

SISTEMA FLUORSENSOR PARA DETECÇÃO DE FLUORESCÊNCIA EM ALVOS NATURAIS

MARCOS TADEU TAVARES PACHECO

CESAR CELESTE GHIZONI

INSTITUTO DE PESQUISAS ESPACIAIS

CONSELHO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO CIENTÍFICO E TECNOLÓGICO

SÃO JOSÉ DOS CAMPOS - SP - BRASIL

RESUMO

O fenômeno de fluorescência pode ser observado em uma grande variedade de materiais, especialmente naqueles de origem orgânica. A emissão de radiação no visível (luminescência) se processa de maneira diferente para diferentes materiais, servindo como meio de identificação dos mesmos. Vários são os parâmetros característicos de cada substância, que são obtidos mediante um estudo da radiação excitada e detectada.

1. LUMINESCÊNCIA EM MATERIAIS ORGÂNICOS

O fenômeno de luminescência em materiais ocorre quando uma molécula do material em observação absorve um fóton e subsequemente emite outro com energia menor que a do fóton absorvido. A luz emitida, é conhecida como radiação da fluorescência ou fosforescência, dependendo do processo envolvido para a emissão do fóton. O comprimento de onda ótimo para que haja absorção de luz pela molécula e os comprimentos de ondas das emissões posteriores, são determinados basicamente pela estrutura da molécula; embora os parâmetros externos, tais como temperatura, pressão e concentração, também contribuam, sua maior influência é na intensidade da luminescência. Temos então que a unicidade do espectro de fluorescência ou fosforescência para uma dada estrutura molecular pode ser usado para a identificação da substância, assim como a intensidade da radiação pode ser utilizada para medir pequenas concentrações, pois na região de luminescência a intensidade é proporcional a concentração, se os outros parâmetros externos são mantidos constantes [1].

Lasers com emissão no ultravioleta e no visível são os dispositivos utilizados como fontes de radiação, para ativamente induzir luminescência nos materiais orgânicos de interêsse. Estas fontes de radiação podem tanto ser pulsadas como trabalhar em regime contínuo, existe uma tendência para os lasers pulsados devido as vantagens que apresentam. Um dos grandes problemas que se tem no sensoreamento remoto, quando se tenta identificar parâmetros, é que, além da grande distância que afeta o nível do sinal, tem-se também a radiação espalhada que contribue para estabelecer ambiguidades nas medidas, interferindo ou mesmo modificando-as. Um sistema pulsado apresenta como primeira vantagem a de eliminar a interferência ambiental indesejável na medida, assim como se pode obter altas potências de pico com fontes de alimentação relativamente modestas.

A luminescência apresenta as seguintes características para diagnóstico da substância: a) tempo de emissão; b) polarização da emissão; e c) espectro de emissão.

Especial importância deve-se dar ao comportamento da emissão no domínio do tempo. Após a luminescência ter início, o sistema apresenta um tempo de relaxação característico, que pode se estender desde picossegundos até milhares de segundos, dependendo do processo envolvido nesta relaxação.

Outra característica da emissão é a polarização. Embora não tenha até agora apresentado um valor prático na especificação da luminescência, existem ocasiões que apresentam importância, por exemplo, para macromoléculas onde seu movimento é influenciado por seu tamanho e sua forma, o tempo de relaxação pode ser determinado pelo seu grau de polarização, como função do tempo, e daí pode-se tirar informações sobre o tamanho e forma das moléculas envolvidas no processo de absorção e emissão de luz.

O espectro de fluorescência, juntamente com o tempo de emissão são os parâmetros mais importantes nas características de emissão dos materiais. O comportamento de algumas substâncias quando dissolvidas em água, é único. O espectro de fluorescência da clorofila na água apresenta um forte pico no vermelho (680 nm), enquanto que o óleo fluoresce na faixa do azul-esverdeado (520 nm) [2]. Além da informação espectral tem-se, adicionalmente, a intensidade de radiação que é proporcional à concentração da substância.

Existem certos materiais cuja intensidade de radiação depende fortemente, também da temperatura, assim como encontra-se outros que praticamente permanecem insensíveis às variações de temperatura. Tome-se a Rodamina B, que quando excitada em 540 nm apresenta uma eficiência quântica de 90%. Esta substância apresenta uma intensidade de radiação que depende bastante de temperatura (Figura 1), por outro lado a Eosina Y, que tem uma eficiência quântica de 32% em 540nm, é praticamente insensível às variações de temperatura (Figura 1), servindo como uma excelente referência [2].

