

UNIVERSIDADE ANHEMBI MORUMBI

FERNANDO TORRES COIMBRA DE SÁ BALBINA

**FENÔMENO DE MODULAÇÃO TERMO-ÓPTICA NO CORANTE AZUL DE METILENO
UTILIZADO EM TERAPIA FOTODINÂMICA**

TESE DE DOUTORADO

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

São José dos Campos, Agosto/2023

UNIVERSIDADE ANHEMBI MORUMBI

FERNANDO TORRES COIMBRA DE SÁ BALBINA

**FENÔMENO DE MODULAÇÃO TERMO-ÓPTICA NO CORANTE AZUL DE METILENO
UTILIZADO EM TERAPIA FOTODINÂMICA**

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, Agosto/2023

UNIVERSIDADE ANHEMBI MORUMBI

FERNANDO TORRES COIMBRA DE SÁ BALBINA

**FENÔMENO DE MODULAÇÃO TERMO-ÓPTICA NO CORANTE AZUL DE METILENO
UTILIZADO EM TERAPIA FOTODINÂMICA**

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)

Prof. Dr. Antonio Guillermo Jose Balbin Villaverde

Centro de Inovação, Tecnologia e Educação (CITÉ)

Prof. Dr. Álvaro José Damião

Instituto Tecnológico de Aeronáutica (ITA)

Prof. Dr. Carlos José de Lima

Universidade Anhembi Morumbi (UAM)

Prof. Dr. Leandro Procópio Alves

Universidade Anhembi Morumbi (UAM)

São José dos Campos, Agosto/2023

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

FERNANDO TORRES COIMBRA DE SÁ BALBINA

Doutorando em Engenharia Biomédica pela Universidade Anhembi Morumbi, Mestre em Modelagem Computacional pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Graduado em Engenharia Mecânica pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

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

B145f Balbina, Fernando Torres Coimbra de Sá
Fenômeno de modulação termo-óptica no corante azul de metileno utilizado em terapia fotodinâmica / Fernando Torres Coimbra de Sá Balbina – 2023.
113f.: 30 cm.

Orientador: Egbert Munin.
Tese (Doutorado em Engenharia Biomédica) - Universidade Anhembi Morumbi, São José dos Campos, 2023.
Bibliografia: f. 99-105.

1. Engenharia Biomédica. 2. Auto-agregação. 3. Efeito termo-óptico. 4. Dimerização. 5. PDT. I. Título.

CDD 610.28

*Este trabalho é dedicado à Jaqueline Torres, José Carlos Balbina,
Maria Laura Belizário, Fernando Moraes e Egberto Munin,
que tornaram esse sonho possível.*

Agradecimentos

Aos meus queridos pais, José Carlos Balbina e Jaqueline Torres, a quem devo tudo que sou e conquistei. Impossível colocar em palavras como sou abençoado em tê-los em minha vida; ainda mais agradecer tamanha dedicação e amor ao longo de tantos anos. Sou o que vocês me possibilitaram ser, através do vosso sacrifício. Seguirei, sempre, agradecido e honrado de representá-los como filho nessa vida. Amo vocês com todo coração;

À minha companheira, Maria Laura Belizário, por escolher trilhar cada dia ao meu lado, compartilhar alegrias e vitórias, assim como tristezas e derrotas. Por ser meu símbolo de otimismo e positividade, me motivando diariamente a ser melhor. Por aceitar dividir o barco e remar ao meu lado. Seu sorriso sempre será minha inspiração. Te amo;

À minha avó, Sônia Torres, sempre a me apoiar, fazendo-me acreditar que eu sou seu neto predileto.

Ao amigo, Prof. Dr. Egberto Munin, por ser mais que um orientador. Aprendi com você muito mais que óptica, eletrônica e biofotônica. Sou grato e honrado pelo tempo que compartilhamos juntos;

Ao amigo Fernando Habib Moraes, por provar que, nessa vida, as vezes, um irmão não tem o mesmo sangue e nem vem dos mesmos pais. Agradeço a Deus pela nossa amizade;

Ao amigo Prof. Dr. Osmar Pinto Neto, por me receber em sua vida como a um irmão. Foram momentos e ensinamentos que sempre levarei comigo;

Ao amigo Prof. Dr. Carlos Lima, por provar que um momento para uma simples xícara de chá pode te ajudar a esquecer alguns problemas, mas também encontrar a solução para outros. Nossas risadas sempre serão lembradas, assim como suas dicas e conselhos, de tamanha inteligência;

À amiga Prof. Dra. Adriana Moretti, minha maior surpresa nessa jornada. Me arrependo de não ter me aproximado de você anteriormente, pois sua luz, não só me curou, como me fez desejar ter trabalhado e estado mais ao seu lado;

Aos amigos Prof. Dr. Leandro Alves, Prof. Dr. Landulfo Silveira Jr. e Prof. Dr. Renato Zângaro, por serem verdadeiros modelos acadêmicos. Obrigado pelos ensinamentos e momentos valiosos;

À amiga Prof. Dra. Lívia Melo, simplesmente por me aguentar esses anos todos propondo a busca pela solução para o extermínio total das aranhas e, ainda sim, ter paciência para me explicar cientificamente que se trata de uma ideia louca. Você sempre será meu modelo de paciência, calma e carinho;

Aos amigos Maycon Carvalho, Daiane Carvalho, Tamara Moraes, Letícia Santos, Leandro

Azevedo, Tatiana Heinzemann, Maria Verônica Pires, Pedro Marrafa, Hulair Braga, Ana Carolina Brisola e Rodrigo Pedreiro, companheiros diários de luta. Por dividir motivações, anseios e caronas. Amigos, seja no café ou na cerveja, na pesquisa ou no churrasco. Foi especial dividir essa experiência com vocês;

Aos amigos Aline e Thiago Vasconcelos, por ensinamentos que transcendem à ciência;

Ao amigo Prof. Dr. José Ernesto De Araujo Filho, pela coragem e sensatez em me falar palavras difíceis de ouvir, mas necessárias. Sua sensibilidade é gigantesca, proporcional à sua inteligência;

À amiga Nídia Macedo, por me ajudar com incontáveis soluções administrativas, sempre sorrindo e serena;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudos concedida.

*Somos o que repetidamente fazemos.
A excelência, portanto, não é um feito, mas um hábito.
Aristóteles*

Resumo

Nos últimos anos, os corantes orgânicos têm sido alvo de um grande interesse de pesquisa devido à sua ampla gama de aplicações. Uma variedade de moléculas orgânicas apresenta auto-agregação, um fenômeno que altera as propriedades fotoquímicas e fotofísicas dos corantes. O equilíbrio químico em solução dos agregados moleculares é afetado por diversos fatores. Dentre eles pode-se citar a concentração do soluto e a temperatura. Em uma solução de corante que possui uma concentração definida, a conversão do monômero em dímero leva à diminuição da intensidade do pico de absorção do monômero, enquanto a intensidade do pico de absorção do dímero aumenta. Por outro lado, caso a dissociação do dímero seja induzida, ocorre um aumento na intensidade do pico de absorção do monômero, acompanhado de uma redução no pico de absorção do dímero. O corante fenotiazínico azul de metileno é amplamente utilizado na Terapia Fotodinâmica como fotossensibilizante, com ação antifúngica e antibactericida, devido à sua baixa toxicidade em humanos e permeabilidade em células sanguíneas. Destacam-se sua alta absorção entre 630 – 680 nm, que leva à produção de oxigênio singlete e, sua capacidade de auto agregação. Nesse contexto, o estudo utilizou feixes de laser com comprimentos de onda de 663 nm e 532 nm para modular termicamente os estados de agregação do corante azul de metileno dissolvido em água, levando à descoberta de um novo fenômeno de avalanche em nível molecular. Toda a instrumentação de fotodeteção e modulação laser foi desenvolvida especificamente para a análise em questão. O conjunto driver de modulação e atuador eletromagnético elaborado alcançou velocidades de modulação (na desobstrução de um feixe laser) próximas a 90 μ s, superando dispositivos comerciais. Foram observados comportamentos ópticos ainda não relatados, quando o corante azul de metileno dissolvido em água foi submetido à deposição de calor por fonte laser, resultando em um intervalo temporal de alta taxa de conversão dímero-monômero. No comprimento de onda de excitação 532 nm, o calor absorvido leva à desagregação, e conseqüente diminuição da banda dimérica, com aumento da transmissão óptica da amostra. Já no comprimento de onda de excitação 663 nm, a desagregação induzida aumenta a quantidade do espécime monomérico, tornando a amostra opticamente mais absorvedora. Os dados experimentais obtidos revelaram respostas ópticas assimétricas de corantes agregados sob excitação a laser com comprimentos de onda nas bandas de absorção do monômero e do dímero. A análise das relações entre a potência de saída e a potência de entrada na conversão dímero-monômero, induzida por fonte laser, com excitação nas bandas dimérica e monomérica, revelam uma região de favorecimento do efeito termo-óptico obtido. Esses comportamentos ópticos resultantes da modulação a laser dos estados de agregação molecular podem encontrar aplicações no campo da terapia fotodinâmica, como também, no campo da eletrônica orgânica e dispositivos, como portas lógicas ópticas.

Palavras-chave: Engenharia Biomédica; Auto-agregação; Efeito termo-óptico; Dimerização; PDT.

Abstract

THERMO-OPTICAL MODULATION PHENOMENON IN METHYLENE BLUE DYE USED IN PHOTODYNAMIC THERAPY

In recent years, organic dyes have been the subject of great research interest due to their wide range of applications. Various organic molecules exhibit self-aggregation, a phenomenon that alters the photochemical and photophysical properties of dyes. The chemical equilibrium in the solution of molecular aggregates is affected by several factors, including solute concentration and temperature. In a dye solution that has a defined concentration, the conversion of monomers into dimers leads to a decrease in the intensity of the monomer absorption peak, while the intensity of the shifted dimer absorption peak increases. On the other hand, if dimer dissociation is induced, there is an increase in the intensity of the monomer absorption peak accompanied by a reduction in the dimer absorption peak. Methylene blue, a phenothiazine dye, is widely used in Photodynamic Therapy as a photosensitizer with antifungal and antibacterial action due to its low toxicity in humans and permeability in blood cells. Its high absorption between 630 – 680 nm leads to singlet oxygen production and exhibits self-aggregation ability. In this context, the study used laser beams with wavelengths of 663 nm and 532 nm to thermally modulate the aggregation states of methylene blue dye dissolved in water, leading to the discovery of a new avalanche phenomenon at the molecular level. All the photodetection and laser modulation instrumentation was specifically developed for the analysis at hand. The developed modulation driver set and electromagnetic actuator achieved modulation speeds (in laser beam unblocking) close to 90 μ s, surpassing commercial devices. Previously unreported optical behaviors were observed when methylene blue dye dissolved in water was subjected to heat deposition by a laser source, resulting in a high conversion rate of dimer to monomer. At the excitation wavelength of 532 nm, the absorbed heat leads to disaggregation and a consequent decrease in the dimeric band, increasing the optical transmission of the sample. On the other hand, at the excitation wavelength of 663 nm, the induced disaggregation increases the number of monomeric species, making the sample more optically absorptive. The experimental data revealed asymmetric optical responses of aggregated dyes under laser excitation with wavelengths in the monomer and dimer absorption bands. The analysis of the relationships between output power and input power in the dimer-to-monomer conversion induced by a laser source, with excitation in the dimeric and monomeric bands, reveals a region where the thermo-optical effect is favored. These optical behaviors resulting from laser modulation of molecular aggregation states can find applications in the field of photodynamic therapy as well as in the field of organic electronics and devices, such as optical logic gates.

Keywords: Biomedical Engineering; Self-aggregation; Thermo-optic effect; Dimerization; PDT.

Lista de ilustrações

Figura 1 – Formações Diméricas.	35
Figura 2 – Deslocamento das bandas de absorção dos dímeros do tipo J e H.	36
Figura 3 – Configuração eletrônica dos dímeros do tipo J e H.	36
Figura 4 – Processo de excitação de uma molécula representado por um diagrama de energia de dois níveis.	37
Figura 5 – Estrutura molecular do corante orgânico azul de metileno.	38
Figura 6 – Representação molecular esquemática do agregado tipo H (A) e do tipo J (B) do azul de metileno.	38
Figura 7 – Reações fotoquímicas do corante azul de metileno induzidas pela absorção da luz.	39
Figura 8 – Frasco de azul de metileno em pó, M9140-25G Sigma-Aldrich.	42
Figura 9 – Fotodetector EG&G (a) UV-444A e (b) SGD-444 , em suas embalagens originais.	48
Figura 10 – Gerador de sinais FY2300 12 MHz/12 bits (Feeltech, China), a esquerda; Osciloscópio digital de 100 MHz, modelo TBS1102B (Tektronix, USA), a direita.	49
Figura 11 – Diodo laser vermelho, 663 nm e 100 mW, de fabricação chinesa.	50
Figura 12 – Laser de estado sólido bombeado por diodo MGL-III, 532 nm e 150 mW, de fabricação chinesa.	50
Figura 13 – Elementos utilizados nos diferentes caminhos ópticos: (a) porta amostra finalizado com espaçador metálico 1 mm, (b) janela incolor, (c) espaçador plástico 280 μm , (d) espaçador metálico 2,2 mm, (e) espaçador plástico 160 μm e (f) espaçador plástico 80 μm	53
Figura 14 – Configuração de bancada implementada para o teste de excitação laser na banda dimérica.	56
Figura 15 – Configuração de bancada implementada para o teste de excitação laser na banda monomérica.	57
Figura 16 – Configuração de bancada implementada para o ensaio de potência de saída em função da potência de entrada na excitação laser da banda dimérica.	58
Figura 17 – Configuração de bancada implementada para o ensaio de potência de saída em função da potência de entrada na excitação laser da banda monomérica.	59
Figura 18 – Comparação entre espectro experimental e obtido através do modelo matemático, para as mesmas condições de temperatura e concentração.	61
Figura 19 – Espectros de absorbância teóricos obtidos a partir do modelo matemático proposto, para concentração 3×10^{-4} M.	62
Figura 20 – Tempo de resposta de subida do sinal (Rise Time) do fotodetector SGD-444, para as resistências 500 Ω , 1 k Ω , 10 k Ω	63

Figura 21 – Tempo de resposta de subida do sinal (Rise Time) do fotodetector UV-444A, para as resistências 500 Ω , 1 k Ω , 10 k Ω	64
Figura 22 – Tempo de resposta de descida do sinal (Fall Time) do fotodetector SGD-444, para as resistências 500 Ω , 1 k Ω , 10 k Ω	64
Figura 23 – Tempo de resposta de descida do sinal (Fall Time) do fotodetector UV-444A., para as resistências 500 Ω , 1 k Ω , 10 k Ω	65
Figura 24 – Relé Automotivo DNI0102: a) em sua embalagem original e, após ser desencapsulado; b) após modificações.	66
Figura 25 – Elemento atuador contendo o relé automotivo DNI0102 fixado a base de operação.	66
Figura 26 – Esquema do circuito elétrico aplicado ao equipamento Driver modulador.	67
Figura 27 – Dinâmica entre as saturações e cortes dos transistores T2 e T4 (2SD1459), a ação do chip IC1 (SN74121) e o sinal proveniente do gerador de ondas.	69
Figura 28 – Equipamento Driver de Modulação, sem a tampa superior, à esquerda; e fechado, à direita.	69
Figura 29 – Tempo de desobstrução do laser pelo conjunto Atuador + Drive de modulação.	70
Figura 30 – Tempo de obstrução do laser pelo conjunto Atuador + Drive de modulação.	70
Figura 31 – Tempo de atraso ("Delay time") e Jitter do conjunto Atuador + Drive de modulação, em função do tempo de operação após o tempo de aquecimento de 5 min (300 s).	71
Figura 32 – Espectros de absorção obtidos com concentração entre $2,08 \times 10^{-3}$ M e $5,21 \times 10^{-4}$ M, para caminhos ópticos 2,2 mm, 280 μm , 160 μm e 80 μm , à temperatura ambiente ($T = 25^\circ\text{C}$).	72
Figura 33 – Espectros de absorção obtidos para concentração entre $1,20 \times 10^{-4}$ M e $2,07 \times 10^{-5}$ M, para caminhos ópticos 5 mm e 10 mm, à temperatura ambiente $T = 25^\circ\text{C}$	73
Figura 34 – Razão entre o valor de absorbância no pico dimérico (≈ 605 nm) e o valor de absorbância no pico monomérico (≈ 665 nm).	74
Figura 35 – Espectros de Absorção obtidos para concentração $2,08 \times 10^{-3}$ M, para os caminhos ópticos 280 μm , 160 μm e 80 μm , à temperatura ambiente ($T = 25^\circ\text{C}$).	75
Figura 36 – Espectros de Absorção obtidos para concentração (C) $1,56 \times 10^{-3}$ M, para os caminhos ópticos 280 μm , 160 μm e 80 μm , à temperatura ambiente ($T = 25^\circ\text{C}$).	76
Figura 37 – Espectros de Absorção obtidos para concentração (C) $1,04 \times 10^{-3}$ M, para os caminhos ópticos 280 μm , 160 μm e 80 μm , à temperatura ambiente ($T = 25^\circ\text{C}$).	76
Figura 38 – Espectros de Absorção obtidos para concentração $6,25 \times 10^{-4}$ M, caminho óptico 1 mm, nas temperaturas T_{quente} e T_{fria}	77
Figura 39 – Comportamento dinâmico para a concentração $2,08 \times 10^{-3}$ M, para os caminhos ópticos 280 μm , 160 μm e 80 μm , à temperatura ambiente ($T = 25^\circ\text{C}$), com excitação na banda dimérica.	78

Figura 40 – Comportamento dinâmico para a concentração $1,56 \times 10^{-3}$ M, para os caminhos ópticos 280 μm , 160 μm e 80 μm , à temperatura ambiente ($T = 25$ °C), com excitação na banda dimérica.	79
Figura 41 – Comportamento dinâmico para a concentração $1,04 \times 10^{-3}$ M, para os caminhos ópticos 280 μm , 160 μm e 80 μm , à temperatura ambiente ($T = 25$ °C), com excitação na banda dimérica.	79
Figura 42 – Comportamento dinâmico para a concentração $6,25 \times 10^{-4}$ M, para os caminhos ópticos 280 μm , 160 μm e 80 μm , à temperatura ambiente ($T = 25$ °C), com excitação na banda dimérica.	80
Figura 43 – Comportamento dinâmico para a concentração $4,69 \times 10^{-4}$ M, para os caminhos ópticos 280 μm , 160 μm e 80 μm , à temperatura ambiente ($T = 25$ °C), com excitação na banda dimérica.	80
Figura 44 – Comportamento dinâmico para a concentração $2,08 \times 10^{-3}$ M, para os caminhos ópticos 280 μm , 160 μm e 80 μm , à temperatura ambiente ($T = 25$ °C), com excitação na banda monomérica.	81
Figura 45 – Comportamento dinâmico para a concentração $1,56 \times 10^{-3}$ M, para os caminhos ópticos 280 μm , 160 μm e 80 μm , à temperatura ambiente ($T = 25$ °C), com excitação na banda monomérica.	81
Figura 46 – Comportamento dinâmico para a concentração $1,04 \times 10^{-3}$ M, para os caminhos ópticos 280 μm , 160 μm e 80 μm , à temperatura ambiente ($T = 25$ °C), com excitação na banda monomérica.	82
Figura 47 – Comportamento dinâmico para a concentração $6,25 \times 10^{-4}$ M, para os caminhos ópticos 280 μm , 160 μm e 80 μm , à temperatura ambiente ($T = 25$ °C), com excitação na banda monomérica.	82
Figura 48 – Comportamento dinâmico para a concentração $4,69 \times 10^{-4}$ M, para os caminhos ópticos 280 μm , 160 μm e 80 μm , à temperatura ambiente ($T = 25$ °C), com excitação na banda monomérica.	83
Figura 49 – Potência de saída em função da potência de entrada para a concentração $2,08 \times 10^{-3}$ M, nos caminhos ópticos 280 μm , 160 μm e 80 μm , à temperatura ambiente ($T = 25$ °C), com excitação na banda dimérica.	84
Figura 50 – Potência de saída em função da potência de entrada para a concentração $1,56 \times 10^{-3}$ M, nos caminhos ópticos 280 μm , 160 μm e 80 μm , à temperatura ambiente ($T = 25$ °C), com excitação na banda dimérica.	85
Figura 51 – Potência de saída em função da potência de entrada para a concentração $1,04 \times 10^{-3}$ M, nos caminhos ópticos 280 μm , 160 μm e 80 μm , à temperatura ambiente ($T = 25$ °C), com excitação na banda dimérica.	85

Figura 52 – Potência de saída em função da potência de entrada para a concentração $6,25 \times 10^{-4}$ M, nos caminhos ópticos 280 μm , 160 μm e 80 μm , à temperatura ambiente ($T = 25\text{ }^\circ\text{C}$), com excitação na banda dimérica.	86
Figura 53 – Potência de saída em função da potência de entrada para a concentração $4,69 \times 10^{-4}$ M, nos caminhos ópticos 280 μm , 160 μm e 80 μm , à temperatura ambiente ($T = 25\text{ }^\circ\text{C}$), com excitação na banda dimérica.	86
Figura 54 – Potência de saída em função da potência de entrada para a concentração $2,08 \times 10^{-3}$ M, nos caminhos ópticos 280 μm , 160 μm e 80 μm , à temperatura ambiente ($T = 25\text{ }^\circ\text{C}$), com excitação na banda monomérica.	87
Figura 55 – Potência de saída em função da potência de entrada para a concentração $1,56 \times 10^{-3}$ M, nos caminhos ópticos 280 μm , 160 μm e 80 μm , à temperatura ambiente ($T = 25\text{ }^\circ\text{C}$), com excitação na banda monomérica.	88
Figura 56 – Potência de saída em função da potência de entrada para a concentração $1,04 \times 10^{-3}$ M, nos caminhos ópticos 280 μm , 160 μm e 80 μm , à temperatura ambiente ($T = 25\text{ }^\circ\text{C}$), com excitação na banda monomérica.	88
Figura 57 – Potência de saída em função da potência de entrada para a concentração $6,25 \times 10^{-4}$ M, nos caminhos ópticos 280 μm , 160 μm e 80 μm , à temperatura ambiente ($T = 25\text{ }^\circ\text{C}$), com excitação na banda monomérica.	89
Figura 58 – Potência de saída em função da potência de entrada para a concentração $4,69 \times 10^{-4}$ M, nos caminhos ópticos 280 μm , 160 μm e 80 μm , à temperatura ambiente ($T = 25\text{ }^\circ\text{C}$), com excitação na banda monomérica.	89
Figura 59 – Carcaça usinada em alumínio para fotodetectores EG&G SGD-444 e UV-444A. .	109
Figura 60 – Fotodetector SGD-444 finalizado, e sua vista posterior.	109
Figura 61 – Esquema de pinos EG&G SGD-444. R = Catodo de Anel de Guarda (Guard Ring Cathode), C = Anodo Comum (Common Anode) e A = Catodo Ativo (Active Cathode).	110
Figura 62 – Esquema de pinos EG&G UV-444A. A = 11,3 mm, B = 27,8 mm, C = 31,8 mm, D = 7,1 mm e E = 12,3 mm,	110
Figura 63 – Esquema do circuito elétrico implementado para o fotodetector EG&G SGD-444. .	111
Figura 64 – Esquema do circuito elétrico implementado para o fotodetector EG&G UV-444A. .	112

Lista de tabelas

Tabela 1 – Combinações de concentração/caminho óptico escolhidas para análise da razão dímero/monômero.	54
Tabela 2 – Valores máximos dos sinais e sinais de escuro obtidos nos testes de tempo de subida e descida para os fotodetetores SGD-444 e UV-444A, com as três variações de resistência.	63
Tabela 3 – Descrição dos componentes no circuito elétrico do Driver de Modulação.	67
Tabela 4 – Valores de absorbâncias nos picos do dímero (605 nm) e monômero (665 nm) obtidos através os espectros de absorção analisados	74
Tabela 5 – Descrição dos componentes utilizados no circuito elétrico implementado para o fotodetector SGD-444.	111
Tabela 6 – Descrição dos componentes utilizados no circuito elétrico implementado para o fotodetector UV-444A.	112

Lista de abreviaturas e siglas

PDT	Terapia fotodinâmica (photodynamic therapy)
ROS	Espécimes reativos do oxigênio (reactive oxygen species)
Transf.	Transformador
TTL	Lógica transistor-transistor (Transistor-Transistor Logic)

Lista de símbolos

A	Ampères
A/W	Ampères por Watt
$A_M^T(\lambda)$	Absorbância do espécime monomérico no comprimento de onda λ , à temperatura T
$A_D^T(\lambda)$	Absorbância do espécime dimérico no comprimento de onda λ , à temperatura T
$A_S^T(\lambda)$	Absorbância da solução no comprimento de onda λ , à temperatura T
A_1^T	Pico de Absorbância do espécime monomérico em sua banda de absorção, à temperatura T
A_2^T	Pico de Absorbância do espécime dimérico em sua banda de absorção, à temperatura T
$A_{shoulder}^T$	Pico de Absorbância da espécie dimérica na curva de absorbância real, à temperatura T
A_{max}^T	Pico de Absorbância do espécime monomérico na curva de absorbância real, à temperatura T ;
A_{iso}^T	Absorbância da solução no comprimento de onda λ , à temperatura T , no ponto isobéstico
cm	Centímetros
C	Concentração solução final
D	Forma dimérica do soluto
f_D^T	Fração molar da espécie dimérica à temperatura T
f_M^T	Fração molar da espécie monomérica à temperatura T
g/Mol	Gramas por mol
g/L	Gramas por litro
H_2O	Fórmula molecular da água

Hz	Hertz
K_D	Constante de Dimerização ou Equilíbrio.
K_D^T	Constante de Dimerização ou Equilíbrio à temperatura T
k Ω	Kiloohms
L	Caminho óptico
L_i	Indutância
M	Molar
M	Forma monomérica do soluto
M	Espécime monomérico do azul de metileno em estado fundamental
1M	Espécime monomérico do azul de metileno em estado excitado singlete
3M	Espécime monomérico do azul de metileno em estado excitado tripleto
$(M)_2$	Espécime dimérico do azul de metileno
$M\bullet$	Radical do espécime monomérico
$M^{+\bullet}$	Radical do espécime monomérico
MHz	Megahertz
mA	Miliampère
mg	Miligramas
mH	Milihenry
ml	Militros
mm	Milímetros
mm ²	Milímetros quadrados
ms	Milisse segundos
mW	Miliwatts
min	Minutos
nm	Nanômetro

O_2	Oxigênio molecular
1O_2	Oxigênio singleto
$O_2^- \bullet$	Radical superóxido do oxigênio
R	Constante dos Gases
R_i	Resistência interna da bobina
s	Segundos
S_0	Estado eletrônico fundamental
*S_1	Estado eletrônico excitado
$^*S''_1$	Estado eletrônico excitado de maior energia
$^*S'_1$	Estado eletrônico excitado de menor energia
T	Temperatura, em Kelvin
V	Voltz
W	Watts
X_L	Reatância indutiva da bobina
ΔH°	Variação da entalpia molar
$\epsilon_S^T(\lambda)$	Coefficiente de Absorvidade Molar ou Coeficiente de Extinção Molar do soluto, à temperatura T
$\epsilon_M^T(\lambda)$	Coefficiente de Absorvidade Molar ou Coeficiente de Extinção Molar do espécime monomérico
$\epsilon_D^T(\lambda)$	Coefficiente de Absorvidade Molar ou Coeficiente de Extinção Molar do espécime dimérico
λ	Comprimento de onda
λ_M^T	Comprimento de onda no qual A_1^T ocorre (centro da banda de absorção do monômero), à temperatura T
ω_M^T	Largura plena à meia altura da banda de absorção do monômero, à temperatura T
λ_D^T	Comprimento de onda no qual A_2^T ocorre (centro da banda de absorção do dímero), à temperatura T

ω_D^T	Largura plena à meia altura da banda de absorção do dímero, à temperatura T
λ_{25}^T	Comprimento de onda no qual $A_S^T = 0,25$ ocorre na curva de absorbância real, à temperatura T
λ_{iso}^T	Comprimento de onda no qual A_{iso}^T ocorre na curva de absorbância real
μF	Microfarads
μL	Microlitros
μm	Micrômetros
μs	Microsegundos
ϕ_f	Fenômeno de fluorescência
ϕ_{nr}	Fenômeno de relaxação não-radiativa
Ω_1	Fenômeno de absorção de luz
Ω	Ohms
$^{\circ}C$	Graus Celcius

Sumário

1	INTRODUÇÃO	29
2	HIPÓTESES E OBJETIVOS	31
2.1	Hipótese	31
2.2	Objetivo Geral	31
2.3	Objetivos Específicos	31
2.4	Justificativa do Estudo	31
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	33
3.1	Terapia fotodinâmica	33
3.2	Agregação Molecular	34
4	MATERIAIS E MÉTODOS	41
4.1	Preparo da Solução Estoque de azul de metileno	41
4.2	Modelo Matemático para o Fenômeno de Agregação Molecular do Azul de Metileno	42
4.3	Aparato de Fotodeteção	47
4.4	Laser e Aparato de Modulação	49
4.5	Análise das Concentrações e do Caminho Óptico	52
4.6	Análise da Influência da Deposição de Calor no Equilíbrio Dímero-monômero	54
4.7	Efeito de Desagregação Molecular Induzido pela Deposição de Calor Utilizando Laser	55
4.8	Relação Potência de Entrada/Potência de Saída no Efeito de Desagregação Molecular Induzido pela Deposição Rápida e Localizada de Calor Utilizando Laser	57
5	RESULTADOS	61
5.1	Espectros de Absorção Obtidos Via Modelo Matemático Proposto	61
5.2	Fotodetectores EG&G SGD-444 e UV-444A	63
5.3	Conjunto Driver de Modulação + Atuador Eletromagnético Para Modulação Óptica	66
5.4	Espectros de Absorção Experimentais: Razão Dímero-Monômero	72
5.5	Conversão Dímero-Monômero Induzida pela Variação de Temperatura da Amostra	77

5.6	Conversão Dímero-Monômero Induzida pela Deposição de Calor por Laser .	78
5.6.1	Excitação na Banda Dimérica	78
5.6.2	Excitação na Banda Monomérica	81
5.7	Potência de Saída em Função da Potência de Entrada na Conversão Dímero-Monômero Induzida por Laser.	84
5.7.1	Excitação na Banda Dimérica	84
5.7.2	Excitação na Banda Monomérica	87
6	DISCUSSÃO	91
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	97
	REFERÊNCIAS	99
	ANEXOS	107
	ANEXO A – FOTODETETORES SGD-444 E UV-444A	109
	ANEXO B – ARTIGO	113

1 Introdução

Uma solução líquida de um corante orgânico susceptível à auto-agregação apresenta as concentrações de monômeros e dímeros em equilíbrio dinâmico. As frações molares de monômero e dímero na solução dependem fortemente da temperatura. Muitos estudos termodinâmicos são publicados na literatura para uma variedade de corantes. Nestes estudos, as amostras são aquecidas em um forno ou em um banho de água aquecido (MORADIAN; GHASEMI; DEZHAMPANAH, 2020; MORADIAN et al., 2020; SABATE; ESTELRICH, 2008; SYAMALA et al., 2019; YAZDANI et al., 2012).

