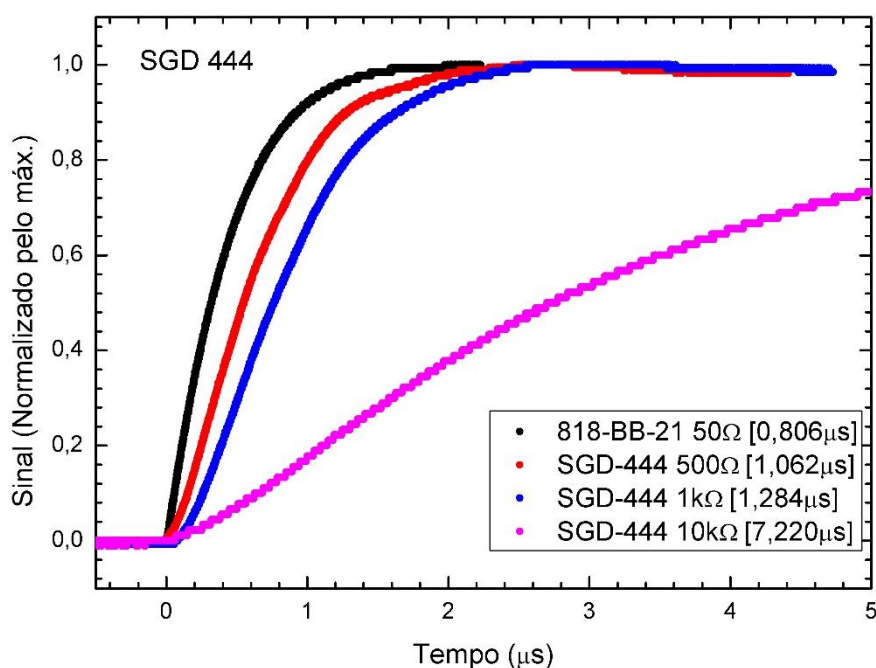


Figura 16 – Resultado dos tempos de subida dos fotodetecores da classe SGD 444 em comparativo com o 818-BB-21 de 50Ω .

Fonte: De autoria própria, 2022.

A Figura 16 teve seus valores normalizados para melhor comparação do tempo de subida de cada configuração utilizada. O tempo de subida do laser utilizado no teste com o fotodetector Newport 818-BB-21 foi de 0,806 μs . Enquanto que o tempo de subida na posição do resistor de 10 $\text{k}\Omega$ foi de 7,220 μs . Na posição de 1 $\text{k}\Omega$ o resultado foi de 1,284 μs , 82 % menor que o de 10 $\text{k}\Omega$. O de 500 Ω obteve valor de 1,062 μs , cerca de 17 % menor que o de 1 $\text{k}\Omega$. O resultado da resposta de subida do fotodetector SGD-444 deixa claro que, independentemente da seleção do resistor – 10 $\text{k}\Omega$, 1 $\text{k}\Omega$ ou 500 Ω – ele pode ser utilizado nos estudos relacionados à deposição térmica em amostras de composição aquosa.

O teste do tempo de descida foi igualmente realizado para as três seleções de resistências possíveis no fotodetector SGD-444. Também foi utilizado o fotodetector 818-BB-21 da Newport como referência do tempo de descida do laser utilizado. A Figura 17 mostra o resultado do teste do tempo de descida comentado.

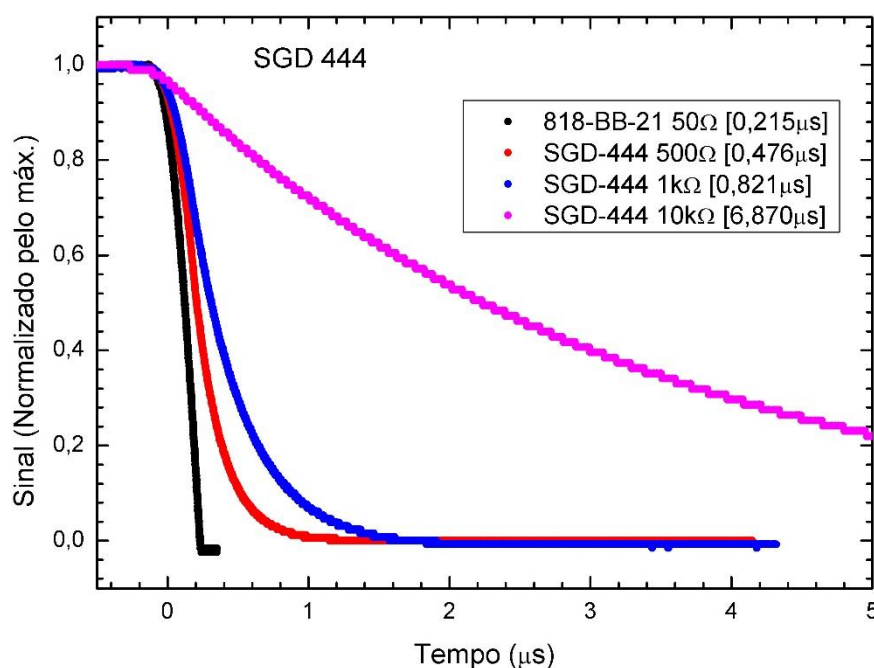


Figura 17 – Resultado dos tempos de descida dos fotodetectores da classe SGD 444 em comparativo com o 818-BB-21 de 50 Ω.

Fonte: De autoria própria, 2022.

Assim como no teste de subida, os valores do teste do tempo de descida foram normalizados para melhor comparação entre as classes. O tempo de descida do laser, registrado pelo fotodetector 818-BB-21 da Newport foi de 215 ns. O resultado para a configuração em 10 kΩ obteve valor de 6,87 μs. Por sua vez, o de 1 kΩ obteve 821 ns, valor cerca de 88% menor que o de 10 kΩ. Enquanto que o de 500 Ω, o tempo de descida foi de 476 ns – 42% menor que o de 1 kΩ.

Os valores obtidos no teste de tempo de subida e descida do sinal mostra que o fotodetector SGD-444 possui velocidade suficiente para monitorar fenômenos de deposição térmica em soluções aquosas.

5.2. Resultados Principais com Azul de Orto-Toluidina

Durante essa subseção são apresentados os resultados principais deste trabalho. No primeiro momento é exibido os resultados espectroscópicos para as diferentes concentrações estudadas neste trabalho. Os espectros foram analisados na perspectiva da relação dímero/monômero via deconvolução dos picos através da ferramenta OriginLab. Em seguida, é exposto o estudo feito da resposta temporal da amostra de AOT em solução aquosa quando bombardeada por radiação eletromagnética do tipo laser, teste de feixe único. Este estudo apresenta resultado deste comportamento para diferentes concentrações da solução em água desmineralizada e para diferentes comprimentos de passo óptico, tanto para o laser vermelho (663 nm) quanto para o laser

verde (532 nm). Por fim, os resultados do experimento de variação de intensidade luminosa incidida na amostra é apresentado através do gráfico de sinal de entrada versus sinal de saída.

5.2.1. Espectro das Concentrações de Azul de Orto-Toluidina

Após a confecção das amostras de uma dada concentração, esta é submetida a um estudo espectroscópico para a verificação de seu espectro e de sua relação entre dímero e monômero. A espectroscopia foi realizada para as seguintes concentrações: 0,65 mM; 1,09 mM; 1,63 mM e 2,18 mM. A Figura 18 mostra os resultados espectrais das concentrações de AOT em água desmineralizada citadas, onde o eixo das ordenadas está em OD (*Optical Density*) e o das abscissas em comprimento de onda.

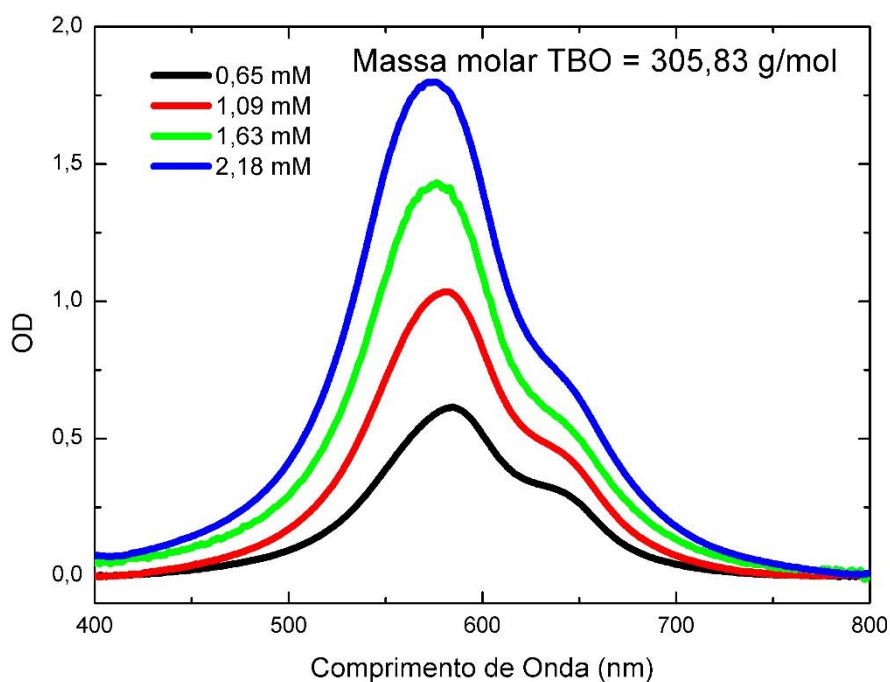


Figura 18 – Espectro de absorção do corante Azul de Orto-Toluidina em solvente de água desmineralizada para as concentrações de 0,65 mM, 1,09 mM, 1,63 mM e 2,18 mM.

Fonte: De autoria própria, 2022.

O espectro do corante de azul de orto-toluidina foi medido para a faixa espectral de 400 nm até 800 nm. Em todas concentrações o espectro apresentou duas bandas de absorção distintas, sendo de maior densidade óptica a banda mais próxima da região azul do espectro visível, dímero.

Após a coleta dos dados espectroscópicos, foi realizado a deconvolução de cada espectro através do software OriginLab, Figura 19. A linha verde representa a absorção por parte das moléculas agregadas em dímero, enquanto que a linha vermelha a

absorção da molécula do monômero. A linha azul é a soma das duas absorções, dímero e monômero.

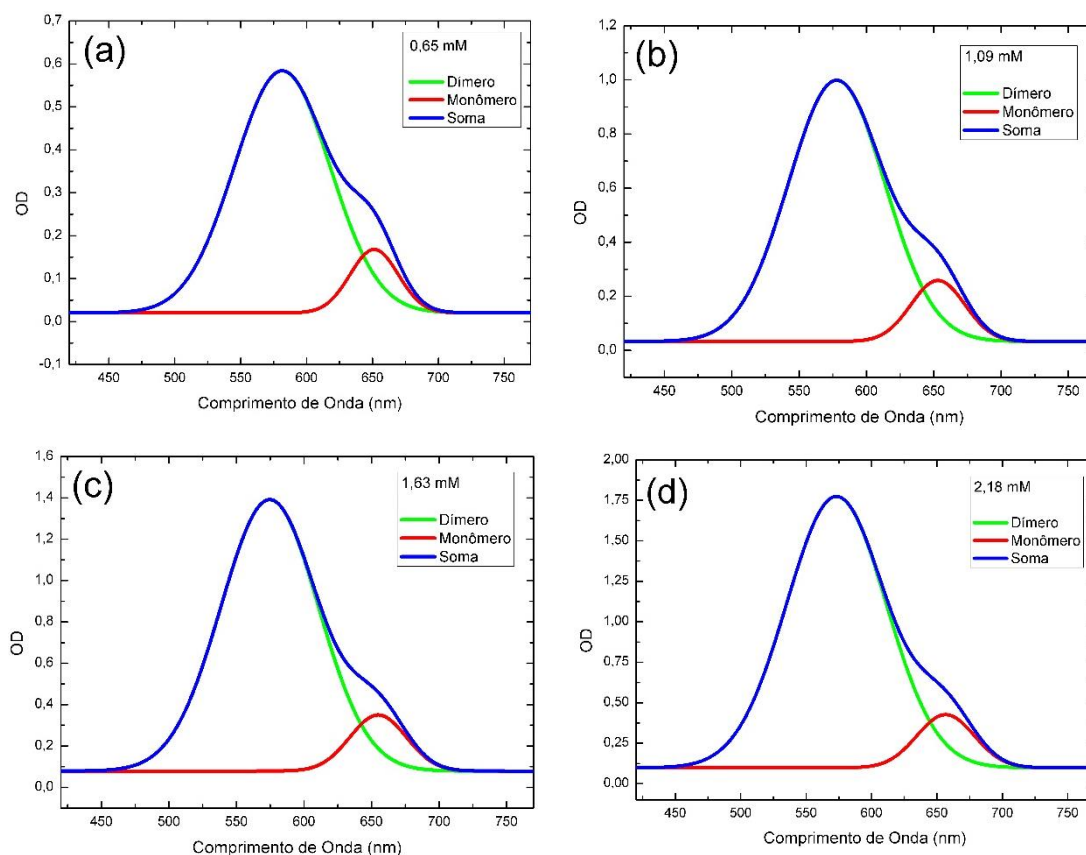


Figura 19 – Resultado dos espectros deconvoluídos em dímero (linha verde), monômero (linha vermelha) e a soma entre dímero e monômero (linha azul). a) concentração de 200 mg/l; b) concentração de 333 mg/l; c) concentração de 500 mg/l; d) concentração de 667 mg/l
Fonte: De autoria própria, 2022.

O resultado da deconvolução da Figura 19 indica que há uma diferença entre os picos do dímero e monômero identificados no espectro sem e com deconvolução. Nos espectros sem deconvolução o pico do dímero fica característico no comprimento de onda de 585 nm, enquanto que o monômero, apesar de ser um pouco mais difícil de identificar, próximo dos 631 nm. Nos espectros com deconvolução, o pico do dímero ocorre em diferentes comprimentos de onda para cada concentração, variando entre 581 nm para a concentração de 0,65 mM até 573 nm para a concentração de 2,18 mM. Igualmente acontece com o pico do monômero, neste caso à medida que a concentração aumenta, o comprimento de onda do pico do monômero também aumenta, variando de 651 nm para a concentração de 0,65 mM até 657 nm para a concentração de 2,18 mM.

A Tabela 3 sintetiza as informações da deconvolução realizadas nos espectros em concentração, comprimento de onda, densidade óptica dos picos do dímero e monômero e a razão entre eles.

Tabela 3 – Resultado do comprimento de onda e da absorção nos picos do dímero e monômero dos espectros deconvoluídos.

[S] (mM)	λ dímero (nm)	λ monômero (nm)	OD dímero	OD monômero	ODd/ODm
0,65	581	651	0,58	0,17	3,41
1,09	578	653	1	0,26	3,85
1,63	575	655	1,39	0,35	3,97
2,18	573	657	1,77	0,43	4,12

A Figura 20 mostra o resultado da razão entre a densidade óptica dos picos do dímero e monômero em função da concentração. O resultado indica que aumenta de forma logarítmica à medida que a concentração de azul de toluidina aumenta.

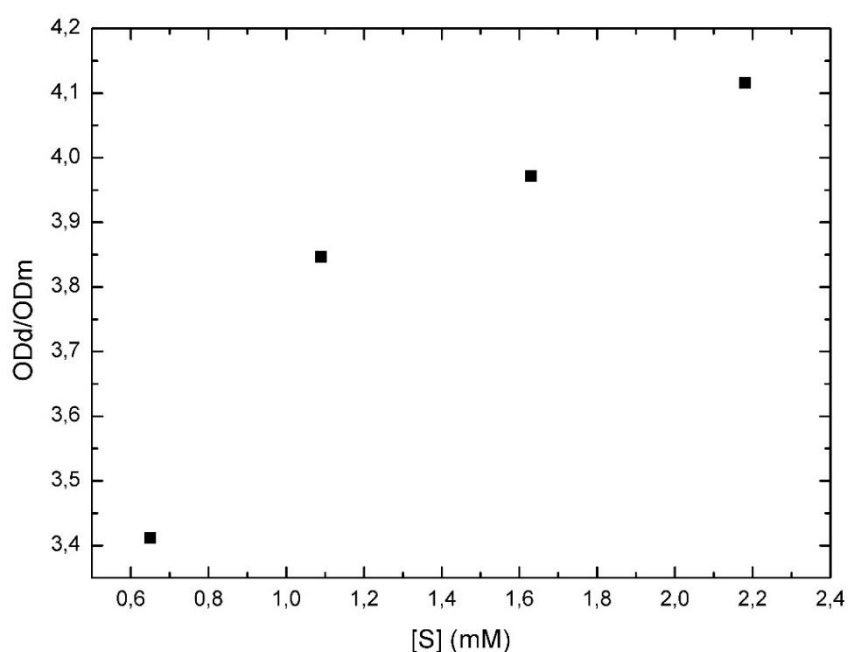


Figura 20 – Resultado da razão entre a absorbância dos picos do dímero e monômero variando a concentração da amostra de Azul de Orto-Toluidina em solvente de água desmineralizada.

Fonte: De autoria própria, 2022.

5.2.2. Experimento Feixe Único, Resposta Temporal do Azul de Orto-Toluidina

O experimento de feixe único consiste em bombardear a amostra de azul de orto-toluidina com radiação eletromagnética do tipo laser. Para isso, foram selecionados o laser vermelho de comprimento de onda 663 nm e potência de 75 mW da Laserland® (China) e o laser verde de 532 nm com uma potência de 115 mW, sem a modulação TTL, de fabricação americana (MGL-III). Os comprimentos de onda dos lasers foram selecionados próximos dos picos monômero e dímero, respectivamente, para observar os efeitos causados na amostra quando submetida à radiação na região espectral do monômero (laser vermelho) e do dímero (laser verde).

O teste inicial utilizou a concentração de 2,28 mM de azul de orto-toluidina em água desmineralizada com porta amostra de passo óptico de 280 μm . A configuração da bancada óptica adotada foi a mesma nas Figura 10 e Figura 11 para os lasers vermelho e verde, respectivamente. Porém, não foram utilizados filtros de densidade óptica antes da amostra, a potência do laser foi utilizada de forma integral.

A Figura 21 apresenta o resultado da evolução temporal obtido pelo sinal de transmitância da radiação do laser vermelho não absorvida ou espalhada pela amostra.

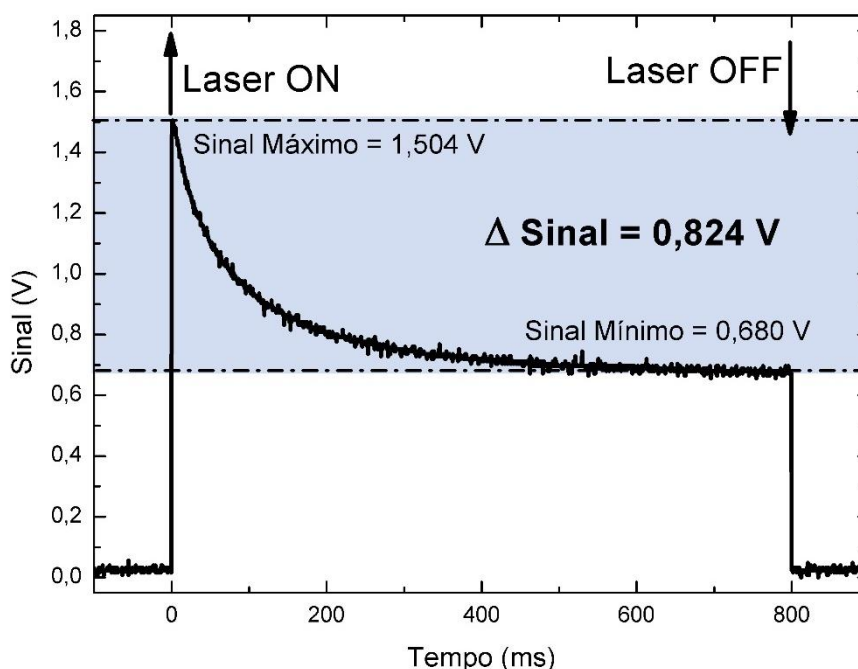


Figura 21 – Resposta temporal da amostra de azul de orto-toluidina irradiada pelo laser vermelho – 663 nm.