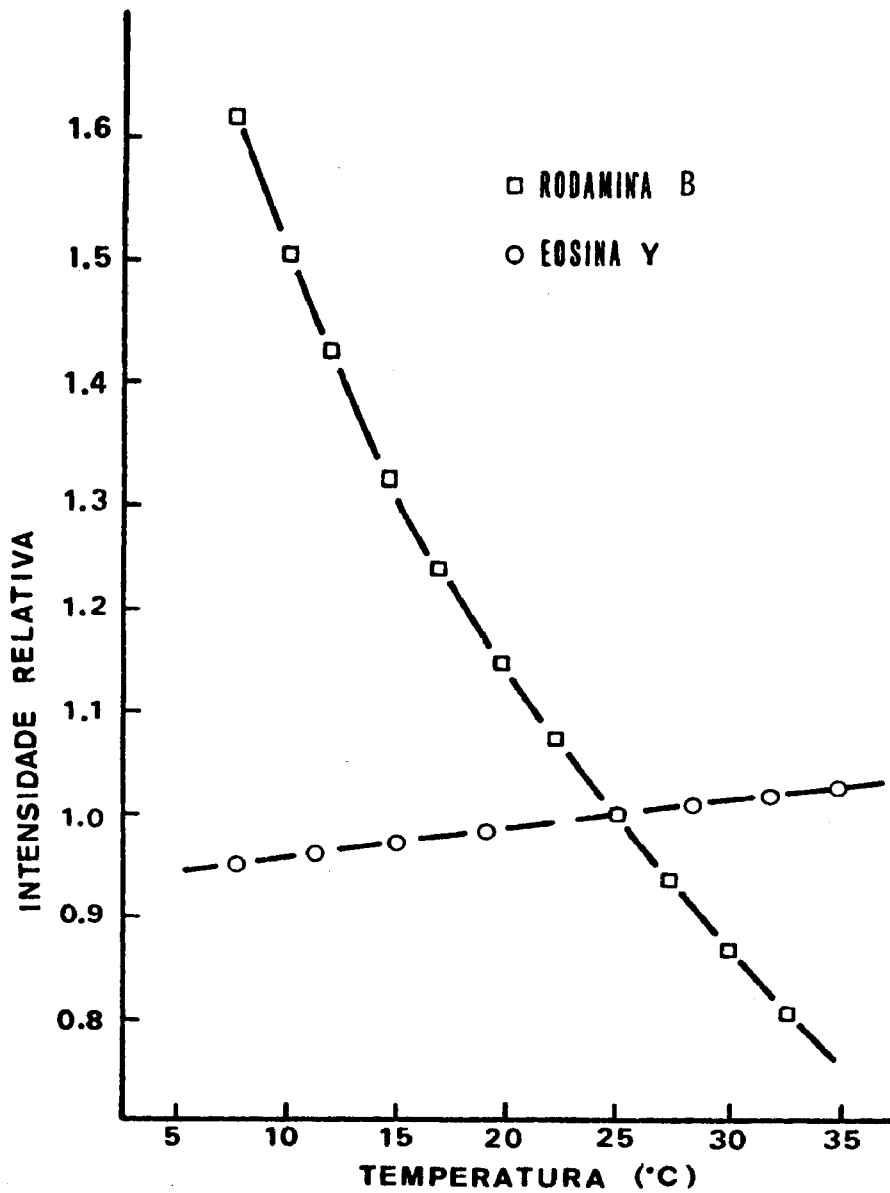


Fig. 1 - Dependência da intensidade de fluorescência com a temperatura.

Medindo-se, então, o pico de emissão dos dois corantes ao mesmo tempo, tem-se com uma boa precisão a temperatura do meio. Para uma medida com 2% de desvio, temos um erro de $0,5^{\circ}$ na avaliação da temperatura.

A eficiência quântica tende a crescer com o aumento da energia do feixe incidente, mas isto deve ser tomado com certo cuidado.

do, pois assume-se que a característica de absorção de material independe da frequência.