Um dos elementos da evolução humana foi o uso controlado da luz, ferramenta esta que possibilitou e ainda possibilita avanços na ciência e medicina. Por centenas de anos, pesquisadores exploram aspectos biológicos utilizando sistemas baseados em luz (JURGENS; MAYERHOFER; POPP, 2011).

A Terapia Fotodinâmica (PDT) é um método eficaz no tratamento de câncer, bem como de doenças com origem bacteriana, fúngica ou viral. A fotossensibilização ocorre pela interação entre um fotossensibilizador não-tóxico e a luz visível em uma faixa específica de comprimento de onda. Essa interação produz substâncias citotóxicas em presença de oxigênio, resultando em danos oxidativos às células-alvo. O laser é, atualmente, uma das principais fontes de luz utilizadas para ativar os fotossensibilizadores em tratamentos e experimentos de PDT, assim como para investigar as propriedades fotofísicas e fotoquímicas moleculares desses fotossensibilizadores (GUO et al., 2010; MUNIN et al., 2007; SCHMIDT, 2006; SIBATA et al., 2000).

O termo "laser" vem da sigla em inglês para "amplificação de luz por emissão estimulada de radiação". Isso significa que a luz é intensificada através da estimulação de um material, gerando energia luminosa colimada, de forma contínua ou pulsada. Existem diversos tipos de lasers, incluindo lasers de estado sólido, líquidos, a gás e semicondutores. Alguns desses tipos podem ser pulsados por dispositivos intracavidade, enquanto outros requerem dispositivos extracavidade para pulsar o laser, que bloqueiam ou deixam passar a luz periodicamente (LINS et al., 2010; NAZEMISALMAN; FARSADEGHI; SOKHANSANJ, 2015; POWELL, 2006). Tais dispositivos extracavidade são conhecidos como "Shutters" ou "Choppers".

A capacidade de autoagregação é uma propriedade presente em corantes em solução, a qual impacta suas propriedades fotofísicas e, conseqüentemente, influencia todas as aplicações tecnológicas mencionadas anteriormente. A agregação molecular também afeta os processos de adsorção e difusão da molécula em meios biológicos e outros meios (QI et al., 2020). Em vista disso, a agregação é um fenômeno de grande interesse científico. O equilíbrio químico em solução dos agregados moleculares é afetado por diversos fatores. Dentre eles pode-se citar a concentração do soluto, polaridade do solvente

e a temperatura.

Na biomedicina, pode-se destacar a aplicação de corantes orgânicos como marcadores em bioquímica, sondas fluorescentes para quantificação de proteínas (YAN; SCHMIDT; PERKINS, 2015), marcadores fluorescentes para uso em microscopia (PU et al., 2014), e no estudo de estruturas e processos celulares complexos (HA; TINNEFELD, 2012). Também são empregados como fotossensibilizantes para terapia fotodinâmica (GIROLDO et al., 2009; SOUZA et al., 2006; SOUZA et al., 2010) e como meio ativo para lasers (LI et al., 2006). Além das aplicações descritas, compostos carbônicos têm avançado em direção aos dispositivos opto-eletrônicos orgânicos como emissores de luz e sensores (ABDELBAR et al., 2018), portas lógicas moleculares e moduladores ópticos para computação óptica (SPEISER, 2016).

O corante fenotiazínico azul de metileno é amplamente utilizado na Terapia Fotodinâmica como fotossensibilizante, com ação antifúngica e antibactericida, devido à sua baixa toxicidade em humanos e permeabilidade em células sanguíneas (WAINWRIGHT M.; CROSSLEY, 2002). Entre suas características, destacam-se sua alta absorção entre 630 – 680 nm, seu potencial de produzir oxigênio singlete, a partir do contato com o oxigênio molecular e, sua capacidade de auto agregação, que resulta na alteração de suas propriedades foto físicas (BACELLAR, 2014).

Quando uma solução de corante possui uma concentração definida, a conversão do monômero em dímero leva à diminuição da intensidade do pico de absorção do monômero, enquanto a intensidade do pico de absorção deslocado do dímero aumenta. Por outro lado, caso a dissociação do dímero seja induzida, ocorre um aumento na intensidade do pico de absorção do monômero, acompanhado de uma redução no pico de absorção do dímero. Essa mudança nas amplitudes das bandas de absorção óptica do monômero e do dímero é o ponto central da presente investigação.

Sendo assim, este trabalho é motivado pela hipótese de que corantes agregados apresentam respostas ópticas assimétricas quando submetidos à excitação termo-óptica em comprimentos de onda ajustados às bandas de absorção óptica do monômero ou do dímero. Apresenta-se a investigação destas assimetrias, para o corante azul de metileno dissolvido em água, amplamente empregado na Terapia Fotodinâmica, propondo o uso de um laser como fonte de calor para modular as frações molares relativas de dímeros e monômeros, negligenciando os agregados de ordem superior.

2 Hipóteses e Objetivos

2.1 Hipótese

Existe um processo de modulação termo-óptica que ocorre no foto fármaco azul de metileno causado pela excitação laser, desenrolando-se em um curto intervalo temporal de alta taxa de conversão dímero-monômero e consequente variação da capacidade de absorção óptica da amostra.

2.2 Objetivo Geral

O estudo tem como objetivo geral o entendimento, captura e análise do fenômeno de modulação termo-óptica associado à agregação molecular do azul de metileno dissolvido em água.

2.3 Objetivos Específicos

- Desenvolver o projeto mecânico e eletrônico, testar e caracterizar equipamento para atuar na modulação de laser de estado sólido verde utilizado nos experimentos;
- Implementar um teste experimental para captura e análise do efeito de modulação óptica associado à agregação molecular do azul de metileno dissolvido em água, a partir da deposição de calor utilizando laser, nos comprimentos de onda dos picos dos espécimes dimérico e monomérico.

2.4 Justificativa do Estudo

O entendimento do processo de agregação molecular, mais especificamente da dinâmica de conversão dímero-monômero do azul de metileno, tem influência direta nos preceitos que envolvem a Terapia Fotodinâmica (sigla em inglês, PDT), dado que a maior concentração de dímero está associada à menor geração de oxigênio singleto no processo terapêutico.

3 Revisão Bibliográfica

3.1 Terapia fotodinâmica

A luz possui capacidade de interagir com células, tecidos e órgãos biológicos. Essa interação pode ser utilizada para fins diagnósticos e analíticos, permitindo que os profissionais da saúde investiguem o estado da matéria viva. Além disso, ela também pode induzir mudanças nos sistemas vivos, tornando-se útil para fins terapêuticos. O estudo científico da geração, manipulação, transmissão e medição da luz é conhecido como fotônica, enquanto a aplicação dessas tecnologias e princípios à medicina e às ciências da vida é conhecida como biofotônica (AL-AMRI; EL-GOMATI; ZUBAIRY, 2016).

Por volta de 2,5 bilhões de anos, o aumento da concentração de oxigênio na atmosfera terrestre proporcionou a evolução da respiração aeróbica e desenvolvimento de organismos que tem o oxigênio molecular como principal molécula na respiração celular (NISBET; SLEEP, 2001). Entretanto, alguns tipos de derivados do oxigênio são altamente tóxicos para as células (GERSCHMAN et al., 1954). Dentre o conjunto de ROS (espécimes reativos do oxigênio), pode-se destacar o oxigênio singlete 1O_2 (NATHAN; DING, 2010).

Tratamentos de doenças associados ao uso terapêutico da luz podem ser evidenciados em culturas antigas como: egípcia, indiana, chinesa, e grega (SPIKES, 1985). Embora seja conhecida por centenas de anos, a Terapia fotodinâmica se desenvolveu a partir da Segunda Guerra Mundial, dado o crescimento das infecções hospitalares devido às bactérias resistentes aos fármacos, com os estudos realizados no continente europeu, tendo como base a interação da luz com corantes fotossensibilizantes. (ACKROYD et al., 2001). Atualmente, a Terapia fotodinâmica é reconhecida como um dos métodos menos invasivos para o tratamento de câncer (DENNIS et al., 2003), porém, não somente na superfície da pele, também vem sendo utilizado para lesões em órgãos (MOORE et al., 2005; ZULUAGA et al., 2013).

A fotosensibilização é o resultado da interação entre um fotossensibilizante não tóxico e luz visível com comprimento de onda correspondente à absorção do agente fotossensibilizante. Em presença de oxigênio, essa interação produz substâncias citotóxicas que ocasionam danos oxidativos às células-alvo. Essa reação pode ocorrer por dois caminhos distintos, conhecidos como reação do tipo I e reação do tipo II. Na reação do tipo I, a absorção da radiação luminosa leva o fotossensibilizante a um estado excitado, que reage diretamente com o substrato produzindo radicais. Esses radicais, por sua vez, reagem com o oxigênio molecular formando radicais superóxidos O_2^- , altamente citotóxicos. Já na

reação do tipo II, o fotossensibilizante no estado excitado reage com o oxigênio molecular, formando oxigênio singlete 1O_2 . Essa espécie reativa de oxigênio (ROS) é altamente citotóxica, causando danos estruturais e inibição das atividades funcionais das subestruturas celulares, o que resulta na morte da célula (KOCHEVAR; REDMOND, 2000; LAUSTRIAT, 1986; NONELL; FLORS, 2016).

Dentre vários critérios específicos, de forma geral, fotossensibilizantes usados em Terapia fotodinâmica tem que ser solúveis em água, ter alto rendimento quântico de geração de oxigênio singlete 1O_2 e alta absorção na faixa espectral 600 – 800 nm (YANO et al., 2011).

Fotossensibilizantes são moléculas capazes de absorver energia luminosa e transferir esta energia para moléculas adjacentes. Podem ser categorizados por sua estrutura química, sendo os primeiros compostos desenvolvidos a partir da hematoporfirina e seus derivados, nos anos 70. Compostos fotossensíveis de primeira geração apresentavam problemas como fototoxicidade residual e baixa absorção na região vermelha do espectro visível, o que impulsionou o desenvolvimento dos compostos fotossensíveis de segunda geração, no final dos anos 80 (ALLISON et al., 2004).

Embora composto porfirínicos sejam maioria entre os fotossensibilizantes, existem compostos não-porfirínicos que exibem atividade fotodinâmica como, por exemplo, as fenotiazinas e as cianinas (ORMOND; FREEMAN, 2013). As fenotiazinas tem grande absorção na região entre 620 e 660 nm, região de grande importância na Terapia fotodinâmica, pois esta faixa espectral apresenta boa penetração nos tecidos biológicos. Destaca-se neste grupo, o corante azul de metileno (ALVES, 2014).

O corante fenotiazínico azul de metileno é amplamente conhecido e encontra uso em diversas áreas da Terapia fotodinâmica como, por exemplo, lesões orais na área odontológica (AGHAHOSSEINI et al., 2006), mediação na ação antimicrobiana (CECATTO et al., 2020), tratamento de lesões cutâneas (SPERANDIO et al., 2010) e na eliminação de células tumorais (GUNAYDIN; GEDIK; AYAN, 2021; WANG; LUO; BASILION, 2021). Sua versatilidade é fundamentada na capacidade do azul de metileno de permear a membrana celular e sua cor é caracterizada pela alta absorção na região 550 – 700 nm, sendo seu espectro de absorção dependente da concentração, devido à dimerização, ou seja, à formação de dímeros a partir de monômeros que, no azul de metileno, tem picos de absorbância distintos (JUNQUEIRA et al., 2002; TARDIVO et al., 2005).

3.2 Agregação Molecular

A diversidade da matéria, crucial para a vida, e seus diferentes modos de organização, tem intrigado pesquisadores e filósofos ao longo dos anos. A natureza apresenta, tanto na química como na biologia, inúmeros exemplos de estruturas complexas formadas a partir de unidades simples, que se arranjam de forma autônoma por meio de forças intermoleculares fracas (KARSENTI, 2008; PHILP; STODDART, 1996). A mais de um século atrás, pesquisadores como Samuel E. Shepard e Edwin E.

Jelly já discutiam agregação molecular em corantes e sua interação com a concentração/solventes, com base na análise de espectros de absorção (JELLEY, 1936; SHEPPARD, 1909)

A auto-agregação é um fenômeno bem conhecido que ocorre em várias moléculas orgânicas (MENDES et al., 2021; ROTH et al., 2021; SILVA et al., 2022). Essa agregação é causada por forças eletrostáticas, e pode seguir três arranjos básicos: cabeça a cauda (agregados J), empilhamento molecular paralelo (agregados H) ou uma geometria intermediária (agregados oblíquos) (D'ILARIO; MARTINELLI, 2006; FLORENCE; NAOREM, 2014; URRUTIA; ORTIZ, 2013). Quando as moléculas se agregam, elas formam dímeros, trímeros e agregados de ordem superior (BIALAS et al., 2021; FERNANDEZ-PEREZ; MARBAN, 2020; HUFF et al., 2021; WU et al., 2022).

Normalmente, a espécie dimérica é dominante, e os agregados de ordem superior são encontrados em concentrações muito baixas, e por isso são frequentemente negligenciados em estudos. A auto-agregação tem uma consequência importante: ela muda a absorção óptica da molécula agregada em relação à molécula monomérica. Por exemplo, a agregação paralela H leva a uma mudança para o azul (deslocamento para comprimentos de onda mais curtos) na absorção óptica, enquanto a agregação do tipo J leva a uma mudança para o vermelho na absorção óptica (BRICKS et al., 2017; HECHT; WURTHNER, 2020; HESTAND; SPANO, 2017; JI et al., 2021; SPANO, 2010).

A Figura 1 ilustra os dois tipos de agregações diméricas: tipo J e tipo H. Dependendo do estado energético das moléculas que compõem a interação, têm-se estas duas possibilidades geométricas de agregação. Nos agregados do tipo J, as moléculas se unem de forma linear em configuração de menor energia, e nos agregados do tipo H, formam uma geometria do tipo sanduíche, em uma configuração de maior energia.

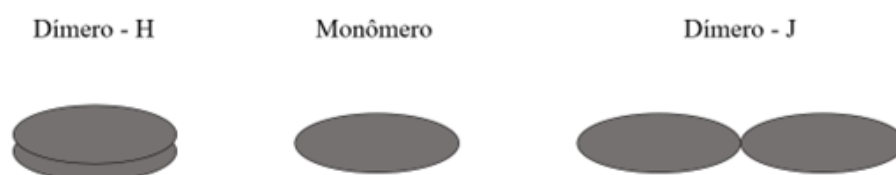


Figura 1 – Formações Diméricas.

Fonte: De autoria própria, 2023.

A Figura 2 mostra o deslocamento das bandas dos dímeros do tipo J e H, do ponto de vista espectroscópico. O deslocamento observado pode ser explicado pela ativação ou desativação dos níveis eletrônicos. Esses níveis são ativados ou desativados com base no momento dipolar de transição durante a formação do agregado. Se o momento dipolar for diferente de zero, o nível será ativado, mas se for igual a zero, será desativado. Por exemplo, no caso de formações do tipo H, o estado eletrônico de maior energia, $^*S_1''$, é ativado, enquanto o estado $^*S_1'$ é desativado. Para formações do tipo J, o estado $^*S_1'$ é ativado enquanto $^*S_1''$ é desativado. Os agregados diméricos gerados com as formações do tipo

H não exibem fluorescência, já que o processo de desativação física ocorre por meio de conversão interna (não radiativa), resultante da desativação do estado $*S'_1$. Em contrapartida, as formações do tipo J possuem alta fluorescência. Quando ambas as formações coexistem em uma solução, é gerado um espectro de absorção com uma banda deslocada para o azul e outra para o vermelho (HEYNE, 2016).

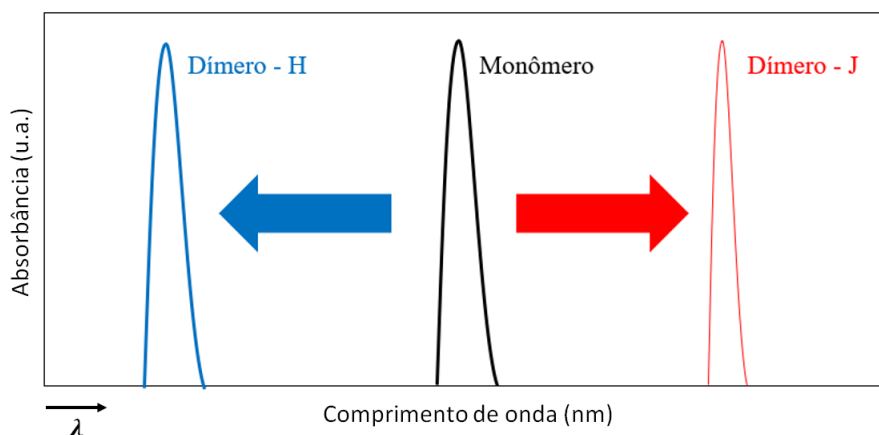


Figura 2 – Deslocamento das bandas de absorção dos dímeros do tipo J e H.

Fonte: De autoria própria, 2023.

A Figura 3 apresenta um esquema da configuração eletrônica dos dímeros J e H.

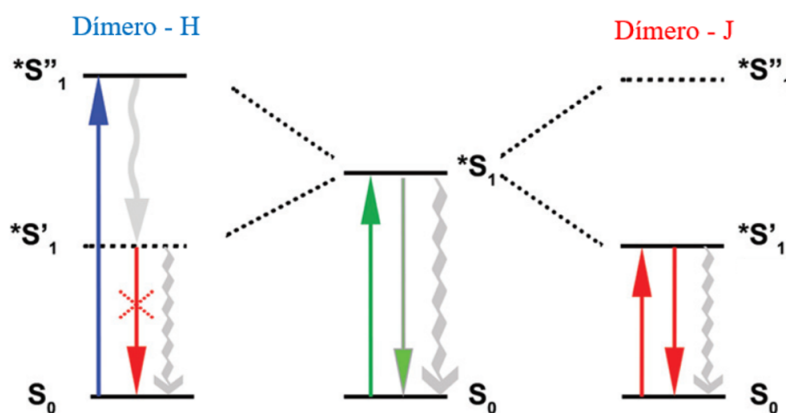


Figura 3 – Configuração eletrônica dos dímeros do tipo J e H.

Fonte: De autoria própria, 2023.

As propriedades fotofísicas de um corante são fortemente influenciadas pela agregação molecular, que proporciona um meio eficiente para transferência de energia via excitação eletrônica. A Figura 4 ilustra o processo de excitação gerado pela absorção de energia luminosa, por uma molécula de corante. A energia luminosa é absorvida pela molécula (seta azul), que passa do estado fundamental para um estado excitado, tanto eletrônico, como vibracional. A vibração molecular, induzida pela energia absorvida, é equilibrada pela interação com o ambiente (seta laranja). A molécula retorna ao estado fundamental por meio da emissão (seta vermelha) ou não (seta verde) de um fóton. Já no estado

fundamental, o restante da energia vibracional também é equilibrada via relaxação dada a interação com o ambiente (SAIKIN et al., 2013).

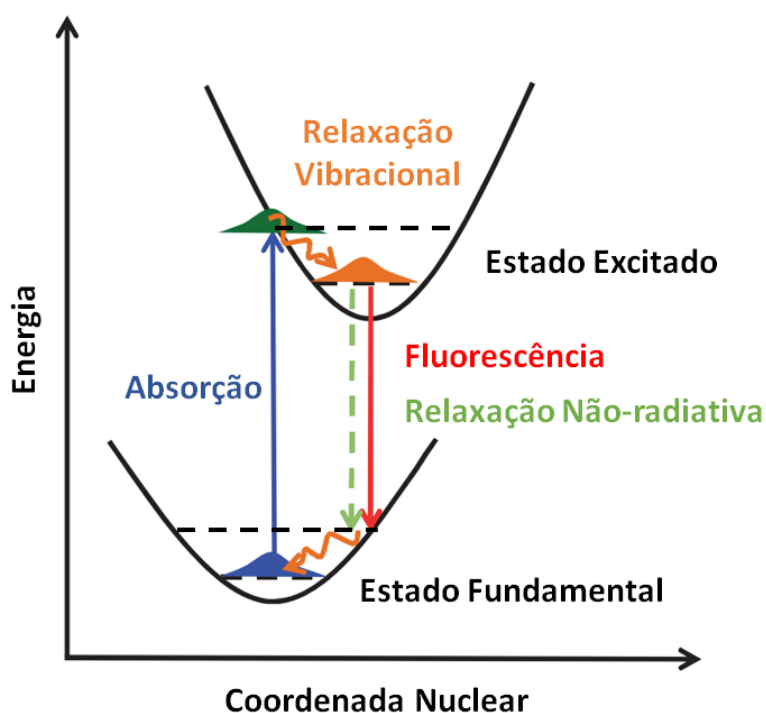


Figura 4 – Processo de excitação de uma molécula representado por um diagrama de energia de dois níveis.

Fonte: Adaptado de Saikin et al. (2013).

O equilíbrio químico dos agregados moleculares em solução é afetado por diversos fatores, como a concentração do soluto, a polaridade do solvente e a temperatura. Temperaturas baixas promovem a agregação, enquanto altas temperaturas propiciam a desagregação. Quando dissolvidos em água, corantes tem maior agregação quando sua concentração é aumentada em relação a este solvente (COATES, 1969).

Nos corantes fenotiazínicos, como o azul de metileno, a agregação na forma de dímeros do tipo H resulta na formação de uma banda de absorção deslocada para o azul, em relação à banda de monômeros. Assim, para estes corantes, uma medida da intensidade do fenômeno de agregação para uma dada solução pode ser obtida pela razão entre a absorbância no pico do dímero e a absorbância no pico no monômero. Os corantes fenotiazínicos caracterizam-se por apresentar uma estrutura tricíclica contendo, respectivamente, um átomo de enxofre e nitrogênio (SANTIN, 2014).

A Figura 5 ilustra a estrutura molecular do corante fenotiazínico azul de metileno.

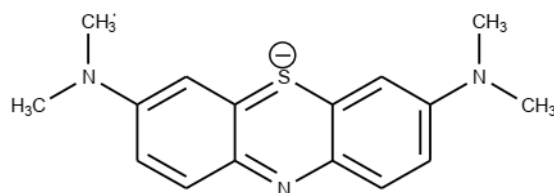


Figura 5 – Estrutura molecular do corante orgânico azul de metileno.

Fonte: Adaptado de Santin (2014).

A Figura 6 exibe a representação molecular esquemática do agregado tipo H (A) e do tipo J (B) do azul de metileno.

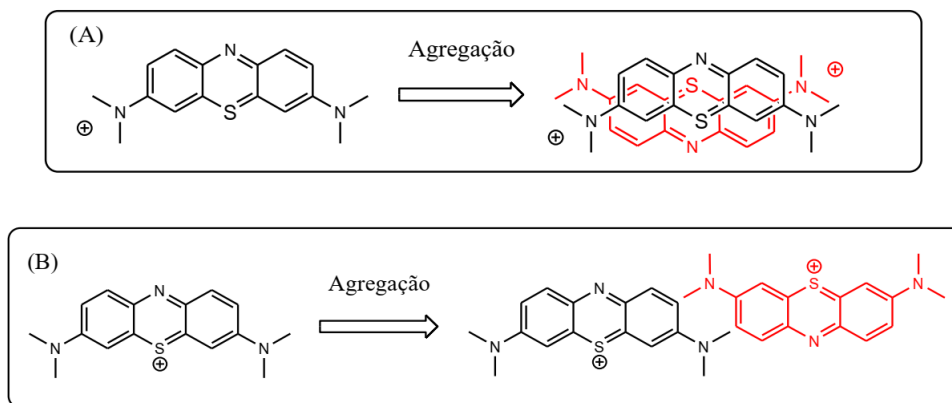


Figura 6 – Representação molecular esquemática do agregado tipo H (A) e do tipo J (B) do azul de metileno.

Fonte: Adaptado de Santin (2014).

O espectro do corante orgânico azul de metileno é amplamente estudado e, quanto à dimerização, seu equilíbrio pode ser expresso pela relação $\text{Monômero} + \text{Monômero} \xrightleftharpoons{K_D} \text{Dímero}$, onde K_D representa a constante de dimerização (TAFULO; QUEIROS; GONZALEZ-AGUILAR, 2009). Acredita-se que as moléculas de corante são unidas por meio de pontes de hidrogênio, forças de Van der Waals e outras forças de curto alcance (GILES; DU, 1973). Entretanto, em soluções aquosas, as interações hidrofóbicas são reconhecidas como a força relevante, que possibilitam o sistema a se livrar de estados termodinamicamente desfavoráveis. Assim, as características estruturais da água parecem desempenhar o papel de catalisador na indução de agregação (PATIL; PAWAR; TALAP, 2000).

A Figura 7 ilustra as reações fotoquímicas do corante azul de metileno.