Fonte: De autoria própria, 2022.

No momento em que o laser é ligado (Laser ON) o sinal subitamente atinge um ponto de máximo e logo em seguida o sinal cai de forma exponencial até atingir um platô em 550 ms de luz incidente. A luz permanece incidida sobre a amostra até o tempo de

800 ms e assim o laser de excitação é desligado. O sinal máximo obtido nesse experimento foi de 1,504 V, enquanto que o sinal de mínimo de 0,680 V, uma variação de 0,824 V. Tal variação representa 54,79 % do sinal máximo do experimento.

Antagonicamente à resposta obtida na Figura 21, o experimento com o laser verde (532 nm) expõem um sinal que cresce ao longo do tempo de exposição da luz (Figura 22). Inicialmente, assim que o laser verde é ligado (Laser ON) em menos de 200 ms o sinal atinge o ponto de máximo (1,8V) e o mantém até o laser ser desligado (Laser OFF) no tempo de 800 ms. Todavia, dentro do intervalo de 0 à 200 ms é perceptível que no avançar tempo o sinal fica mais “lento”, fazendo com que a curva se assemelhe a uma função logarítmica. O sinal mínimo desse experimento foi de 0,88 V, enquanto o máximo foi de 1,8 V, assim a variação total do sinal foi de 0,92 V, que representa aproximadamente 51% do sinal máximo.

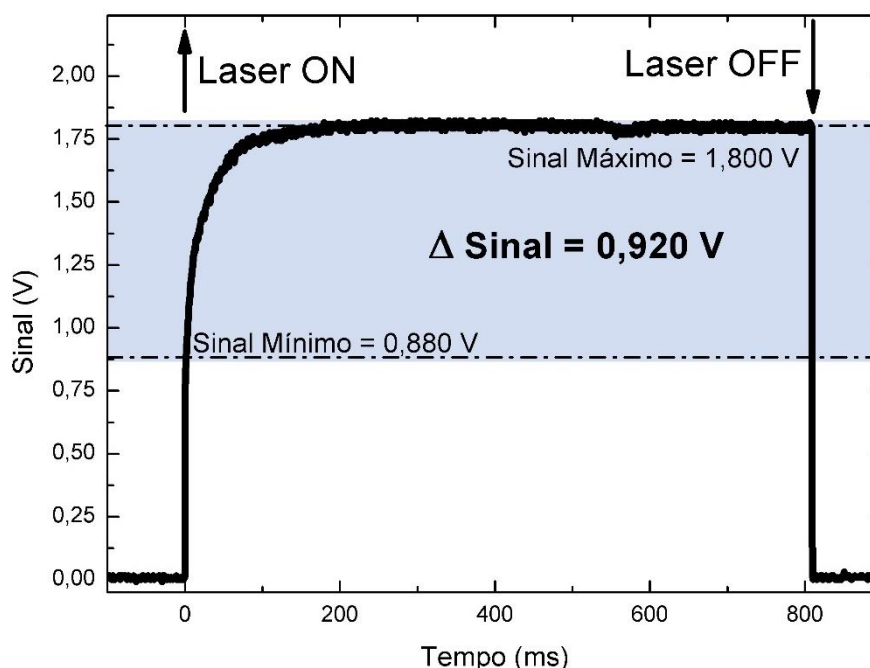


Figura 22 – Resposta temporal da amostra de azul de orto-toluidina irradiada pelo laser verde – 532 nm.

Fonte: De autoria própria, 2022.

Após o teste preliminar da resposta temporal da amostra de AOT frente a radiação de laser verde (532 nm) e vermelho (663 nm) novos testes semelhantes são realizados com diferentes concentrações e diferentes passos ópticos.

5.2.3. Experimento Feixe Único para Diferentes Concentrações de Azul de Orto-Toluidina

Para a realização dos experimentos, como dito anteriormente, foram confeccionadas quatro concentrações da amostra de azul de orto-toluidina em água desmineralizada – 0,65 mM, 1,09 mM, 1,63 mM e 2,18 mM. A Figura 23 apresenta os resultados obtidos da resposta temporal do laser vermelho nas diferentes concentrações para cada um dos caminhos ópticos experimentados. A configuração da bancada óptica utilizada para o experimento com o laser vermelho foi o da Figura 10 sem a utilização de filtro de densidade óptica, ou seja, toda a potência do laser vermelho foi incidida nas amostras. A Figura 23 apresenta o resultado da resposta temporal para diferentes concentrações de AOT em água desmineralizada no experimento de feixe único.

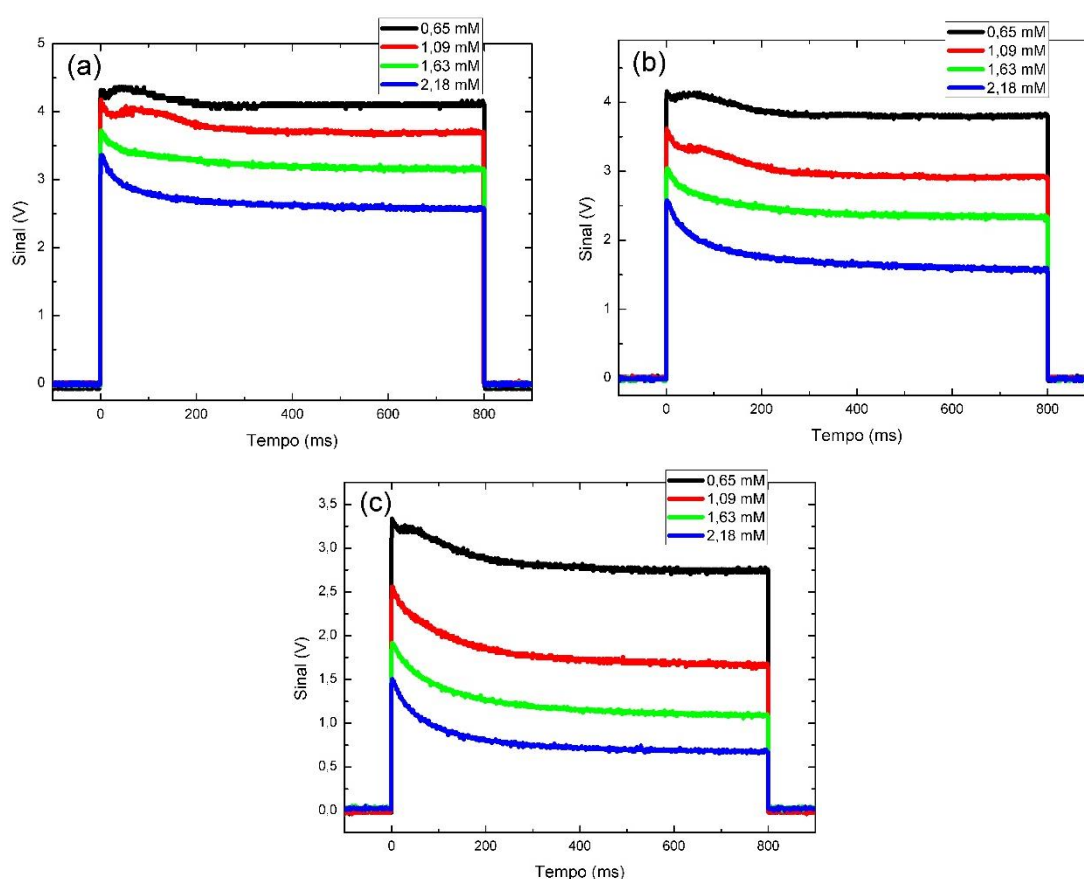


Figura 23 – Sinal obtido pela transmitância do laser vermelho com comprimento de onda de 663 nm, na amostra de AOT em solvente de água desmineralizada para as concentrações de 0,65 mM, 1,09 mM, 1,63 mM e 2,18 mM nos seguintes caminhos ópticos: a) 80 μm; b) 160 μm; c) 280 μm.

Fonte: De autoria própria, 2022.

Como visto no teste preliminar, a resposta temporal do experimento de feixe único via laser vermelho mostra queda do sinal à medida que a radiação eletromagnética incide na amostra. A resposta da Figura 23 expõem que a intensidade do efeito é diretamente proporcional à concentração de corante na amostra, ou seja, quanto maior for a

quantidade de moléculas presente, maior é a queda do sinal ao longo do tempo. Assim é para os três passos ópticos testados. A diferença entre o sinal de maior concentração de AOT para o de menor no porta amostra de 280 μm é de 2,07 V, enquanto que para o porta amostra com 160 μm é de 2,24 V e o de 80 μm é 1,54 V.

O mesmo teste foi realizado com incidência do laser verde, no entanto, a configuração da bancada óptica utilizada foi o da Figura 11 sem a utilização do filtro de densidade óptica. Os resultados da resposta temporal via incidência do laser verde (532 nm) para as diferentes concentrações de AOT em solução aquosa podem ser vistas na Figura 24. O experimento foi realizado para os Porta amostras com passos ópticos de 80 μm , 160 μm e 280 μm .

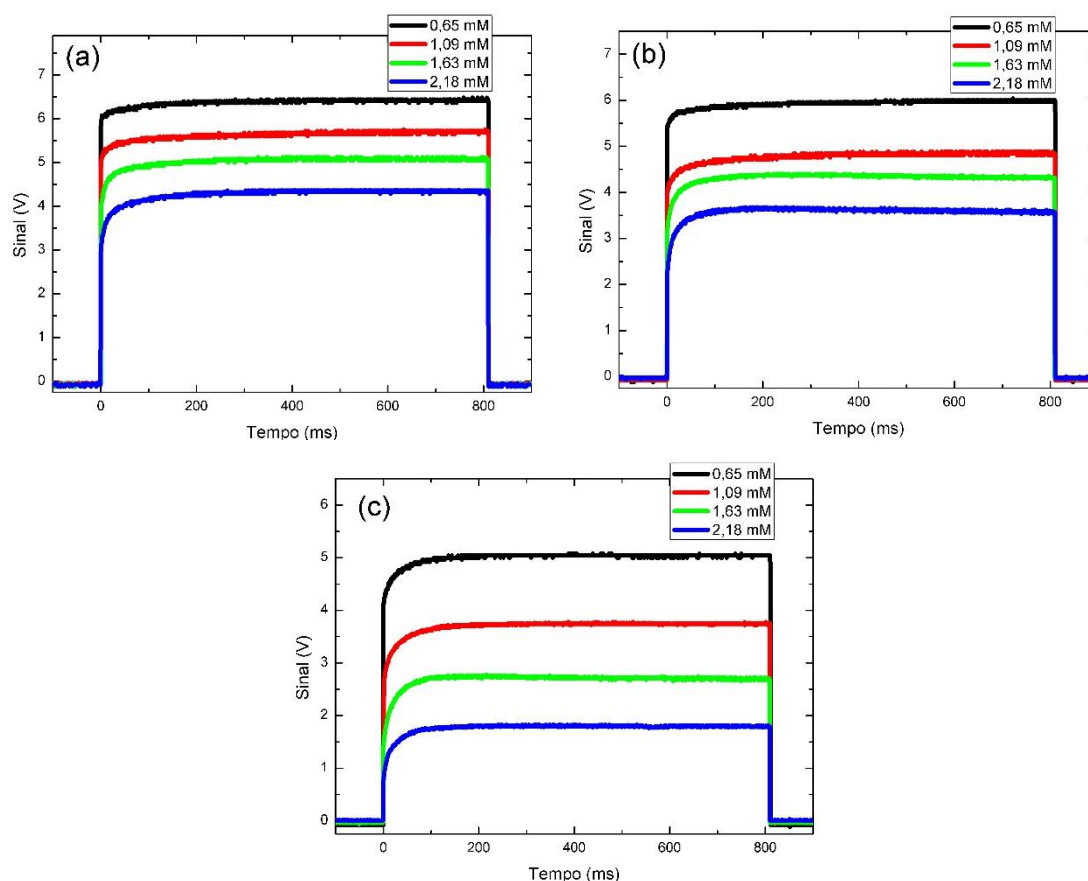


Figura 24 – Sinal obtido pela transmitância do laser verde com comprimento de onda de 532 nm, na amostra de AOT em solvente de água desmineralizada para as concentrações de 0,65 mM, 1,09 mM, 1,63 mM e 2,18 mM nos seguintes caminhos ópticos: a) 80 μm ; b) 160 μm ; c) 280 μm .

Fonte: De autoria própria, 2022.

O sinal da resposta temporal para o experimento com o laser verde exibe um comportamento que potencializa o fenômeno à medida que aumenta a concentração de AOT na solução. Para o caminho óptico de 280 μm a variação do sinal entre a amostra com maior concentração e a menor é de 3,24 V, enquanto que para o porta amostra com caminho óptico de 160 μm é de 2,42 V, e para o de 80 μm essa variação é de 2,12 V.

5.2.4. Experimento Feixe Único para Diferentes Potências Incidentes

A configuração de feixe único também foi utilizada para o experimento de variação de potência incidente. Este teste consiste em bombardear a amostra com diferentes intensidades de energia eletromagnética utilizando fonte de radiação laser.

O teste realizado com o laser vermelho utilizou a configuração da bancada óptica descrita na Figura 10. Para a variação da intensidade luminosa foram utilizados filtros de densidade óptica antes da amostra para atenuar a incidência de luz sobre ela. Os testes foram realizados para as 4 concentrações já utilizadas até aqui, 0,65 mM, 1,09 mM, 1,64 mM e 2,18 mM, apresentadas nas Figura 25, Figura 26, Figura 27 e Figura 28. Cada concentração foi testada para os caminhos ópticos de 80 μm , 160 μm e 280 μm .

Como dito anteriormente, a resposta temporal da amostra de AOT em água desmineralizada apresenta como característica comum a perda de sinal ao longo do tempo em que a amostra está exposta à radiação do laser vermelho. Para resumir os resultados obtidos, foram coletados os valores do sinal de entrada, o sinal de saída inicial e o sinal de saída final. O sinal de saída inicial é obtido logo após a subida do laser, próximo do tempo de 10 ms. O sinal de saída final é adquirido através do valor do sinal momentos antes do laser desligar, próximo do tempo de 790 ms. A Tabela 4 exibe os valores de sinal de entrada, sinal de saída inicial e sinal de saída final para a amostra AOT em água desmineralizada com concentração de 0,65 mM. Os mesmos parâmetros também foram sintetizados na forma de tabela para as concentrações de 1,09 mM, 1,63 mM e 2,18 mM nas Tabela 5, Tabela 6 e Tabela 7.

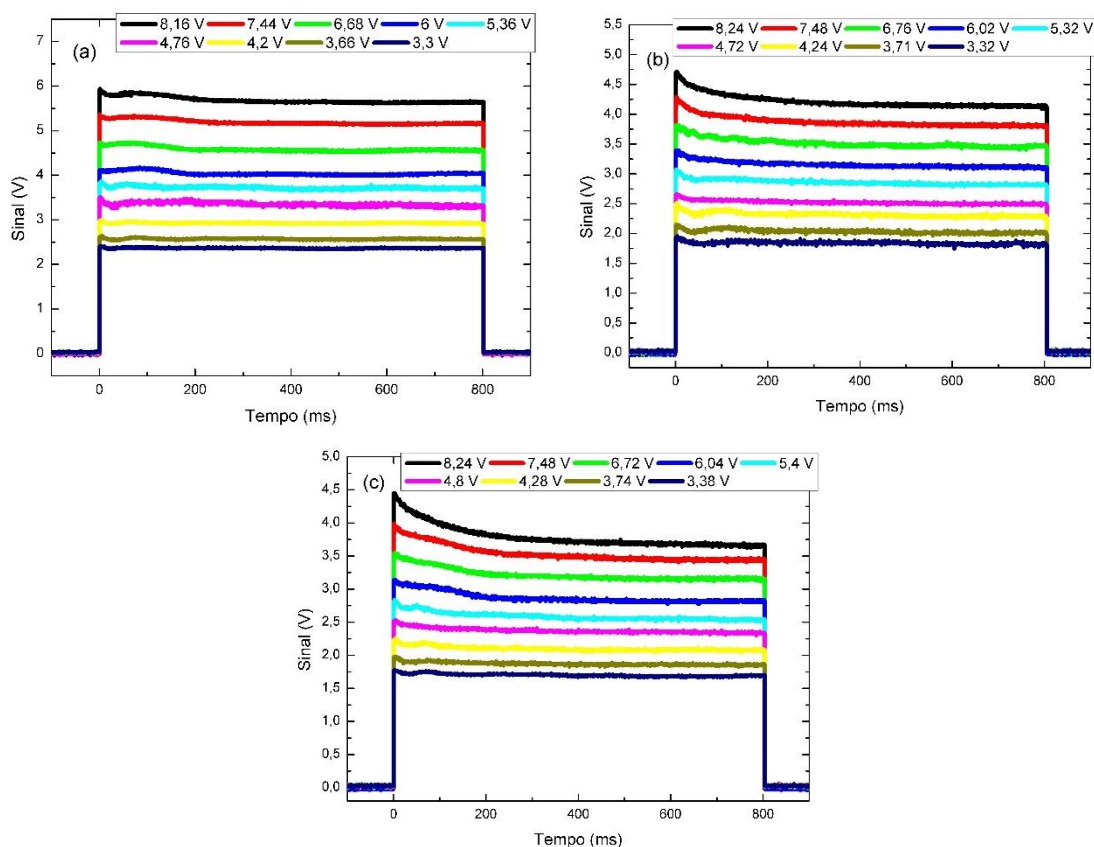


Figura 25 – Sinal obtido pela transmitância do laser vermelho com comprimento de onda de 663 nm, variando a potência incidente na amostra com concentração de 0,65 mM de AOT em água desmineralizada e caminho óptico: a) 80 μm , b) 160 μm , e c) 280 μm .

Fonte: De autoria própria, 2022.

Tabela 4 – Valores do sinal de entrada, sinal de saída inicial e sinal de saída final da resposta temporal da amostra com 0,65 mM de AOT em água desmineralizada, laser vermelho.