2. FLUORESCÊNCIA E FOSFORESCÊNCIA

Luminescência é a emissão da energia previamente absorvida por átomos e moléculas. Como do ponto de vista prático do sensoramento remoto a grande maioria dos materiais estão no estado molecular, limitar-se-ã, aqui, ao estudo das moléculas.

No diagrama da Figura 2, os estados singlet e Triplet (S e T) representam níveis eletrônicos (cada nível eletrônico tem diversos níveis rotacionais e vibracionais). Sômente os níveis vibracionais estão representados aqui.

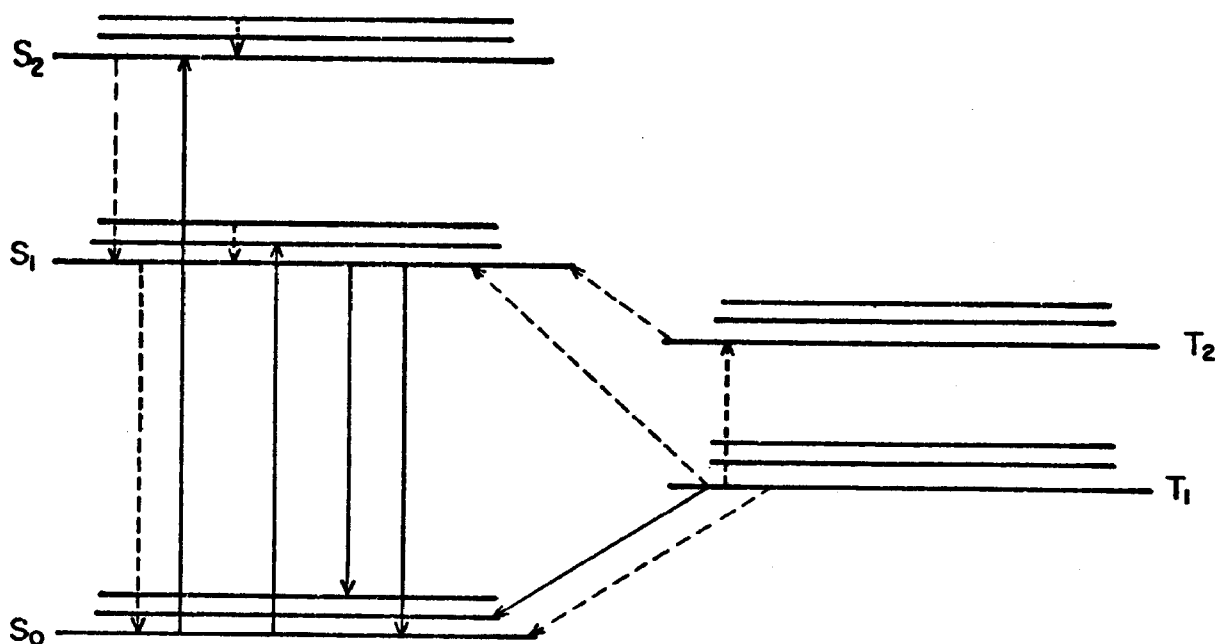


Fig. 2 - Representação das Transições possíveis em um sistema molecular.

A absorção de um fóton indica a excitação de um elétron do nível zero (S_0), para um nível eletrônico superior. O tempo de excitação do elétron de um nível fundamental (S_0), para um nível excitado

(S_1) é da ordem de 10^{-15} segundos. O elétron pode voltar ao estado fundamental através de um processo de desexcitação, mediante colisão com as moléculas próximas, perdendo rapidamente sua energia extra em um tempo da ordem de picossegundos, decaindo não radiativamente (linha pontilhada no diagrama da Figura 2). Estas transições não radiativas rápidas entre estados de uma mesma multiplicidade ($S_0 \leftarrow S_1$, $S_1 \leftarrow S_2$, $T_1 \leftarrow T_2$) são denominadas conversões internas ou relaxação eletrônica. Se, entre tanto uma molécula, devido a um mecanismo de competição, permanece no estado excitado por tempos longos (nanossegundo ou mais), uma fluorescência pode ocorrer, que é quando se tem uma transição radiativa entre níveis de mesma multiplicidade.