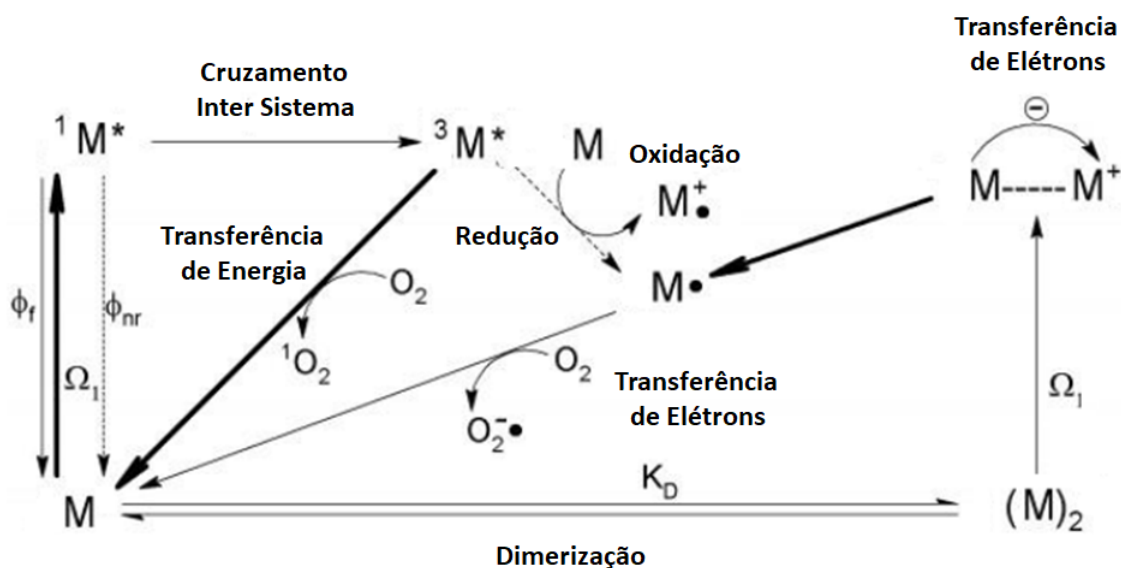


Figura 7 – Reações fotoquímicas do corante azul de metileno induzidas pela absorção da luz.

Fonte: Adaptado de Collina (2016).

Os símbolos M , 1M , 3M e $(M)_2$ representam, respectivamente, o espécime monomérico do azul de metileno em estado fundamental, em estado excitado singlete, tripleto e o espécime dimérico do azul de metileno. M^\bullet e $M^{+\bullet}$ são radicais do espécime monomérico. O_2 , 1O_2 e $O_2^{\bullet-}$ correspondem ao oxigênio molecular, oxigênio singlete e radical superóxido do oxigênio. ϕ_f , ϕ_{nr} e Ω_1 descrevem os fenômenos de fluorescência, relaxação não-radiativa, e absorção de luz.

O rendimento quântico de produção de oxigênio singlete é uma das alternativas para a avaliação e otimização de sistemas que empregam fotossensibilizantes (LUTKUS; RICKENBACH; MCCORMICK, 2019; USHUI, 1973). Portanto, devido a já bem fundamentada relação entre a quantidade de dímeros em solução do corante azul de metileno e o rendimento quântico de produção de oxigênio singlete, torna-se de grande importância, para a Terapia fotodinâmica, o estudo dos mecanismos que norteiam a agregação molecular desse corante.

4 Materiais e Métodos

Para a pesquisa dedutiva quantitativa realizada, a metodologia utilizada nesse trabalho teve como base três pilares principais: O aperfeiçoamento e aplicação do conhecimento teórico adquirido, por meio da criação de um modelo matemático que possibilitou um ambiente de testes de variáveis como concentração, caminho óptico e comprimento de onda do laser de deposição de calor, e a relação destes com a dinâmica dímero/monômero; medidas experimentais de espectros de absorvância em determinadas concentrações de azul de metileno dissolvido em água, para exemplificação e solidificação da base teórica necessária á fundamentação das escolhas realizadas; confecção do aparato experimental, que inclui desde porta-amostras, fotodetetores, dispositivos de suporte, até a configuração da bancada, para prover a capacidade técnica necessária à obtenção e captura do efeito desejado; e por fim, a concepção do protocolo final de testes que mitigasse, da melhor forma possível, interferências mecânicas ou elétricas que, porventura, afetassem os experimentos e, enquanto favorecessem a confirmação da hipótese de um novo fenômeno físico associado à agregação molecular do foto fármaco azul de metileno dissolvido em água, devido a deposição de calor via laser.

4.1 Preparo da Solução Estoque de azul de metileno

De amplo uso em diversas áreas da química e medicina, o foto fármaco azul de metileno foi escolhido por sua alta solubilidade em água, baixo custo, fácil acesso e característica do seu espectro de absorção, tendo dois picos característicos representantes dos dois espécimes predominantes: dímero, próximo a 605 nm e monômero, por volta de 665 nm.

A Figura 8 mostra o corante azul de metileno M9140-25G (Methylene blue - certified by the Biological Stain Commission), adquirido em pó, proveniente da empresa Sigma-Aldrich, com massa molar 319,85 g/Mol, solubilidade (H_2O) 4 mg/4 ml e fórmula $C_{16}H_{18}ClN_3S \cdot xH_2O$ (SIGMA-ALDRICH, 2022).

Afim de produzir uma solução estoque 1 g/L ($\approx 3,13 \times 10^{-3}$ M) de azul de metileno dissolvido em água, 100 mg de pó Methylene blue (Sigma-Aldrich, EUA), aferidos em balança Shimadzu BL320H (Shimadzu, Japão), foram adicionados à 100 ml de água destilada (TechBio, Brasil).

A solução estoque foi então agitada por 10 min utilizando equipamento agitador magnético/plataforma de aquecimento Thermolyne Cimarec 2 (Barnstead International) e conservada estante em refrigerador. Esta foi utilizada como base para todas as diluições posteriores nas concentrações desejadas.

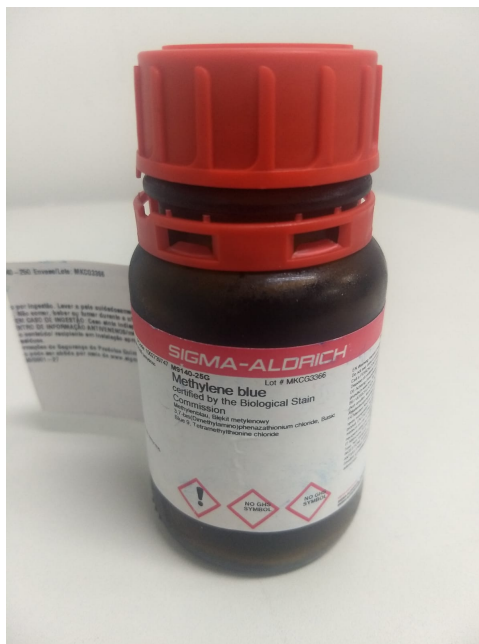


Figura 8 – Frasco de azul de metileno em pó, M9140-25G Sigma-Aldrich.

Fonte: De autoria própria, 2022.

4.2 Modelo Matemático para o Fenômeno de Agregação Molecular do Azul de Metileno

Partindo da base teórica e visando solidificar o conhecimento do fenômeno de agregação molecular do corante azul de metileno dissolvido em água, foi desenvolvido um modelo matemático capaz de simular a interação dímero-monômero pela aproximação resultante do somatório de duas curvas gaussianas (uma para cada espécime), a partir de dados reais, possibilitando, assim, um olhar sobre as possibilidades de modulação óptica deste corante, devido a variação de temperatura.

Considerando uma solução líquida contendo um pigmento orgânico suscetível à agregação própria, onde as concentrações de monômeros e dímeros se encontram em equilíbrio dinâmico, e a presença de agregados de ordem superior é negligenciada:



onde

- $M \rightarrow$ Forma monomérica do soluto;
- $D \rightarrow$ Forma dimérica do soluto;
- $K_D^T \rightarrow$ Constante de Dimerização ou Equilíbrio à temperatura T , em Kelvin.

O equilíbrio termodinâmico é descrito pela Equação de Vant's Hoff:

$$\frac{d[K_D^T]}{d[1/T]} = -\frac{\Delta H^\circ}{R} \quad (4.2)$$

onde

- $\Delta H^\circ \rightarrow$ Variação da entalpia molar;
- $R \rightarrow$ Constante dos Gases;
- $T \rightarrow$ Temperatura T , em Kelvin.

A Constante de Dimerização ou Equilíbrio à temperatura T é dada por:

$$K_D^T = \frac{[D]}{[M]^2} \quad (4.3)$$

onde

- $[M] \rightarrow$ Concentração da forma monomérica;
- $[D] \rightarrow$ Concentração da forma dimérica.

É relacionada com as frações molares pela equação:

$$K_D^T = \frac{f_D^T}{2[C]_0 f_M^T{}^2} \quad (4.4)$$

onde

- $f_D^T \rightarrow$ Fração molar da espécie dimérica à temperatura T ;
- $f_M^T \rightarrow$ Fração molar da espécie monomérica à temperatura T ;
- $[C]_0 \rightarrow$ Concentração estequiométrica do soluto.

As frações molares diméricas e monoméricas tem a forma:

$$f_M^T = \frac{[M]}{[C]_0} \quad (4.5)$$

$$f_D^T = \frac{2[D]}{[C]_0} \quad (4.6)$$

A soma das molaridades dos espécimes satisfaz:

$$[M] + 2[D] = [C]_0 \quad (4.7)$$

A soma das frações molares dos espécimes satisfaz:

$$f_M^T + f_D^T = 1 \quad (4.8)$$

Pela combinação das eqs. (4.4) e (4.8), temos:

$$f_D^T = \frac{2}{\sqrt{1 + 8K_D[C]_0} + 1} \quad (4.9)$$

$$f_M^T = \frac{\sqrt{1 + 8K_D[C]_0} - 1}{\sqrt{1 + 8K_D[C]_0} + 1} \quad (4.10)$$

Conforme a Lei de Beer-Lambert, dada a dependência da temperatura, a Absorbância A , para uma solução com único espécime, é calculada por:

$$A_S^T(\lambda) = \varepsilon_S^T(\lambda)[C]_0L \quad (4.11)$$

onde

- $A_S^T(\lambda) \rightarrow$ Absorbância da solução no comprimento de onda λ , à temperatura T ;
- $\varepsilon_S^T(\lambda) \rightarrow$ Coeficiente de Absorvidade Molar ou Coeficiente de Extinção Molar do soluto, à temperatura T ;
- $[C]_0 \rightarrow$ Concentração estequiométrica do soluto;
- $L \rightarrow$ Caminho óptico.

Computando as contribuições de ambos, dímeros e monômeros, temos:

$$A_S^T(\lambda) = \{\varepsilon_M^T(\lambda)f_M^T + \varepsilon_D^T(\lambda)f_D^T\}[C]_0L \quad (4.12)$$

onde

- $\varepsilon_M^T(\lambda) \rightarrow$ Coeficiente de Absorvidade Molar ou Coeficiente de Extinção Molar do espécime monomérico;

- $\epsilon_D^T(\lambda) \rightarrow$ Coeficiente de Absorvidade Molar ou Coeficiente de Extinção Molar do espécime dimérico;

A Equação (4.12) pode ser reescrita na forma:

$$A_S^T(\lambda) = \epsilon_M^T(\lambda) f_M^T [C]_0 L + \epsilon_D^T(\lambda) f_D^T [C]_0 L \quad (4.13)$$

Pode-se, então, descrever as parcelas monoméricas e diméricas nas formas:

$$A_M^T(\lambda) = \epsilon_M^T(\lambda) f_M^T [C]_0 L \quad (4.14)$$

$$A_D^T(\lambda) = \epsilon_D^T(\lambda) f_D^T [C]_0 L \quad (4.15)$$

onde

- $A_M^T(\lambda) \rightarrow$ Absorbância do espécime monomérico no comprimento de onda λ , à temperatura T ;
- $A_D^T(\lambda) \rightarrow$ Absorbância do espécime dimérico no comprimento de onda λ , à temperatura T .

Portanto, A equação da Absorbância do soluto por ser escrita conforme:

$$A_S^T(\lambda) = A_M^T(\lambda) + A_D^T(\lambda) \quad (4.16)$$

Considerando que o espectro de absorção de uma substância S, suscetível a agregação própria, é a soma das contribuições dos espécimes monoméricos e diméricos, as quais seguem o modelo de uma curva gaussiana, a Absorbância do monômero ($A_M^T(\lambda)$) e do dímero ($A_D^T(\lambda)$) podem ser expressas pelas equações:

$$A_M^T(\lambda) = A_1^T e^{-\ln(2) \left(\frac{\lambda - \lambda_M^T}{\omega_M^T/2} \right)^2} \quad (4.17)$$

$$A_D^T(\lambda) = A_2^T e^{-\ln(2) \left(\frac{\lambda - \lambda_D^T}{\omega_D^T/2} \right)^2} \quad (4.18)$$

onde

- $A_1^T \rightarrow$ Pico de Absorbância do espécime monomérico em sua banda de absorção, à temperatura T ;

- $\lambda_M^T \rightarrow$ Comprimento de onda no qual A_1^T ocorre (centro da banda de absorção do monômero), à temperatura T .
- $\omega_M^T \rightarrow$ Largura plena à meia altura da banda de absorção do monômero, à temperatura T .
- $A_2^T \rightarrow$ Pico de Absorbância do espécime dimérico em sua banda de absorção, à temperatura T ;
- $\lambda_D^T \rightarrow$ Comprimento de onda no qual A_2^T ocorre (centro da banda de absorção do dímero), à temperatura T .
- $\omega_D^T \rightarrow$ Largura plena à meia altura da banda de absorção do dímero, à temperatura T .

Logo, a curva de absorbância da substância S, à temperatura T pode ser aproximada pela equação:

$$A_S^T(\lambda) = A_1^T e^{-\ln(2) \left(\frac{\lambda - \lambda_M^T}{\omega_M^T/2} \right)^2} + A_2^T e^{-\ln(2) \left(\frac{\lambda - \lambda_D^T}{\omega_D^T/2} \right)^2} \quad (4.19)$$

Com base nos dados obtidos através da curva de absorbância real, a constante ω_D^T pode ser obtida com base no ponto onde a absorbância da substância é arbitrariamente igual a 0,25, ou seja, $A_S^T(\lambda) = 0,25$, considerando somente a contribuição dimérica ($A_2^T = A_{shoulder}^T$), conforme:

$$\omega_D^T = 2 \sqrt{\frac{(\lambda_{25}^T - \lambda_D^T)^2}{\left(\frac{\ln \left(\frac{0,25}{A_{shoulder}^T} \right)}{-\ln(2)} \right)}} \quad (4.20)$$

onde

- $\lambda_{25}^T \rightarrow$ Comprimento de onda no qual $A_S^T = 0,25$ ocorre na curva de absorbância real, à temperatura T .
- $A_{shoulder}^T \rightarrow$ Pico de Absorbância da espécie dimérica na curva de absorbância real, à temperatura T ;

Em $\lambda^T = \lambda_M^T$, $A_S^T(\lambda_M) = A_{max}^T$ e, considerando as contribuições dimérica e monomérica, pode-se obter A_1^T via:

$$A_1^T = A_{max}^T - A_{shoulder}^T e^{-\ln(2) \left(\frac{\lambda_M^T - \lambda_D^T}{\omega_D^T/2} \right)^2} \quad (4.21)$$

onde

- A_{max}^T → Pico de Absorbância do espécime monomérico na curva de absorbância real, à temperatura T ;

Pelo ponto isobéstico, no qual $\lambda^T = \lambda_{iso}^T$ e $A_S^T(\lambda_{iso}) = A_{iso}^T$, ω_M^T pode ser obtido através de:

$$\omega_M^T = 2 \sqrt{\frac{(\lambda_{iso}^T - \lambda_M^T)^2}{\ln \left(\frac{A_{iso}^T - A_{shoulder}^T e^{-\ln(2) \left(\frac{\lambda_{iso}^T - \lambda_D^T}{\omega_D^T/2} \right)^2}}{A_1^T} \right) \times \frac{1}{-\ln(2)}}}} \quad (4.22)$$

A formulação proposta pôde, então, ser programada em planilha iterativa utilizando software OriginLab, afim de gerar os espectros aproximados das espécimes dimérica e monomérica, para diferentes comprimentos de onda e temperaturas.

Foram utilizados como base, para as variáveis de entrada do modelo proposto, os dados obtidos de Yazdani et al. (2012), visando:

- Obter os espectros de absorbância aproximados nas temperaturas entre 10 - 60 °C, para os comprimentos de onda entre 500-750 nm a partir da soma de duas gaussianas, e analisar a viabilidade desta abordagem;
- Obter as relações das frações molares diméricas e monoméricas em função da temperatura;
- Analisar o efeito da variação da absorbância da amostra em um dado comprimento de onda, para diferentes temperaturas;
- Comparar um espectro de absorção experimental com um espectro obtido através do modelo matemático, na mesma concentração e temperatura, para validação do modelo.

4.3 Aparato de Fotodeteção

Pretendendo capturar o efeito de modulação rápida de forma satisfatória e confiável, foi necessário o projeto mecânico, eletrônico e teste de fotodetectors com boa área de captura ativa, amplitude espectral e resposta rápida. Foram escolhidos um fotodetector UV-444A e um SGD-444 (EG&G Optoelectronics, EUA).

O fotodetector UV-444A apresenta área ativa de 100 mm^2 , amplitude espectral 250 – 1150 nm, e responsividade espectral 0,4 – 0,6 A/W na banda 550 – 800 nm (EG&G OPTOELETRONICS, 2004).

Já o fotodetector SGD-444, também apresenta área ativa de 100 mm^2 porém, com amplitude espectral 400 – 1150 nm e responsividade espectral 0,4 – 0,5 A/W na banda 550 – 800 nm (EG&G OPTOELETRONICS, 2000). A Figura 9 mostra os fotodiodos ainda em suas embalagens originais.

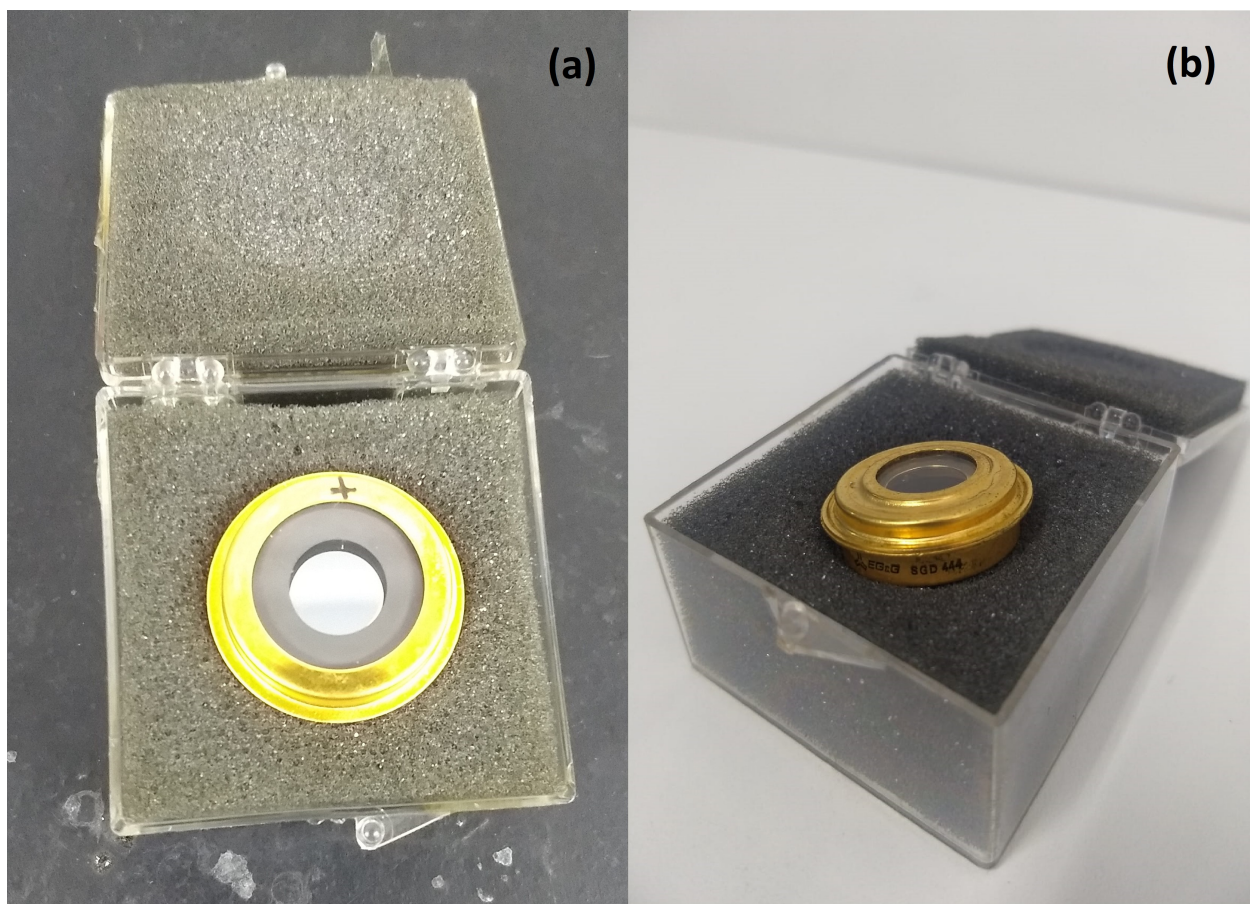


Figura 9 – Fotodetector EG&G (a) UV-444A e (b) SGD-444 , em suas embalagens originais.

Fonte: De autoria própria, 2022.

Carcaças de alumínio foram usinadas para acondicionamento de ambos os fotodetectores, juntamente com conexões elétricas. Foram adicionadas chaves que proporcionaram o ajuste da resistência do circuito (500Ω , $1 \text{ k}\Omega$, $10 \text{ k}\Omega$) com o objetivo de possibilitar a alteração da relação ganho de sinal \times tempo de resposta.

A fim de caracterizar os fotodetectores confeccionados, estes foram estimulados por um pulso gerado por laser de diodo semiconductor 75 mW com comprimento de onda 663 nm, chaveado eletronicamente através de gerador de sinais FY2300 12 MHz/12 bits (Feeltech, China). O fotodetector UV-444A foi alimentado com fonte regulada em 30 V, enquanto o fotodetector SGD-444 foi alimentado

por 100 V. O tempo de subida ou descida do fotodiodo foi definido como o tempo de resposta entre 10% e 90% da amplitude do sinal. A visualização e aquisição do sinal elétrico de resposta fornecido pelos fotodetetores foi realizada por osciloscópio digital de 100 MHz, modelo TBS1102B (Tektronix, USA) e, posteriormente, os dados foram tratados via software Origin Lab (OriginLab Corporation). A Figura 10 exibe ambos os equipamentos. Foram avaliados:

- O tempo de resposta de subida do sinal, após estímulo (Rise Time);
- O tempo de resposta de descida do sinal, após retirada do estímulo (Fall Time);
- Sinal de escuro (Dark Signal);

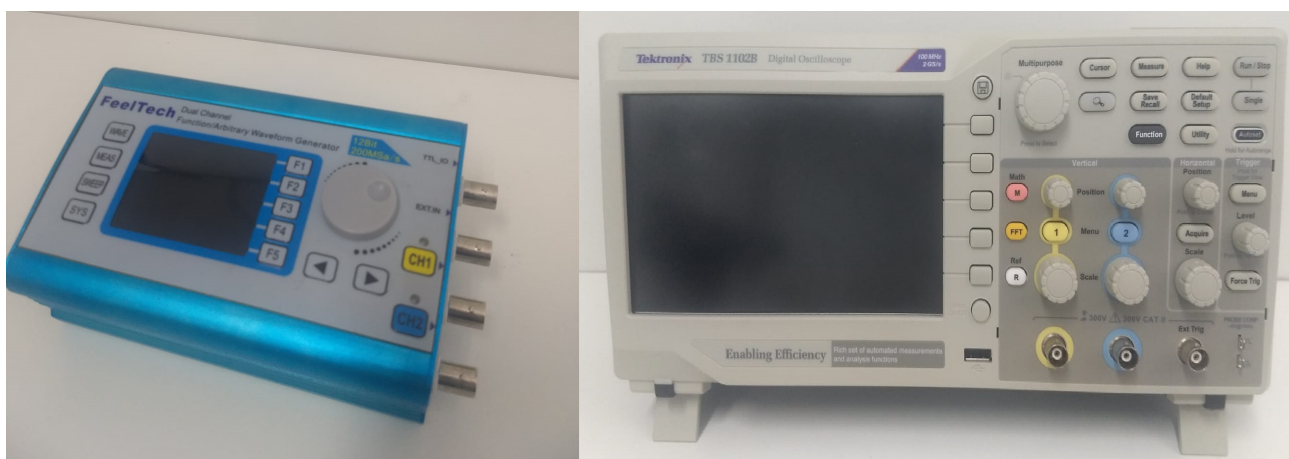


Figura 10 – Gerador de sinais FY2300 12 MHz/12 bits (Feeltech, China), a esquerda; Osciloscópio digital de 100 MHz, modelo TBS1102B (Tektronix, USA), a direita.

Fonte: De autoria própria, 2022.

4.4 Laser e Aparato de Modulação

Com a proposta de excitar a amostra nas bandas de ambos os espécimes, no estudo da conversão de dímero em monômero induzida por deposição de calor no corante azul de metileno dissolvido em água, foram escolhidos e utilizados dois lasers. Para a excitação na banda monomérica, um laser de diodo vermelho (Laserlands, China) com comprimento de onda de 663 nm e 100 mW de potência (Figura 11), foi selecionado. Por se tratar de um laser diodo semiconductor, sua modulação pôde ser realizada via porta TTL, com o emprego do gerador de sinais FY2300 12 MHz/12 bits (Feeltech, China).

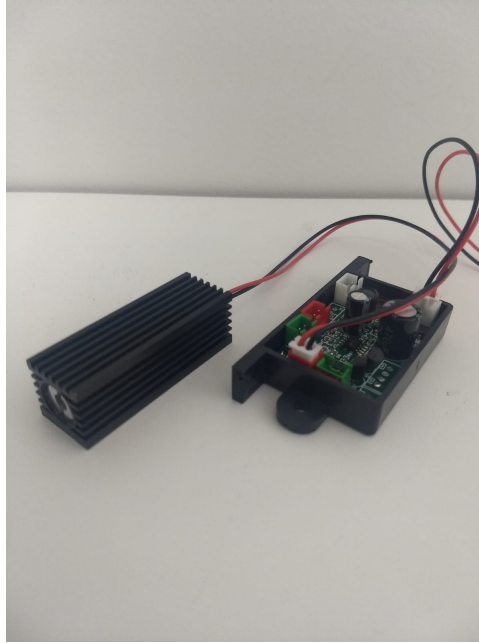


Figura 11 – Diodo laser vermelho, 663 nm e 100 mW, de fabricação chinesa.

Fonte: De autoria própria, 2022.

O laser de estado sólido bombeado por diodo laser MGL-III (Changchun New Industries, China), com comprimento de onda de 532 nm e 150 mW de potência de saída (Figura 12), foi escolhido para excitação na banda dimérica. Porém, por operar em regime contínuo e, na versão utilizada, não conter porta TTL, sua modulação em regime pulsado exigiu a concepção de um atuador eletromagnético associado a um equipamento de controle (Driver de modulação).



Figura 12 – Laser de estado sólido bombeado por diodo MGL-III, 532 nm e 150 mW, de fabricação chinesa.

Fonte: Adaptado de <https://www.laserarx.com/100-532-dpss>, Acessado em 15/12/22.

Para operar como atuador eletromagnético, o relé automotivo DNI-0102 (DNI, Brasil) foi eleito. Funcionando a 12 V, com reatância indutiva $X_L = 242 \Omega$, resistência interna $R_i = 80 \Omega$ e indutância da bobina $L_i = 117,1 \text{ mH}$, trata-se de um relé de braço único, operando em posição normal aberto, ou seja, a carga no lado secundário está normalmente desligada e há apenas um circuito secundário a ser energizado por este atuador. O DNI0102 foi desencapsulado e modificado, recebendo uma "bandeira" de alumínio em seu braço de trabalho. Após sua modificação, uma base de suporte em PVC foi usinada afim de portar o atuador de forma estável e ajustável aos postes de uso na bancada óptica, adequando-o à função de "shutter" óptico.

A caracterização do atuador eletromagnético consistiu em medir o tempo de desobstrução e obstrução de um laser He-Ne (Melles Griot) com comprimento de onda de 543,5 nm e 5 mW de potência, perpendicularmente incidente à bandeira de alumínio adicionada ao braço de ação, e posicionado a 16 cm de distância. A visualização e aquisição do sinal elétrico de resposta foi realizada pelo conjunto fotodetector SGD-444 (EG&G Optoelectronics, EUA) e osciloscópio digital de 100 MHz, modelo TBS1102B (Tektronix, USA). Posteriormente, os dados foram tratados via software Origin Lab (OriginLab Corporation).

O equipamento de controle, também chamado de "Driver de Modulação" foi concebido a partir da ideia de submeter o atuador (relé DNI-0102) a um pulso de dois estágios: um primeiro estágio, no qual uma voltagem superior a voltagem de trabalho do relé automotivo (12 V) seria aplicada por um curto período de tempo, gerando máxima aceleração do braço pelo efeito eletromagnético, sem gerar aquecimento ou falha crítica; e um segundo estágio onde a voltagem seria mantida em 12 V, necessária para manter o braço "aprisionado" na posição inferior de ação (na qual o laser ficaria desobstruído), pelo tempo do sinal de comando proveniente do gerador de sinais acoplado ao equipamento de controle.