Passo óptico	Item	Valores em Volts (V)								
80	Sinal de entrada	8,16	7,44	6,68	6,00	5,36	4,76	4,20	3,66	3,30
	Sinal de saída inicial	5,92	5,36	4,72	4,12	3,84	3,44	2,98	2,62	2,40
	Sinal de saída final	5,64	5,16	4,56	4,04	3,72	3,32	2,92	2,56	2,36
160	Sinal de entrada	8,24	7,48	6,76	6,02	5,32	4,72	4,24	3,71	3,32
	Sinal de saída inicial	4,64	4,24	3,80	3,38	3,02	2,64	2,40	2,12	1,92
	Sinal de saída final	4,12	3,80	3,48	3,10	2,82	2,50	2,28	2,02	1,82
280	Sinal de entrada	8,24	7,48	6,72	6,04	5,40	4,80	4,28	3,74	3,38
	Sinal de saída inicial	4,36	3,92	3,50	3,12	2,78	2,5	2,22	1,96	1,76
	Sinal de saída final	3,64	3,44	3,12	2,80	2,54	2,34	2,08	1,86	1,69

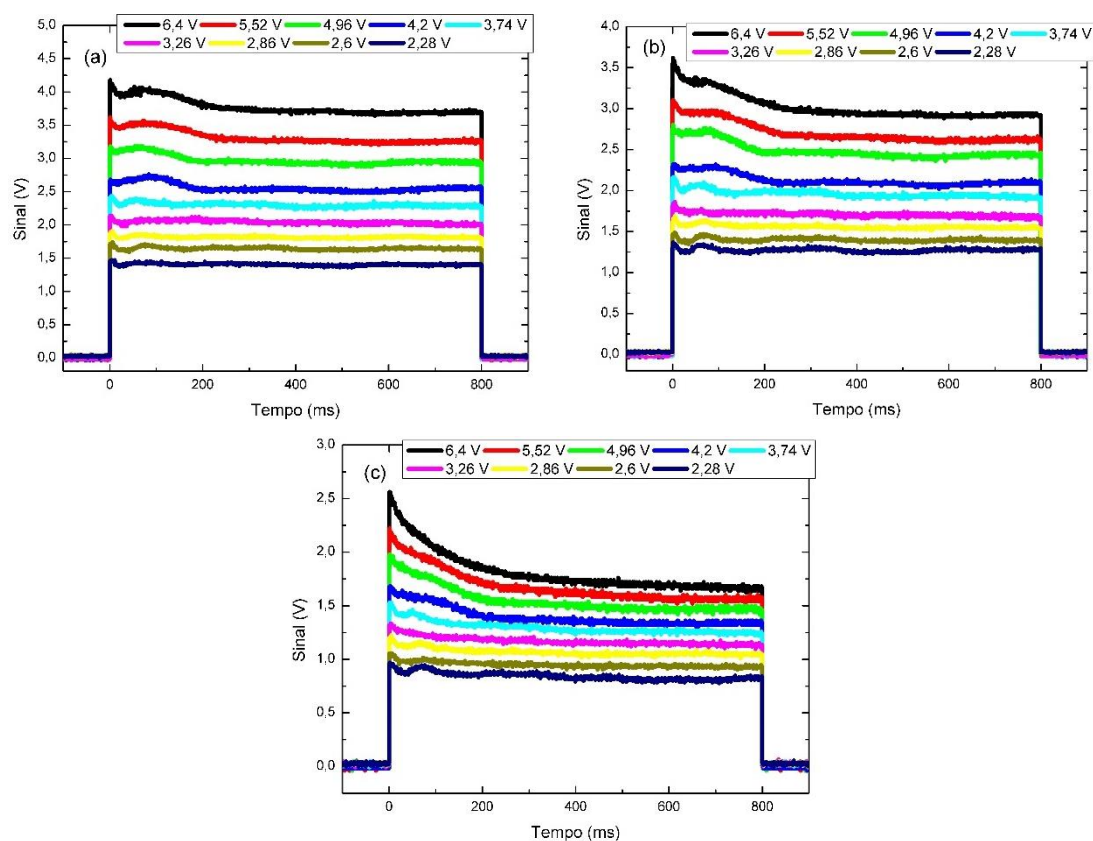


Figura 26 – Sinal obtido pela transmitância do laser vermelho com comprimento de onda de 663 nm, variando a potência incidente na amostra com concentração de 1,09 mM de AOT em água desmineralizada e caminho óptico: a) 80 μm , b) 160 μm , e c) 280 μm .

Fonte: De autoria própria, 2022.

Tabela 5 – Valores do sinal de entrada, sinal de saída inicial e sinal de saída final da resposta temporal da amostra com 1,09 mM de AOT em água desmineralizada, laser vermelho.

Passo óptico	Item	Valores em Volts (V)								
80	Sinal de entrada	6,40	5,52	4,96	4,20	3,74	3,26	2,86	2,60	2,28
	Sinal de saída inicial	4,24	3,62	3,18	2,70	2,44	2,16	1,86	1,70	1,44
	Sinal de saída final	3,72	3,28	2,96	2,58	2,28	2,02	1,78	1,60	1,38
160	Sinal de entrada	6,40	5,52	4,96	4,20	3,74	3,26	2,86	2,60	2,28
	Sinal de saída inicial	3,64	3,12	2,80	2,34	2,18	1,84	1,64	1,46	1,33
	Sinal de saída final	2,94	2,64	2,46	2,12	1,94	1,70	1,52	1,37	1,26
280	Sinal de entrada	6,40	5,52	4,96	4,20	3,74	3,26	2,86	2,60	2,28
	Sinal de saída inicial	2,56	2,22	2,00	1,70	1,51	1,31	1,19	1,03	0,936
	Sinal de saída final	1,66	1,58	1,50	1,36	1,22	1,11	1,02	0,904	0,808

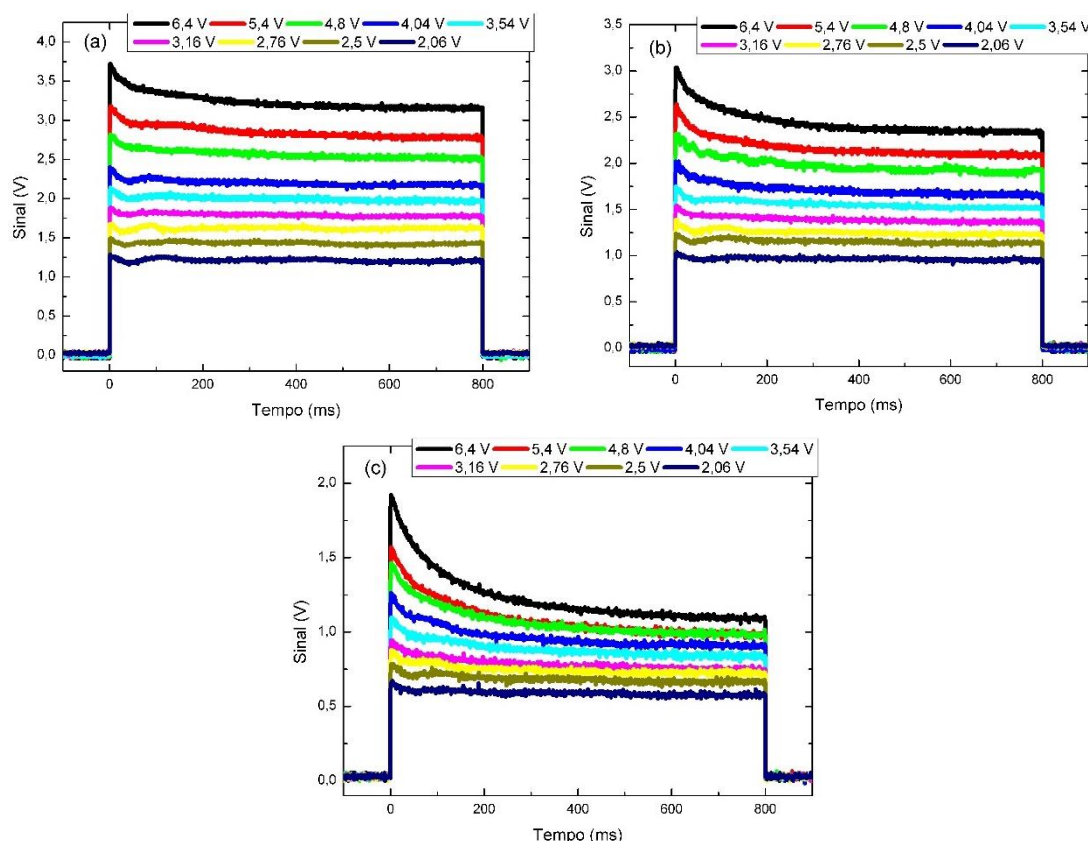


Figura 27 – Sinal obtido pela transmitância do laser vermelho com comprimento de onda de 663 nm, variando a potência incidente na amostra com concentração de 1,63 mM de AOT em água desmineralizada e caminho óptico: a) 80 μm , b) 160 μm , e c) 280 μm .

Fonte: De autoria própria, 2022.

Tabela 6 – Valores do sinal de entrada, sinal de saída inicial e sinal de saída final da resposta temporal da amostra com 1,63 mM de AOT em água desmineralizada, laser vermelho.

Passo óptico	Item	Valores em Volts (V)								
80	Sinal de entrada	6,40	5,40	4,80	4,04	3,54	3,16	2,76	2,50	2,06
	Sinal de saída inicial	3,74	3,18	2,84	2,40	2,16	1,86	1,64	1,46	1,24
	Sinal de saída final	3,18	2,78	2,54	2,18	2,00	1,74	1,60	1,40	1,18
160	Sinal de entrada	6,40	5,40	4,80	4,04	3,54	3,16	2,76	2,50	2,06
	Sinal de saída inicial	3,06	2,62	2,34	2,02	1,72	1,52	1,37	1,21	1,00
	Sinal de saída final	2,36	2,10	1,94	1,66	1,50	1,34	1,21	1,11	0,928
280	Sinal de entrada	6,40	5,40	4,80	4,04	3,54	3,16	2,76	2,50	2,06
	Sinal de saída inicial	1,90	1,54	1,44	1,24	1,07	0,92	0,856	0,752	0,636
	Sinal de saída final	1,06	0,96	0,96	0,88	0,816	0,72	0,696	0,64	0,552

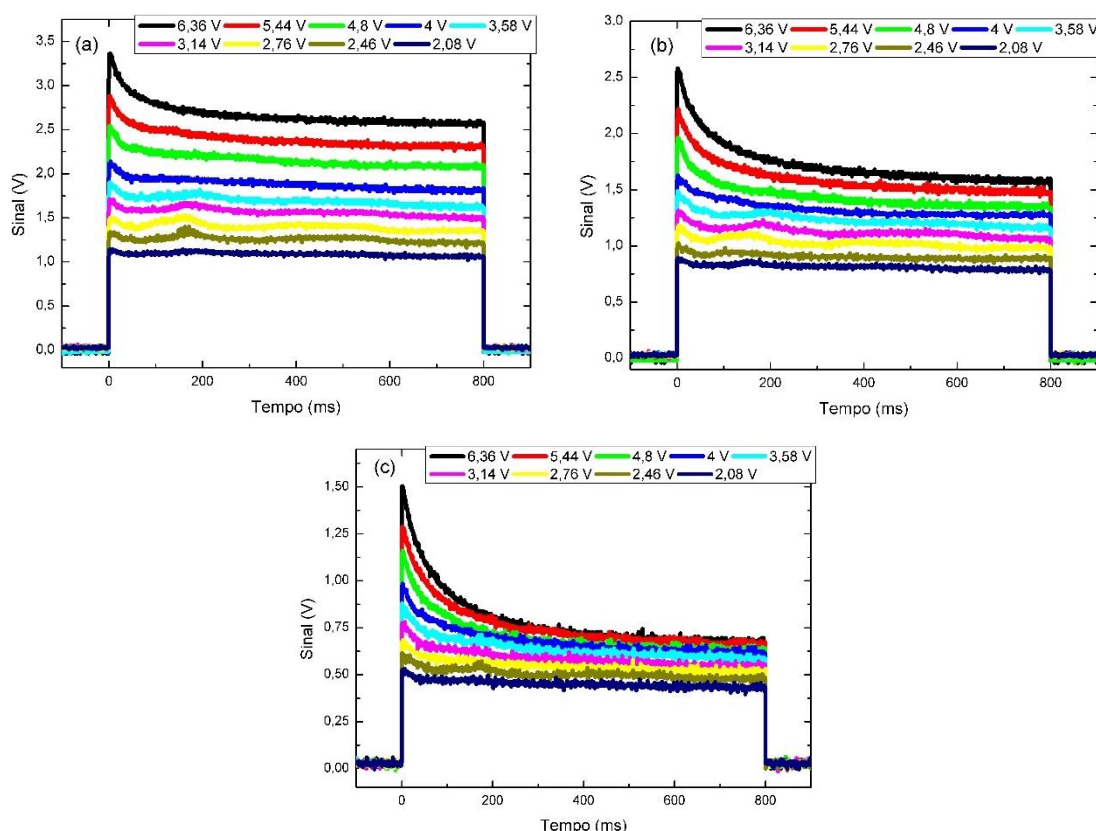


Figura 28 – Sinal obtido pela transmitância do laser vermelho com comprimento de onda de 663 nm, variando a potência incidente na amostra com concentração de 2,18 mM de AOT em água desmineralizada e caminho óptico: a) 80 μm , b) 160 μm , e c) 280 μm .

Fonte: De autoria própria, 2022.

Tabela 7 – Valores do sinal de entrada, sinal de saída inicial e sinal de saída final da resposta temporal da amostra com 2,18 mM de AOT em água desmineralizada, laser vermelho.

Passo óptico	Item	Valores em Volts (V)								
80	Sinal de entrada	6,36	5,44	4,80	4,00	3,58	3,14	2,76	2,46	2,08
	Sinal de saída inicial	3,38	2,88	2,54	2,12	1,88	1,68	1,47	1,30	1,12
	Sinal de saída final	2,60	2,32	2,08	1,82	1,62	1,48	1,33	1,18	1,03
160	Sinal de entrada	6,36	5,44	4,80	4,00	3,58	3,14	2,76	2,46	2,08
	Sinal de saída inicial	2,60	2,20	1,98	1,59	1,46	1,28	1,15	0,992	0,864
	Sinal de saída final	1,60	1,48	1,38	1,24	1,14	1,04	0,96	0,864	0,76
280	Sinal de entrada	6,36	5,44	4,80	4,00	3,58	3,14	2,76	2,46	2,08
	Sinal de saída inicial	1,48	1,26	1,13	0,952	0,848	0,752	0,644	0,58	0,496
	Sinal de saída final	0,656	0,64	0,608	0,592	0,56	0,524	0,492	0,456	0,408

Os resultados da resposta temporal da amostra de AOT em água desmineralizada frente a diferentes sinais de entrada mostra que há uma dependência do efeito com a intensidade de luz incidida. Diante de entender um pouco mais dessa relação, são

gerados gráficos do sinal de entrada pelo sinal de saída em regime estacionário. A solução de AOT em água desmineralizada quando bombardeada por luz laser cujo comprimento de onda é de 663 nm (vermelho) possui uma resposta temporal caracterizada pela perda de sinal ao longo do tempo. A perda de sinal ocorre de forma mais apreciável nos primeiros milissegundos e com o passar do tempo essa taxa de variação tende se aproximar de zero, sendo muita das vezes nula. Portanto, quando é dito sinal de saída em regime estacionário, entende-se como a região onde a taxa de variação do sinal é próxima de zero ou igual a zero. A Figura 29 mostra a localização da região transiente e da região estacionária, para os experimentos realizados com o laser vermelho. A estacionária se encontra no intervalo entre 400 e 800 ms.

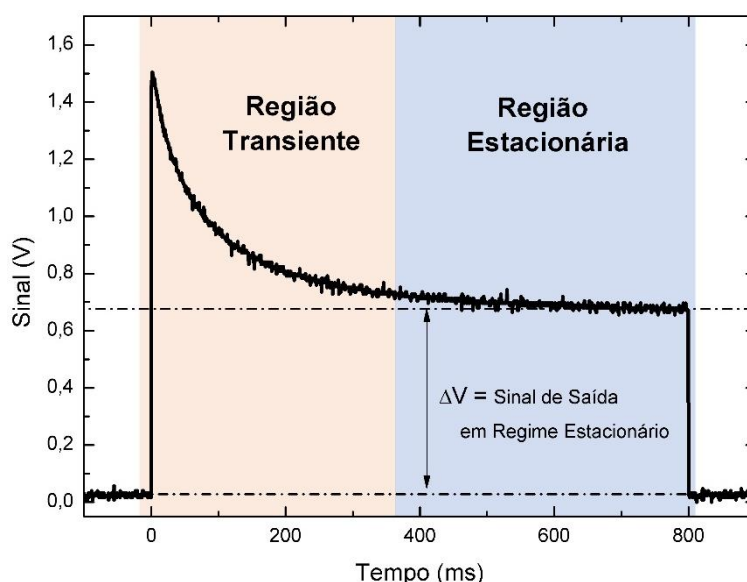


Figura 29 – Ponto de aquisição de dados em regime estacionário para o experimento com o laser vermelho.

Fonte: De autoria própria, 2022.

O primeiro teste da relação entre sinal de entrada e sinal de saída em regime estacionário é realizado com a amostra de AOT concentrada em 0,65 mM em solução de água desmineralizada. Os porta amostras com passo óptico de 80 μm , 160 μm e 280 μm foram utilizados. A Figura 30 apresenta os resultados obtidos nos três teste realizados, em cada teste obteve-se resposta para 9 sinais de entrada.

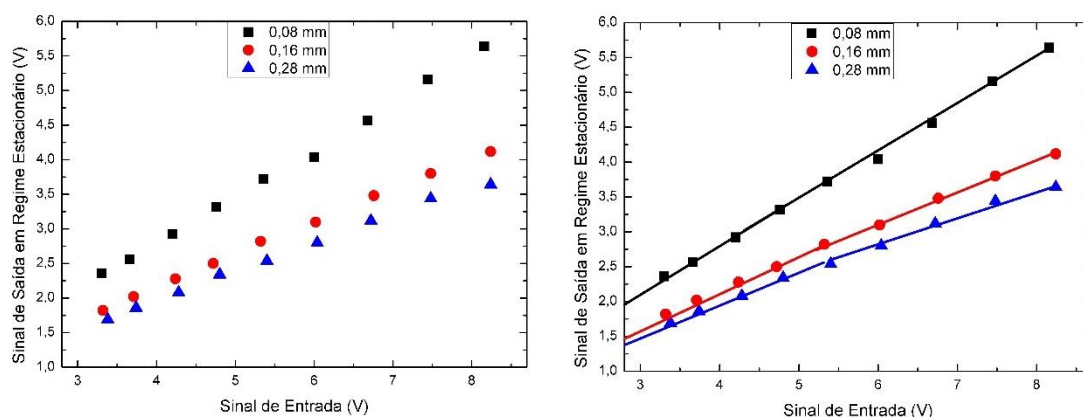


Figura 30 – Sinal de saída em regime estacionário para diferentes sinais de entrada em amostra com concentração de 0,65 mM de AOT em água desmineralizada para os caminhos ópticos 80 μm , 160 μm e 280 μm , para o laser de 663 nm.

Fonte: De autoria própria, 2022.

De forma a facilitar a análise dos resultados, as figuras são apresentadas sem e com retas de tendência. As retas de tendência são construídas com a seguinte metodologia. Inicialmente uma primeira linha é desenhada a partir da origem (0; 0) das coordenadas dos gráficos da Figura 30, buscando alinhar esse ponto com o máximo de pontos superiores possíveis. Em seguida a partir do ponto mais distante, do ponto (0; 0), é desenhado uma nova reta na tentativa de alinhar ao máximo de pontos inferiores. A interseção entre as duas retas determina um possível ponto de mudança de regime.

Os dados graficados em quadrados pretos são os resultados obtidos para o porta amostra com caminho óptico de 80 μm (Figura 30). Neste caso, observou-se um comportamento geralmente linear, exceto pelo ponto (6; 4,04), que mostrou um leve desvio. Nos resultados obtido nos demais porta amostras, com passo óptico de 160 e 280 μm existe uma suave perda da linearidade em um dado ponto. Na verdade, a linearidade se mantém, entretanto, o que ocorre parece ser uma mudança do regime em uma dada intensidade. Ou seja, inicialmente o comportamento linear ocorre através de uma reta com uma dada inclinação, e em um determinado momento essa inclinação é alterada e uma nova reta é obtida. Observa-se que para ambos os casos, essa mudança ocorre próxima ao ponto de 5,64 V da abscissa, todavia, a variação é mais perceptível para o teste realizado com o porta amostra com caminho óptico de 280 μm . Para o caso do porta amostra com caminho óptico de 160 μm , se considerarmos a transmitância da linha de tendência antes do ponto 5,64 V obtêm-se um valor de 53 %, após esse ponto a reta de tendência obtêm o valor de transmitância de 42 %. Enquanto que para o porta amostra com caminho óptico de 280 μm , essa mesma análise teriam os valores de 49 % e 34 %, respectivamente.

Tabela 8 – Resultado da relação entre sinal de entrada e sinal de saída para o teste realizado em concentração de 0,65 mM de AOT com laser vermelho.