Um importante mecanismo ocorre quando se tem uma desexcitação molecular não radiativa de um nível singlet para um nível triplet. O elétron no triplet T_1 tem uma energia de estado excitado, podendo permanecer neste estado por períodos longos, vários segundos ou mais. Este estado é chamado então de metaestável ou de armadilha. O elétron neste estado tem várias maneiras de cair para o estado fundamental (S_0), mas o longo tempo que levará estabelece a distinção entre a fluorescência e a fosforescência.

Para um decaimento ao nível zero ($T_1 \rightarrow S_0$), a molécula pode tanto emitir radiação ou perder seu excesso de energia como calor, no caso de emitir radiação denominamos de fosforescência tipo beta. Pode ocorrer também uma transição indireta para o nível fundamental.



Com ativação térmica ou ótica, o elétron sai do estado T_1 para o estado S_1 , no qual efetua a transição $S_1 \rightarrow S_0$. Denomina-se a esta transição radiativa de fosforescência tipo alfa. Tem-se então, que as diferenças entre os dois processos são basicamente:

- a) Tempo de relaxação algumas ordens de grandeza maior no caso da fosforescência;

b) Comprimento de onda da emissão são maiores para a fosforescência.

O processo de fluorescência pode, então, ser definido como a emissão produzida em uma transição entre estados de mesma multiplicidade, e é muito rápida. Fosforescência é a emissão produzida por transições entre estados de diferentes multiplicidade e é muito lenta em relação a fluorescência.

3. TEMPO DE RELAXAÇÃO

Deve-se definir dois tipos de tempo de relaxação: primeiramente o tempo de um estado excitado de uma molécula, que é o tempo que a molécula leva para emitir a energia extra que recebeu pela absorção de um fóton, mediante a emissão de luz.

Além do tempo de vida, deve-se definir outro tempo de relaxação, aquele que realmente será medido, levando em conta todos os fatores externos à substância, que é o tempo de decaimento, definido como o intervalo de tempo no qual a intensidade da luminescência cai para $1/e$ (e é a base dos logaritmos naturais) de seu valor máximo.

Seja T o tempo de decaimento medido pelo instrumental, este tempo é composto de diversos fatores: $T = 1/K$

$$K = K_e + K_i + K_t(c),$$

onde: K_e : constante para o nível de energia da molécula

K_i : constante que leva em conta as conversões internas

$K_t(c)$: constante de transmissão de energia para uma molécula, da uma concentração c .

Logo, pela definição vista acima, temos que o tempo da vida é uma característica unicamente da molécula e é definido como:

$$T = 1/K_e,$$

onde se assume ser a emissão radiativa o único processo pelo qual a energia de excitação foi reemitida.

Um ponto importante é que frequentemente a curva de decaimento da fluorescência, com o tempo, não pode ser expressa por uma simples exponencial. Podemos definir, entretanto, o tempo de decaimento como sendo o tempo T_m , que é dado por:

$$T_m = \frac{\int t \cdot f(t) dt}{\int f(t) dt},$$

onde $f(t)$ é a função de decaimento da fluorescência relativa no tempo, após o início do pulso; é fácil verificar que T_m será igual a α^{-1} , se a função de decaimento puder ser expressa como uma exponencial $\exp(-\alpha t)$. Algumas vezes é usada a definição inicial do tempo de decaimento, mesmo quando a curva de decaimento não apresenta uma característica exponencial.

4. MEDIDAS

Foram realizadas Testes de fluorescência com diversos tipos de óleos no laboratório do Grupo de Sensores no INPE. Os óleos não apresentaram grandes variações no comportamento espectral, observando-se, então, que sua identificação poderia ser feita através do levantamento de características temporais. Na figura 3 tem-se o espectro de um dos materiais usados. Teve-se uma forte emissão em 480 nm, com uma largura de faixa de 100 nm; embora os espectros das diferentes amostras não apresentassem variações de posições ou de largura de faixa, observou-se diversos picos dentro da região de emissão. O número e a posição dos picos é uma característica de amostra. Tem-se também o comportamento espectral de outro composto orgânico molecular (Figura 4), o corante Rodamina 6G, que excitado pelo laser de nitrogênio apresenta emissão em 580 nm.