O circuito elétrico do Drive de Modulação baseou-se em uma das funcionalidades de transistores: corte/saturação, onde elemento opera como uma chave. Foi implementado utilizando transformadores de TAP central 18 V+18 V e 15 V+15 V, capacitores eletrolíticos, resistores, ponte retificadora, transistores NPN 2N2222 (Philips, Brasil) e 2SD1459 (Sanyo, Japão), Diodo 1N4007 (Panjit, Taiwan) e, chips SN74121 (Texas Instruments, EUA) e LM7805 (Taitron Components, EUA). Todos os componentes foram soldados artesanalmente em placa de circuito impressa simples.

Um transistor de junção bipolar funciona como uma "válvula de fluxo", e é um tipo de dispositivo eletrônico amplamente usado para amplificar sinais e chavear circuitos elétricos. Os transistores NPN consistem em três regiões: o emissor, a base e o coletor. Quando uma tensão é aplicada à base de um transistor NPN, ela permite um fluxo de corrente do emissor para o coletor, atuando efetivamente como uma chave. A magnitude da corrente que flui do coletor para o emissor pode ser controlada ajustando a tensão aplicada à base. Isso permite que o transistor seja usado como um amplificador, pois o pequeno sinal de entrada aplicado na base é amplificado e aparece como um sinal de saída maior no coletor. Em resumo, os transistores NPN são dispositivos eletrônicos versáteis

amplamente utilizados em uma variedade de aplicações, desde circuitos amplificadores simples até sistemas lógicos digitais complexos. Eles funcionam controlando o fluxo de corrente entre o emissor e o coletor com base na tensão aplicada à base e são um bloco de construção fundamental em muitos dispositivos eletrônicos.

O tempo de atraso ("Delay time"), que se refere a diferença de tempo entre um sinal de comando, proveniente do gerador de sinais e, uma ação do atuador eletromagnético, foi registrado, assim como o Jitter do conjunto Atuador + Drive de Modulação. O valor do Jitter foi obtido através do desvio padrão de medidas consecutivas de "Delay time".

Ambos os testes foram realizados com o emprego de um laser He-Ne (Melles Griot) com comprimento de onda de 543,5 nm e 5 mW de potência, perpendicularmente incidente à bandeira de alumínio adicionada ao braço de ação, e posicionado a 16 cm de distância. O sinal de comando consistiu em uma onda quadrada de amplitude 5 V, frequência 0,25 Hz, regime de carga (Duty Cycle) 20%, fornecida pelo gerador de sinais FY2300 12 MHz/12 bits (Feeltech, China). Na medida do Jitter, 150 medidas de atraso foram adquiridas ao longo de 10 min, após 5 min de ação do conjunto Atuador + Drive de Modulação. Os dados foram adquiridos e processados pelo conjunto fotodetector SGD-444 (EG&G Optoelectronics, EUA) e osciloscópio digital de 100 MHz, modelo TBS1102B (Tektronix, USA). Posteriormente, os dados foram tratados via software Origin Lab (OriginLab Corporation).

4.5 Análise das Concentrações e do Caminho Óptico

Encontrar as concentrações da solução de azul de metileno dissolvido em água a serem utilizadas para teste da hipótese do fenômeno de modulação, foi o próximo passo deste trabalho. Tal escolha baseou-se em duas variáveis distintas: diluições da solução estoque (utilizando água destilada) e o caminho óptico a ser empregado.

Diferentes caminhos ópticos (L) foram obtidos a partir de porta amostras construídos com anéis espaçadores circulares de plástico (280 μm , 160 μm e 80 μm de espessura) e de metal (1 mm, 2,2 mm e 5 mm de espessura), entre janelas incolores com 50 mm de diâmetro e 2,11 mm de espessura. Para o caminho óptico $L = 1$ mm, cubetas padrão quadradas de quartzo foram usadas.

A Figura 13 ilustra os elementos citados.

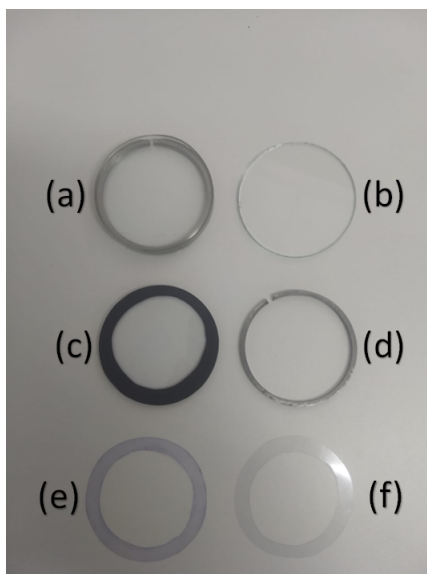


Figura 13 – Elementos utilizados nos diferentes caminhos ópticos: (a) porta amostra finalizado com espaçador metálico 1 mm, (b) janela incolor, (c) espaçador plástico 280 μm , (d) espaçador metálico 2,2 mm, (e) espaçador plástico 160 μm e (f) espaçador plástico 80 μm .

Fonte: De autoria própria, 2022.

Neste ponto, a dificuldade residiu na necessidade de obter uma combinação concentração/caminho óptico com alta razão dímero-monômero (na suposição inicial, adequada para melhor visualização do efeito), capaz de gerar um sinal satisfatório, quando capturado pelo fotodetector e mostrado pelo osciloscópio digital (altas absorvâncias, nos comprimentos de onda de excitação, resultariam em sinais baixos, que comprometeriam a relação sinal/ruído do sinal obtido), e que não fosse opticamente espessa, não sendo capaz de assimilar de forma homogênea o depósito de calor gerado pelo laser.

O teste consistiu em, a partir de dissoluções da solução estoque 1 g/L ($\approx 3,13 \times 10^{-3}$ M), observar o comportamento da razão dímero-monômero para diferentes concentrações, à temperatura ambiente ($T = 25$ °C). As combinações de concentração/caminho óptico escolhidas para esta análise são apresentadas na Tabela 1.

As medidas volumétricas foram realizadas utilizando micropipeta monocanal Labmate PRO 100 – 1000 μL LMP-1000, com precisão $\pm 0,4\%$ (PZ HTL S.A, 2015). Como anteriormente mencionado, visando evitar combinações de concentração/caminho óptico que fossem opticamente espessas, a análise seguinte teve o foco voltado para estudo dos espectros de absorção de concentrações entre $2,08 \times 10^{-3}$ M e $2,07 \times 10^{-5}$ M) para os caminhos ópticos (L) 280 μm , 160 μm e 80 μm , à temperatura ambiente ($T = 25$ °C).

Tabela 1 – Combinações de concentração/caminho óptico escolhidas para análise da razão dímero/monômero.

Água Destilada	Solução Estoque	Concentração Solução Final C	Caminho Óptico L
ml	ml	M	mm
0,7	1,4	$2,08 \times 10^{-3}$	0,08
1	1	$1,56 \times 10^{-3}$	0,16
1	0,8	$1,39 \times 10^{-3}$	2,2
1	0,6	$1,17 \times 10^{-3}$	2,2
1,4	0,7	$1,04 \times 10^{-3}$	0,28
1	0,4	$8,93 \times 10^{-4}$	2,2
1	0,2	$5,21 \times 10^{-4}$	2,2
5	0,2	$1,20 \times 10^{-4}$	5
20,6	0,2	$3,01 \times 10^{-5}$	10
30	0,2	$2,07 \times 10^{-5}$	10

Utilizando-se do espectrômetro UV-VIS USB4000 Fiber Optic, responsivo na faixa 200 – 850 nm (OCEAN OPTICS INC., 2008), foram obtidos os espectros de absorção para cada combinação de concentração/caminho óptico descrita, sendo os dados tratados/analizados utilizando software OriginLab. As absorbâncias nos picos do dímero (605 nm) e monômero (665 nm) foram contabilizadas e, o exame destas possibilitou a avaliação quantitativa da razão dímero/monômero nas diferentes combinações de concentração/caminho óptico estudadas.

4.6 Análise da Influência da Deposição de Calor no Equilíbrio Dímero-monômero

De forma descomplicada, buscando observar somente a resposta de uma amostra à deposição de calor, esta foi submetida a um reservatório térmico frio e, posteriormente, a um reservatório térmico quente. Imediatamente após o equilíbrio térmico com cada reservatório, o espectro de absorção da amostra foi obtido, pretendendo comparar as bandas diméricas e monoméricas encontradas.

Utilizando o porta amostra circular com caminho óptico 1 mm, uma amostra com concentração $6,25 \times 10^{-4}$ M ($\approx 0,2$ g/L) foi submersa em um reservatório térmico de água fria (temperatura medida da água em torno de 5°C) por 20 min. Imediatamente após sua retirada, o espectro de absorção da amostra foi obtido. A temperatura da água foi monitorada durante o período e controlada pela adição de cubos de gelo. Após uma hora em repouso à temperatura ambiente ($T = 25^\circ\text{C}$), a mesma amostra foi submersa em um reservatório térmico de água quente (temperatura medida da água em torno de 65°C), pelos mesmos 20 min. Após o equilíbrio térmico, também foi obtido o espectro de absorção da amostra. A temperatura da água foi monitorada via termômetro digital durante o período e controlada pelo termostato do equipamento agitador magnético/plataforma de aquecimento Thermolyne Cimarec 2 (Barnstead International), utilizado no experimento. Ambos os espectros foram adquiridos com o uso do espectrômetro UV-VIS USB4000 Fiber Optic, responsivo na faixa 200 – 850 nm (OCEAN OPTICS INC., 2008), sendo os dados tratados/analísados utilizando software OriginLab.

4.7 Efeito de Desagregação Molecular Induzido pela Deposição de Calor Utilizando Laser

Desconsiderando agregados de maior ordem, segundo a hipótese desta pesquisa, o equilíbrio dinâmico entre os espécimes diméricos e monoméricos, presentes na solução de azul de metileno dissolvido em água, pode ser perturbada pela deposição de calor, já que tal dinâmica é profundamente dependente da temperatura.

Buscando observar qualquer assimetria no comportamento dinâmico da amostra durante a deposição de calor, induzida por laser, foram concebidos dois testes: o primeiro, com excitação na banda dimérica, utilizando laser verde com comprimento de onda de 532 nm; e o segundo, com excitação na banda monomérica, utilizando laser vermelha com comprimento de onda de 663 nm.

Em ambos os testes, amostras com concentrações (C) $2,08 \times 10^{-3}$ M, $1,56 \times 10^{-3}$ M, $1,04 \times 10^{-3}$ M, $6,25 \times 10^{-4}$ M e $4,69 \times 10^{-4}$ M, nos caminhos ópticos (L) $280 \mu\text{m}$, $160 \mu\text{m}$ e $80 \mu\text{m}$, à temperatura ambiente ($T = 25^\circ\text{C}$), foram submetidas a um laser modulado em baixa frequência 0,25 Hz, em regime de carga (duty cycle) 20%, fornecida pelo gerador de sinais FY2300 12 MHz/12 bits (Feeltech, China).

Na excitação na banda dimérica, o laser de estado sólido bombeado por diodo laser MGL-III, com comprimento de onda de 532 nm e 150 mW de potência, foi empregado associado ao conjunto equipamento de controle (Driver de modulação) + Atuador eletromagnético. A potência medida, na posição da amostra, foi de 115 mW, e o feixe, também na posição da amostra, apresentou diâmetro de $\approx 110 \mu\text{m}$, sendo medido através da técnica knife-edge por meio de motor de corrente contínua (Chip SCE, RF-300CA-11440) com rotação máxima de 7.000 rpm.

A Figura 14 apresenta a configuração de bancada implementada para o teste de excitação na banda dimérica, consistindo em: (a) Driver de modulação, (b) Gerador de sinais FY2300, (c) Osciloscópio digital modelo TBS1102B, (d) Laser verde MGL-III, (e) Atuador eletromagnético, (f) Lente bi-convexa 88 mm, (g) Pinhole, (h) Porta Amostras, (i) Filtro de densidade óptica OD 1, 3 e (j) Fotodetector SGD-444 10 k Ω 100 V.

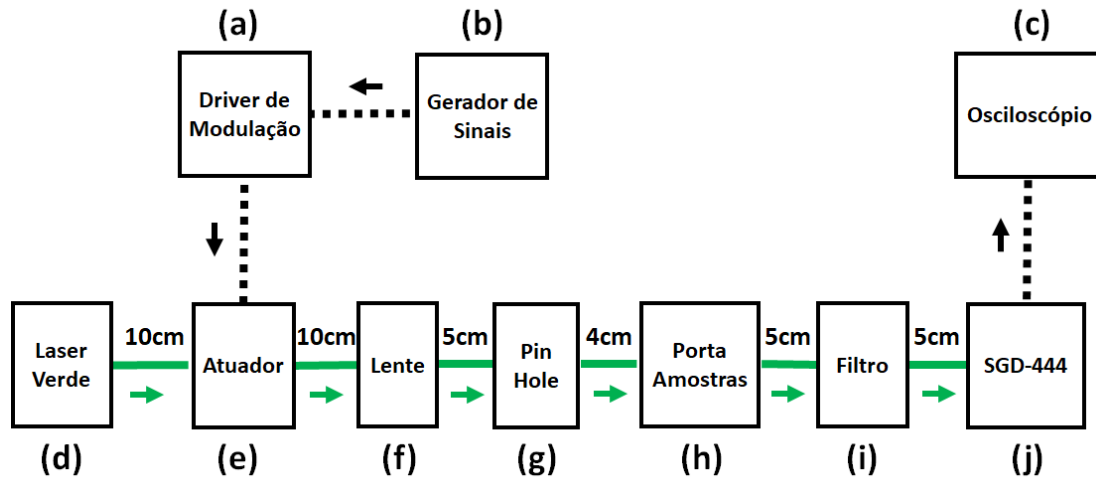


Figura 14 – Configuração de bancada implementada para o teste de excitação laser na banda dimérica.

Fonte: De autoria própria, 2022.

Na excitação na banda monomérica, o laser semiconductor de diodo vermelho com comprimento de onda de 663 nm e 100 mW de potência foi utilizado.

A potência medida, na posição da amostra, foi de 75 mW, e o feixe, também na posição da amostra, apresentou diâmetro de $\approx 109 \mu\text{m}$, sendo medido através da técnica knife-edge por meio de motor de corrente contínua (Chip SCE, RF-300CA-11440) com rotação máxima de 7.000 rpm.

O segundo teste exigiu uma configuração de bancada diferente, devido a altura do suporte do laser de diodo vermelho em relação aos demais componentes ópticos. Tal fato foi solucionado com a implementação de uma configuração em "Z", no qual dois espelhos puderam proporcionar a capacidade de alinhamento necessária.

O pinhole, utilizado antes da lente, teve como função eliminar reflexões indesejadas.

A Figura 15 mostra a configuração de bancada implementada para o teste de excitação na banda monomérica, consistindo em: (a) Gerador de sinais FY2300, (b) Laser de diodo vermelho, (c) Espelho, (d) Osciloscópio digital modelo TBS1102B, (e) Espelho, (f) Lente bi-convexa 100 mm, (g) Porta Amostras, (h) Filtro de densidade óptica OD 1,3 e (i) Fotodetector SGD-444 10 k Ω 100 V.

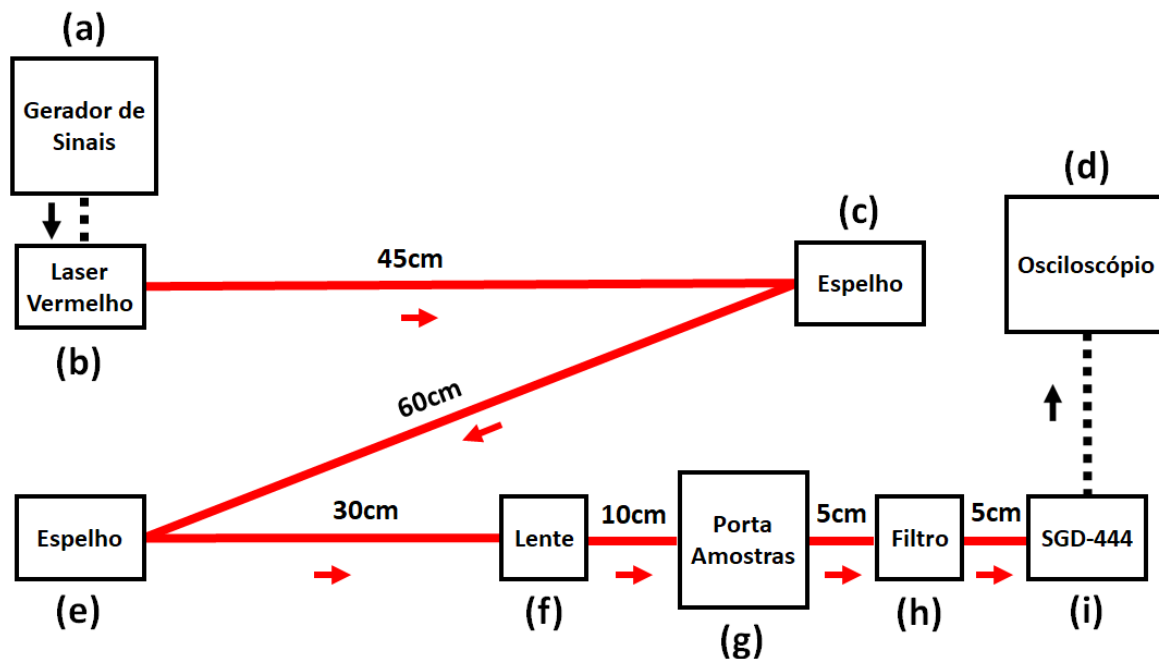


Figura 15 – Configuração de bancada implementada para o teste de excitação laser na banda monomérica.

Fonte: De autoria própria, 2022.

Diferentemente do laser de estado sólido bombeado por diodo laser empregado na excitação da banda dimérica, o laser de diodo vermelho pode ser diretamente modulado via porta TTL, pelo gerador de sinais, dispensando a utilização do conjunto Driver de modulação + Atuador eletromagnético.

4.8 Relação Potência de Entrada/Potência de Saída no Efeito de Desagregação Molecular Induzido pela Deposição Rápida e Localizada de Calor Utilizando Laser

Ainda buscando assimetrias no comportamento dinâmico da amostra durante a deposição de calor, induzida por laser, foram concebidos mais dois ensaios. Porém, ao invés de focar puramente na análise dinâmica do sinal de resposta da amostra à excitação laser, os testes consistiram em explorar a relação entre a potência do feixe incidente na amostra (potência de entrada), oriunda do laser, e a

potência do feixe após a amostra (potência de saída), em regime estacionário. Os ensaios consistiram em medir o sinal gerado pelo laser sem a amostra e com a amostra posicionada e, progressivamente, atenuar o sinal original por meio da adição de filtros ópticos de densidade neutra, posicionados imediatamente após a saída do laser. A potência incidente inicial (primeira medida, sem a amostra) foi diretamente associada ao valor de respectivo sinal, sendo considerados os valores de referência. As potências de entrada e saída posteriores foram, então, calculadas a partir de seus respectivos sinais em relação ao valores de referência.

Em ambos os ensaios, foram submetidas a um laser modulado em baixa frequência 0,25 Hz, em regime de carga (duty cycle) 20%, fornecida pelo gerador de sinais FY2300 12 MHz/12 bits (Feeltech, China), amostras com concentrações (C) $2,08 \times 10^{-3}$ M, $1,56 \times 10^{-3}$ M, $1,04 \times 10^{-3}$ M, $6,25 \times 10^{-4}$ M e $4,69 \times 10^{-4}$ M, nos caminhos ópticos (L) 280 μ m, 160 μ m e 80 μ m, à temperatura ambiente ($T = 25$ °C).

A Figura 16 apresenta a configuração de bancada implementada para ensaio de potência de entrada \times potência de saída, na excitação da banda dimérica, consistindo em: (a) Driver de modulação, (b) Gerador de sinais FY2300, (c) Osciloscópio digital modelo TBS1102B, (d) Laser verde MGL-III, (e) Filtros ópticos de densidade neutra para atenuação do sinal, (f) Atuador eletromagnético, (g) Lente bi-convexa 88 mm, (h) Pinhole, (i) Porta Amostras, (j) Filtro de densidade óptica OD 1,3 e (k) Fotodetector SGD-444 10 k Ω 100 V.

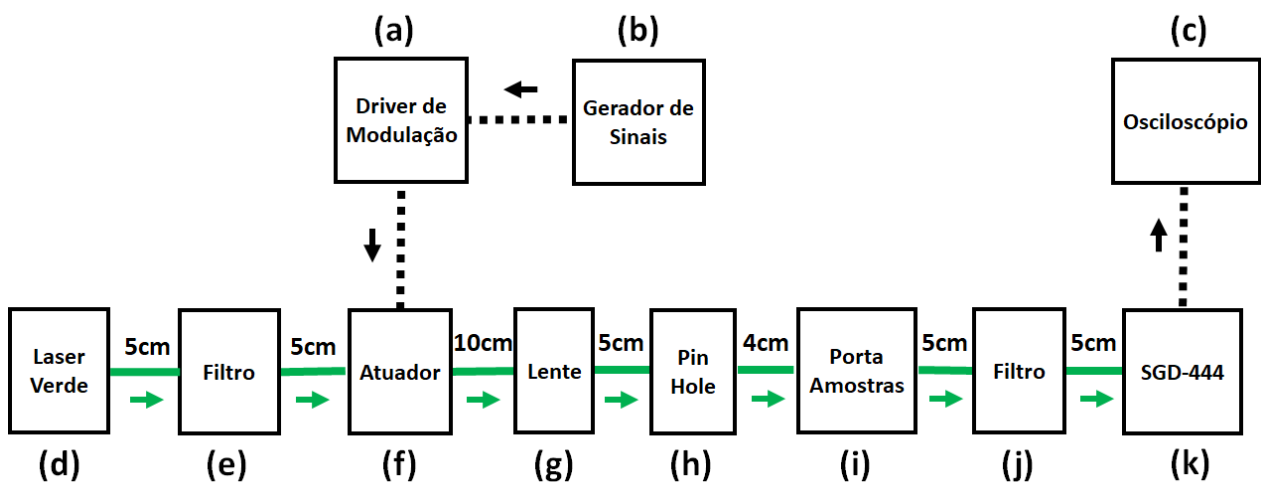


Figura 16 – Configuração de bancada implementada para o ensaio de potência de saída em função da potência de entrada na excitação laser da banda dimérica.

Fonte: De autoria própria, 2022.

Na excitação na banda dimérica, o laser de estado sólido bombeado por diodo laser MGL-III, com comprimento de onda de 532 nm e 150 mW de potência, foi empregado associado ao conjunto equipamento de controle (Driver de modulação) + Atuador eletromagnético. A potência medida, na posição da amostra, foi de 115 mW, e o feixe, também na posição da amostra, apresentou diâmetro de

$\approx 110 \mu\text{m}$, sendo medido através da técnica knife-edge por meio de motor de corrente contínua (Chip SCE, RF-300CA-11440) com rotação máxima de 7.000 rpm. O fotodetector foi calibrado em 532 nm com o feixe na potência de 115 mW, condição para a qual o sinal elétrico obtido foi de 8,1 V.

A Figura 17 mostra a configuração de bancada implementada para o teste de excitação na banda monomérica, consistindo em: (a) Gerador de sinais FY2300, (b) Laser semiconductor diodo vermelho, (c) Filtros ópticos de densidade neutra para atenuação do sinal, (d) Espelho 1, (e) Osciloscópio digital modelo TBS1102B, (f) Espelho 2, (g) Lente bi-convexa 100 mm, (h) Porta Amostras, (i) Filtro de densidade óptica OD 1,3 e (j) Fotodetector SGD-444 10 k Ω 100 V.

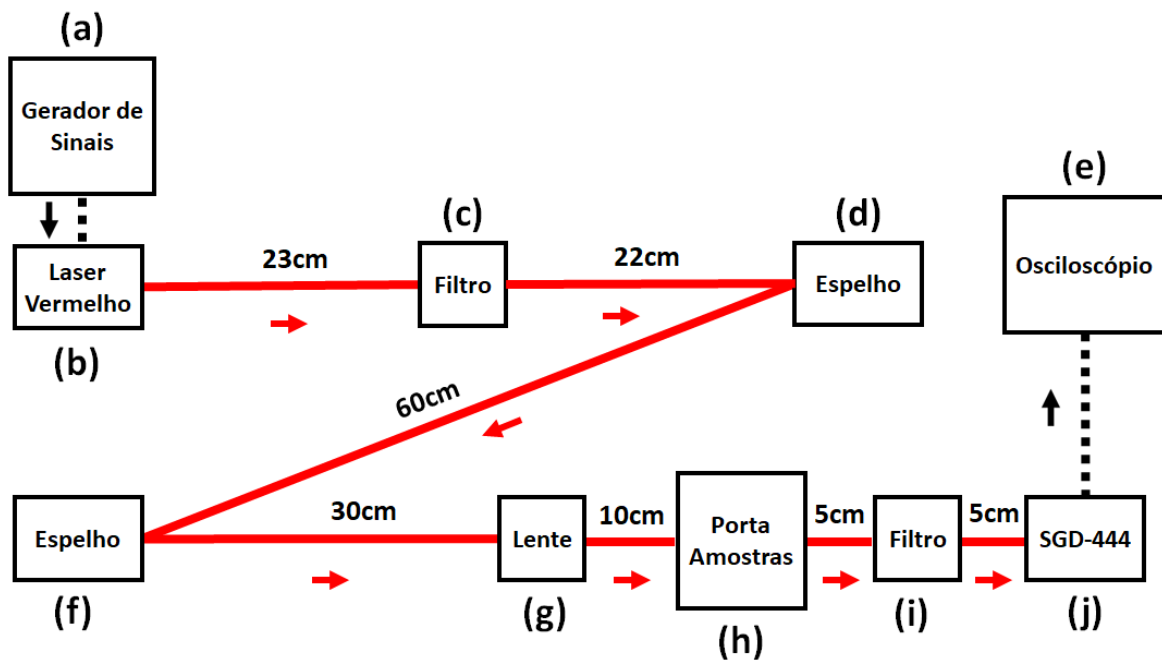


Figura 17 – Configuração de bancada implementada para o ensaio de potência de saída em função da potência de entrada na excitação laser da banda monomérica.

Fonte: De autoria própria, 2022.

Na excitação na banda monomérica, o laser semiconductor de diodo vermelho com comprimento de onda de 663 nm e 100 mW de potência foi utilizado. A potência medida, na posição da amostra, foi de 75 mW, e o feixe, também na posição da amostra, apresentou diâmetro de $\approx 109 \mu\text{m}$, sendo medido através da técnica knife-edge por meio de motor de corrente contínua (Chip SCE, RF-300CA-11440) com rotação máxima de 7.000 rpm. O fotodetector foi calibrado em 663nm com o feixe na potência de 75 mW, condição para a qual o sinal elétrico obtido foi de 11,2 V.

Conforme mencionado na seção anterior, a implementação de uma configuração em "Z", no qual dois espelhos puderam proporcionar a capacidade de alinhamento necessária, foi implementada para o laser de diodo vermelho. A adoção do pinhole nesta configuração também foi desnecessária para eliminar reflexões indesejadas.

Diferentemente do laser de estado sólido bombeado por diodo laser empregado na excitação da banda dimérica, o laser de diodo vermelho pode ser diretamente modulado via porta TTL, pelo gerador de sinais, dispensando a utilização do conjunto conjunto Driver de modulação + Atuador eletromagnético. Todos os dados foram processados, segundo os respectivos sinais de referência, e analisados utilizando software OriginLab. Foram descontadas as perdas relacionadas às reflexões da primeira janela.

5 Resultados

5.1 Espectros de Absorção Obtidos Via Modelo Matemático Proposto

Tendo como base o modelo matemático descrito (Seção 4.2), planilha iterativa programada no software OriginPro e, utilizando dados de entrada obtidos de Yazdani et al. (2012), foi possível obter espectros de absorção teóricos aproximados do corante azul de metileno dissolvido em água.