Passo óptico (μm)	Ponto de Interseção (V)	Transmitância Antes (%)	Transmitância Depois (%)
80	N/A	69	69
160	5,64	53	42
280	5,64	49	34

O segundo teste ocorreu para a amostra de 1,09 mM de AOT, também para os Porta amostras de 80 μm , 160 μm e 280 μm de passo óptico. O experimento foi feito para 9 sinais de entrada e o resultado apresentado na Figura 31.

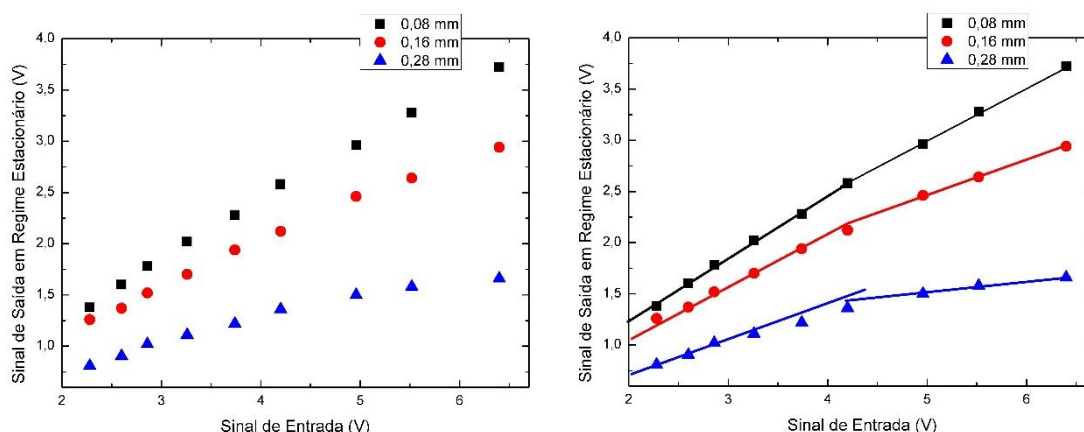


Figura 31 – Sinal de saída em regime estacionário para diferentes sinais de entrada em amostra com concentração de 1,09 mM de AOT em água desmineralizada para os caminhos ópticos 80 μm , 160 μm e 280 μm , para o laser de 663 nm.

Fonte: De autoria própria, 2022.

A resposta do experimento realizado para a concentração de 1,09 de AOT também assinala a existência de um possível efeito de mudança de regime. Porém, para essa concentração percebe-se o efeito nos três Porta amostras, sendo mais evidente no de 280 μm de passo óptico. Para o caminho óptico de 80 μm o experimento mostra que inicialmente a transmitância na região estacionária é de aproximadamente 65 %, e após a mudança de regime a transmitância passa a ser de 50 %. O ponto onde a mudança ocorre é próximo ao sinal de entrada de 4,2 V. Para o porta amostra com passo óptico de 160 μm antes da mudança de regime a transmitância era de 52 %, após o sinal de entrada de 4,2 V, a transmitância da amostra passa a ser de mais ou menos 33 %. Dentro da metodologia adotada, o porta amostra com caminho óptico de 280 μm apresenta um possível ponto de mudança de regime próximo de 4 V. Porém, quando os dados são observados de modo mais criterioso, é possível verificar que alguns pontos, mais

precisamente (3,26; 1,11), (3,74, 1,22) e (4,2; 1,36), escaparam da reta de tendência de forma mais evidente, deslocados abaixo da reta em uma ordem de pontos que não se assemelha a um comportamento aleatório. A reta de tendência para valores de sinal de entrada abaixo de 4 V possui transmitância de aproximadamente 35 %, enquanto que a reta de tendência acima dos 4 V a transmitância foi de 10 %.

Tabela 9 – Resultado da relação entre sinal de entrada e sinal de saída para o teste realizado em concentração de 1,09 mM de AOT com laser vermelho.

Passo óptico (μm)	Ponto de Interseção (V)	Transmitância Antes (%)	Transmitância Depois (%)
80	4,2	65	50
160	4,2	52	33
280	4	35	10

O teste com a concentração de AOT em 1,63 mM é apresentado na Figura 32. Para os três porta amostras testados nessa configuração fica evidente que há diferença angular entre as duas retas de tendência. No Primeiro caso, com o porta amostra de caminho óptico de 80 μm , o ponto de intersecção entre as retas ocorre em 3,8 V. A reta de tendência antes desse ponto possui transmitância próxima de 56 %. Após o ponto a transmitância da reta de tendência passa a ser de 40 %. O resultado do porta amostra com 160 μm de passo óptico obteve o mesmo ponto de intersecção, em 3,8 V, porém, a transmitância da reta de tendência para sinal de entrada menores é de 45 %, e para sinais de entrada maiores é de 26 %. Além disso, observou-se alguns pontos deslocados para baixo da linha de tendência, assim como ocorreu no experimento com concentração de 1,09 mM com porta amostra de passo óptico de 280 μm . O mesmo também ocorreu no teste realizado para a concentração de 1,63 mM e passo óptico de 280 μm . Neste caso, o ponto de intersecção ocorre próximo de 3,3 V, valor abaixo dos anteriores. A transmitância das retas de tendência antes e depois desse ponto são de 26 % e 8 %, respectivamente.

Tabela 10 – Resultado da relação entre sinal de entrada e sinal de saída para o teste realizado em concentração de 1,63 mM de AOT com laser vermelho.

Passo óptico (μm)	Ponto de Interseção (V)	Transmitância Antes (%)	Transmitância Depois (%)
80	3,8	56	40
160	3,8	45	26
280	3,3	26	8

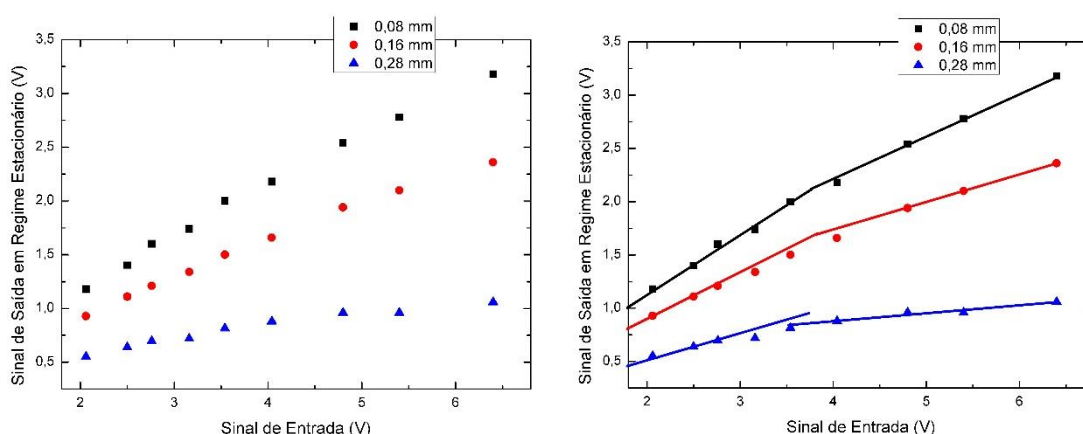


Figura 32 – Sinal de saída em regime estacionário para diferentes sinais de entrada em amostra com concentração de 1,63 mM de AOT em água desmineralizada para os caminhos ópticos 80 μm , 160 μm e 280 μm , para o laser de 663 nm.

Fonte: De autoria própria, 2022.

O teste da relação entre o sinal de entrada e o sinal de saída realizado para a amostra com solução estoque em 67 % (2,18 mM de AOT) é apresentado na Figura 33 com o resultado obtido para as três configurações de passo óptico – 80 μm , 160 μm e 280 μm .

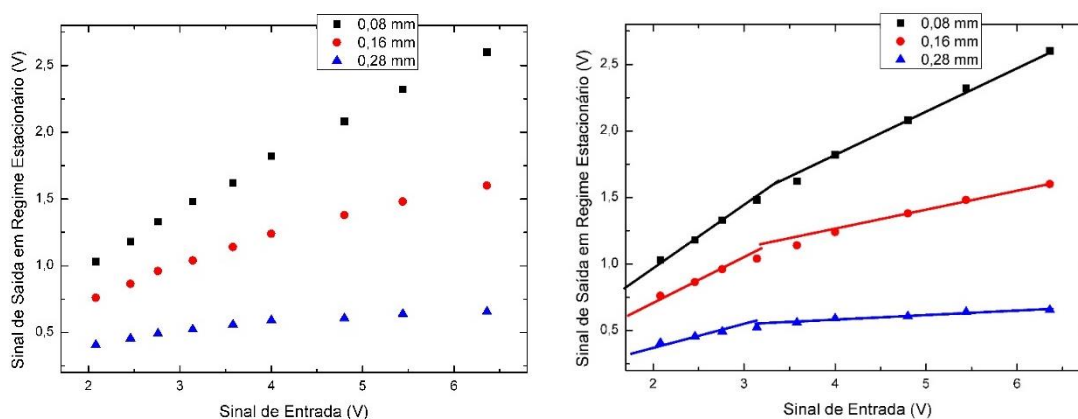


Figura 33 – Sinal de saída em regime estacionário para diferentes sinais de entrada em amostra com concentração de 2,18 mM de AOT em água desmineralizada para os caminhos ópticos 80 μm , 160 μm e 280 μm , para o laser de 663 nm.

Fonte: De autoria própria, 2022.

Os resultados dos experimentos mostram que o efeito da mudança da linearidade é perceptível nos três Porta amostras. No teste realizado com passo óptico de 80 μm o ponto onde as duas retas se encontram fica localizado próximo ao sinal de entrada de 3,3 V. A reta antes desse ponto possui transmitância por volta de 48 %, no entanto, a reta após a junção possui transmitância de 33 %. O resultado dos pontos de interseção, da transmitância antes e depois desse ponto o porta amostra com caminho óptico de 160 μm foram 3,3 V, 35 % e 14 %, respectivamente. Para o passo óptico de 280 μm esses valores foram 3 V, 19 % e 3 %.

Tabela 11 – Resultado da relação entre sinal de entrada e sinal de saída para o teste realizado em concentração de 2,18 mM de AOT com laser vermelho.

Passo óptico (μm)	Ponto de Interseção (V)	Transmitância Antes (%)	Transmitância Depois (%)
80	3,3	48	33
160	3,3	35	14
280	3	19	3

O experimento da resposta temporal do sinal de saída para diferentes sinais de entrada foi realizado para a incidência com o laser verde (532 nm) na amostra de AOT. O experimento utilizou da configuração da bancada óptica do teste de feixe único para amostras com as concentrações de 0,65 mM, 1,09 mM, 1,63 mM e 2,18 mM em porta amostras com os passos ópticos de 80 μm , 160 μm e 280 μm . Em cada teste realizado foram utilizadas 13 intensidades de luz incidente distintas e obtido sua resposta temporal em um intervalo de 800 ms. As informações de sinal de entrada, sinal de saída inicial e sinal de saída final também foram coletados para cada concentração experimentada nos diferentes passos ópticos. Após o teste da resposta temporal, o sinal do regime estacionário foi confrontado com o sinal de entrada e gerados os gráficos de sinal de entrada por sinal de saída em regime estacionário. Diferente do teste realizado para o laser vermelho, o sinal obtido com o estímulo no laser verde se caracteriza pelo ganho de sinal durante a exposição da luz. Mesmo assim, há uma região denominada como transiente e uma outra estacionária como pode ser visto na Figura 38.

Nas Figura 34, Figura 35, Figura 36 e Figura 37 são apresentados os resultados resolvidos no tempo dos testes de variação do sinal de entrada, realizados para as concentrações de 0,65 mM, 1,09 mM, 1,63 mM e 2,18mM de AOT, respectivamente.

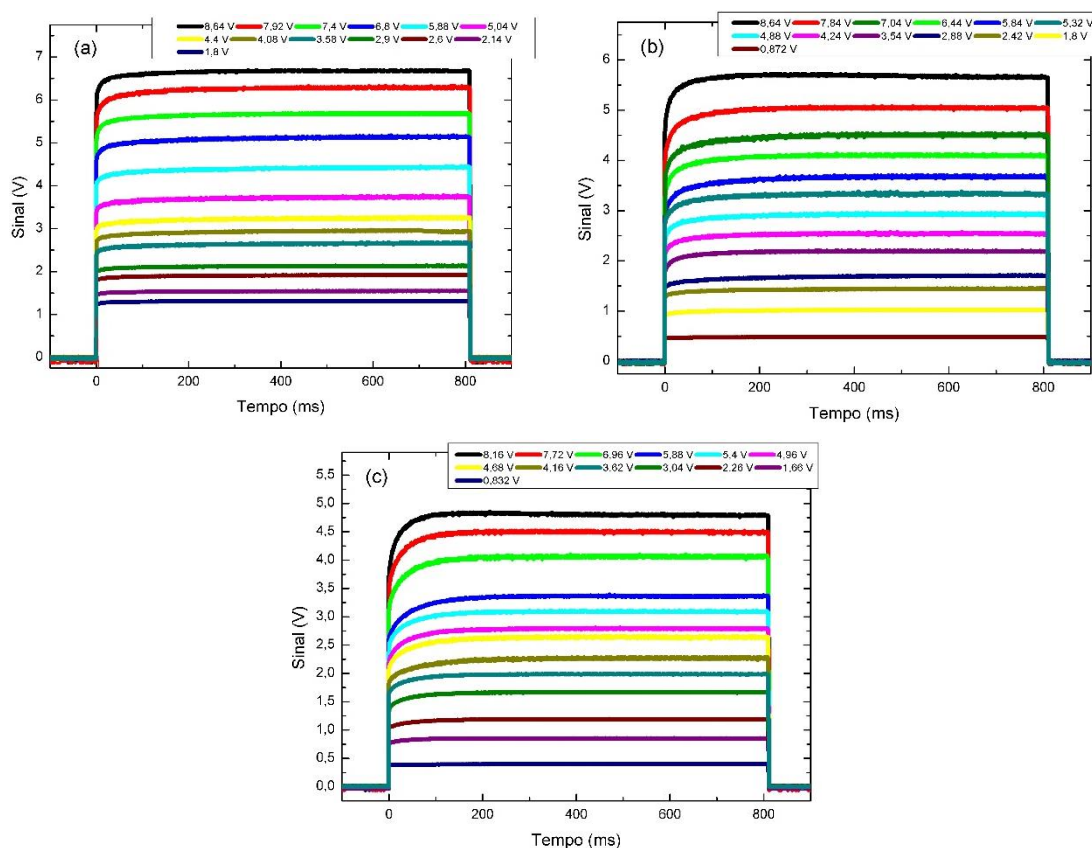


Figura 34 – Sinal obtido pela transmitância do laser verde com comprimento de onda de 532 nm, variando a potência incidente na amostra com concentração de 0,65 mM de AOT em água desmineralizada e caminho óptico: a) 80 μm , b) 160 μm , e c) 280 μm .
Fonte: De autoria própria, 2022.

Tabela 12 – Valores do sinal de entrada, sinal de saída inicial e sinal de saída final da resposta temporal da amostra com 0,65 mM de AOT em água desmineralizada, laser verde.

Passo óptico	Item	Valores em Volts (V)													
80	Sinal de entrada	8,64	7,92	7,40	6,80	5,88	5,04	4,40	4,08	3,58	2,90	2,60	2,14	1,80	
	Sinal de saída inicial	6,12	5,64	5,16	4,68	4,08	3,44	3,02	2,72	2,44	2,00	1,80	1,46	1,23	
	Sinal de saída final	6,72	6,28	5,68	5,16	4,44	3,74	3,26	2,94	2,66	2,14	1,92	1,55	1,31	
160	Sinal de entrada	8,64	7,84	7,04	6,44	5,84	5,32	4,88	4,24	3,54	2,88	2,42	1,80	0,87	
	Sinal de saída inicial	4,72	4,12	3,72	3,36	3,00	2,80	2,48	2,18	1,82	1,48	1,29	0,92	0,46	
	Sinal de saída final	5,72	5,08	4,56	4,12	3,72	3,36	2,96	2,56	2,20	1,70	1,44	1,02	0,48	
280	Sinal de entrada	8,16	7,72	6,96	5,88	5,40	4,96	4,68	4,16	3,62	3,04	2,26	1,66	0,83	
	Sinal de saída inicial	3,84	3,60	3,20	2,64	2,50	2,22	2,10	1,84	1,66	1,38	1,04	0,77	0,38	
	Sinal de saída final	4,84	4,52	4,08	3,36	3,08	2,78	2,64	2,26	1,98	1,66	1,19	0,86	0,40	

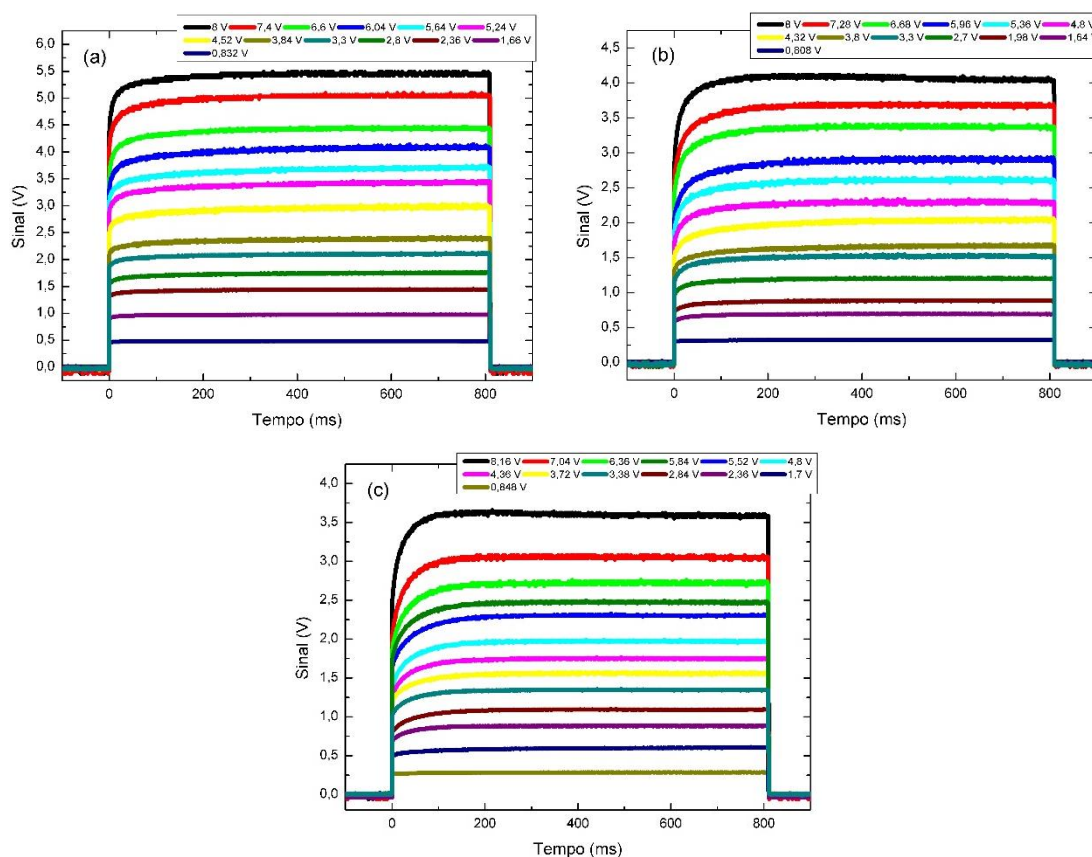


Figura 35 – Sinal obtido pela transmitância do laser verde com comprimento de onda de 532 nm, variando a potência incidente na amostra com concentração de 1,09 mM de AOT em água desmineralizada e caminho óptico: a) 80 μm , b) 160 μm , e c) 280 μm .

Fonte: De autoria própria, 2022.

Tabela 13 – Valores do sinal de entrada, sinal de saída inicial e sinal de saída final da resposta temporal da amostra com 1,09 mM de AOT em água desmineralizada, laser verde.