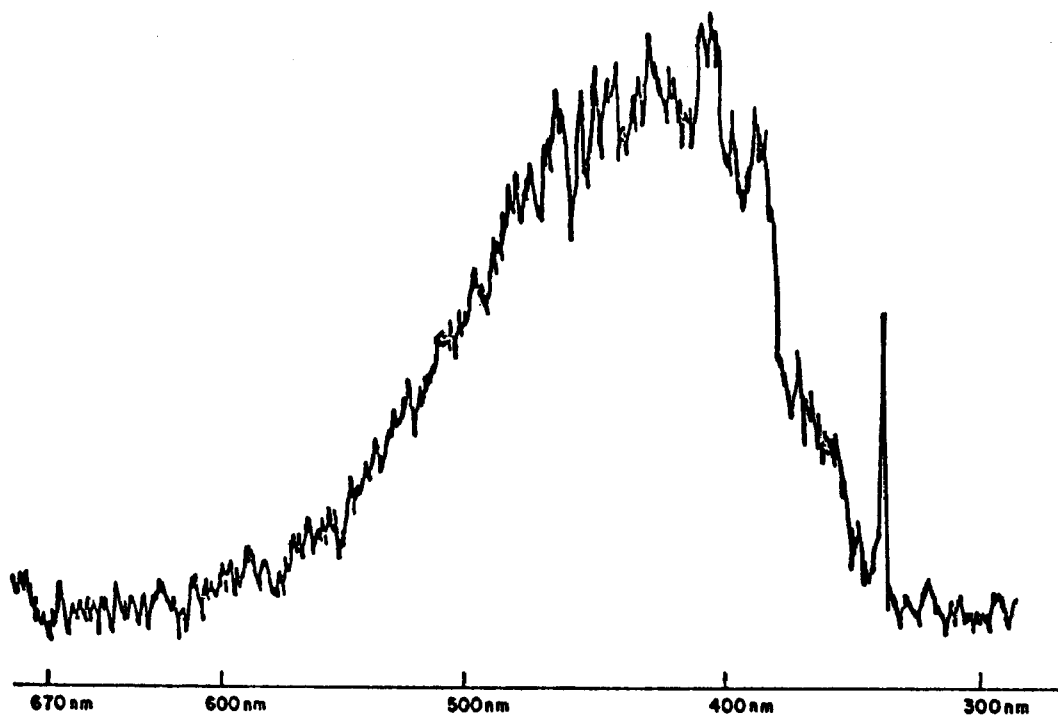


Fig. 3 - Espectro de emissão de uma amostra de óleo excitada com laser de nitrogênio

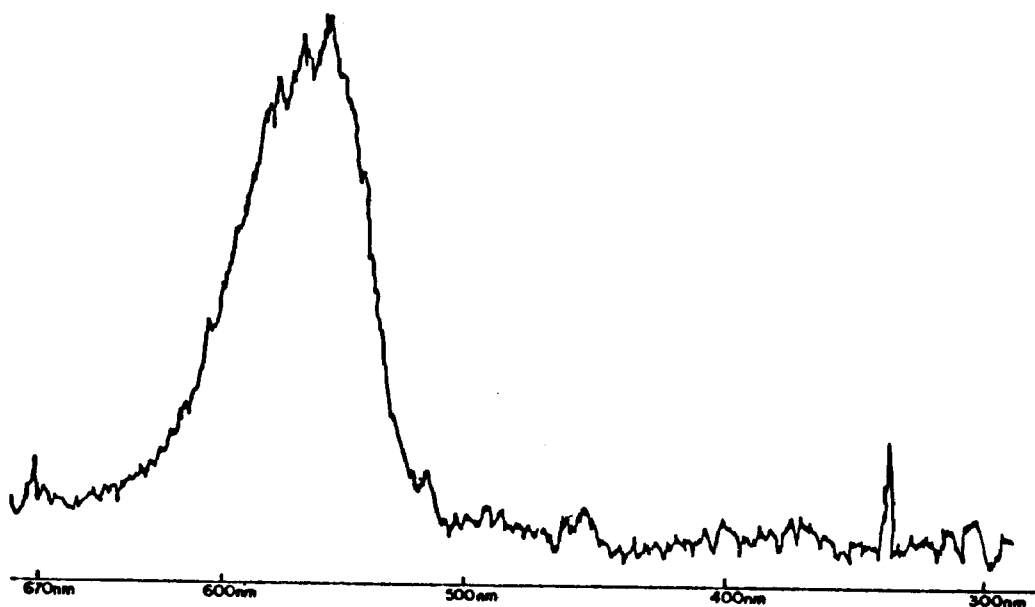


Fig. 4 - Espectro de emissão do corante Rodamina 6G excitado por um laser de nitrogênio

As camadas de óleo que foram testadas tinham uma espessura de, aproximadamente, 1 cm e toda a radiação incidente foi absorvida completamente, não se detectando transmissão de energia. Os diversos óleos estudados apresentaram variação na eficiência de irradiação.