A Figura 18 mostra a comparação entre um espectro de absorção do azul de metileno dissolvido em água, obtido experimentalmente, pelo presente autor (em espectrômetro USB4000), a aproximadamente 30 °C, caminho óptico (10 mm) e com concentração 3×10^{-5} M, e o espectro de absorção gerado a partir do modelo matemático proposto utilizando os mesmos parâmetros de temperatura, caminho óptico e concentração como entrada, retirados de Yazdani et al. (2012). Também é possível observar as duas gaussianas que, somadas, compõe o espectro final gerado pelo modelo matemático.

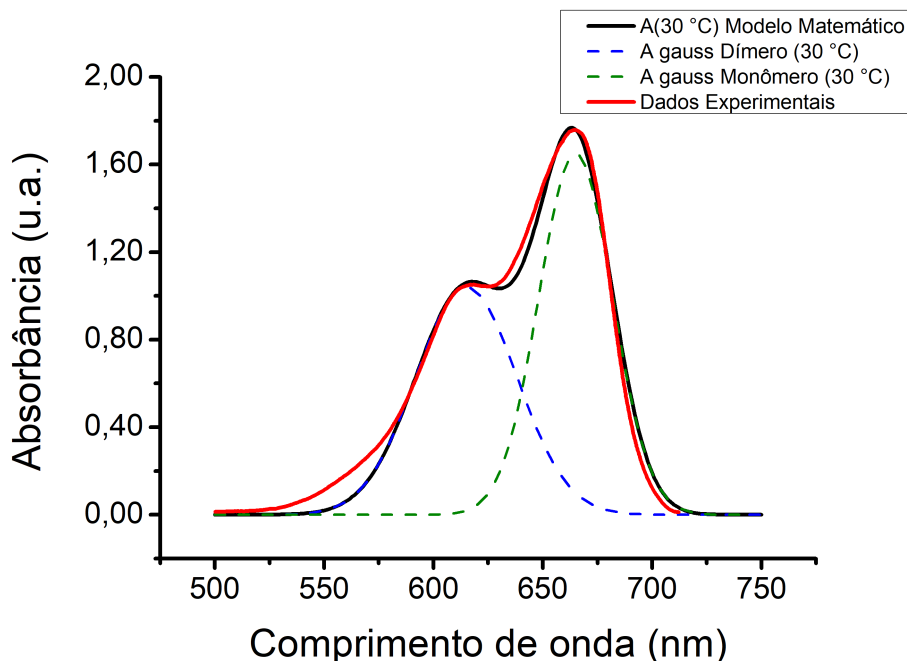


Figura 18 – Comparação entre espectro experimental e obtido através do modelo matemático, para as mesmas condições de temperatura e concentração.

Na Figura 19, podem ser observados os espectros de absorvância obtidos em temperaturas entre 10-60 °C, para os comprimentos de onda entre 500-750 nm, na concentração 3×10^{-4} M. A baixa concentração evidencia altas quantidades de monômero e baixas quantidades de dímero, demonstradas pelos altos picos em 665 nm, se comparados com os picos em 605 nm.

Fica bem demonstrada a relação do aumento de temperatura com a diminuição da razão dímero/monômero na amostra, mantida a mesma concentração e desconsiderados os agregados de maior ordem (trímeros, quadrímeros etc.), dada a queda dos picos referentes ao dímero (≈ 605 nm) e consequente aumento dos picos referentes ao monômero (≈ 655 nm), com o aumento da temperatura.

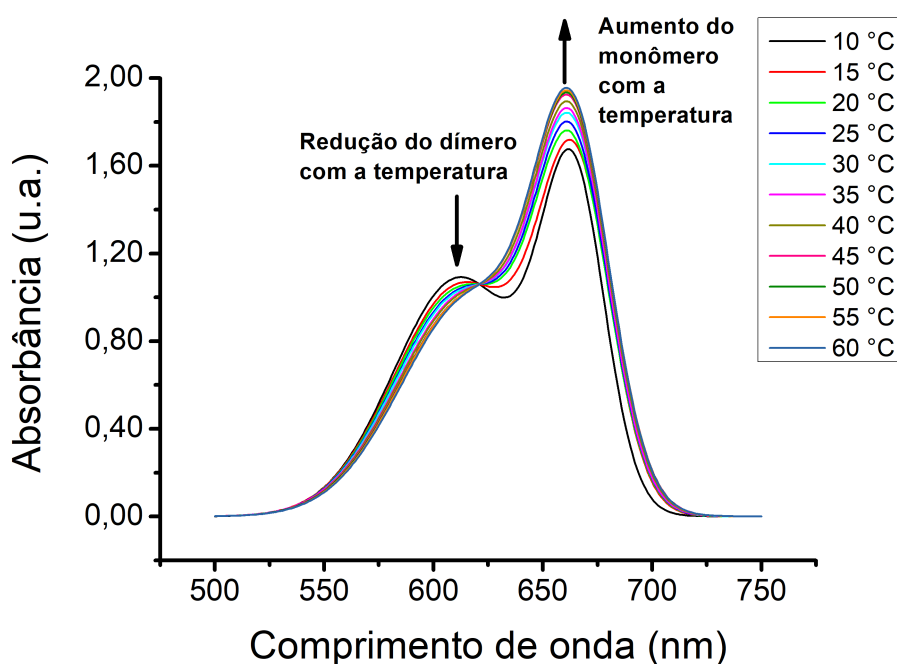


Figura 19 – Espectros de absorvância teóricos obtidos a partir do modelo matemático proposto, para concentração 3×10^{-4} M.

A abordagem matemática resultante da soma das duas gaussianas, representantes dos dois espécimes, apresenta boa aproximação ao resultado experimental. Porém, é importante ressaltar que discrepâncias maiores podem ser observadas em três pontos dos espectros: na região inicial (500 – 550 nm), na região próxima ao ponto isobéptico, e na região final entre 670 – 700 nm. Tais diferenças podem ser explicadas pela dificuldade de manipulação dos valores referentes às larguras de banda dos espécimes ω_D e ω_M , dado o fato que a cauda final da banda dimérica se soma à cauda inicial da banda monomérica, interagindo diretamente com a absorção no ponto isobéptico e distorcendo as regiões inicial e final.

5.2 Fotodetectores EG&G SGD-444 e UV-444A

A Tabela 2 exibe os valores máximos dos sinais obtidos nos testes, assim como o sinal de escuro observado nas medidas (Dark Signal).

Tabela 2 – Valores máximos dos sinais e sinais de escuro obtidos nos testes de tempo de subida e descida para os fotodetectores SGD-444 e UV-444A, com as três variações de resistência.

Fotodetector	Sinal Máximo (V)	Sinal de Escuro (V)
SGD-444 500 Ω	13,6	$\approx 0,04$
SGD-444 1 k Ω	26,4	$\approx 0,04$
SGD-444 10 k Ω	36,4	$\approx 0,04$
UV-444A 500 Ω	13,9	$\approx 0,1$
UV-444A 1 k Ω	27,2	$\approx 0,1$
UV-444A 10 k Ω	38,0	$\approx 0,1$

Os resultados referentes ao tempo de resposta de subida do sinal (Rise Time), após estímulo por um pulso gerado por laser de diodo semiconductor 75,0 mW com comprimento de onda 663 nm, chaveado eletronicamente, para os fotodetectores SGD-444 e UV-444A, com as três variações de resistência (500 Ω , 1 k Ω , 10 k Ω) são apresentados pelas Figuras 20 e 21, respectivamente.

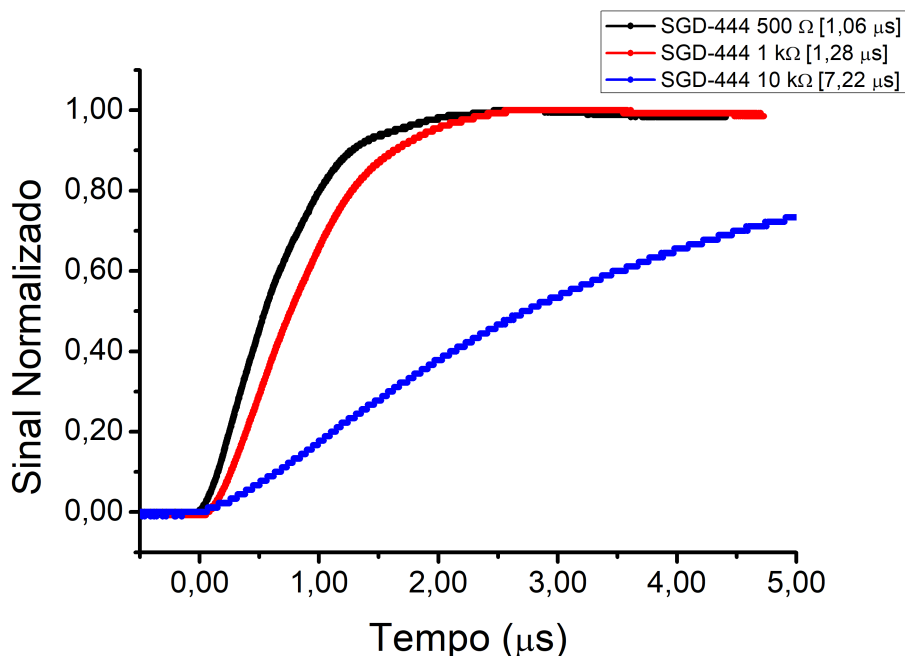


Figura 20 – Tempo de resposta de subida do sinal (Rise Time) do fotodetector SGD-444, para as resistências 500 Ω , 1 k Ω , 10 k Ω .

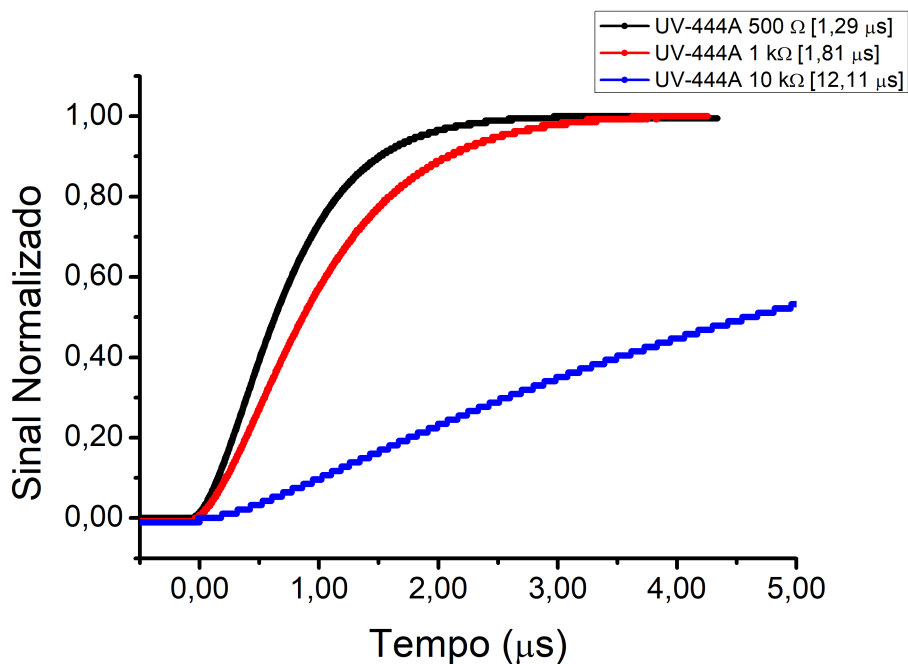


Figura 21 – Tempo de resposta de subida do sinal (Rise Time) do fotodetector UV-444A, para as resistências 500 Ω, 1 kΩ, 10 kΩ.

As Figuras 22 e 23, respectivamente, mostram o tempo de resposta de descida do sinal (Fall Time), após retirada do mesmo estímulo, para os fotodetectores SGD-444 e UV-444A, com as três variações de resistência (500 Ω, 1 kΩ, 10 kΩ).

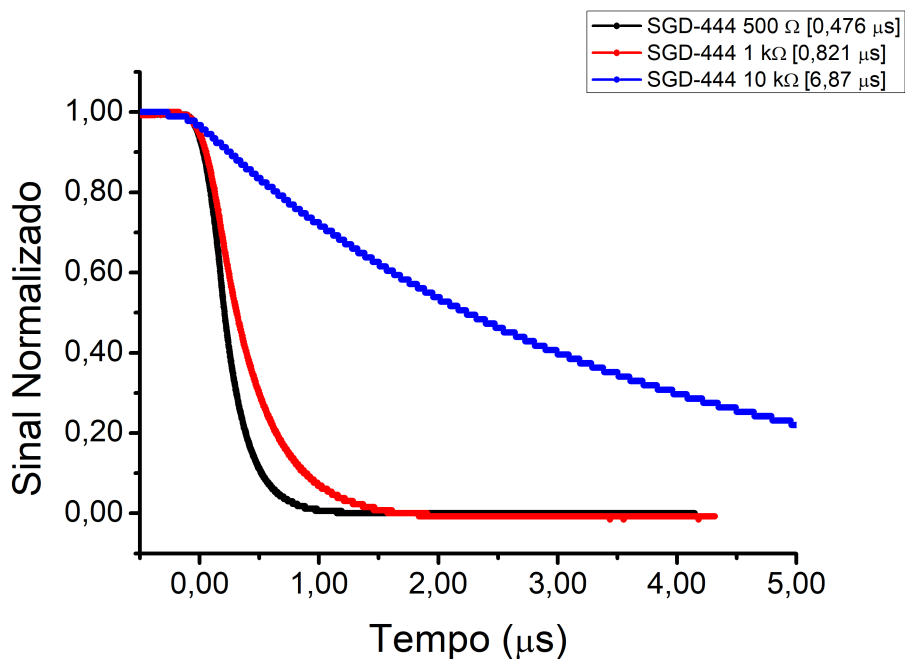


Figura 22 – Tempo de resposta de descida do sinal (Fall Time) do fotodetector SGD-444, para as resistências 500 Ω, 1 kΩ, 10 kΩ.

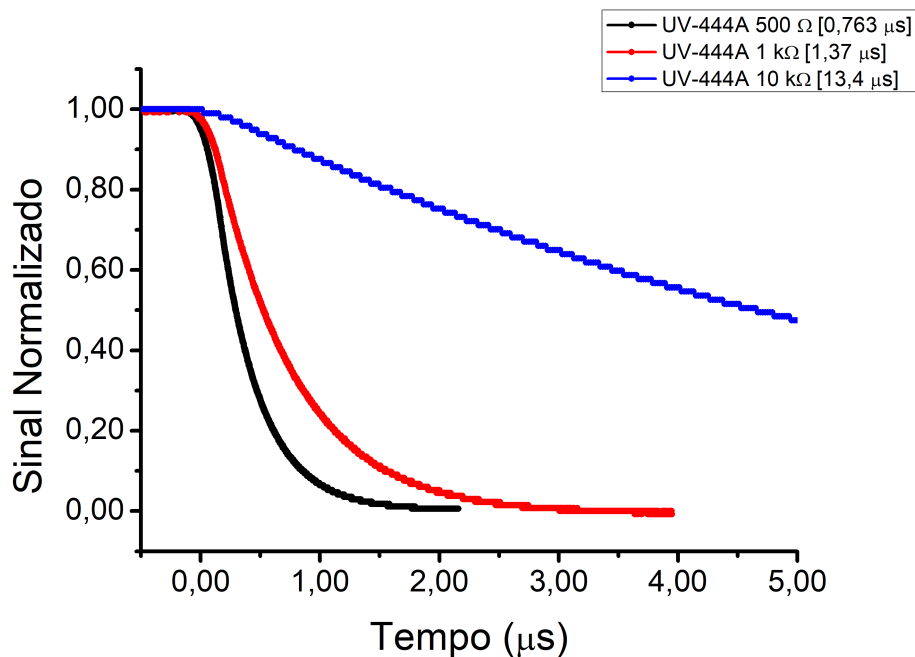


Figura 23 – Tempo de resposta de descida do sinal (Fall Time) do fotodetector UV-444A., para as resistências 500 Ω, 1 kΩ, 10 kΩ.

Os sinais, expostos nas Figuras 20, 21, 22 e 23 foram normalizados para melhor comparação visual.

O resultados mostraram que quanto menor a resistência selecionada, menor o ganho de sinal, porém, maior a velocidade de resposta. Em contrapartida, o aumento da resistência do circuito gera incremento do ganho de sinal, porém as custas da velocidade de resposta do fotodetector.

Foi estabelecido que o fotodetector SGD-444 (Figura 60) seria utilizado no andamento das pesquisas, já que este apresentou respostas mais rápidas ao estímulo laser e sua retirada, obtendo menor sinal de escuro se comparado com o fotodetector UV-444A. Os testes também mostram que o fotodetector SGD-444 apresentou comportamento linear até, aproximadamente, 12 V de sinal.

Mais informações sobre ambos os fotodetectores podem observadas no ANEXO A - FOTODETECTORES SGD-444 e UV-444A.

5.3 Conjunto Driver de Modulação + Atuador Eletromagnético Para Modulação Óptica

O relé automotivo DNI0102 foi adaptado para desempenhar o papel de atuador eletromagnético sendo, primeiramente, desencapsulado. Uma "bandeira" de alumínio foi adicionada ao braço de trabalho do relé DNI 0102, sendo, também, retirado o batente superior, para maior ganho de amplitude de movimento do braço, como mostra a Figura 24.

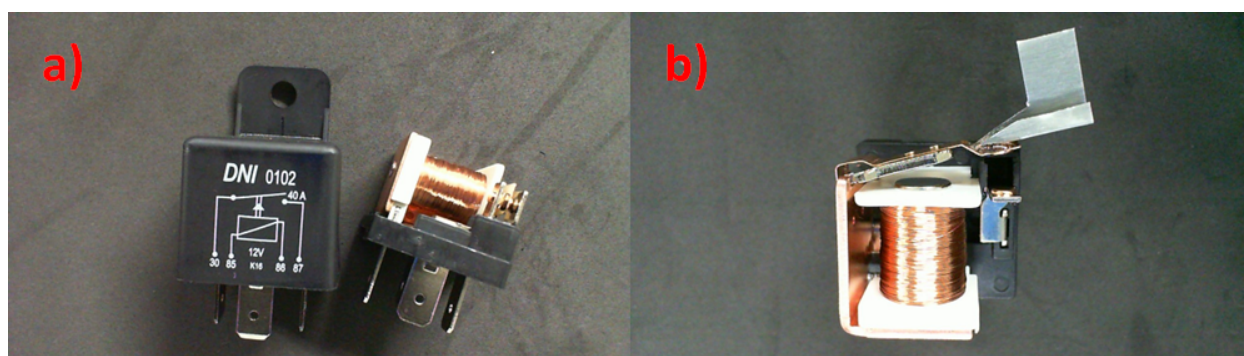


Figura 24 – Relé Automotivo DNI0102: a) em sua embalagem original e, após ser desencapsulado; b) após modificações.

Afim de dar estabilidade e operacionalizar o relé DNI0102 à função de shutter óptico, foram usadas, em torno mecânico, partes em PVC, que constituíram uma base de operação. A Figura 25 exibe a versão final do elemento atuador.



Figura 25 – Elemento atuador contendo o relé automotivo DNI0102 fixado a base de operação.

O circuito elétrico implementado para o Driver de modulação é ilustrado pela Figura 26, e seus respectivos componentes são apresentados na Tabela 3.

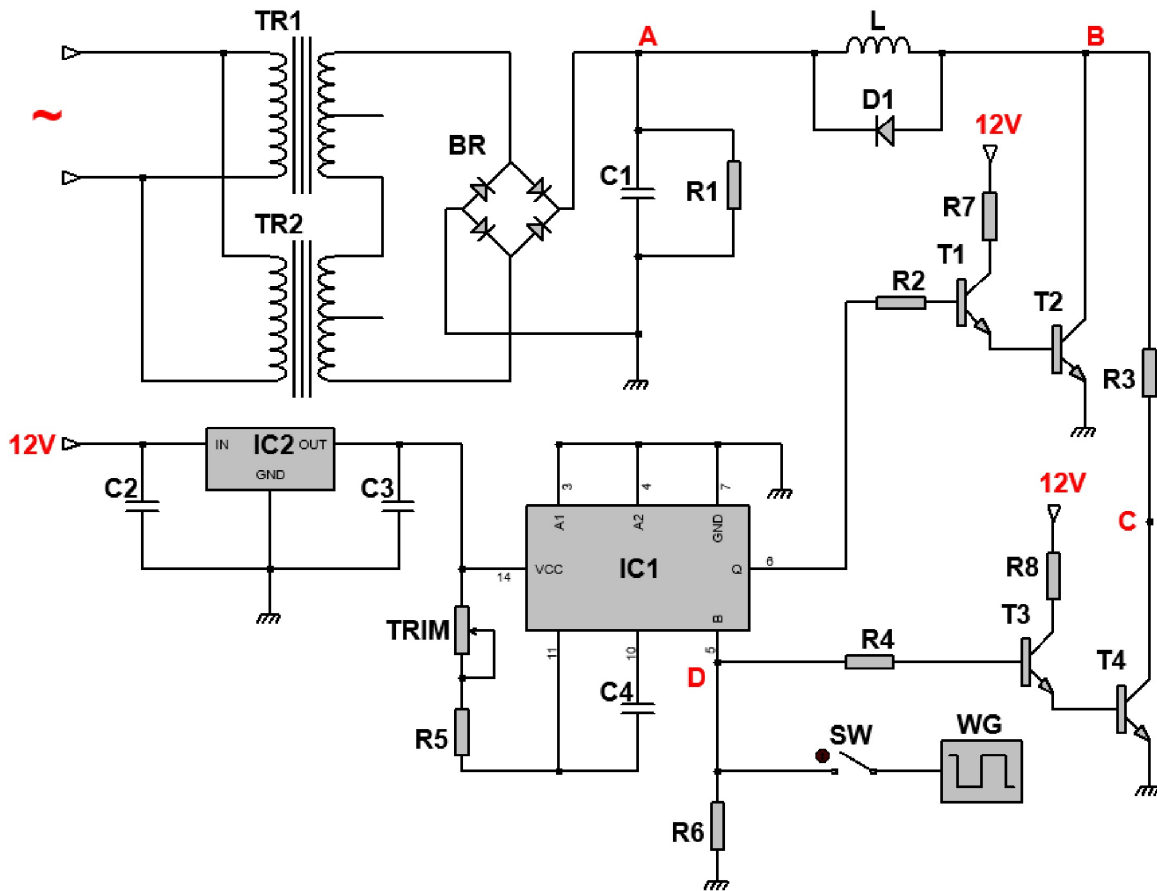


Figura 26 – Esquema do circuito elétrico aplicado ao equipamento Driver modulador.

Tabela 3 – Descrição dos componentes no circuito elétrico do Driver de Modulação.

Referência	Componente	-	-
BR	Ponte Retificadora 400 V 1 A	R6	Resistor 470 Ω 0,25 W
C1	Capacitor 1500 μ F 250 V	R7	Resistor 1 k Ω 0,25 W
C2	Capacitor 1 μ F 25 V	R8	Resistor 1 k Ω 0,25 W
C3	Capacitor 1 μ F 25 V	L	Bobina do Relé/Atuador
C4	Capacitor 1 μ F 25 V	SW	Chave duas posições
D1	Diodo 1N4007	T1	2N2222
IC1	SN74121	T2	2SD1459
IC2	LM7805	T3	2N2222
R1	Resistor 560 k Ω 0,5 W	T4	2SD1459
R2	Resistor 100 Ω 0,25 W	TR1	Transf. Tap Central 18 V+18 V 500 mA
R3	Resistor 2,7 k Ω 10 W	TR2	Transf. Tap Central 15 V+15 V 500 mA
R4	Resistor 100 Ω 0,25 W	TRIM	TrimPot 3006P 20 k Ω
R5	Resistor 4,7 k Ω 0,25 W	WG	Gerador de Ondas

O WG (gerador de ondas) produz uma onda quadrada de 5 V de amplitude, a uma frequência 0,25 Hz e regime de carga (duty cycle) 20%. SW (chave de duas posições) somente adiciona a comodidade de desacoplar o gerador de ondas ao circuito, sem ter que desligá-lo. O sinal produzido pelo gerador tem dois caminhos no ponto D: no primeiro, serve de sinal de entrada, no terminal B, para o chip IC1 (SN74121); no segundo caminho, esse sinal alimenta a corrente de base necessária para o transistor T3 (2N2222), o qual trabalha como amplificador de corrente para a saturação do transistor T4 (2SD1459).

O chip IC1 (SN74121), no terminal VCC, é alimentado por 5 V DC fornecidos pela operação do chip IC2 (LM7805), que recebe 12 V DC. A constante de tempo para o sinal de saída, no terminal Q, gerado a partir do chip IC1 (SN74121), é dada a partir da associação do C4 (capacitor) ao R5 (resistor), e ao TRIM (potenciômetro), ligados aos seus terminais 10, 11 e 14. Nesta configuração, o sinal de entrada em B gera um sinal quadrado de saída com 20 ms de duração, que proporciona a corrente de base necessária para o transistor T1 (2N2222), o qual trabalha como amplificador de corrente para a saturação do transistor T2 (2SD1459).

A partir de 127 V AC, T1 e T2 (os dois transformadores TAP central) ligados em série foram capazes de gerar, após retificação pela associação BR e C1 (ponte retificadora e capacitor), aproximadamente, 104 V DC (94 V DC teórico) no ponto A.

Sendo assim, em linhas gerais, no funcionamento conjunto das partes citadas a cima, para a configuração escolhida, o sinal produzido a partir WG (gerador de sinais) promove a saturação do transistore T4 (2SD1459), que agindo como chave fechada, fazem com que a tensão V_{AC} agindo em L (atuador eletromagnético) seja de, aproximadamente, 12 V DC, pelo período de 800 ms, dados a frequência 0,25 Hz, regime de trabalho (duty cycle) 20% e, à R3 (resistência) definidas.

Porém, em sincronicidade, este mesmo sinal, produzido a partir gerador de sinais (WG), recebido como entrada no chip IC1 (SN74121), o permite atuar, através do sinal de saída no terminal Q, na saturação do transistor T2 (2SD1459), promovendo um caminho de menor resistência, no qual, pelo período de 20 ms, a tensão V_{AB} agindo no atuador eletromagnético (L) seja de, aproximadamente, 104 V DC (94 V DC teórico).

Portanto, a dinâmica entre as saturações e cortes dos transistores T2 e T4, e a ação do chip IC1, permitiu a criação de um circuito elétrico para o Driver de Modulação com dois estágios de ação: um primeiro, capaz de sobrecarregar o elemento atuador por um curto período inicial, proporcionando a maior aceleração possível; e o segundo, onde a tensão aplicada no atuador eletromagnético age somente no aprisionamento do braço de ação, possibilitando a modulação do laser pelo período configurado pelos parâmetros de frequência e regime de carga, selecionados no gerador de ondas. A Figura 27 ilustra a dinâmica citada.

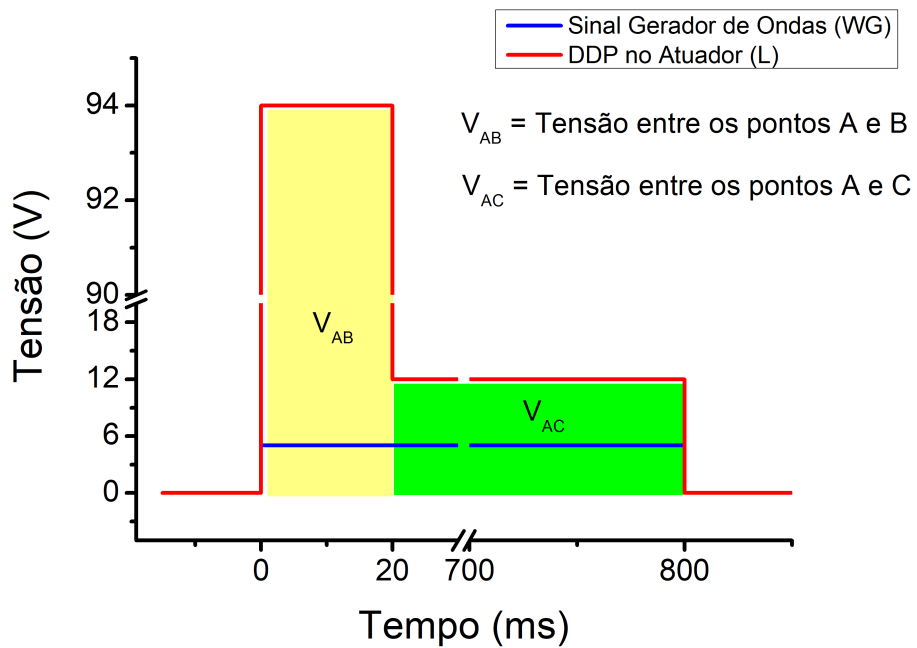


Figura 27 – Dinâmica entre as saturações e cortes dos transistores T2 e T4 (2SD1459), a ação do chip IC1 (SN74121) e o sinal proveniente do gerador de ondas.