Passo óptico	Item	Valores em Volts (V)													
80	Sinal de entrada	8,00	7,40	6,60	6,04	5,64	5,24	4,52	3,84	3,30	2,80	2,36	1,66	0,83	
	Sinal de saída inicial	4,56	4,24	3,64	3,40	3,16	2,94	2,56	2,14	1,88	1,56	1,32	0,90	0,46	
	Sinal de saída final	5,52	5,04	4,44	4,12	3,72	3,46	2,98	2,40	2,12	1,76	1,45	0,98	0,48	
160	Sinal de entrada	8,00	7,28	6,68	5,96	5,36	4,80	4,32	3,80	0,81	1,64	1,98	2,70	3,30	
	Sinal de saída inicial	2,88	2,64	2,44	2,12	1,92	1,74	1,52	1,32	0,30	0,58	0,74	0,98	1,18	
	Sinal de saída final	4,12	3,72	3,40	2,96	2,66	2,32	2,02	1,66	0,32	0,70	0,90	1,22	1,54	
280	Sinal de entrada	8,16	7,04	6,36	5,84	5,52	4,80	4,36	3,72	3,38	2,84	2,36	1,70	0,85	
	Sinal de saída inicial	2,52	2,08	1,88	1,74	1,64	1,36	1,24	1,18	1,01	0,80	0,69	0,50	0,26	
	Sinal de saída final	3,64	3,08	2,74	2,46	2,30	1,96	1,74	1,56	1,34	1,09	0,89	0,60	0,28	

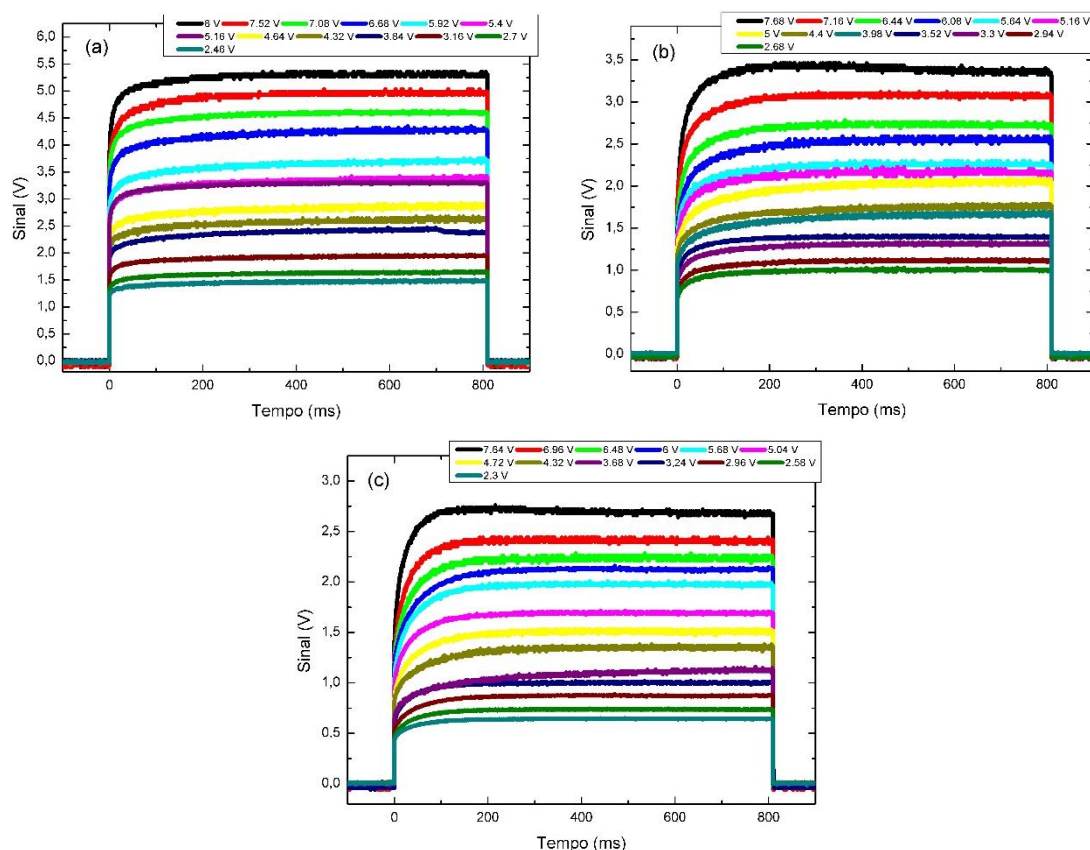


Figura 36 – Sinal obtido pela transmitância do laser verde com comprimento de onda de 532 nm, variando a potência incidente na amostra com concentração de 1,63 mM de AOT em água desmineralizada e caminho óptico: a) 80 μm , b) 160 μm , e c) 280 μm .

Fonte: De autoria própria, 2022.

Tabela 14 – Valores do sinal de entrada, sinal de saída inicial e sinal de saída final da resposta temporal da amostra com 1,63 mM de AOT em água desmineralizada, laser verde.

Passo óptico	Item	Valores em Volts (V)													
80	Sinal de entrada	8,00	7,52	7,08	6,68	5,92	5,40	5,16	4,64	4,32	3,84	3,16	2,70	2,46	
	Sinal de saída inicial	4,12	3,80	3,60	3,36	2,94	2,70	2,64	2,30	2,14	1,92	1,60	1,36	1,24	
	Sinal de saída final	5,40	4,96	4,60	4,32	3,72	3,42	3,30	2,86	2,64	2,4	1,96	1,66	1,48	
160	Sinal de entrada	7,68	7,16	6,44	6,08	5,64	5,16	5,00	4,40	3,98	3,52	3,30	2,94	2,68	
	Sinal de saída inicial	1,74	1,88	1,66	1,58	1,46	1,38	1,26	1,18	1,06	0,94	0,89	0,74	0,68	
	Sinal de saída final	3,46	3,12	2,76	2,62	2,32	2,20	2,02	1,74	1,64	1,41	1,34	1,14	1,02	
280	Sinal de entrada	7,64	6,96	6,48	6,00	5,68	5,04	4,72	4,32	3,68	3,24	2,96	2,58	2,30	
	Sinal de saída inicial	1,50	1,36	1,26	1,22	1,08	1,00	0,86	0,83	0,66	0,63	0,54	0,46	0,44	
	Sinal de saída final	2,74	2,44	2,26	2,12	1,96	1,68	1,51	1,34	1,11	1,01	0,87	0,73	0,64	

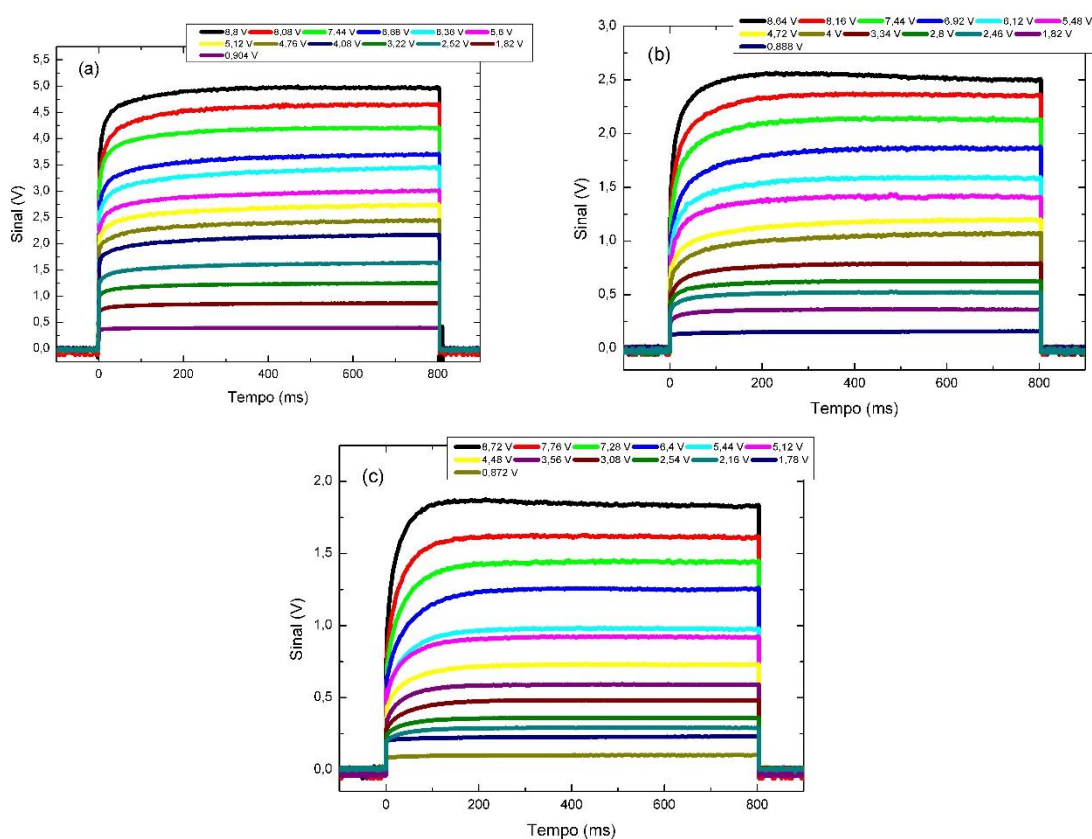


Figura 37 – Sinal obtido pela transmitância do laser verde com comprimento de onda de 532 nm, variando a potência incidente na amostra com concentração de 2,18 mM de AOT em água desmineralizada e caminho óptico: a) 80 μm, b) 160 μm, e c) 280 μm.
Fonte: De autoria própria, 2022.

Tabela 15 – Valores do sinal de entrada, sinal de saída inicial e sinal de saída final da resposta temporal da amostra com 2,18 mM de AOT em água desmineralizada, laser verde.

Passo óptico	Item	Valores em Volts (V)													
80	Sinal de entrada	8,80	8,08	7,44	6,68	6,36	5,60	5,12	4,76	4,08	3,22	2,52	1,82	0,90	
	Sinal de saída inicial	3,48	3,20	3,00	2,68	2,50	2,24	2,04	1,88	1,62	1,24	0,99	0,70	0,35	
	Sinal de saída final	5,08	4,62	4,20	3,74	3,46	3,04	2,72	2,46	2,12	1,64	1,26	0,87	0,40	
160	Sinal de entrada	8,64	8,16	7,44	6,92	6,12	5,48	4,72	4,00	3,34	2,80	2,46	1,82	0,89	
	Sinal de saída inicial	1,28	1,22	1,10	1,00	0,86	0,79	0,69	0,58	0,48	0,42	0,35	0,24	0,12	
	Sinal de saída final	2,58	2,40	2,16	1,92	1,64	1,44	1,17	1,05	0,81	0,64	0,53	0,36	0,16	
280	Sinal de entrada	8,72	7,76	7,28	6,40	5,44	5,12	4,48	3,56	3,08	2,54	2,16	1,78	0,87	
	Sinal de saída inicial	0,86	0,76	0,66	0,58	0,45	0,47	0,40	0,32	0,28	0,23	0,19	0,20	0,08	
	Sinal de saída final	1,88	1,64	1,46	1,25	0,97	0,91	0,73	0,60	0,48	0,36	0,29	0,23	0,10	

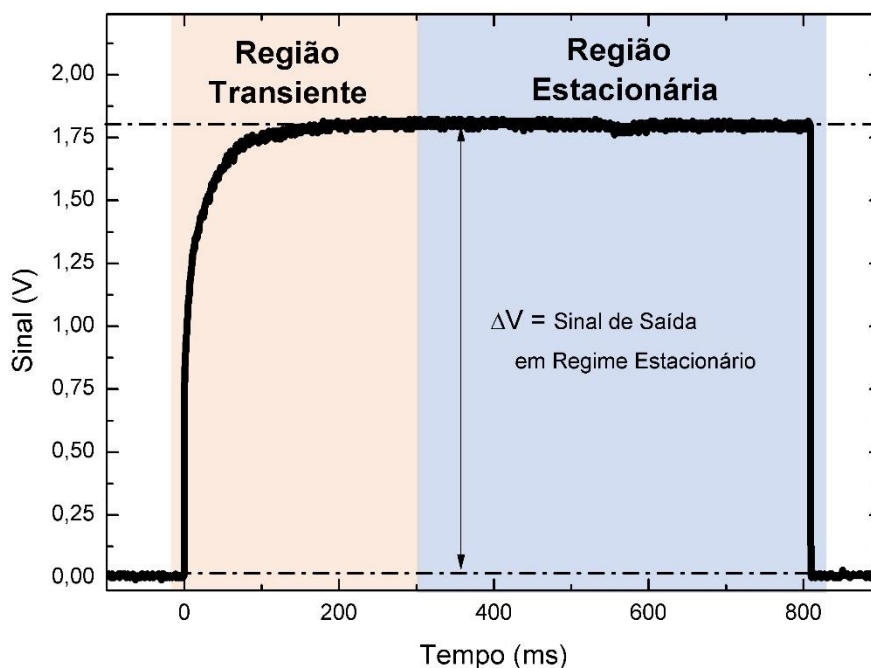


Figura 38 – Ponto de aquisição de dados em regime estacionário para o experimento com o laser verde.

Fonte: De autoria própria, 2022.

A amostra AOT quando bombardeada pelo laser verde com comprimento de onda de 532 nm possui uma resposta temporal onde o sinal de saída inicial é menor que o sinal de saída final (sinal aumenta no tempo). Todavia, como dito anteriormente, a maior parte do aumento de sinal ocorre na região transiente da resposta temporal, de 0 até 350 ms aproximadamente. No restante do tempo de iluminação o sinal permanece quase constante, estacionário. Durante esse segundo momento, na região estacionária é coletado o sinal de saída e estudado sua relação com o sinal de entrada, Figura 38. Essa análise é realizada para as quatro concentrações estudadas – 0,65 mM, 1,09 mM, 1,63 mM e 2,18 mM – experimentadas para os 3 porta amostras: 80 μm , 160 μm , 280 μm . Os resultados destes testes são apresentados nas próximas figuras.

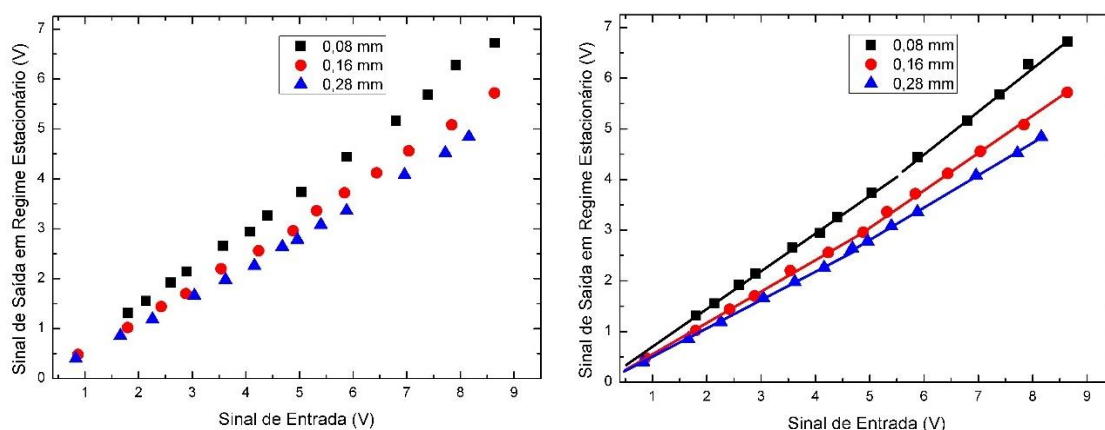


Figura 39 – Sinal de saída em regime estacionário para diferentes sinais de entrada em amostra com concentração de 0,65 mM de AOT em água desmineralizada para os caminhos ópticos 80 μm , 160 μm e 280 μm , para o laser de 532 nm.
Fonte: De autoria própria, 2022.

O teste para a concentração de 0,65 mM de AOT é apresentado na Figura 39. Para os três porta amostra os resultados mostram dois momentos. No porta amostra com comprimento óptico de 80 μm a transmitância para sinais de entrada abaixo de 5,5 V foi de 75 %, após esse valor a transmitância passa a ser de 84 %. Para o porta amostra com passo óptico de 160 μm a transmitância para sinais de entrada abaixo de 4,9 V é de 63 % após isso é de 69 %. Na amostra com passo óptico de 280 μm a transmitância é de 56 % abaixo de 4,3 V e 65 % acima deste. A Tabela 16 mostra esses resultados sintetizados.

Tabela 16: Resultado da relação entre sinal de entrada e sinal de saída para o teste realizado em concentração de 0,65 mM de AOT com laser verde.

Passo óptico (μm)	Ponto de Interseção (V)	Transmitância Antes (%)	Transmitância Depois (%)
80	5,5	75	84
160	4,9	63	69
280	4,3	56	65

O teste realizado com a concentração de 1,09 mM com os diferentes passos ópticos é apresentado na Figura 40. O porta amostra com passo óptico 80 μm possui transmitância de 64 % para valores de sinal de entrada abaixo de 4,0 V, após esse valor a transmitância passa a ser 75 %. Para o porta amostra de 160 μm o valor de transição é 3,8 V, antes desse valor a transmitância é de 45 %, depois desse valor a transmitância é de 56 %. Enquanto que para o passo óptico de 280 μm a transmitância antes de 3,8 é de 40 % e depois é de 50 %.

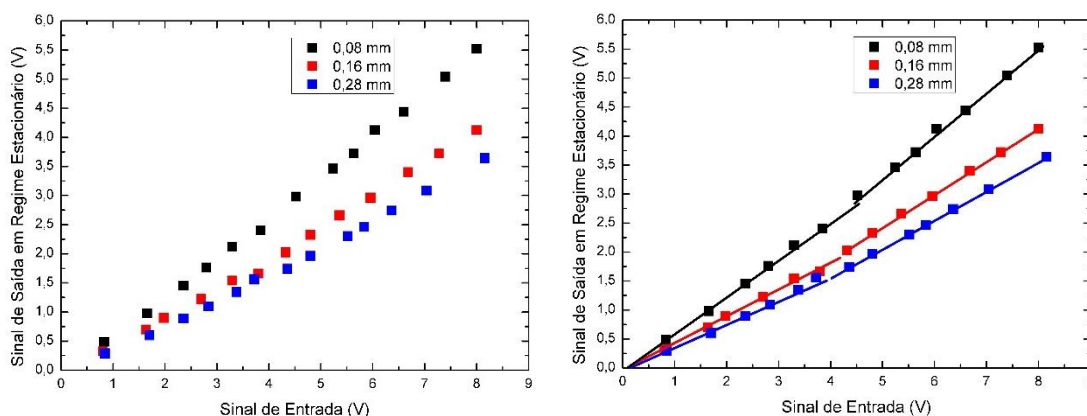


Figura 40 – Sinal de saída em regime estacionário para diferentes sinais de entrada em amostra com concentração de 1,09 mM de AOT em água desmineralizada para os caminhos ópticos 80 μm , 160 μm e 280 μm , para o laser de 532 nm.
Fonte: De autoria própria, 2022.

Tabela 17 – Resultado da relação entre sinal de entrada e sinal de saída para o teste realizado em concentração de 1,09 mM de AOT com laser verde.

Passo óptico (μm)	Ponto de Interseção (V)	Transmitância Antes (%)	Transmitância Depois (%)
80	4,0	64	75
160	3,8	45	56
280	3,8	40	50

O experimento realizado com concentração de 1,63 mM apresenta valores de transição de 5,6 V, 5,1 V e 3,7 V para os porta amostra de 80 μm , 160 μm e 280 μm , respectivamente. As transmitâncias para valores de sinal de entrada abaixo são de 65 %, 41 % e 31%, após os valores de transição as transmitâncias são 76 %, 55 % e 38 %.