O esquema da montagem é o indicado na Figura 5. Utilizou-se como detector de referência, para o BOXCAR, um diodo PIN com amplificador rápido, e o monocromador utilizado foi o MONOSPEK 1000, com uma abertura de Slit de entrada igual a de saída de 200 μm . O laser utilizado apresentou uma potência de pico de 50 kW, com uma frequência de repetição de 10 pulsos por segundo, o tempo de emissão total do laser é de aproximadamente 30 ns; na Figura 6 tem-se um esquema da geometria de dispersão do feixe nos planos horizontal e vertical. O laser foi inteiramente desenvolvido nos laboratórios do INPE, assim como sua montagem.

O amparato para se obter o tempo de decaimento é basicamente o mesmo, tendo como única mudança a abertura de slit para um valor que não obstrua parte do espectro emitido e a utilização do BOXCAR em scan-time.

No BOXCAR, para o levantamento da resposta temporal, foi utilizada uma cabeça amostradora S-5, com uma impedância de 50 $\text{M}\Omega$ e uma capacitância de 15 pF; o tempo de resposta desta cabeça é da ordem de 10 ps. A divergência do laser é de $0,41^\circ$ no plano horizontal e de $0,05^\circ$ no plano vertical.

5. CONCLUSÃO

Apesar dos diferentes óleos utilizados, foi observado um padrão comum no grupo dos óleos: um pico no azul (480 nm) foi apresentado por todas as amostras. Este pico é relativamente intenso, podendo ser utilizado com grande vantagem em aplicações de sensoriamento remoto, onde a simples discriminação óleo-água ou óleo-plantas é tida como objetivo.