É importante ressaltar que a ação do chip IC1 (SN74121) é livre de Jitter, para as condições de uso implementadas nesse trabalho. (TEXAS INSTRUMENTS, 2005).

A Figura 28 exibe a versão final do equipamento Driver de Modulação.

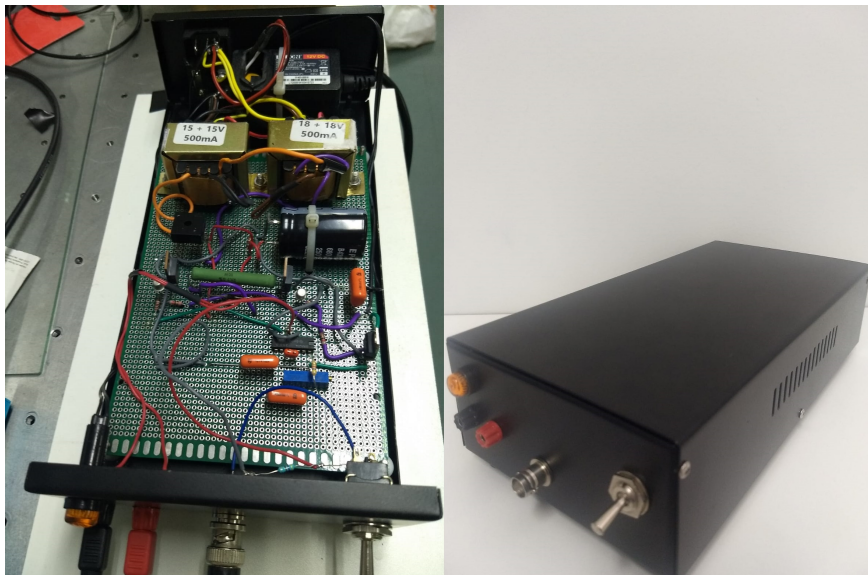


Figura 28 – Equipamento Driver de Modulação, sem a tampa superior, à esquerda; e fechado, à direita.

O conjunto Drive de Modulação + Atuador eletromagnético pôde, enfim, ser testado. O tempo de desobstrução e obstrução de um laser He-Ne (Melles Griot) com comprimento de onda de 543,5 nm, 0,85 mm de diâmetro de feixe, e 5 mW de potência, perpendicularmente incidente à bandeira de alumínio adicionada ao braço de ação, e posicionado a 16 cm de distância são, respectivamente, apresentados pelas Figuras 29 e 30.

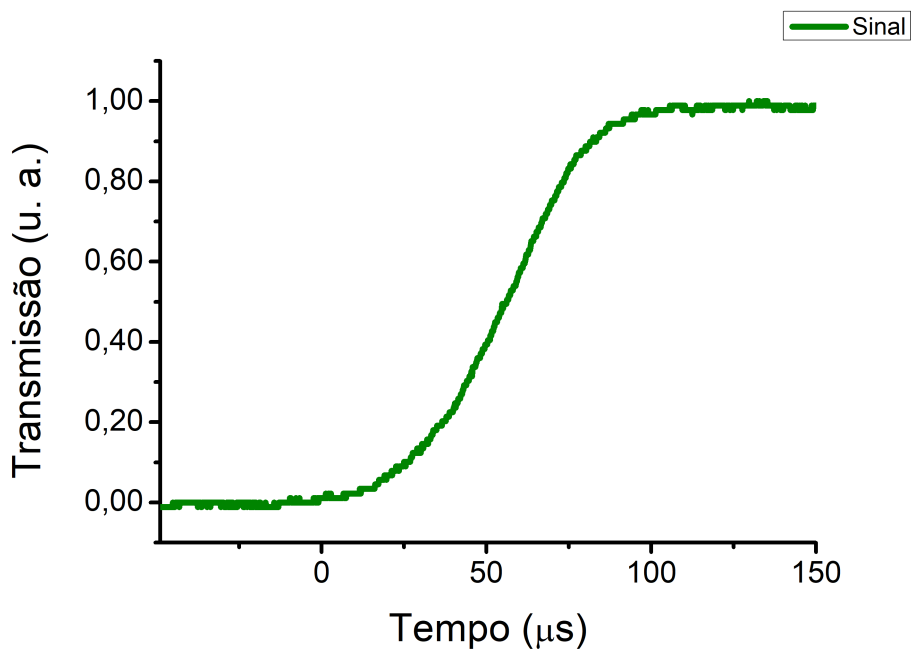


Figura 29 – Tempo de desobstrução do laser pelo conjunto Atuador + Drive de modulação.

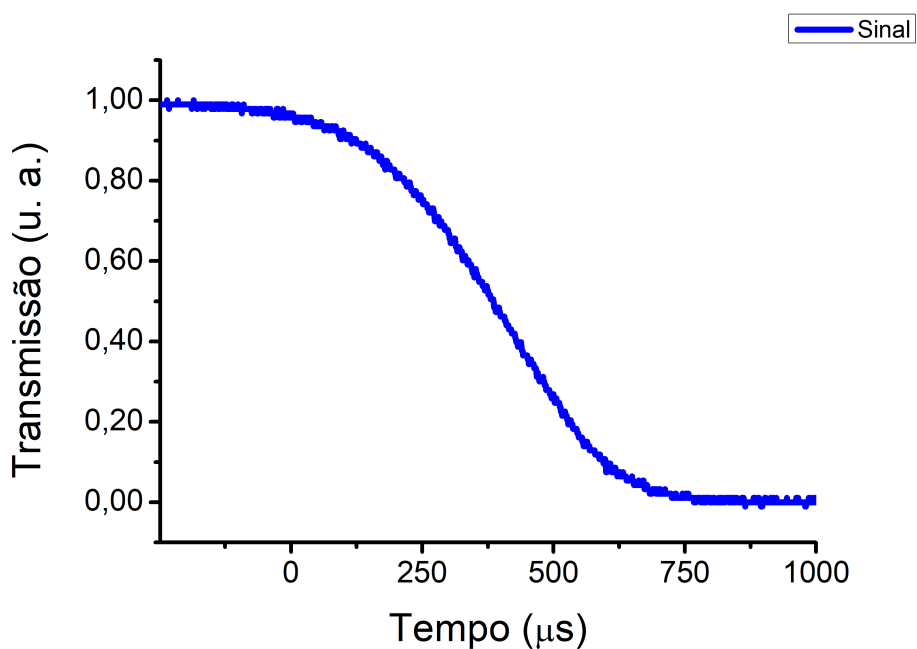


Figura 30 – Tempo de obstrução do laser pelo conjunto Atuador + Drive de modulação.

De maior relevância para o objetivo deste trabalho, o tempo de desobstrução alcançado, $\approx 90 \mu\text{s}$, pelo conjunto Drive de Modulação + Atuador eletromagnético se mostrou expressivo.

A escolha da operação realizada à frequência 0,25 Hz e regime de carga (duty cycle) 20% garantiu que a potência média dissipada na bobina do rele DNI0102 ficasse dentro de condições térmicas operacionais adequadas.

A Figura 31 exibe o tempo de atraso ("Delay time"), que se refere a diferença de tempo entre um sinal de comando, proveniente do gerador de sinais e, uma ação do atuador eletromagnético, assim como o Jitter do conjunto Atuador + Drive de Modulação.

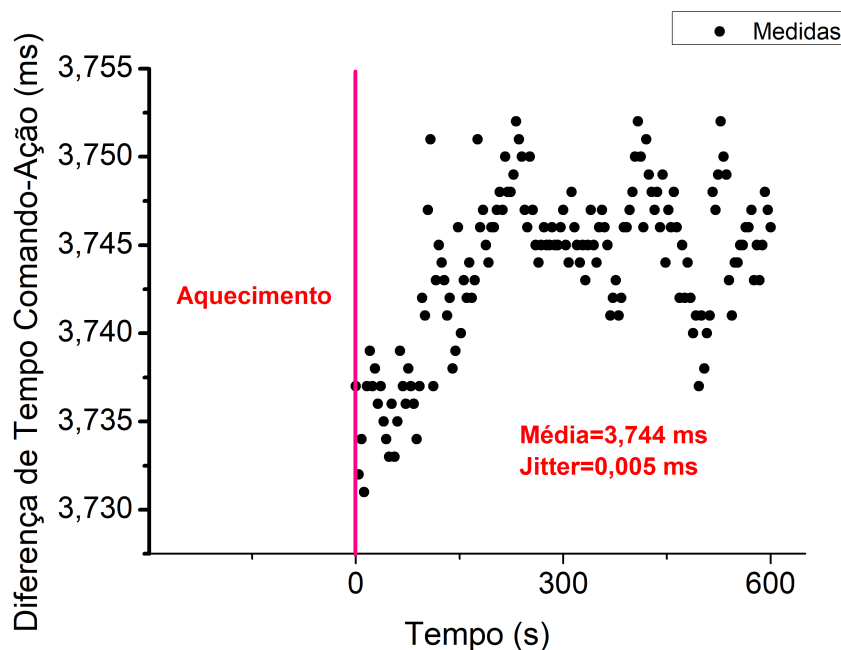


Figura 31 – Tempo de atraso ("Delay time") e Jitter do conjunto Atuador + Drive de modulação, em função do tempo de operação após o tempo de aquecimento de 5 min (300 s).

A partir da análise dos dados, observa-se que o atuador eletromagnético atinge um regime de estabilidade após 400 s de operação. Os resultados obtidos foram satisfatórios para o objeto desse trabalho.

5.4 Espectros de Absorção Experimentais: Razão Dímero-Monômero

A Figura 32 apresenta os espectros de absorção obtidos para as combinações de concentração/caminho óptico, com concentração entre $2,08 \times 10^{-3}$ M e $5,21 \times 10^{-4}$ M, à temperatura ambiente ($T = 25$ °C).

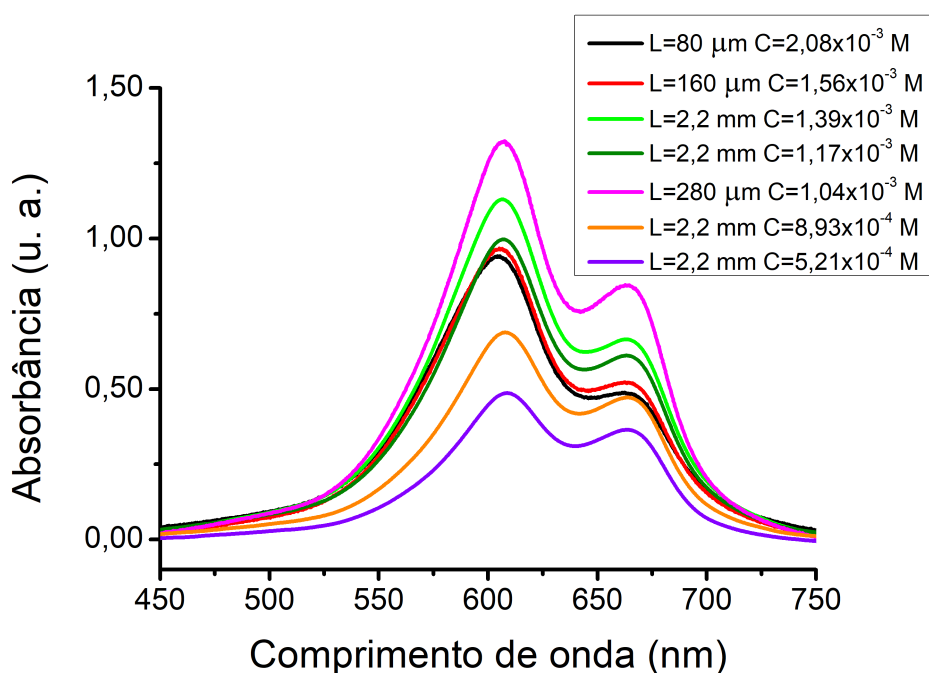


Figura 32 – Espectros de absorção obtidos com concentração entre $2,08 \times 10^{-3}$ M e $5,21 \times 10^{-4}$ M, para caminhos ópticos 2,2 mm, 280 μm, 160 μm e 80 μm, à temperatura ambiente ($T = 25$ °C).

Fica clara a influência da concentração escolhida, assim como sua dependência direta com o caminho óptico, nos valores de absorbâncias obtidas nos picos dos espécimes diméricos e monoméricos. Nota-se que os picos diméricos (≈ 605 nm) são relativamente mais altos que os respectivos picos monoméricos (≈ 665 nm), confirmando a predominância desse espécime na amostra para a concentração C entre $2,08 \times 10^{-3}$ M e $5,21 \times 10^{-4}$ M, à temperatura ambiente $T = 25$ °C.

A Figura 33 exibe o restante dos espectros de absorção obtidos para as combinações de concentração/caminho óptico, com concentração C entre $1,20 \times 10^{-4}$ M e $2,07 \times 10^{-5}$ M.

Nestas concentrações, é possível observar uma mudança na espécie predominante na amostra, já que os picos diméricos (≈ 605 nm) obtidos foram relativamente mais baixos que os respectivos picos monoméricos (≈ 665 nm).

O caminho óptico aplicado a cada concentração teve papel fundamental para manter o sinal obtido dentro da escala de trabalho do espectrômetro.

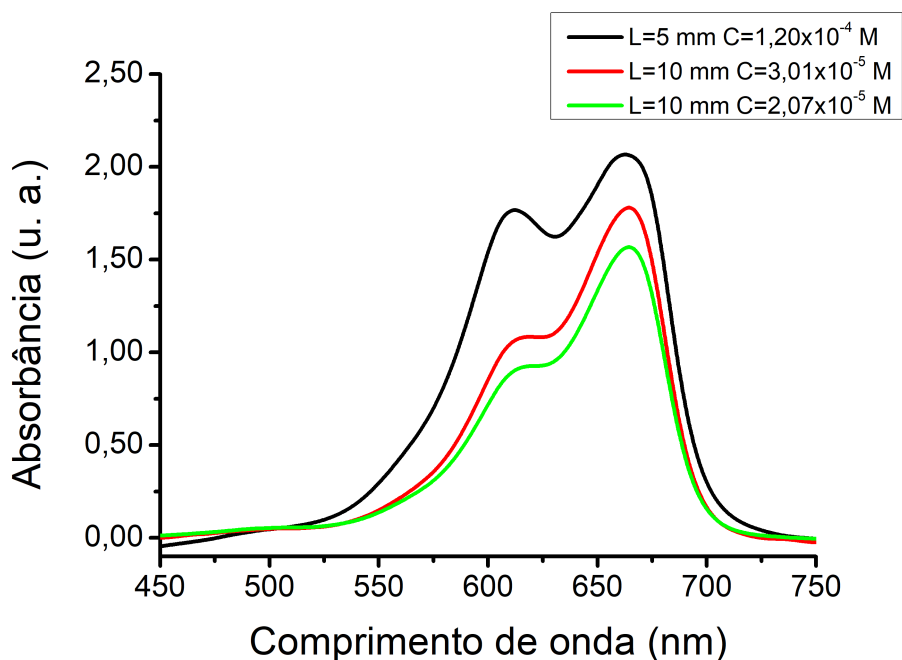


Figura 33 – Espectros de absorção obtidos para concentração entre $1,20 \times 10^{-4}$ M e $2,07 \times 10^{-5}$ M, para caminhos ópticos 5 mm e 10 mm, à temperatura ambiente $T = 25$ °C

Observou-se que, para o espectrômetro USB4000 utilizado nos testes, sinais com valores de absorbância superiores a 3 resultavam em achatamento da curva espectral, provavelmente devido à saturação de seu sensor interno. Foi possível, portanto, inferir que o aumento da concentração deveria ser diretamente acompanhado da diminuição do caminho óptico.

A escolha de combinações da concentração $C = 1,04 \times 10^{-3}$ M com caminho óptico $L = 280$ μm resultou no maior sinal obtido, confirmando a interdependência entre as duas variáveis para obtenção de valores satisfatórios de absorbância nos picos diméricos e monoméricos, e pavimentando a escolha posterior, ou seja, o estudo dos espectros de absorção de três concentrações ($2,08 \times 10^{-3}$ M, $1,56 \times 10^{-3}$ M e $1,04 \times 10^{-3}$ M) para os caminhos ópticos (L) 280 μm , 160 μm e 80 μm , também à temperatura ambiente ($T = 25$ °C).

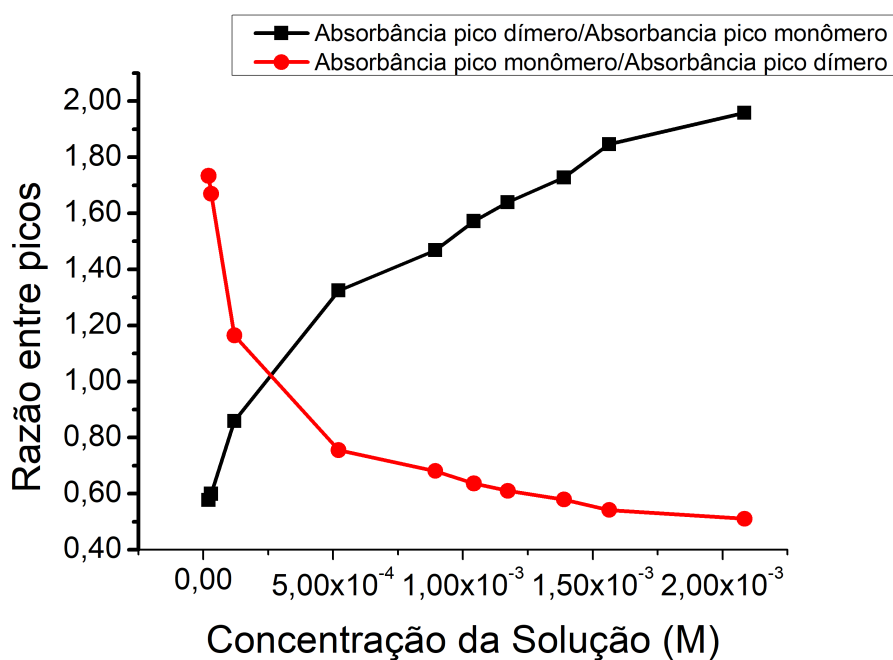
A Tabela 4 apresenta os valores de absorbâncias nos picos do dímero (605 nm) e monômero (665 nm) obtidos para cada concentração escolhida, através da análise dos espectros de absorção.

O exame dos dados mostrados na Tabela 4 possibilitou a avaliação quantitativa da razão dímero/monômero nas diferentes combinações de concentração/caminho óptico, exibida pela Figura 34.

Se faz importante observar que foi adotada a unidade Molar (M), equivalente a mols por litro (mol/L), para a representação das concentrações. Porém, se necessário, esta pode ser diretamente convertida para gramas por litro (g/L) quando multiplicada pelo valor da massa molar do azul de metileno utilizado, 319,85 g/Mol.

Tabela 4 – Valores de absorvâncias nos picos do dímero (605 nm) e monômero (665 nm) obtidos através os espectros de absorção analisados

Concentração Amostra (C)	Caminho Óptico (L)	Absorbancia pico Dímero	Absorbancia pico Monômero	Razão A605/A665	Razão A665/A605
M	mm	u. a.	u. a.	-	-
$2,08 \times 10^{-3}$	0,08	0,94	0,48	1,96	0,51
$1,56 \times 10^{-3}$	0,16	0,96	0,52	1,85	0,54
$1,39 \times 10^{-3}$	2,2	1,14	0,66	1,73	0,58
$1,17 \times 10^{-3}$	2,2	1,00	0,61	1,64	0,61
$1,04 \times 10^{-3}$	0,28	1,32	0,84	1,57	0,64
$8,93 \times 10^{-4}$	2,2	0,69	0,47	1,47	0,68
$5,21 \times 10^{-4}$	2,2	0,49	0,37	1,32	0,76
$1,20 \times 10^{-4}$	5	1,76	2,05	0,86	1,16
$3,01 \times 10^{-5}$	10	1,06	1,77	0,60	1,67
$2,07 \times 10^{-5}$	10	0,90	1,56	0,58	1,73

Figura 34 – Razão entre o valor de absorvância no pico dimérico (≈ 605 nm) e o valor de absorvância no pico monomérico (≈ 665 nm).

É possível observar que maiores concentrações apresentaram elevadas razões dímero-monômero, evidenciando a predominância do espécime dimérico na solução.

O resultado experimental corrobora a análise feita através do modelo matemático para a concentração $\approx 3 \times 10^{-5}$ M, onde foram produzidos espectros de absorção aproximados que apresentavam altos picos na banda monomérica, se comparados com respectivos picos na banda dimérica. Nesta baixa concentração, a predominância do espécime monomérico é comprovada pela baixa razão dímero-monômero encontrada à temperatura $T = 25$ °C.

Almejando potencializar o efeito de desagregação, ou seja, a conversão dímero em monômero nos experimentos de deposição de calor propostos na sequência desse trabalho, os resultados obtidos fundamentaram a decisão de trabalhar com as concentrações (C) $2,08 \times 10^{-3}$ M, $1,56 \times 10^{-3}$ M, $1,04 \times 10^{-3}$ M, $6,25 \times 10^{-4}$ M e $4,69 \times 10^{-4}$ M utilizando caminhos ópticos (L) $280 \mu\text{m}$, $160 \mu\text{m}$ e $80 \mu\text{m}$, à temperatura ambiente ($T = 25$ °C), na sequência da pesquisa. Estas concentrações correspondem a $0,667$ g/L, $0,5$ g/L, $0,333$ g/L, $0,2$ g/L e $0,15$ g/L, respectivamente.

As Figuras 35, 36 e 37 ilustram os espectros de absorção obtidos para as condições citadas.

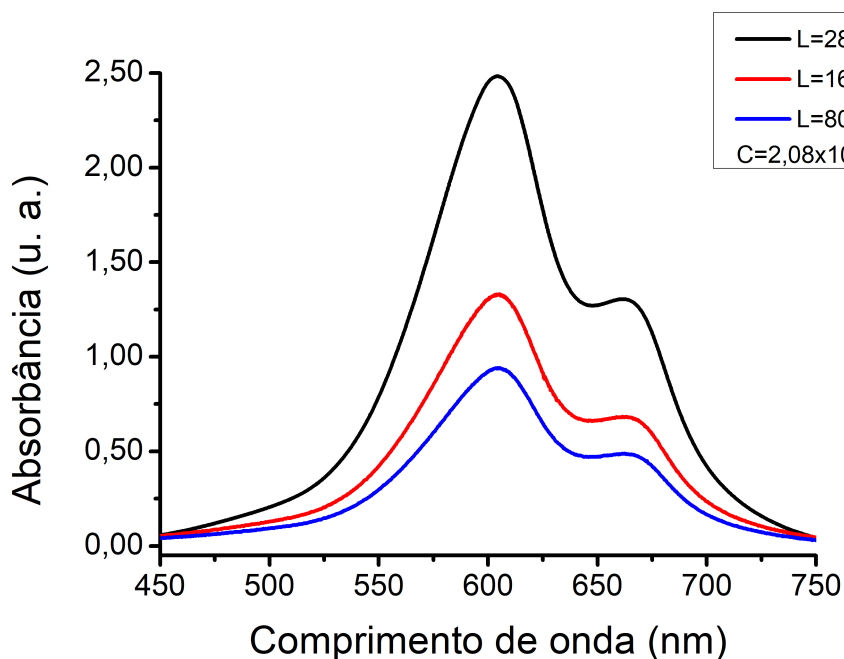


Figura 35 – Espectros de Absorção obtidos para concentração $2,08 \times 10^{-3}$ M, para os caminhos ópticos $280 \mu\text{m}$, $160 \mu\text{m}$ e $80 \mu\text{m}$, à temperatura ambiente ($T = 25$ °C).

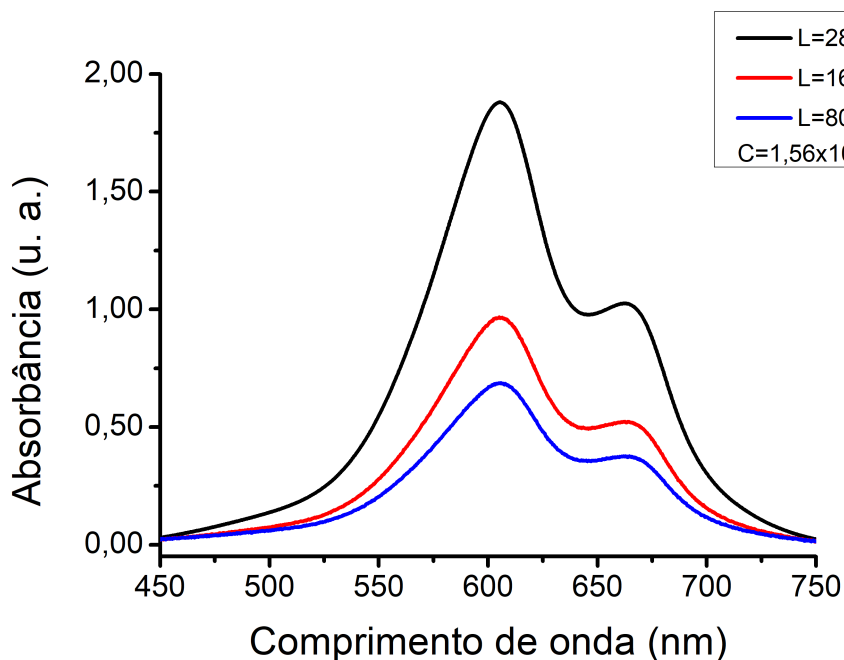


Figura 36 – Espectros de Absorção obtidos para concentração (C) $1,56 \times 10^{-3} \text{ M}$, para os caminhos ópticos $280 \mu\text{m}$, $160 \mu\text{m}$ e $80 \mu\text{m}$, à temperatura ambiente ($T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$).

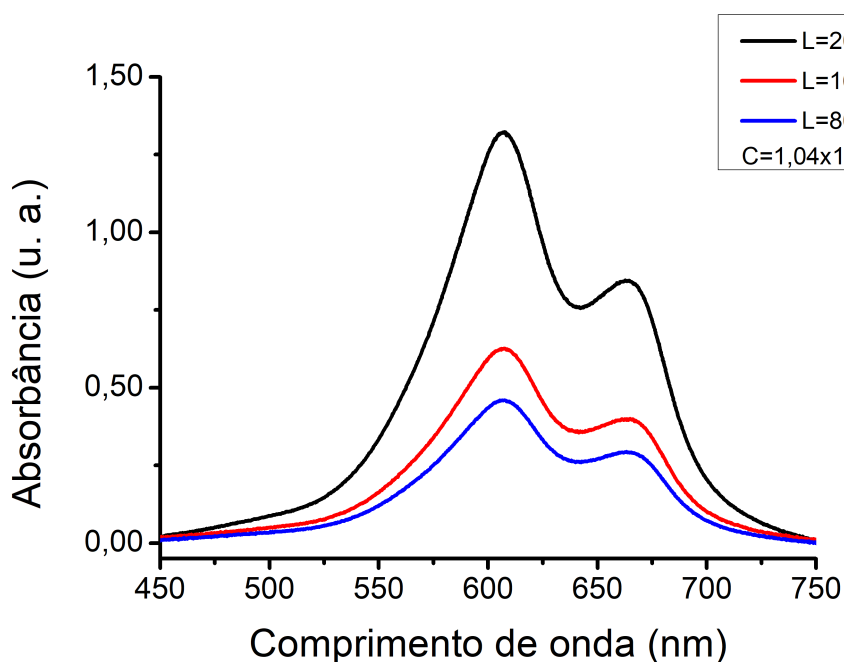


Figura 37 – Espectros de Absorção obtidos para concentração (C) $1,04 \times 10^{-3} \text{ M}$, para os caminhos ópticos $280 \mu\text{m}$, $160 \mu\text{m}$ e $80 \mu\text{m}$, à temperatura ambiente ($T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$).

Conforme a base teórica, os resultados obtidos para os espectros de absorção confirmam a relação direta entre a concentração e o caminho óptico com a absorbância da amostra, ou seja, quanto maiores a concentração e o caminho óptico, maior a capacidade de absorção da amostra.

5.5 Conversão Dímero-Monômero Induzida pela Variação de Temperatura da Amostra

A Figura 38 exibe os espectros obtidos, que ilustram, de forma simples, o efeito da variação de temperatura da amostra, no fenômeno de desagregação molecular de uma amostra de azul de metileno dissolvido em água.