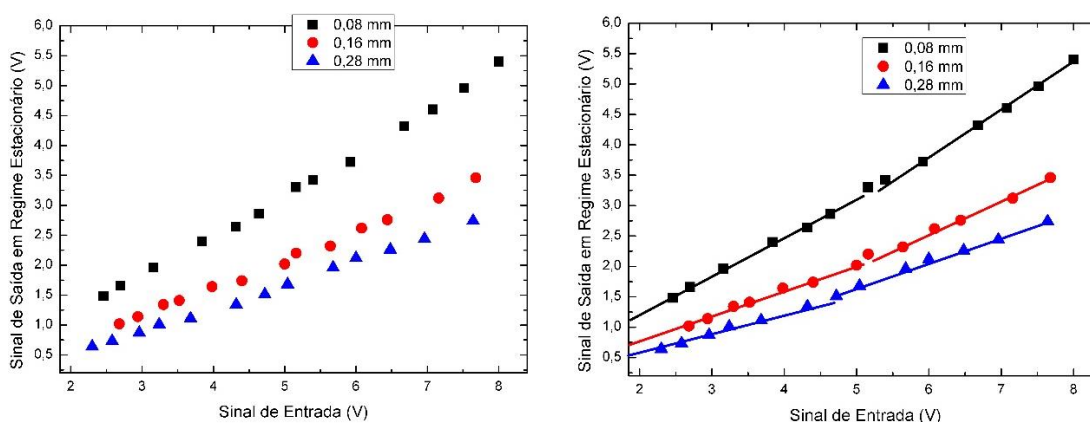


Figura 41 – Sinal de saída em regime estacionário para diferentes sinais de entrada em amostra com concentração de 1,63 mM de AOT em água desmineralizada para os caminhos ópticos 80 μm , 160 μm e 280 μm , para o laser de 532 nm.
Fonte: De autoria própria, 2022.

Tabela 18 – Resultado da relação entre sinal de entrada e sinal de saída para o teste realizado em concentração de 1,63 mM de AOT com laser verde.

Passo óptico (μm)	Ponto de Interseção (V)	Transmitância Antes (%)	Transmitância Depois (%)
80	5,6	65	76
160	5,1	41	55
280	3,7	31	38

O teste para a maior concentração de AOT (2,18 mM) é apresentado na Figura 42. O porta amostra com passo óptico de 80 μm apresenta transmitância de 56 % para valores de sinal de entrada abaixo de 4,6 V, após esse valor a transmitância passa a ser de 64 %. A amostra testada com passo óptico de 160 μm apresentou um sinal de entrada de transição de aproximadamente 4,3 V. Para valores abaixo deste a transmitância apresenta um valor próximo a 25 %, após a transmitância passa a ser de 35 %. Para o caminho óptico de 280 μm a transmitância é de 17 % antes de 4,3 V e de 26 % após

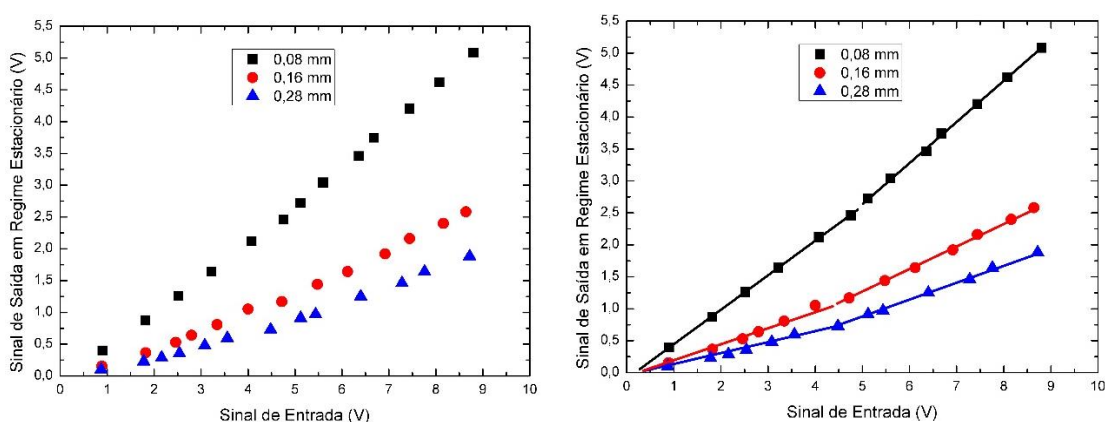


Figura 42 – Sinal de saída em regime estacionário para diferentes sinais de entrada em amostra com concentração de 2,18 mM de AOT em água desmineralizada para os caminhos ópticos 80 μm , 160 μm e 280 μm , para o laser de 532 nm.

Fonte: De autoria própria, 2022.

Tabela 19 – a Resultado da relação entre sinal de entrada e sinal de saída para o teste realizado em concentração de 0,65 mM de AOT com laser verde.

Passo óptico (μm)	Ponto de Interseção (V)	Transmitância Antes (%)	Transmitância Depois (%)
80	4,6	56	64
160	4,3	25	35
280	4,3	17	26

5.3. Experimento de Bombeio e Prova para a Amostra de Azul de Orto-Toluidina

5.3.1. Bombeio no Vermelho (663 nm) e Prova no Verde (532 nm)

Um teste de bombeio e prova foi realizado para o corante de Azul de Orto-toluidina. Neste teste um laser de comprimento de onda de 663 nm é utilizado como bombeio e um outro laser de comprimento de onda de 532 nm é utilizado como prova. O laser de bombeio possui uma potência de incidência de 84 mW em todos os testes realizados. Além disso, como sistema de detecção é utilizado um fotodetector SGD444 cuja resistência interna é de 10 k Ω . Para este experimento são realizados 5 testes, variando concentração, passo óptico dos Porta amostras, tempo de bombeio e potência de prova do laser de 532 nm. A Tabela 20 mostra as diferentes configurações para cada um dos experimentos realizados. A configuração da bancada óptica adotada é a mesma da Figura 15.

Tabela 20 – Configuração dos experimentos de bombeio e prova.

Nº Experimento	Concentração (mg/l)	Passo Óptico (μ m)	Tempo de Bombeio (ms)	Potência de Prova (mW)
1	666	280	555	4,2
2	500	280	428	4,2
3	500	280	554	4,2
4	200	1000	554	12,7
5	200	1000	555	12,7

Nos experimentos de bombeio e prova, o laser de prova é acionado primeiro elevando o nível de sinal detectado no osciloscópio. Em um segundo momento, o laser utilizado para bombeio é ligado (ON). Neste momento o sinal detectado no osciloscópio volta a subir até atingir um segundo platô. Quando o laser de bombeio é desligado (OFF), o sinal detectado volta a descer até atingir o nível de sinal obtido quando somente o laser de prova estava acionado. O primeiro experimento realizado foi para uma amostra de Azul de Orto-toluidina mais concentrada, 666 mg/l. Neste experimento é registrado apenas um acionamento do laser de bombeio. Durante o seu acionamento o tempo de subida registrado é de 137 ms, enquanto que o seu tempo de descida, após ser desligado é de 235 ms. A variação da tensão causado pelo acionamento do bombeio foi de aproximadamente 3 V. O sinal basal causado pelo laser de prova foi de 20,7 V (Figura 43).

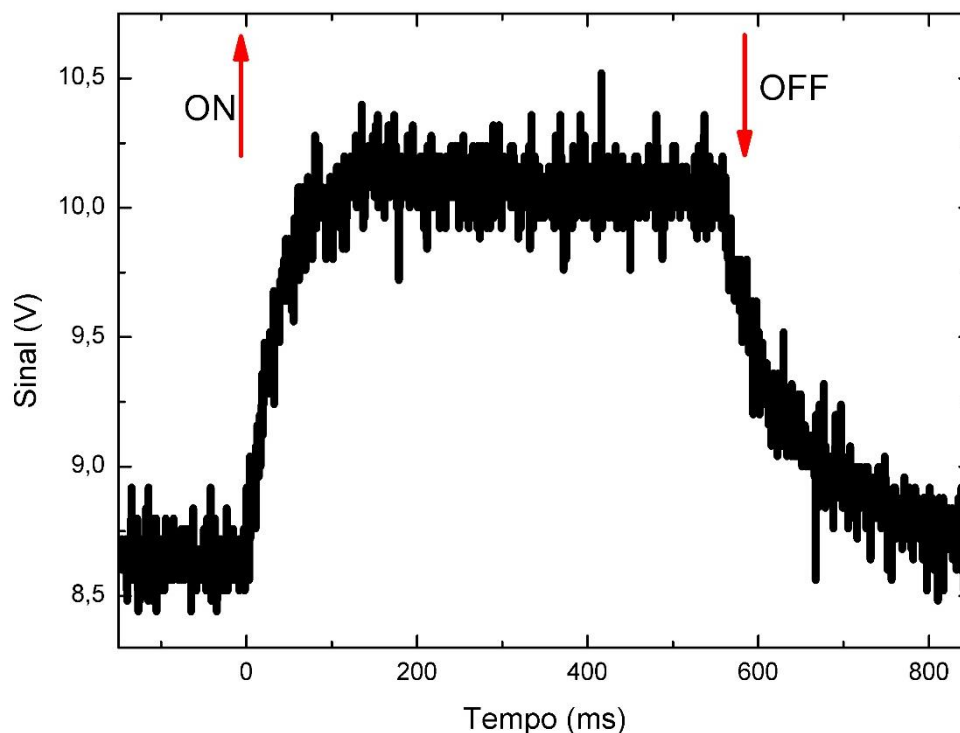


Figura 43 – Experimento de bombeio (663 nm) e prova (532 nm) de número 1 com concentração de 666 mg/l e caminho óptico de 280 μm .

Fonte: De autoria própria, 2023.

O segundo experimento foi realizado com concentração de 500 mg/l. Neste o sinal basal causado pelo acionamento do laser de prova é registrado em aproximadamente 13,5 V. A variação do acionamento do laser de bombeio é de 2,3 V, e o tempo de descida e subida foram 340 ms e 397, respectivamente (Figura 44).

O experimento de número 3, apresentado na Figura 45, foi realizado com condições semelhantes ao experimento de número 2, todavia, este possui um tempo de iluminação do laser de bombeio maior (554 ms). Os resultados de tempo de subida e descida foram de 375 ms e 474 ms, respectivamente. O sinal basal de iluminação do laser de prova é mais difícil de prever, uma vez que o bombeio é acionado periodicamente. Mas o valor mínimo obtido é próximo de 12,1 V, e a variação do sinal do bombeio é de 2 V.

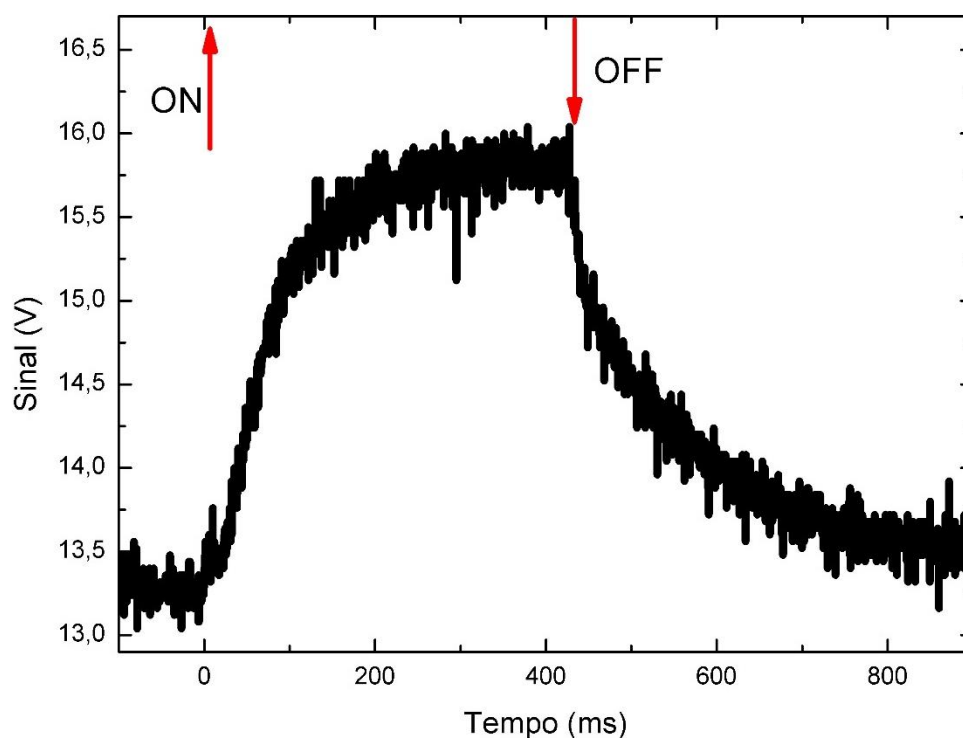


Figura 44 – Experimento de Bombeio (663 nm) e Prova (532 nm) de número 2 com concentração de 500 mg/l e caminho óptico de 280 μm .

Fonte: De autoria própria, 2023.

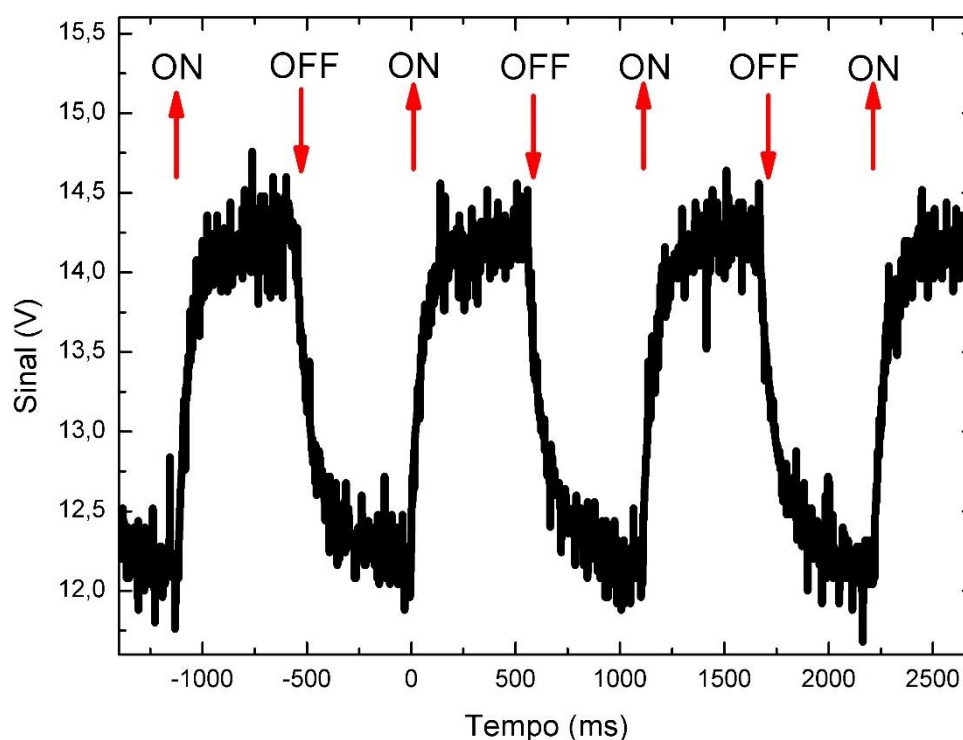


Figura 45 – Experimento de bombeio (663 nm) e prova (532 nm) de número 3 com concentração de 500 mg/l e caminho óptico de 280 μm .

Fonte: De autoria própria, 2023.

Os experimentos de número 4 e 5 possuem características de configuração de teste semelhantes. A diferença é que no experimento de número 4 o acionamento do laser de bombeio ocorre periodicamente (Figura 46), enquanto que no experimento de número 5 o laser de bombeio é acionado apenas uma vez, Figura 47.

O tempo de subida do sinal de bombeio no experimento de número 4 é de 119 ms, e o tempo de descida é de 452 ms. O nível do sinal causado pelo laser de prova é de aproximadamente 21,5 V e a variação causada pelo o laser de bombeio é de 3,3 V.

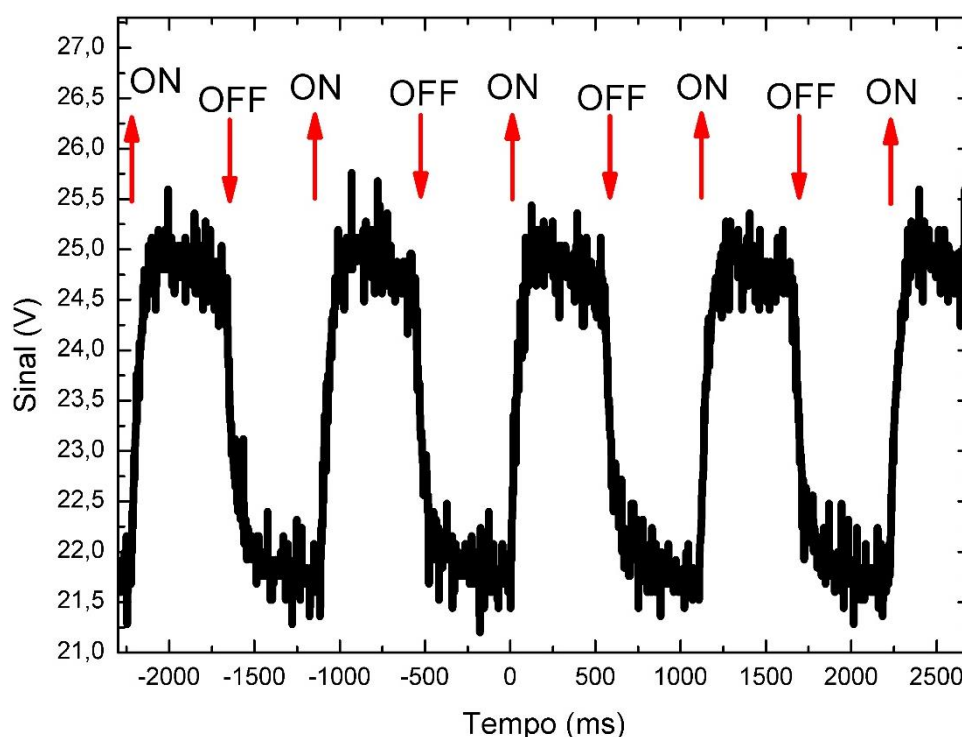


Figura 46 – Experimento de bombeio (663 nm) e prova (532 nm) de número 4 com concentração de 200 mg/l e caminho óptico de 1000 μm .

Fonte: De autoria própria, 2023.

No experimento de número 5 com um acionamento do laser de bombeio os parâmetros de tempo de subida e de descida foram de 135 ms e de 205 ms. O sinal basal do laser de prova foi de 20,8 V e a variação do bombeio foi de 3 V.

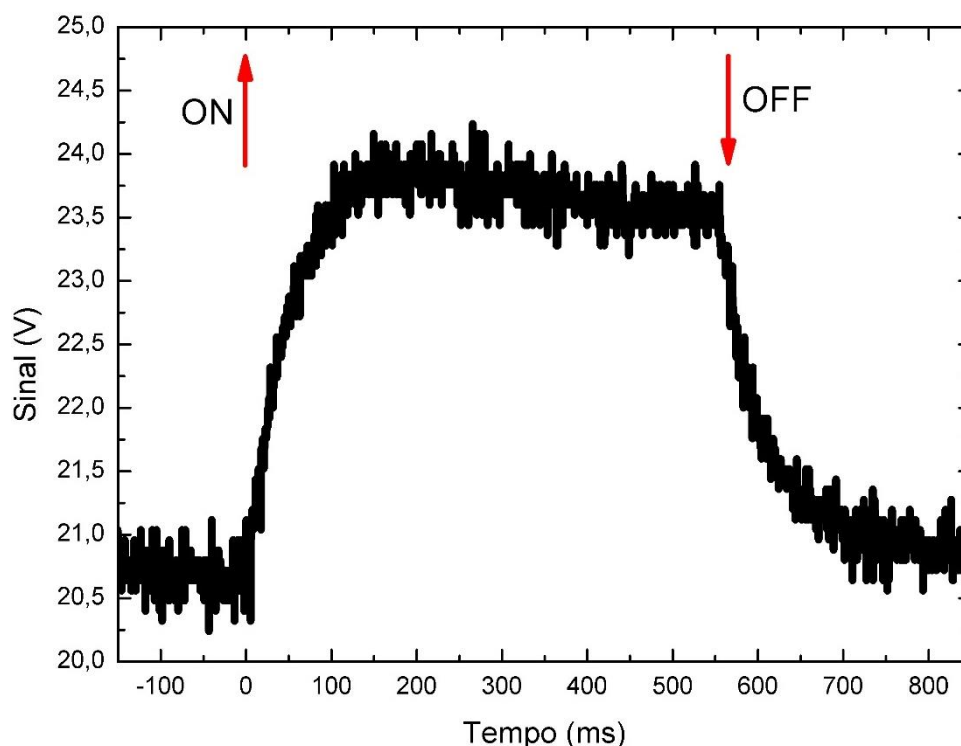


Figura 47 – Experimento de bombeio (663 nm) e prova (532 nm) de número 5 com concentração de 666 mg/l e caminho óptico de 1000 μm .