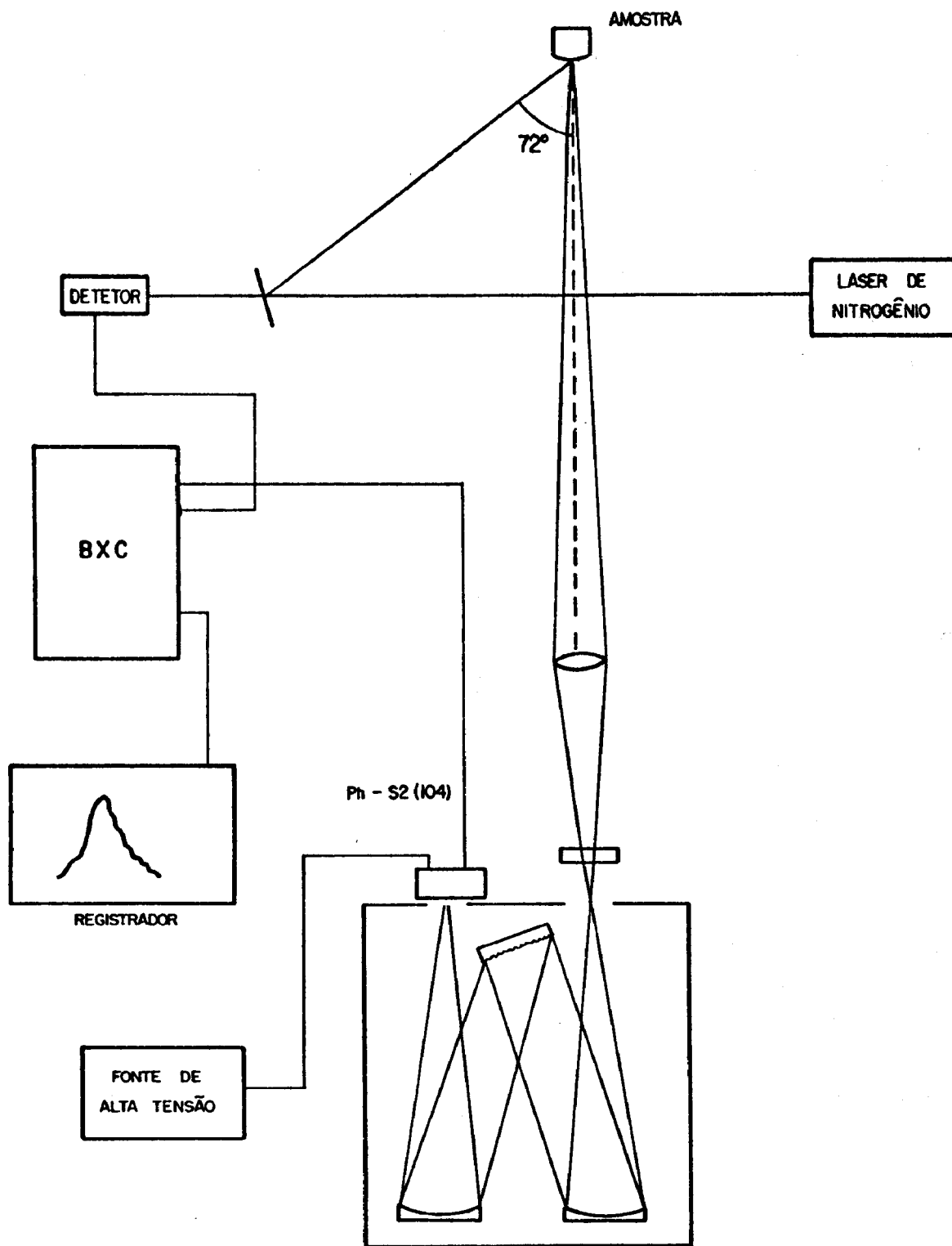


Fig. 5 - Esquema da montagem para obtenção do espectro de Fluorescência

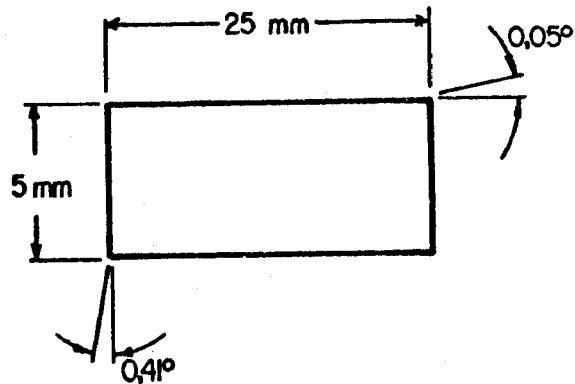


Fig. 6 - Geometria do feixe laser

Além do espectro de fluorescência, pode-se obter o espectro de excitação do material, quando se observa a intensidade de emissão em função da variação de energia do feixe incidente. Os dados do espectro de excitação apresentam diversos pontos de máximo, com bandas de frequência relativamente estreitas e de intensidades variáveis. Como o espectro de excitação geralmente tende a exibir simetria especular com as características de absorção do material, e apresenta mais picos de especificações do que o espectro de emissão, tem-se então várias possibilidades para se obter especificações simples, duplas ou múltiplas, dependendo da aplicação.

A precisão do diagnóstico depende da aplicação que se têm em mente, por exemplo, se o objetivo do sensoriamento remoto é a simples discriminação do óleo da água, ou uma classificação do material em alguma categoria (refinado, cru, etc.), ou ainda uma identificação específica de determinado tipo de óleo ou poluente. É óbvio que, para uma determinação completa de um certo material, precisamos de mais informações do que unicamente seu espectro de emissão. Necessitar-se-á da computação correta dos espectros de excitação, largura de faixa, eficiência quântica, tempo de relaxação, característica de polarização e outras informações importantes, tais como os espectros de reflexão e absorção [1]. Com estes dados ter-se-á em mãos uma maneira de identificação precisa de materiais através de plataformas remotas.

BIBLIOGRAFIA

- [1] GROSS, H.F. Luminescence signatures induced by lasers with enhanced specificity for remote active sensing. In: Shahrokhi, F. ed. *Remote sensing of earth resources*. Tullahoma, Ten, University of Tennessee, c 1972. v.1 p.738-767.
- [2] FANTASIA, J.F.; HARD, T.H. and INGRAD, H.C. "An investigation of oil fluorescence as a technique for the remote sensing of oil spills", Final report, U.S. Department of transportation, transportation systems center, 7, june 1971, passim.