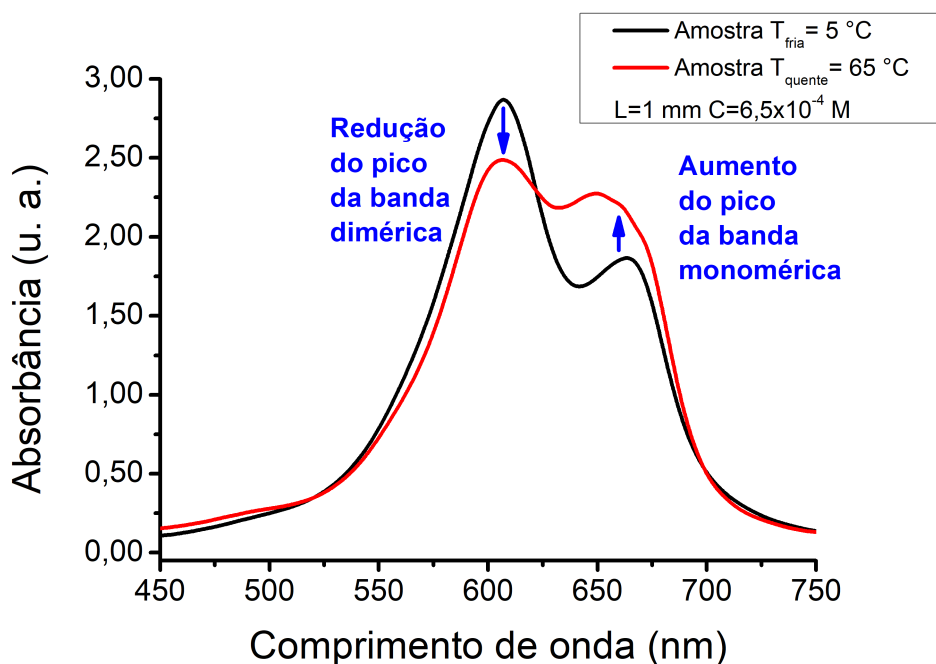


Figura 38 – Espectros de Absorção obtidos para concentração $6,25 \times 10^{-4}$ M, caminho óptico 1 mm, nas temperaturas T_{quente} e T_{fria} .

T_{quente} foi a temperatura da amostra proveniente do reservatório térmico quente (água a 65 °C) por 20 min e, respectivamente, T_{fria} , foi a temperatura da amostra originária do reservatório térmico frio (água a 5 °C), também por 20 min. O aquecimento da amostra induziu a desagregação molecular do corante azul de metileno dissolvido em água.

É possível observar a queda do pico da banda dimérica, evidenciando a diminuição desse espécime na amostra, acompanhado do consequente aumento do pico da banda monomérica. Quanto às razões dímero-monômero, para a amostra T_{fria} , o valor obtido foi 1,53. A amostra T_{quente} apresentou valor 1,17.

5.6 Conversão Dímero-Monômero Induzida pela Deposição de Calor por Laser

As Figuras 39, 40, 41, 42 e 43 exibem os sinais resultantes do comportamento dinâmico das amostras com concentrações (C) $2,08 \times 10^{-3}$ M, $1,56 \times 10^{-3}$ M, $1,04 \times 10^{-3}$ M, $6,25 \times 10^{-4}$ M e $4,69 \times 10^{-4}$ M, nos caminhos ópticos (L) $280 \mu\text{m}$, $160 \mu\text{m}$ e $80 \mu\text{m}$, à temperatura ambiente ($T = 25$ °C), quando submetidas à laser modulado em baixa frequência $0,25$ Hz, em regime de carga (duty cycle) 20%, durante a deposição de calor, com excitação na banda dimérica, utilizando laser de estado sólido bombeado por diodo laser com comprimento de onda de 532 nm.

As Figuras 44, 45, 46, 47 e 48 apresentam os sinais resultantes do comportamento dinâmico das amostras com concentrações (C) $2,08 \times 10^{-3}$ M, $1,56 \times 10^{-3}$ M, $1,04 \times 10^{-3}$ M, $6,25 \times 10^{-4}$ M e $4,69 \times 10^{-4}$ M, nos caminhos ópticos (L) $280 \mu\text{m}$, $160 \mu\text{m}$ e $80 \mu\text{m}$, à temperatura ambiente ($T = 25$ °C), quando submetidas à laser modulado em baixa frequência $0,25$ Hz, em regime de carga (duty cycle) 20%, durante a deposição de calor, com excitação na banda monomérica, utilizando laser semiconductor vermelho com comprimento de onda de 663 nm.

5.6.1 Excitação na Banda Dimérica

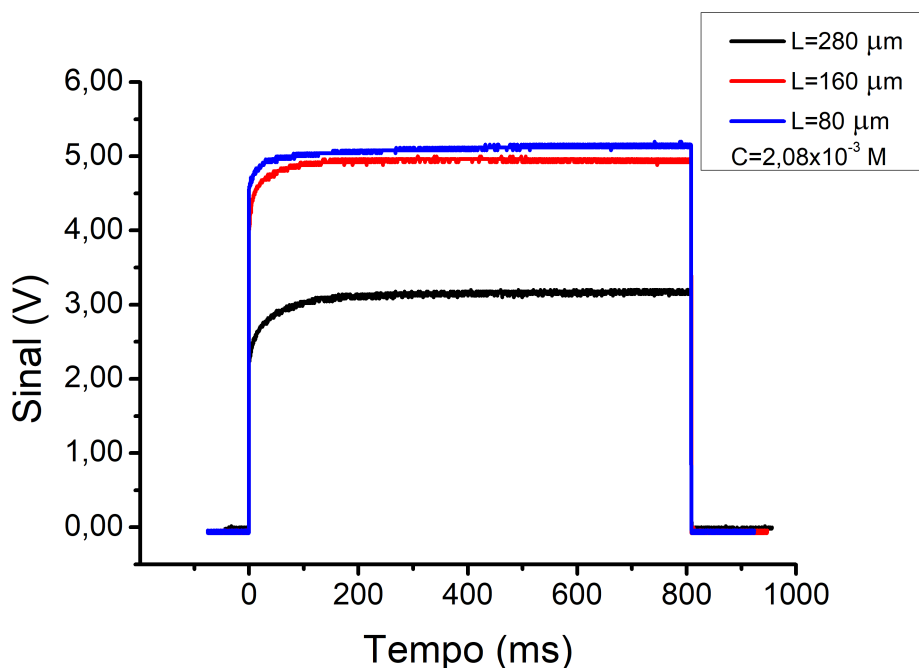


Figura 39 – Comportamento dinâmico para a concentração $2,08 \times 10^{-3}$ M, para os caminhos ópticos $280 \mu\text{m}$, $160 \mu\text{m}$ e $80 \mu\text{m}$, à temperatura ambiente ($T = 25$ °C), com excitação na banda dimérica.

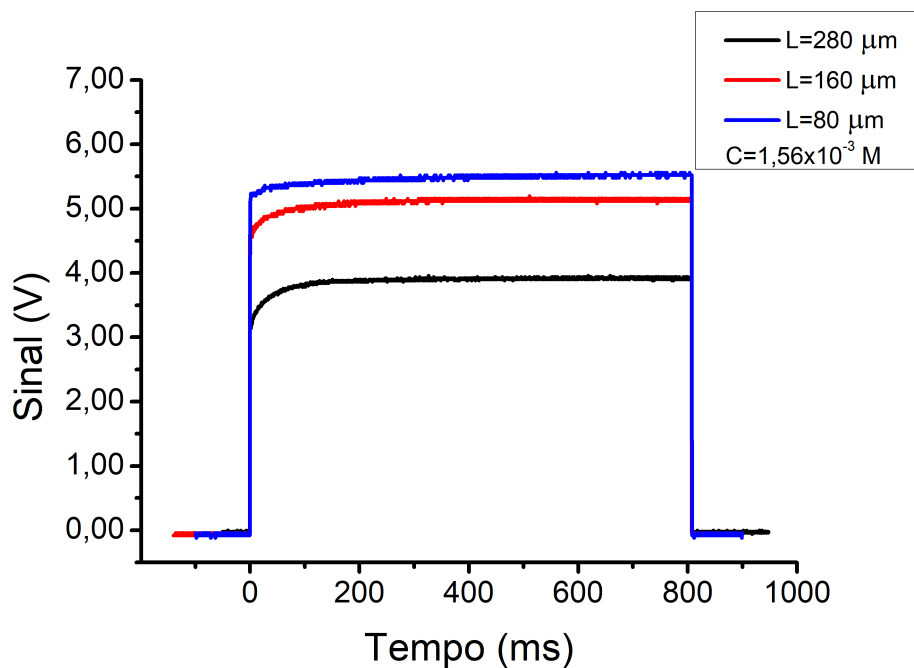


Figura 40 – Comportamento dinâmico para a concentração $1,56 \times 10^{-3}$ M, para os caminhos ópticos $280 \mu\text{m}$, $160 \mu\text{m}$ e $80 \mu\text{m}$, à temperatura ambiente ($T = 25^\circ\text{C}$), com excitação na banda dimérica.

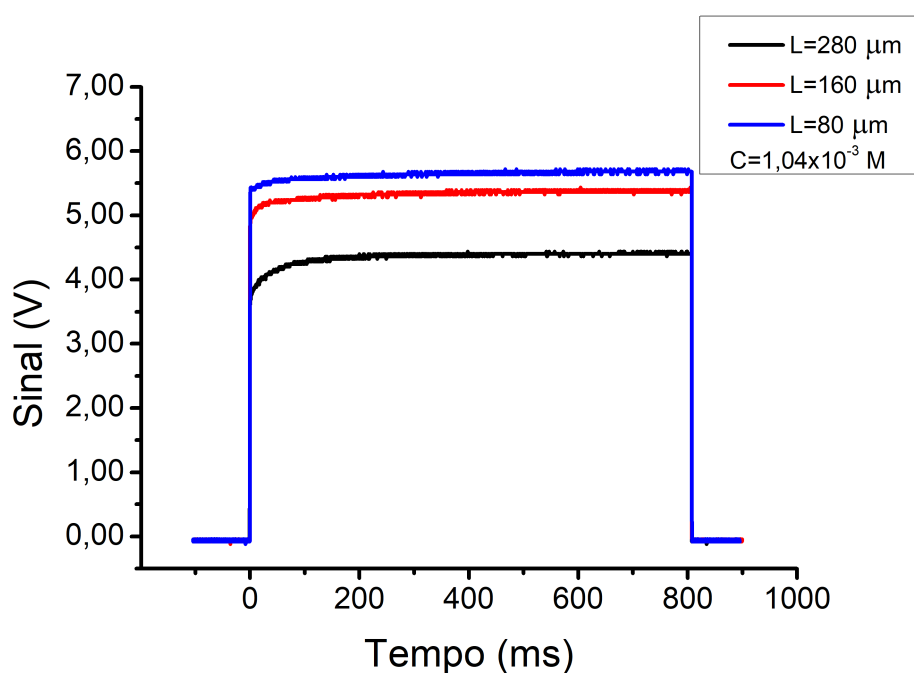


Figura 41 – Comportamento dinâmico para a concentração $1,04 \times 10^{-3}$ M, para os caminhos ópticos $280 \mu\text{m}$, $160 \mu\text{m}$ e $80 \mu\text{m}$, à temperatura ambiente ($T = 25^\circ\text{C}$), com excitação na banda dimérica.

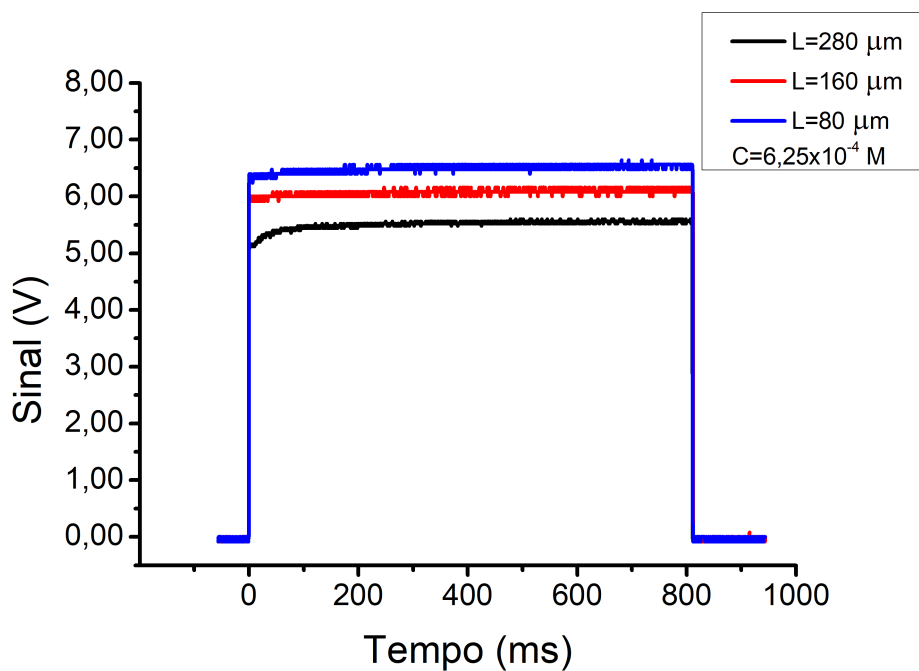


Figura 42 – Comportamento dinâmico para a concentração $6,25 \times 10^{-4} \text{ M}$, para os caminhos ópticos 280 μm , 160 μm e 80 μm , à temperatura ambiente ($T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$), com excitação na banda dimérica.

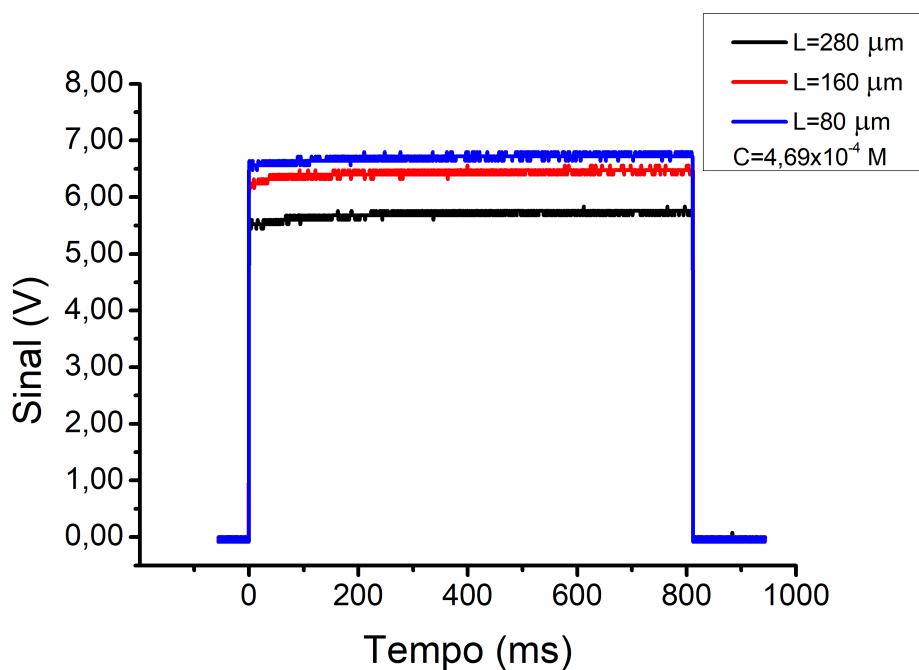


Figura 43 – Comportamento dinâmico para a concentração $4,69 \times 10^{-4} \text{ M}$, para os caminhos ópticos 280 μm , 160 μm e 80 μm , à temperatura ambiente ($T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$), com excitação na banda dimérica.

5.6.2 Excitação na Banda Monomérica

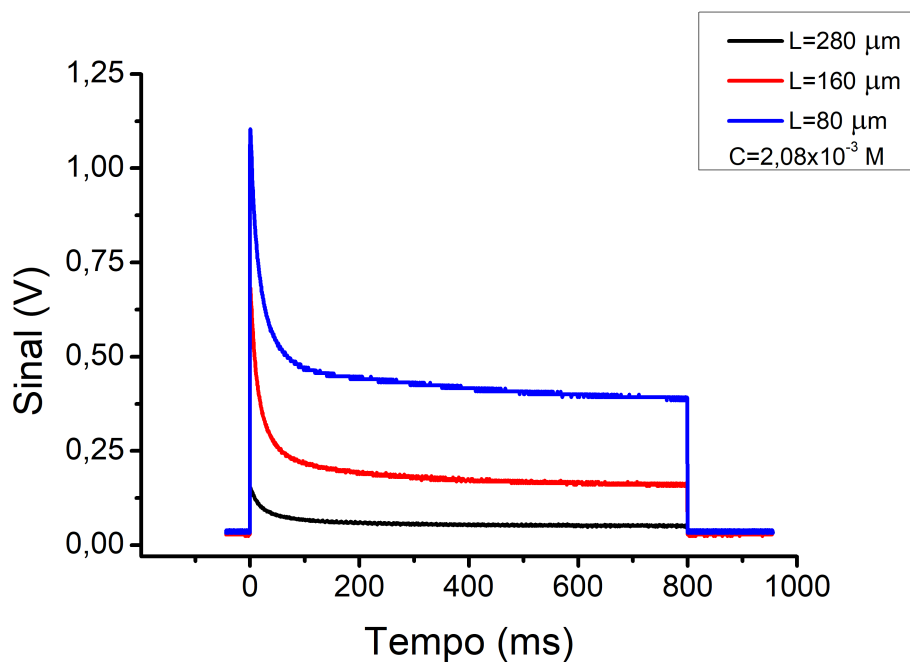


Figura 44 – Comportamento dinâmico para a concentração $2,08 \times 10^{-3} \text{ M}$, para os caminhos ópticos 280 μm , 160 μm e 80 μm , à temperatura ambiente ($T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$), com excitação na banda monomérica.

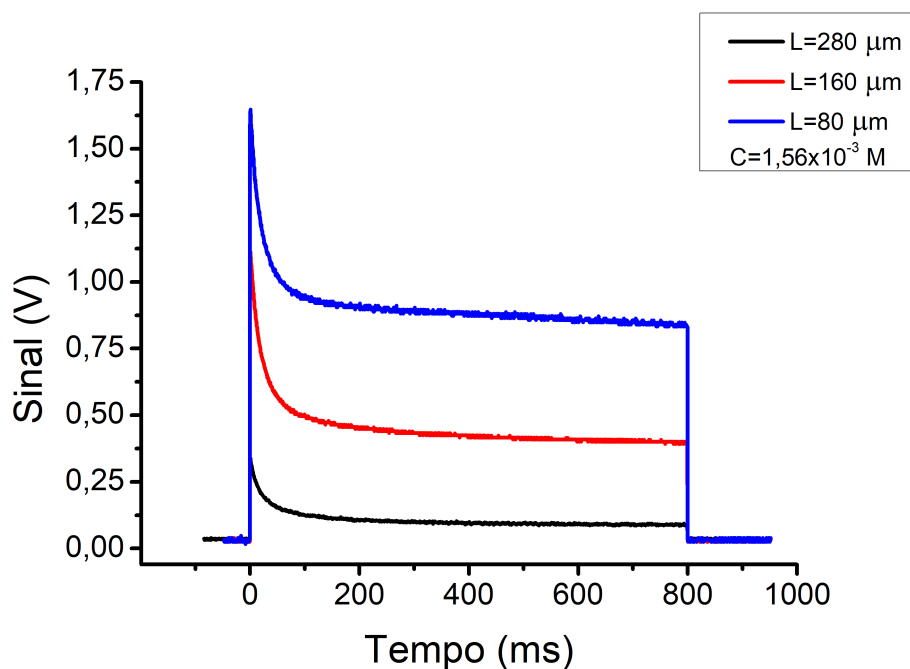


Figura 45 – Comportamento dinâmico para a concentração $1,56 \times 10^{-3} \text{ M}$, para os caminhos ópticos 280 μm , 160 μm e 80 μm , à temperatura ambiente ($T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$), com excitação na banda monomérica.

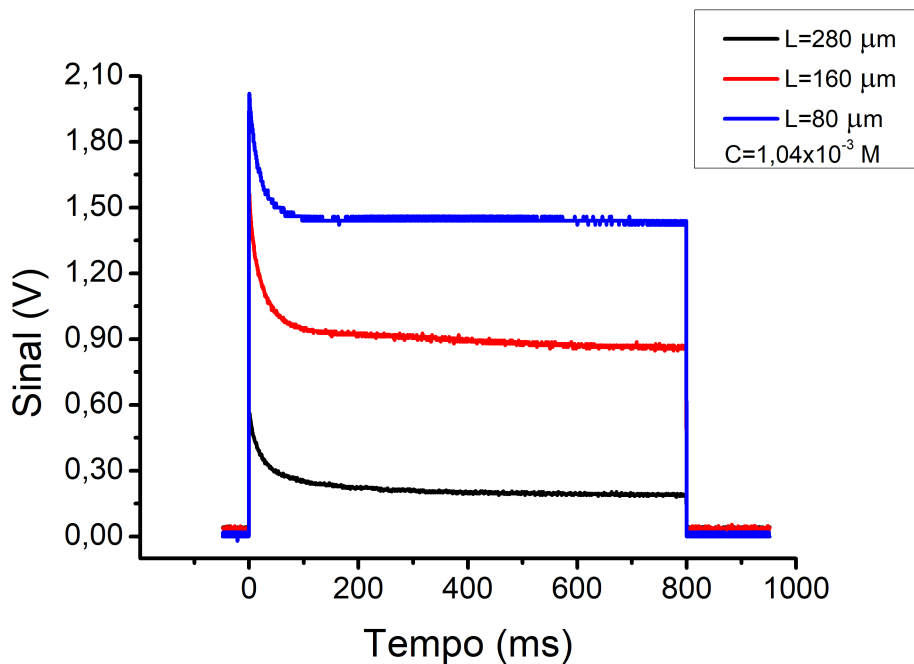


Figura 46 – Comportamento dinâmico para a concentração $1,04 \times 10^{-3} \text{ M}$, para os caminhos ópticos $280 \mu\text{m}$, $160 \mu\text{m}$ e $80 \mu\text{m}$, à temperatura ambiente ($T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$), com excitação na banda monomérica.

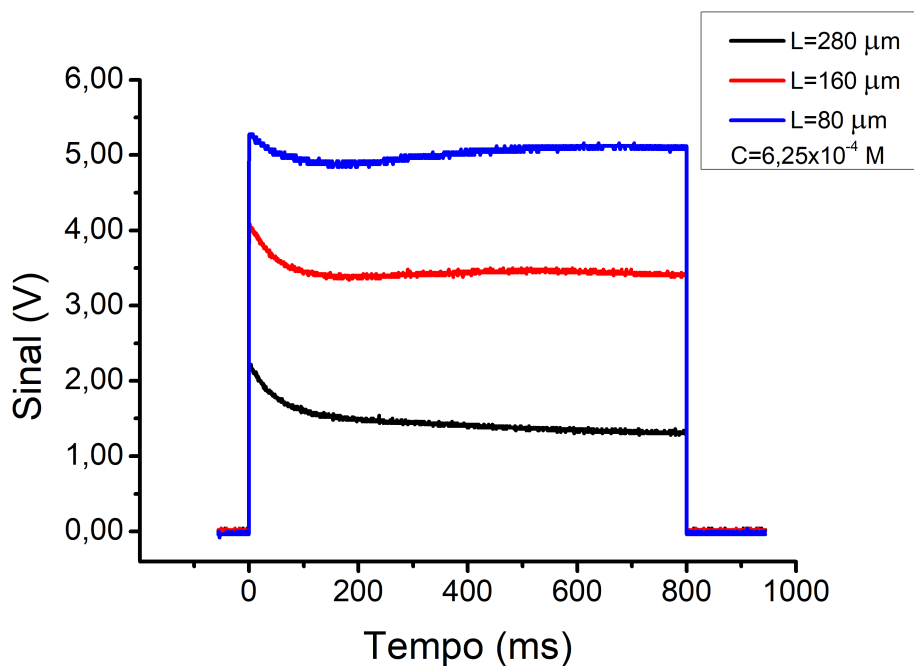


Figura 47 – Comportamento dinâmico para a concentração $6,25 \times 10^{-4} \text{ M}$, para os caminhos ópticos $280 \mu\text{m}$, $160 \mu\text{m}$ e $80 \mu\text{m}$, à temperatura ambiente ($T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$), com excitação na banda monomérica.

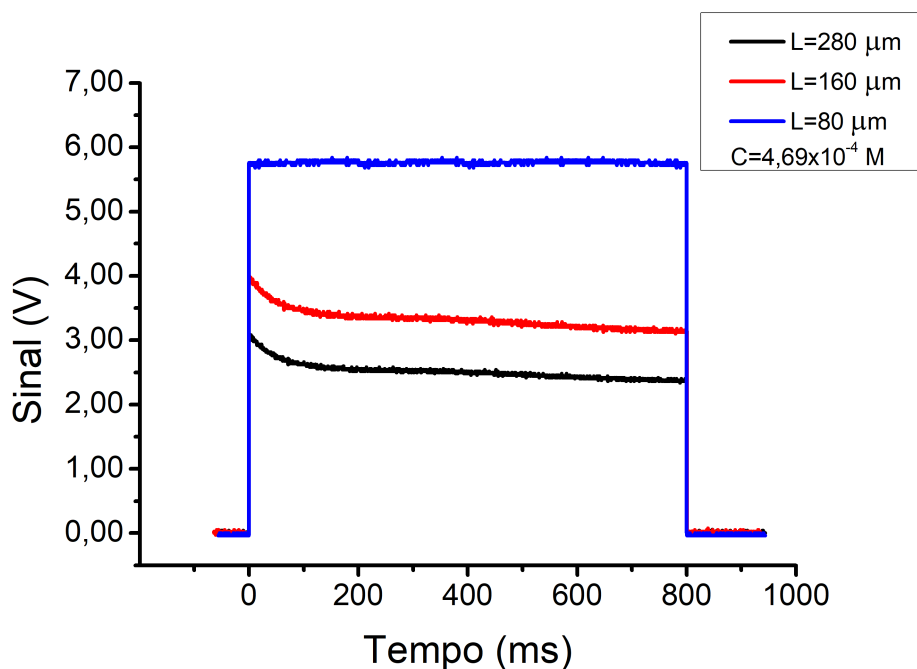


Figura 48 – Comportamento dinâmico para a concentração $4,69 \times 10^{-4}$ M, para os caminhos ópticos $280 \mu\text{m}$, $160 \mu\text{m}$ e $80 \mu\text{m}$, à temperatura ambiente ($T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$), com excitação na banda monomérica.

Para as cinco concentrações avaliadas com excitação na banda dimérica, em todos os caminhos ópticos, é possível observar uma assimetria inicial no comportamento dinâmico da amostra, ocorrendo de forma rápida, em intervalo de tempo inferior a $50 \mu\text{s}$. Entretanto, para a concentração (C) $4,69 \times 10^{-4}$ M, o efeito parece ser bem discreto, em todos os caminhos ópticos.

Da mesma forma que o observado para a excitação na banda dimérica, para as cinco concentrações avaliadas com excitação na banda monomérica, é possível observar uma assimetria inicial no comportamento dinâmico da amostra, ocorrendo de forma rápida, também em intervalo de tempo inferior a $50 \mu\text{s}$.

No caso da excitação na banda dimérica, a assimetria evidenciada sugere um efeito avalanche, onde a desagregação molecular do corante azul de metileno dissolvido em água, induzido pelo depósito de calor via laser, ocorre de forma rápida, com alta taxa de conversão dímero-monômero.

Tal efeito é destacado pelo queda abrupta do nível do sinal capturado pelo fotodetector, logo após a excitação laser, supostamente pelo rápido aumento da população do espécime monomérico na amostra, decorrente da conversão dímero-monômero, que resulta uma amostra mais absorvedora.

Segundo os cenários observados, a condição na qual a concentração (C) $4,69 \times 10^{-4}$ M e caminho óptico (L) $80 \mu\text{m}$ aparenta ser o caso extremo onde, em ambas as excitações, fica difícil identificar a assimetria, facilmente observada nos demais.