Fonte: De autoria própria, 2023.

5.3.2. Bombeio no Verde (532 nm) e Prova no Vermelho (663 nm)

Neste outro experimento é utilizado o laser verde (532 nm) como laser de bombeio, enquanto que o laser vermelho é utilizado como laser de prova. A Tabela 21 mostra a configuração experimental utilizada no teste.

Tabela 21 – Configuração dos experimentos de bombeio e prova.

Nº Experimento	Concentração (mg/l)	Passo Óptico (μm)	Tempo de Bombeio (ms)
6	200	1000	200
7	200	1000	625

No Experimento 6, o sinal temporal tem início a 610 mV com o laser de bombeio desativado. À marca de -1012 ms, o laser de bombeio é ativado, desencadeando um aumento abrupto no sinal que atinge seu ponto máximo em 672 mV. Posteriormente, o sinal experimenta uma queda exponencial até o ponto de 525 ms, momento em que o laser de bombeio é desligado. Após a desativação, o sinal continua a diminuir a uma taxa ainda mais acelerada, semelhante ao aumento inicial ocorrido no início da ativação do laser de bombeio, até alcançar o valor mínimo de 483 mV. Em seguida, o sinal retoma sua ascensão, culminando no valor inicial de 610 mV (Figura 48).

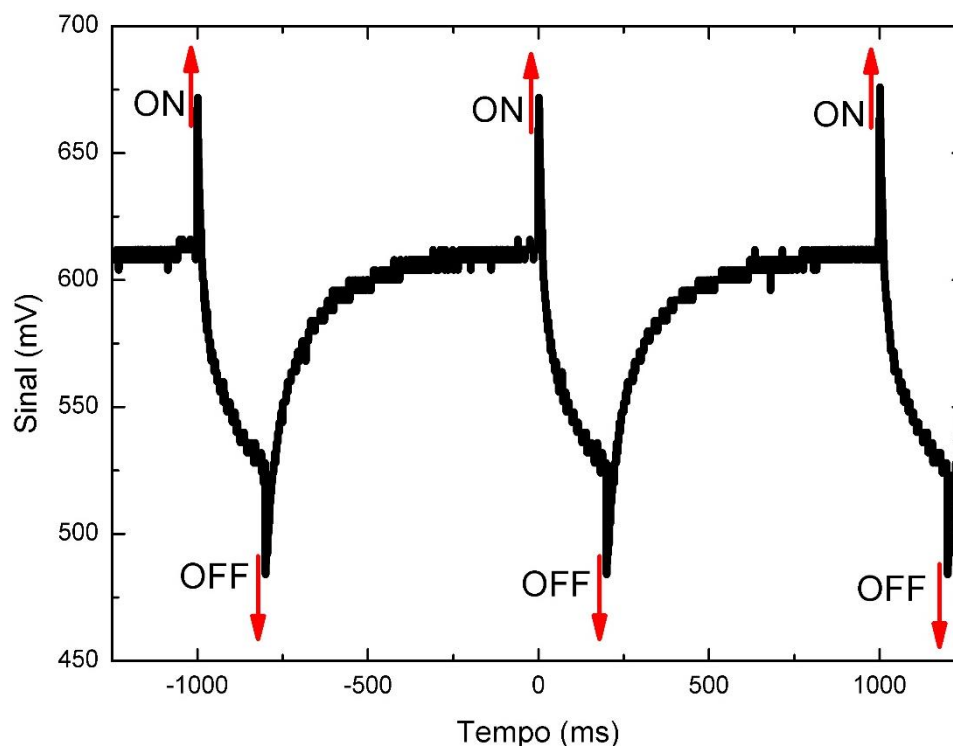


Figura 48 – Experimento de bombeio (532 nm) e prova (663 nm), teste número 6.
 Frequência de 1 Hz e *duty cycle* de 20%.
 Fonte: De autoria própria, 2023.

No Experimento 7, a partir de -1396 ms, o sinal temporal começa a 595 mV com o laser de bombeio desativado. Em -1268 ms, o laser de bombeio é ativado, resultando em um aumento súbito do sinal, atingindo o pico em 645 mV. Em seguida, o sinal decresce exponencialmente até estabilizar em 518 mV. No instante de 650 ms, o laser de bombeio é desligado, levando o sinal a cair abruptamente para um mínimo de 478 mV. Posteriormente, o sinal volta a subir até retornar ao valor inicial de 595 mV.

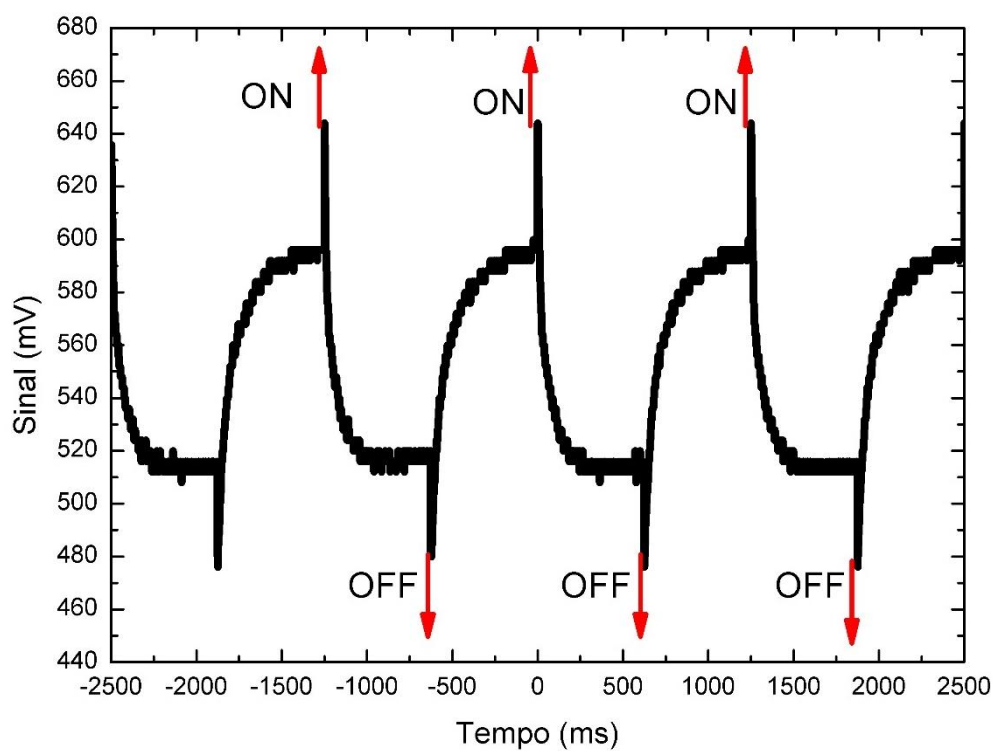


Figura 49 – Experimento de bombeio (532 nm) e prova (663 nm), teste número 7.
Frequência de 0,8 Hz e duty cycle de 50%.
Fonte: De autoria própria, 2023.

6. DISCUSSÃO

Os espectros da Figura 18 mostram duas bandas de absorção distintas sobrepostas. A banda mais próxima da região azul do espectro é a banda do agregado molecular na forma de dímeros, enquanto que a banda mais próxima da região do vermelho é a banda da molécula de monômero. Tal informação, indica que a molécula de azul de toluidina agrega com formação geométrica do tipo H, agregados que não possuem fluorescência quando decaem para o estado fundamental (de menor energia) na forma de monômero (HEYNE, 2016). Isso pode indicar um possível decaimento não radiativo (térmico). Além disso, o espectro indicou uma densidade óptica maior nas espécies de dímero do que de monômero. Esse resultado indica que existe margem para um aumento substancial do sinal de densidade óptica da banda de absorção do monômero em um eventual processo de dissociação molecular do dímero.

Ainda sobre os resultados espectrais, o estudo da deconvolução das bandas via software OriginLab, mostrou que as bandas do dímero e monômero alteram o valor de seu pico (ponto máximo de absorção da luz) quando a concentração do corante na amostra é alterada (Figura 19). O pico do dímero desloca em direção ao azul quando a concentração é aumentada, enquanto que o pico do monômero desloca em direção ao vermelho. Este resultado pode indicar a influência de outros tipos de agregados, como trímero ou dímero de formação J (D'ILARIO & MARTINELLI, 2006).

O resultado obtido na deconvolução também permitiu analisar a razão entre os sinais do dímero e do monômero em relação a variação da concentração (Figura 20), indicando um aumento não linear da razão em função da concentração. Embora o número de amostras com diferentes concentrações seja pequeno, parece haver um limite em que essa relação atinge com o aumento da concentração.

No experimento de excitação por feixe único, da Figura 21, utilizando o laser vermelho de 663 nm, o aumento rápido do sinal nos primeiros 10 microssegundos após a ativação do laser está relacionado ao tempo de subida do laser, que é o período necessário para que a potência do laser atinja seu valor máximo. Após atingir o ponto de máximo, o sinal começa a decair exponencialmente e tende a um valor constante após um determinado tempo. O fenômeno de agregação do Azul de Orto-toluidina desempenha um papel fundamental nesse comportamento. Quando o laser é absorvido pelas moléculas monoméricas, a energia eletromagnética é convertida em calor devido ao processo de relaxação térmica, aumentando a temperatura localizada do sistema. Essa energia disposta no sistema perturba o equilíbrio químico das moléculas agregadas na forma de dímero, causando a dissociação do agregado. Para cada molécula de

dímero dissociada, duas moléculas de monômero são geradas. Assim, com um maior número de moléculas monoméricas na solução, a população dos centros absorvedores aumenta, o que, por sua vez, resulta na queda do sinal detectado. O sinal estabiliza no momento em que a taxa dos processos de dissociação do dímero e o processo de dimerização se igualam, atingindo assim o equilíbrio termodinâmico. Esse comportamento ocorre especificamente para esse experimento devido a sua fonte laser possuir comprimento de onda de emissão dentro da região espectral de absorção da molécula de monômero do corante Azul de orto-toluidina.

No contexto do segundo experimento, Figura 22, de excitação de feixe único, empregando uma fonte laser com um comprimento de onda de 532 nm (cor verde), o objetivo é investigar o comportamento do sinal resultante quando uma amostra é estimulada por uma fonte de radiação eletromagnética cujo comprimento de onda coincide com a faixa espectral de absorção predominante da molécula que forma dímeros. Neste experimento, o sinal apresenta uma resposta inicial rápida, imediatamente após a ativação do laser. Posteriormente, o sinal continua a aumentar, mas a taxa de crescimento diminui gradualmente com o tempo até atingir zero, resultando em uma estabilização do sinal ao longo do tempo. Esse crescimento do sinal está diretamente relacionado à diminuição da população de dímeros durante a exposição à luz, possivelmente devido ao processo de relaxação térmica que ocorre no sistema.

Os experimentos de feixe único realizados com ambas as fontes laser, a 532 nm e a 663 nm, aparentam exibir um processo de relaxação térmica semelhante. Uma análise da literatura científica revelou que agregados que adotam uma configuração H apresentam um deslocamento do espectro de absorção em direção à região azul, quando comparados ao pico de absorção do monômero (HEYNE, 2016). Além disso, observou-se que, quando excitados eletronicamente, esses agregados decaem para seu estado fundamental sem passar por processos radiativos. Consequentemente, pode-se inferir que as moléculas que absorveram a radiação do laser de 532 nm são configuradas como agregados H.

A variação da concentração do corante Azul de Orto-toluidina em água desmineralizada demonstrou uma tendência uniforme em resposta às duas fontes de excitação. Em ambos os cenários, o aumento da concentração do corante resultou em uma maior amplitude do efeito observado, ou seja, a relação entre o sinal inicial e o sinal final foi ampliada.

O mesmo fenômeno foi observado no experimento que avaliou a variação da potência de entrada do laser. Esse teste foi conduzido utilizando as duas fontes de radiação eletromagnética, a 532 nm e a 663 nm, e revelou uma relação diretamente

proporcional entre o efeito observado e a potência do laser, independentemente da concentração de corante empregada. Tanto o teste de variação da concentração do corante quanto o de potência incidente do laser estão intrinsecamente relacionados à demanda por centros absorvedores e fótons disponíveis.

No caso do teste de concentração do corante, um número fixo de fótons está disponível para interagir com o corante. À medida que a quantidade de moléculas de Azul de Orto-toluidina no sistema aumenta, tanto o número total de dímeros quanto de monômeros aumenta, o que eleva a probabilidade de interação entre os fótons e o corante. De maneira semelhante, o teste de potência de entrada faz com que, em um sistema com concentração de corante constante, o aumento do número de fótons disponíveis também aumente a probabilidade de interação com o corante.

Uma vez que os fótons interagem com o corante, seja na forma de dímero ou monômero, eles excitam eletronicamente o corante. Durante o processo de retorno ao estado fundamental, a relaxação térmica que ocorre nos dímeros e monômeros resulta em um aumento de energia no sistema, o que provoca o aumento da temperatura local. Esse aumento de temperatura afeta a relação entre a população de dímeros (que diminui) e a de monômeros (que aumenta).

Também foi objeto de investigação a análise da relação entre o sinal de entrada e o sinal de saída no regime estacionário. Os resultados do experimento indicam a existência de um ponto de transição onde essa relação linear sofre uma mudança de regime. Em outras palavras, para sinais de entrada inferiores ao ponto de transição identificado, a relação entre o sinal de entrada e o sinal de saída mantém uma taxa constante denominada "X". No entanto, após ultrapassar o ponto de transição, essa taxa permanece constante, mas pode ser maior ou menor que o valor "X", dependendo do comprimento de onda da fonte de laser de excitação.

No caso do laser com comprimento de onda de 532 nm (verde), a taxa aumenta após o ponto de transição, enquanto que para o laser de 663 nm (vermelho), essa taxa diminui. Essa taxa está diretamente relacionada à transmitância da luz, que representa a porcentagem da quantidade de luz que atravessou a amostra e foi detectada pelo fotodetector. Portanto, um aumento na taxa indica que, em um determinado ponto, a amostra se tornou menos absorvente, permitindo uma maior passagem de luz. Por outro lado, uma diminuição na taxa indica que, em um dado ponto, a amostra se tornou mais absorvente, permitindo menos passagem de luz.

Considerando que a população de dímeros diminui e a de monômeros aumenta devido à relaxação térmica das moléculas do corante, é coerente que a taxa de transmitância aumente para o laser de 532 nm e diminua para o de 663 nm.

Outro aspecto notável neste experimento é a influência do ponto de transição por fatores como concentração do corante e comprimento do caminho óptico. Observou-se que, para uma mesma concentração, os testes realizados indicam uma relação inversamente proporcional entre o ponto de transição e o comprimento do caminho óptico; ou seja, à medida que o caminho óptico aumenta, o valor do ponto de transição diminui. No entanto, é importante destacar que essa é uma observação preliminar que requer uma investigação mais abrangente com um número maior de testes para compreender completamente o comportamento desses fatores.

O experimento de bombeio e prova envolve a utilização de dois lasers distintos. O primeiro deles, conhecido como laser de prova, tem a finalidade de monitorar o sinal resultante. Para isso, ele é ativado, emitindo radiação eletromagnética que atravessa a amostra e, posteriormente, é detectada pelo fotodetector. É essencial que a luz emitida pelo laser de prova não cause perturbações significativas na amostra, razão pela qual se opta por um laser de baixa potência com um comprimento de onda de 532 nm.

Por sua vez, o laser de bombeio possui uma potência substancialmente maior e tem como objetivo induzir perturbações controladas na amostra. No entanto, apesar de sua radiação eletromagnética também atravessar a amostra, ela é submetida a um processo de filtragem, impedindo que seja detectada pelo fotodetector. O laser de bombeio é ativado durante o período de iluminação da amostra pelo laser de prova, permitindo assim a realização do experimento de bombeio e prova.

Os resultados do teste de bombeio e prova revelam que, durante a ativação do laser de bombeio, para o experimento com o laser vermelho nessa função, o sinal experimenta uma taxa de crescimento repentino, alcançando rapidamente seu valor máximo. Em seguida, a taxa de crescimento diminui gradualmente até atingir zero, estabilizando-se em um valor de sinal máximo e constante. Após o desligamento do laser de bombeio, o sinal começa a diminuir, porém, em contraste com o experimento de feixe único, o tempo necessário para a redução do sinal é consideravelmente maior. Além disso, o tempo de descida no experimento de bombeio e prova também é maior que o seu respectivo tempo de subida. Diferente do teste de feixe único, o bombeio e prova permite estudar os processos cinéticos de retorno ao estado inicial. Isso é possível graças a iluminação contínua do laser de prova que permanece acionado após o laser de bombeio ser desligado.

No experimento que utiliza o laser verde como bombeio, observa-se que quando o laser é ativado, o sinal experimenta um aumento abrupto, seguido por uma diminuição exponencial até atingir um patamar de estabilidade. No momento em que o laser de

bombeio é desligado, o sinal exibe uma queda acentuada, seguida de um aumento até retornar ao nível inicial de estabilidade.

Os picos distintivos no sinal, que ocorrem ao ligar e desligar o laser de bombeio, são resultado de algum artefato experimental não identificado. No entanto, o comportamento do sinal no instante do pulso de bombeio pode ser explicado pelo fenômeno de dissociação das moléculas de dímeros em monômeros, causado pela deposição térmica do laser de bombeio na faixa espectral verde. O dímero absorve a radiação eletromagnética, em 532 nm, causando excitação eletrônica seguido de relaxação térmica (desativação não-radiativa). Esse fenômeno torna a amostra mais absorvente na região de comprimento de onda do laser de prova, 663 nm. Também neste experimento é possível estudar a cinética de retorno ao estado inicial após o laser de bombeio ser desligado.

Outra observação relevante é que o processo parece ser totalmente reversível, pois o valor do sinal se repete quando os estados de ligado e desligado do laser de bombeio são alternados consecutivamente.

7. CONCLUSÃO

A utilização da tecnologia laser nos estudos de agregação molecular de corantes oferece insights valiosos sobre o comportamento desses sistemas complexos. Os experimentos descritos abordam a interação entre a radiação laser e o corante Azul de Orto-toluidina em diferentes condições, incluindo variação de comprimento de onda, concentração do corante e potência do laser. Vários resultados e comportamentos interessantes emergem dessas investigações.

Em primeiro lugar, observa-se que a interação entre o laser e o corante desencadeia uma série de respostas dinâmicas, incluindo o crescimento rápido do sinal seguido por uma queda exponencial até atingir um estado constante. Isso reflete as complexas mudanças na população de moléculas de corante, principalmente a transição entre monômeros e dímeros, induzida pelo processo de relaxação térmica. A relação entre a absorção de luz, a formação de dímeros e o estado de equilíbrio termodinâmico é central nesse contexto.

Além disso, os experimentos destacam a influência significativa do comprimento de onda do laser na resposta do sistema. Com comprimentos de onda específicos, a taxa de transmitância da luz é afetada, indicando que a absorção e relaxação térmica são influenciadas pelo tipo de agregação molecular predominante (dímeros H, por exemplo). Isso ressalta a importância de selecionar a fonte de laser apropriada para investigações específicas de agregação molecular.

A variação da concentração do corante e da potência do laser também demonstra um impacto direto na resposta do sistema, ilustrando como a demanda por centros absorvedores e a disponibilidade de fótons afetam o comportamento das moléculas. A complexidade dessas interações ressalta a necessidade de considerar múltiplos parâmetros experimentais ao projetar estudos nesse campo.

Outro ponto relevante é a identificação de um ponto de transição na relação entre sinal de entrada e saída em regime estacionário, que varia de acordo com o comprimento de onda do laser. Esse ponto de transição reflete as mudanças na transmitância da luz e está relacionado à absorção e relaxação térmica das moléculas. Essa observação destaca a capacidade do laser em revelar informações cruciais sobre o estado do sistema e sua interação com a luz incidente.

Finalmente, a reversibilidade do processo observada nos experimentos de bombeio e prova destaca a capacidade de controlar e manipular as agregações moleculares, oferecendo oportunidades para aplicações práticas, como a modulação da transmitância da luz em dispositivos ópticos. Além disso, o bombeio e prova permite

estudar a cinética de retorno do fenômeno de agregação, abrindo a possibilidade de novos estudos de histerese.

Em resumo, a tecnologia laser desempenha um papel fundamental na investigação das agregações moleculares de corantes, proporcionando uma compreensão mais profunda dos mecanismos envolvidos. Esses estudos têm implicações significativas em áreas como química, física e óptica, contribuindo para o avanço do conhecimento e aplicações futuras relacionadas a materiais e dispositivos sensíveis à luz.

REFERÊNCIAS

ATKINS, P., & DE PAULA, J. Physical Chemistry (8th ed.). Oxford University Press, 2006.

BACELLAR, I. O., TSUBONE, T. M., PAVANI, C., & BAPTISTA, M. S. Photodynamic efficiency: from molecular photochemistry to cell death. International journal of molecular sciences, v. 16, n. 9, p. 20523-20559, 2015.

BARZAN, M., & HAJIESMAEILBAIGI, F. Investigation the concentration effect on the absorption and fluorescence properties of Rhodamine 6G dye. Optik, v. 159, p. 157-161, 2018.

BERTOCCHI, F., DELLEDONNE, A., VARGAS-NADAL, G., TEREZIANI, F., PAINELLI, A., & SISSA, C. Aggregates of Cyanine Dyes: When Molecular Vibrations and Electrostatic Screening Make the Difference. The Journal of Physical Chemistry C, 2023.

BERTHOLLET, Claude-Louis. Essai de statique chimique. F. Didot, 1803.

BUJDÁK, J. Effect of the layer charge of clay minerals on optical properties of organic dyes. A review. Applied Clay Science, v. 34, n. 1-4, p. 58-73, 2006.

CALLISTER JR, W. D. Materials Science and Engineering: An Introduction. John Wiley & Sons, 2008.

CASTILLO-SEOANE, J. et al. Rhodamine 6G and 800 intermolecular heteroaggregates embedded in PMMA for near-infrared wavelength shifting. Journal of Materials Chemistry C, v. 10, n. 18, p. 7119-7131, 2022.

DA SILVA, A. C. P., DE FREITAS, C. F., TESSARO, A. L., CAETANO, W., SANTIN, S. M. O., HIOKA, N., PALIOTO, G.F. Atividade Fotodinâmica e conceitos: um experimento demonstrativo. *Quim. Nova*, v.41, n. 6, p. 706-712, 2018

DE CAMPOS VIDAL, B., & MELLO, M. L. S. Toluidine blue staining for cell and tissue biology applications. Acta histochemica, v. 121, n. 2, p. 101-112, 2019.

DE OLIVEIRA PENIDO, C. A. F., PACHECO, M. T. T., LEDNEV, I. K., & SILVEIRA JR, L. Raman spectroscopy in forensic analysis: identification of cocaine and other illegal drugs of abuse. *Journal of Raman Spectroscopy*, v. 47, n. 1, p. 28-38, 2016.

DEEPAK, J. R., ANIRUDH, R. P., & SUNDAR, S. S. Applications of lasers in industries and laser welding: A review. *Materials Today: Proceedings*, 2023.

DEEPRAKASH, P. N., KRISHNA, C. M., & VADHIRAJA, B. M. Applications of lasers in cancer diagnosis and therapy—an overview. *Photomedicine and Laser Surgery*, v. 27, n. 3, p. 381-394, 2009.

D'ILARIO, L., & MARTINELLI, A. Toluidine blue: aggregation properties and structural aspects. *Modelling and Simulation in Materials Science and Engineering*, v. 14, n. 4, p. 581, 2006.

DOUGHERTY, T. J., GOMER, C. J., HENDERSON, B. W., JORI, G., KESSEL, D., KORBELIK, M., MOAN, J., PENG, Q. Photodynamic Therapy. *Journal of the National Cancer Institute*, v.90, n. 12, p. 889-905, 1998.

FRIEDL, C., RENGGER, T., BERLEPSCH, H. V., LUDWIG, K., Schmidt am Busch, M., & Megow, J. Structure prediction of self-assembled dye aggregates from cryogenic transmission electron microscopy, molecular mechanics, and theory of optical spectra. *The Journal of Physical Chemistry C*, v. 120, n. 34, p. 19416-19433, 2016.

GARFIELD, E. The history and meaning of the journal impact factor. *jama*, v. 295, n. 1, p. 90-93, 2006.

GHASEMI, J., NIAZI, A., & KUBISTA, M. Thermodynamics study of the dimerization equilibria of rhodamine B and 6G in different ionic strengths by photometric titration and chemometrics method. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, v. 62, n. 1-3, p. 649-656, 2005.

GULDBERG, C. M., & WAAGE, P. Studies Concerning Affinity. *Forhandlinger: Videnskabs-Selskabet i Christiania*, 1864.

HANDZEL, O., BURGESS, B. J., & NADOL Jr, J. B. Histopathology of the peripheral vestibular system after cochlear implantation in the human. *Otology & Neurotology*, v. 27, n. 1, p. 57-64, 2006.

HEYNE, B. Self-assembly of organic dyes in supramolecular aggregates. *Photochemical & Photobiological Sciences*, v. 15, p. 1103-1114, 2016.

HOLLAS, J. M. *Modern Spectroscopy* (4th ed.). John Wiley & Sons, 2004.

HUMMEL, R. E. *Understanding materials science: History, properties, applications*. Florida: Springer, 1998.

KARSENTI, E. Self-organization in cell biology: a brief history. *Nature reviews Molecular cell biology*, v. 9, n. 3, p. 255-262, 2008.

KHALKHAL, E., REZAEI-TAVIRANI, M., ZALI, M. R., & AKBARI, Z. The evaluation of laser application in surgery: a review article. *Journal of lasers in medical sciences*, 10(Suppl 1), S104, 2019.

KIERNAN, J. A. Dyes and other colorants in microtechnique and biomedical research. *Coloration technology*, v. 122, n. 1, p. 1-21, 2006.

LE CHÂTELIER, H. L. Chemical equilibrium. *Ann. Mines*, v. 13, p. 157, 1888.

LEOSARI, Y., HADIATI, S., & AGUSTINA, D. Screening of oral premalignant lesions in smokers using toluidine blue, *Dental Journal* v. 42, p90, 2009.

LI, X., ZHANG, Y., WANG, Y., & LIU, Y. Type I Photosensitizers Based on Aggregation-Induced Emission: A Rising Star in Photodynamic Therapy. *Nanomaterials*, v. 12, n. 9, p. 722, 2022.

MA, C. L., BILLINGS, P., HARRIS, J. P., & KEITHLEY, E. M. Characterization of an experimentally induced inner ear immune response. *The Laryngoscope*, v. 110, n. 3, p. 451-456, 2000.

- MACDONALD, I. J., DOUGHERTY, T. J. Basic principles of photodynamic therapy. J. Porphyrins Phthalocyanines, v. 5, p. 105, 2001.
- MENG, Z. et al. Aggregation-induced emission photosensitizer-based photodynamic therapy in cancer: from chemical to clinical. Journal of Nanobiotechnology, v. 20, n. 1, p. 344, 2022.
- PARK, Y.-P., KANG, K.-W., JUNG, S.-H., & CHOI, J.-H. Crossed-Beam Investigation of $O(3P) + C_2H_5 \rightarrow C_2H_4 + OH^\dagger$. The Journal of Physical Chemistry A, v. 114, n. 14, p. 4891–4895, 2010.
- PHILP, D., & STODDART, J. F. Self-assembly in natural and unnatural systems. Angewandte Chemie International Edition in English, v. 35, n. 11, p. 1154-1196, 1996.
- PIGNATARO, M. F., HERRERA, M. G., & DODERO, V. I. Evaluation of peptide/protein self-assembly and aggregation by spectroscopic methods. Molecules, v. 25, n. 20, p. 4854, 2020.
- RAAB, O. About the effect of fluorescent substances on infusoria. Zeitschr Biol, v. 39, p. 524-546, 1900.
- RÁPÓ, E., & TONK, S. Factors affecting synthetic dye adsorption; desorption studies: a review of results from the last five years (2017–2021). Molecules, v. 26, n. 17, p. 5419, 2021.
- SHEPPARD, S. E. III.—The optical and sensitising properties of the iso cyanine dyes. Journal of the Chemical Society, Transactions, v. 95, p. 15-19, 1909.
- SHEN, C. A., BIALAS, D., HECHT, M., STEPANENKO, V., SUGIYASU, K., & WÜRTNER, F. Polymorphism in Squaraine Dye Aggregates by Self-Assembly Pathway Differentiation: Panchromatic Tubular Dye Nanorods versus J-Aggregate Nanosheets. Angewandte Chemie, v. 133, n. 21, p. 12056-12065, 2021.

SILVERMAN JR, S., MIGLIORATI, C., & BARBOSA, J. Toluidine blue staining in the detection of oral precancerous and malignant lesions. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology*, v. 57, n. 4, p. 379-382, 1984.

SIBILIA, J. P. B. *Técnicas de Caracterização de Materiais*. Editora Edgard Blücher, 1996.

SLAVNOVA, T. D., CHIBISOV, A. K., & GÖRNER, H. Photoprocesses of thiocarbocyanine monomers, dimers, and aggregates bound to polyanions. *The Journal of Physical Chemistry A*, v. 106, n. 46, p. 10985-10990, 2002.

SPANGE, S., WEIß, N., & MAYERHÖFER, T. G. The Global Polarity of Alcoholic Solvents and Water—Importance of the Collectively Acting Factors Density, Refractive Index and Hydrogen Bonding Forces. *ChemistryOpen*, 11(10), e202200140, 2022.

SRIDHARAN, G., & SHANKAR, A. A. Toluidine blue: A review of its chemistry and clinical utility. *Journal of oral and maxillofacial pathology: JOMFP*, v. 16, n. 2, p. 251, 2012.

TAMIJI, Z., YAZDANIPOUR, A., & NIAZI, A. Spectrophotometric and thermodynamic study on the dimerization equilibrium of neutral red in the water and micelle environments by chemometrics methods. *Int J Exp Spectroscopic Tech*, 3, 015, 2018.

THOMPSON, R. C. High resolution laser spectroscopy of atomic systems. *Reports on Progress in Physics*, v. 48, n. 4, p. 531, 1985.

TRUMAN, J. W., & BATE, M. Spatial and temporal patterns of neurogenesis in the central nervous system of *Drosophila melanogaster*. *Developmental biology*, v. 125, n.1, p. 145-157, 1988.

VALLEAU, S., ASPURU-GUZI, A., EISFELD, A., & SAIKIN, S. Photonics meets excitonics: Natural and artificial molecular aggregates, 2013.

WAGNER, O., THOTA, B. N., SCHADE, B., NEUMANN, F., CUELLAR, J. L., BÖTTCHER, C., & HAAG, R. Perfluoroalkylated linear polyglycerols and their supramolecular assemblies in aqueous solution. *Polymer Chemistry*, v. 7, n. 12, p. 2222-2229, 2016.

WANG, H. et al. Systematically exploring molecular aggregation and its impact on surface tension and viscosity in high concentration solutions. *Molecules*, v. 25, n. 7, p. 1588, 2020.

WHITESIDES, G. M., MATHIAS, J. P., & SETO, C. T. Molecular self-assembly and nanochemistry: a chemical strategy for the synthesis of nanostructures. *Science*, v. 254, n. 5036, p. 1312-1319, 1991.

WIENCH, R. et al. Influence of incubation time on ortho-toluidine blue mediated antimicrobial photodynamic therapy directed against selected *Candida* strains—An in vitro study. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 22, n. 20, p. 10971, 2021.

WÜRTHNER, F. Dipole–dipole interaction driven self-assembly of merocyanine dyes: from dimers to nanoscale objects and supramolecular materials. *Accounts of chemical research*, v. 49, n. 5, p. 868-876, 2016.

WÜRTHNER, F., KAISER, T. E., & SAHA-MÖLLER, C. R. J-aggregates: from serendipitous discovery to supramolecular engineering of functional dye materials. *Angewandte Chemie International Edition*, v. 50, n. 15, p. 3376-3410, 2011.

YAO, S., BEGINN, U., GRESS, T., LYSETSKA, M., & WÜRTHNER, F. Supramolecular polymerization and gel formation of bis (merocyanine) dyes driven by dipolar aggregation. *Journal of the American Chemical Society*, v. 126, n. 26, p. 8336-8348, 2004.

YAZDANI, O., IRANDOUST, M., GHASEMI, J. B., & HOOSHMAND, S. Thermodynamic study of the dimerization equilibrium of methylene blue, methylene green and thiazole orange at various surfactant concentrations and different ionic strengths and in mixed solvents by spectral titration and chemometric analysis. *Dyes and Pigments*, v. 92, \n. 3, p. 1031-1041, 2012.

YUZHAKOV, V. I. Aggregation of dye molecules and its influence on the spectral luminescent properties of solutions. *Russian Chemical Reviews*, v. 61, n. 6, p. 613, 1992.

ZHANG, C., YANG, W., & LU, Y. Multivalent Peptide–Polymer Conjugates for Antibacterial Targeting and Imaging of Bacteria. *ACS Macro Letters*, v. 7, n. 5, p. 620-625, 2018.

ZHU, B., GU, J., YU, C., XIAO, Z., CHEN, Y., & ZHAO, D. High-Resolution Laser Spectroscopic Survey of the $H3\Sigma_u$ — $X3\Sigma_g$ —Electronic Transition of Si_2 . *The Journal of Physical Chemistry A*, p. 124, n. 15, p. 2972-2981, 2020.

ZHU, Y., ZHOU, S., XU, W., LIU, L., LU, H., & YANG, W. Effects of postoperative radiotherapy on vascularized nerve graft for facial nerve repair in a rabbit model. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, v. 77, n. 11, p. 2339-2346, 2019.

ANEXO A – Data Sheet do Azul de Orto-Toluidina

SIGMA-ALDRICH®

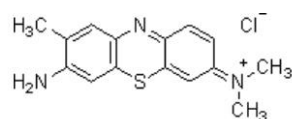
sigma-aldrich.com

3050 Spruce Street, Saint Louis, MO 63103, USA

Website: www.sigmaaldrich.comEmail USA: techserv@sial.comOutside USA: eurtechserv@sial.com**Product Specification**

Product Name:
Toluidine Blue O – Technical grade

Product Number: **T3260**
 CAS Number: 92-31-9
 MDL: MFCD00011934
 Formula: C₁₅H₁₆ClN₃S
 Formula Weight: 305.83 g/mol

**TEST****Specification**

Appearance (Form)

Infrared spectrum

Solubility (Color)

c = 4mg/4ml; Water

Carbon

Nitrogen

Dye Content

Approximately 85%

Specification: PRD.0.ZQ5.10000038410

Powder

Conforms to Structure

Dark Blue to Very Dark Blue and Dark

Purple to Very Dark Purple and Blue-Purple

47.1 - 61.9 %

11.0 - 14.4 %

Sigma-Aldrich warrants, that at the time of the quality release or subsequent retest date this product conformed to the information contained in this publication. The current Specification sheet may be available at Sigma-Aldrich.com. For further inquiries, please contact Technical Service. Purchaser must determine the suitability of the product for its particular use. See reverse side of invoice or packing slip for additional terms and conditions of sale.

ANEXO B – Data Sheet do Fotodetector SGD

SGD Series

www.DataSheet4U.com

Features

- Planar Diffused Structure
- Oxide Passivated
- Guard Ring Construction
- Wide Spectral Range
- Wide Dynamic Range
- Low Noise
- Large Area
- Fast Rise Time
- High Responsivity

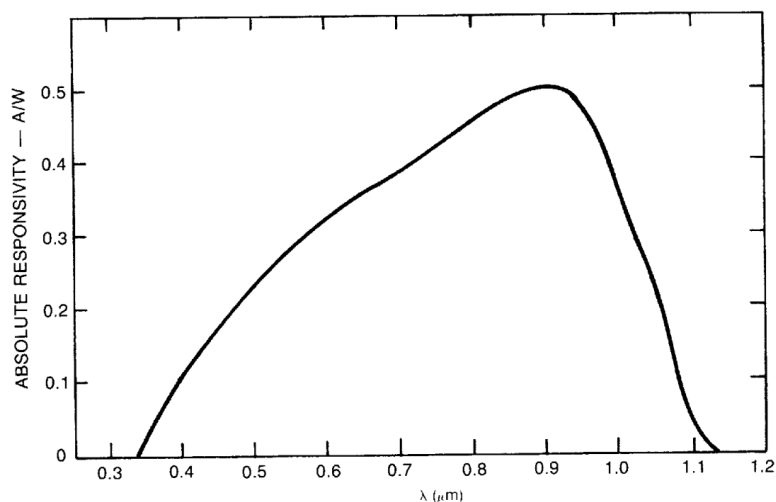
Operating Data and Specifications at 23°C: Typical Performance at 100 V Bias

Characteristic	SGD-040 A,B and L	SGD-100A	SGD-200	SGD-444	Units
Active Area	0.81	5.1	20.0	100	Sq. mm
Spectral Range	400-1150				nm
Responsivity	>0.5	>0.5	>0.5	>0.5	A/W
Bandwidth	26	45	45	45	MHz into 50 ohms
Rise Time	3	5	8	10	nS into 50 ohms
Operating Voltage	0-180	0-180	0-180	0-180	V
Breakdown Voltage ¹	>200	>200	>200	>200	V
Capacitance	1.2	4.0	14	70	pF
Dark Current	<3	<10	<100	<200	nA
Channel Resistance	>25	>3.0	>1.5	>1.0	Megohms
Series Resistance	5000	300	200	50	ohms
Noise Current	4	9	20	30	10 ⁻¹⁴ A/Hz ^{1/2}
NEP (900,10 MHz,1)	8	18	40	60	10 ⁻¹⁴ W/Hz ^{1/2}
Response Linearity	<1%				Over 7 decades
Operating Temperature	-55 to +125				°C
Package Style	TO-18 or TO-5 ²	TO-5	TO-8	TO-36	

Notes

- Breakdown voltage measured at 100 microamps dark current
- SGD-040A TO-5
SGD-040L Lensed TO-5
SGD-040B TO-18

Typical Spectral Response



Responsivity/Temperature Coefficient-SGD Series at 90 Volts

Wavelength	Temperature Coefficient
Nanometers	%/°C
400	-0.14
450	-0.06
500	-0.003
550	-0.002
600	-0.001
650	0
700	0
750	+0.003
800	+0.010
850	+0.015
900	+0.03
950	+0.06
1000	+0.30
1060	+1.01