5.7 Potência de Saída em Função da Potência de Entrada na Conversão Dímero-Monômero Induzida por Laser.

5.7.1 Excitação na Banda Dimérica

As Figuras 49, 50, 51, 52 e 53 exibem as relações entre a potência de entrada e a potência de saída na conversão dímero-monômero, induzida por laser, com excitação na banda dimérica, obtidas em regime estacionário, nas concentrações (C) $2,08 \times 10^{-3}$ M, $1,56 \times 10^{-3}$ M, $1,04 \times 10^{-3}$ M, $6,25 \times 10^{-4}$ M e $4,69 \times 10^{-4}$ M, nos caminhos ópticos (L) $280 \mu\text{m}$, $160 \mu\text{m}$ e $80 \mu\text{m}$, à temperatura ambiente ($T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$). Importante ressaltar que quantidade de pontos foi limitada por dois fatores: pela quantidade de combinações produzidas pelos filtros de densidade neutra para atenuação do laser e, pela amplitude do sinal obtido pelo osciloscópio, sendo mantido o cuidado em obter dados dentro da região de linearidade do fotodetector SGD-444 e, também, evitando sinais muito baixos, próximos a região inferior da escala, sofrendo assim, influência relevante de ruídos. As amostras foram submetidas à laser modulado em baixa frequência $0,25$ Hz, em regime de carga (duty cycle) 20%, durante a deposição de calor, com excitação na banda dimérica, utilizando laser de estado sólido bombeado por diodo laser com comprimento de onda de 532 nm, modulado pelo conjunto Atuador eletromagnético + Driver de modulação.

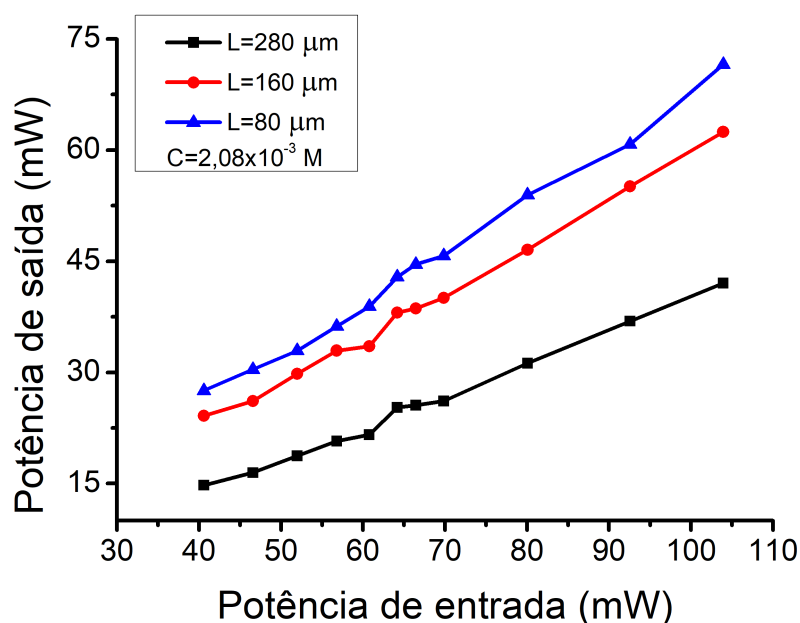


Figura 49 – Potência de saída em função da potência de entrada para a concentração $2,08 \times 10^{-3}$ M, nos caminhos ópticos $280 \mu\text{m}$, $160 \mu\text{m}$ e $80 \mu\text{m}$, à temperatura ambiente ($T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$), com excitação na banda dimérica.

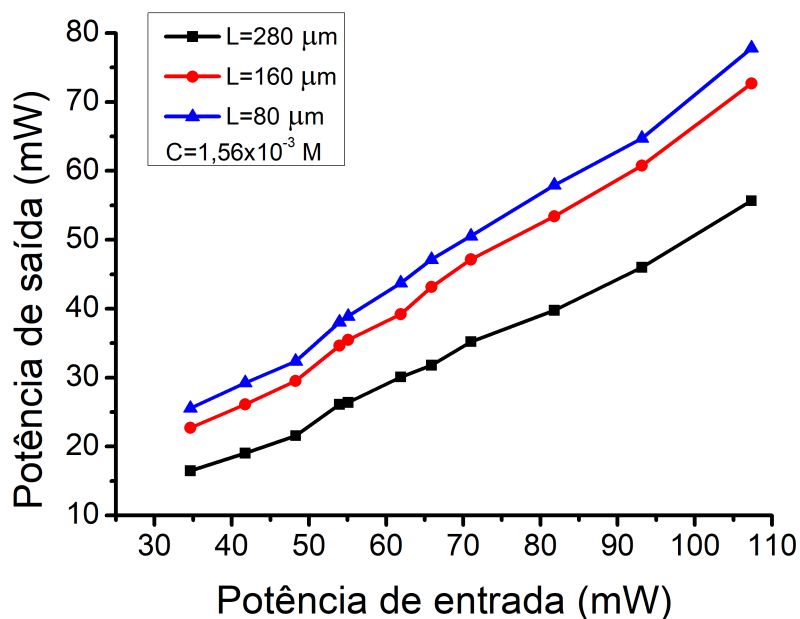


Figura 50 – Potência de saída em função da potência de entrada para a concentração $1,56 \times 10^{-3}$ M, nos caminhos ópticos $280 \mu\text{m}$, $160 \mu\text{m}$ e $80 \mu\text{m}$, à temperatura ambiente ($T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$), com excitação na banda dimérica.

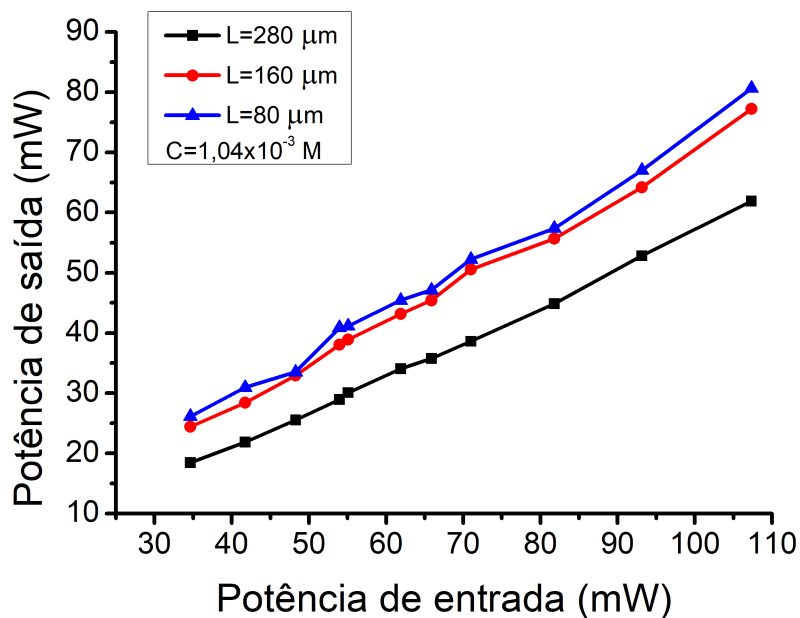


Figura 51 – Potência de saída em função da potência de entrada para a concentração $1,04 \times 10^{-3}$ M, nos caminhos ópticos $280 \mu\text{m}$, $160 \mu\text{m}$ e $80 \mu\text{m}$, à temperatura ambiente ($T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$), com excitação na banda dimérica.

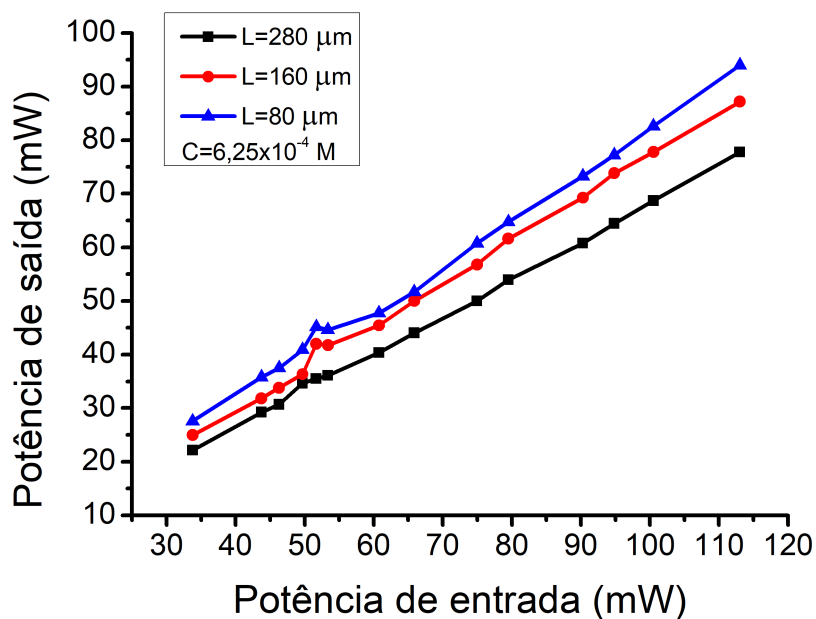


Figura 52 – Potência de saída em função da potência de entrada para a concentração $6,25 \times 10^{-4} \text{ M}$, nos caminhos ópticos 280 μm , 160 μm e 80 μm , à temperatura ambiente ($T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$), com excitação na banda dimérica.

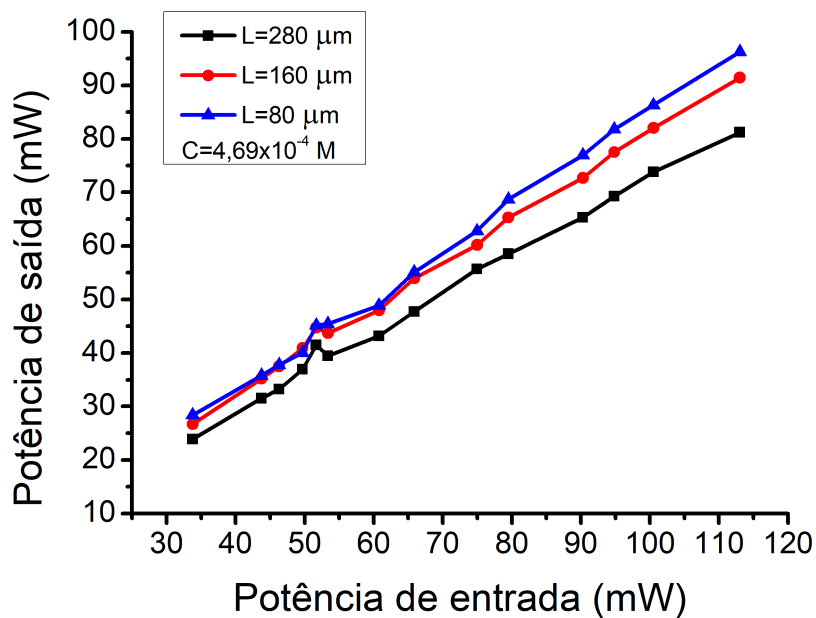


Figura 53 – Potência de saída em função da potência de entrada para a concentração $4,69 \times 10^{-4} \text{ M}$, nos caminhos ópticos 280 μm , 160 μm e 80 μm , à temperatura ambiente ($T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$), com excitação na banda dimérica.

5.7.2 Excitação na Banda Monomérica

As Figuras 54, 55, 56, 57 e 58 apresentam as relações entre a potência de entrada e a potência de saída na conversão dímero-monômero, induzida por laser, com excitação na banda monomérica, obtidas em regime estacionário, nas concentrações (C) $2,08 \times 10^{-3}$ M, $1,56 \times 10^{-3}$ M, $1,04 \times 10^{-3}$ M, $6,25 \times 10^{-4}$ M e $4,69 \times 10^{-4}$ M, nos caminhos ópticos (L) $280 \mu\text{m}$, $160 \mu\text{m}$ e $80 \mu\text{m}$, à temperatura ambiente ($T = 25^\circ\text{C}$).

As amostras foram submetidas à laser modulado em baixa frequência $0,25$ Hz, em regime de carga (duty cycle) 20% , durante a deposição de calor, com excitação na banda dimérica, utilizando laser semiconductor vermelho com comprimento de onda de 663 nm, mudulado via porta TTL.

Para as Figuras 54, 55, 56 e 57, foram adicionados gráficos auxiliares, á direita, em menor proporção, com o objetivo de auxiliar na visualização de dados, porventura, suprimidos pelo efeito de escala.

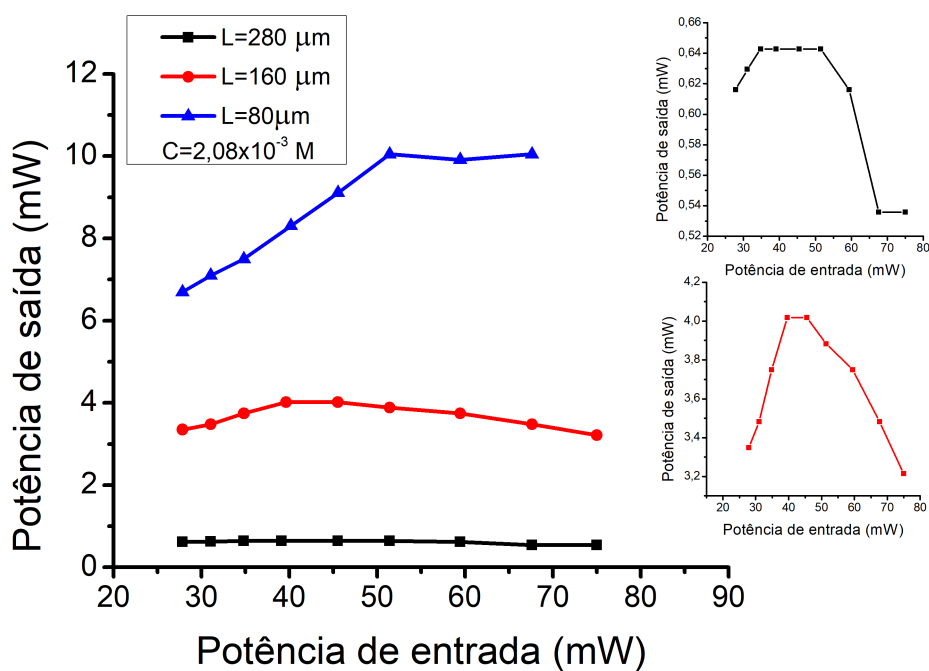


Figura 54 – Potência de saída em função da potência de entrada para a concentração $2,08 \times 10^{-3}$ M, nos caminhos ópticos $280 \mu\text{m}$, $160 \mu\text{m}$ e $80 \mu\text{m}$, à temperatura ambiente ($T = 25^\circ\text{C}$), com excitação na banda monomérica.

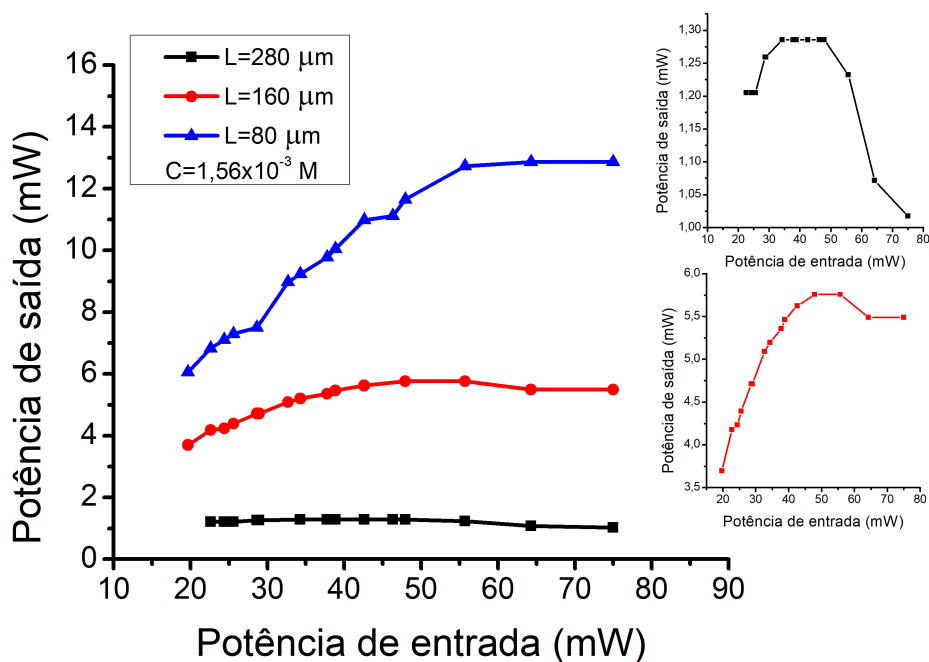


Figura 55 – Potência de saída em função da potência de entrada para a concentração $1,56 \times 10^{-3}$ M, nos caminhos ópticos $280 \mu\text{m}$, $160 \mu\text{m}$ e $80 \mu\text{m}$, à temperatura ambiente ($T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$), com excitação na banda monomérica.

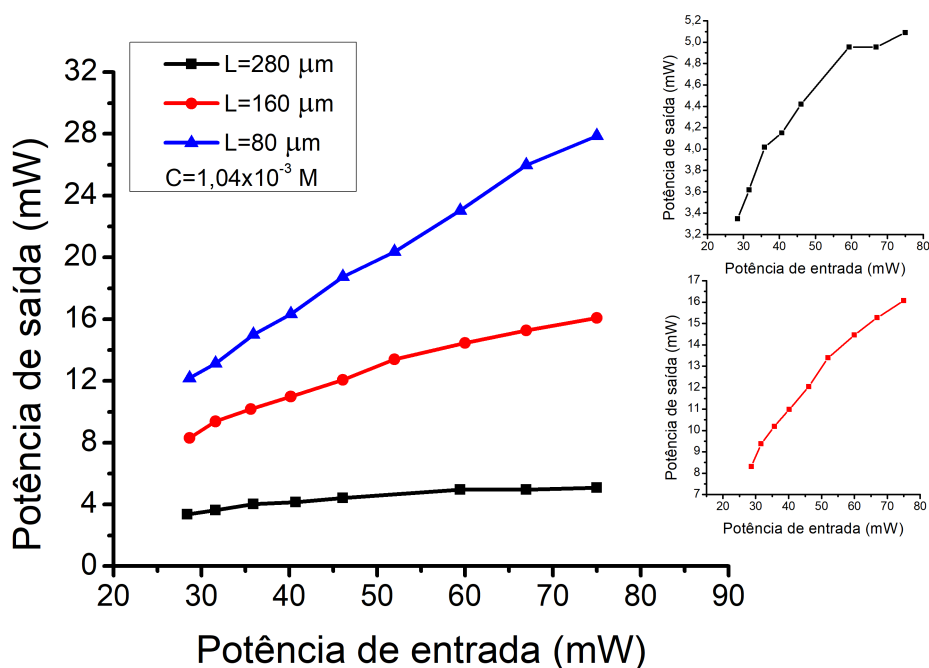


Figura 56 – Potência de saída em função da potência de entrada para a concentração $1,04 \times 10^{-3}$ M, nos caminhos ópticos $280 \mu\text{m}$, $160 \mu\text{m}$ e $80 \mu\text{m}$, à temperatura ambiente ($T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$), com excitação na banda monomérica.

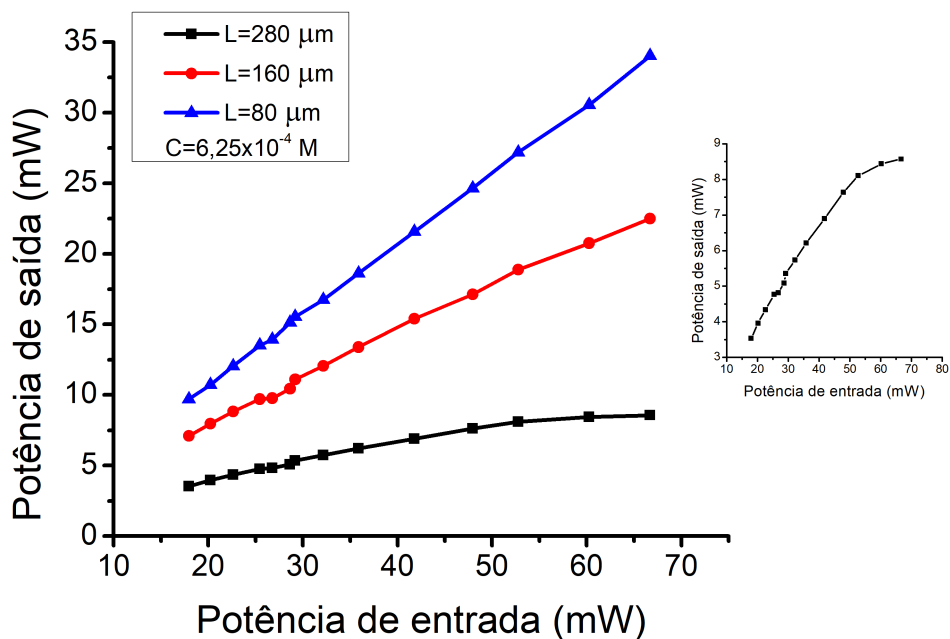


Figura 57 – Potência de saída em função da potência de entrada para a concentração $6,25 \times 10^{-4} \text{ M}$, nos caminhos ópticos $280 \mu\text{m}$, $160 \mu\text{m}$ e $80 \mu\text{m}$, à temperatura ambiente ($T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$), com excitação na banda monomérica.

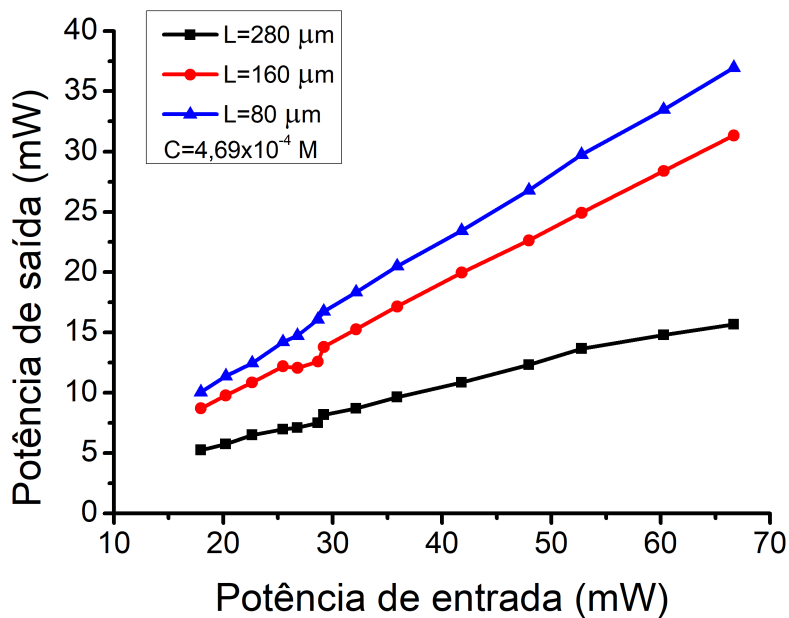


Figura 58 – Potência de saída em função da potência de entrada para a concentração $4,69 \times 10^{-4} \text{ M}$, nos caminhos ópticos $280 \mu\text{m}$, $160 \mu\text{m}$ e $80 \mu\text{m}$, à temperatura ambiente ($T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$), com excitação na banda monomérica.

Na excitação realizada na banda dimérica, os resultados, para a concentração $2,08 \times 10^{-3}$ M, evidenciam uma assimetria positiva na região entre 60 – 70 mW, onde existe uma alteração na proporcionalidade da relação entre as potências de entrada e saída. Esta parece indicar uma zona de transição entre duas regiões lineares. Nas concentrações $1,56 \times 10^{-3}$ M e $1,04 \times 10^{-3}$ M não se faz clara a mesma região de transição, porém, para as concentrações $6,25 \times 10^{-4}$ M e $4,69 \times 10^{-4}$ M, na região compreendida entre 50 – 55 mW, nota-se clara alteração no regime linear indicando, ainda, uma possível transição entre dois regimes lineares com inclinações distintas.

Os resultados da excitação na banda monomérica exibiram perfis parabólicos ou semi-parabólicos (com coeficiente $a < 0$), para as concentrações $2,08 \times 10^{-3}$ M, $1,56 \times 10^{-3}$ M e $1,04 \times 10^{-3}$ M, no entanto, para as concentrações $6,25 \times 10^{-4}$ M e $4,69 \times 10^{-4}$ M, é possível observar regiões de transição entre regimes lineares diferentes em 20 – 30 mW.

Existe uma diferença entre os resultados: as assimetrias vistas na excitação na banda dimérica foram positivas, ou seja, valores acima de referentes lineares. Já no caso da excitação na banda monomérica, as assimetrias observadas foram negativas, com valores menores que os possíveis referenciais lineares.

6 Discussão

Na presente investigação da hipótese do foto fármaco azul de metileno dissolvido em água apresentar respostas ópticas assimétricas, quando submetido à excitação termo-óptica em comprimentos de onda ajustados às bandas de absorção óptica do monômero ou do dímero, foram concebidos mecanismos teóricos e práticos, assim como instrumentação adicional.

Na área de saúde, modelos matemáticos gaussianos geralmente encontram grande utilidade na análise estatística de dados em epidemiologia (ALMEIDA, 2011). Na análise de espectros de absorção do corante azul de metileno, a deconvolução da curva de absorbância se mostra uma ferramenta eficiente para entendimento dos espécimes em solução. Ghanadzadeh et al. (2008), por exemplo, assume uma gaussiana ajustada à espécime monomérica, e subtraindo esta da espectro original, obtêm a segunda gaussiana, referente ao espécime dimérico. O modelo computacional desenvolvido se mostrou uma ótima ferramenta para solidificação do conteúdo associado a agregação molecular do corante azul de metileno, dissolvido em água, e a relação entre os espécimes dimérico e monomérico com a variação da temperatura. Tanto as curvas de Fração molar, como os espectros de absorção obtidos via soma de duas gaussianas representantes dos espécimes dimérico e monomérico, se mostraram bem próximas dos valores encontrados na literatura em Yazdani et al. (2012) e, valores experimentais aos quais foram comparados. Nessa faixa de concentração (por volta de 3×10^{-5} M), Tafulo, Queiros e Gonzalez-Aguilar (2009) relatam a dominância monomérica em relação à dimérica. Porém, a necessidade e dificuldade nos ajustes dos comprimentos de banda dos espécimes ω_D e ω_M , que causam diferenças significativas nos espectros finais, aumenta a complexidade de seu uso. Sendo assim, o modelo matemático proposto cumpre seu papel na visualização da interação dímero-monômero devido a deposição de calor e sedimentação desse conhecimento, entretanto, falha ao ser uma ferramenta efetiva para simulação de dados precisos.

A escolha pelo fotodetector SGD-444 baseou-se inteiramente nos resultados de resposta ao estímulo laser (Rise time e Fall time), e no menor sinal de escuro (Dark signal). O tempo de subida ou descida de um fotodiodo é definido como o tempo de resposta entre 10% e 90% da amplitude do sinal (UDT SENSORS INC., 1982). Sendo versátil, dada sua área ativa e velocidade de resposta, o fotodetector SGD-444 encontra uso em atividades mais complexas como ao registro de sinais de campos elétricos e sinais luminosos de relâmpagos (GUO; KRIDER, 1982). Em todos os experimentos realizados neste trabalho, houve a preocupação com a preservação do fotodetector SGD-444 empregado, adicionando filtro de densidade óptica sempre posicionado antes do transdutor. Comparados a outros componentes em sistemas ópticos, os fotodetectores são mais vulneráveis a danos devido à sua forte absorção das frequências de operação e à frequente exposição à irradiação focalizada (WATKINS et al., 1990).

O diâmetros dos lasers foram medidos através da técnica knife-edge por meio de motor de corrente contínua (Chip SCE, RF-300CA-11440) com rotação máxima de 7.000 rpm. Através da medição da potência do laser em relação à sua obstrução, essa possibilita descobrir o perfil transversal do laser utilizado (RODRIGUES, 2009).

Dipositivos capazes de modular lasers são essenciais para experimentos baseados em laser e soluções confiáveis podem ser projetadas a partir de elementos mais baratos (MAGUIRE; SZILAGYI; SCHOLTEN, 2004; MARTINEZ; HERNANDEZ; REYES, 2011; ZHANG et al., 2015). Um relé é um tipo de interruptor que é acionado eletricamente por meio de um eletroímã. Ele garante um completo isolamento elétrico entre um circuito primário, que fornece o sinal de controle, e um circuito secundário controlado, que está conectado à carga que precisa ser comutada. O circuito primário geralmente é conectado a uma fonte de corrente contínua de baixa tensão e é composto por uma bobina eletromagnética que cria um campo magnético quando a corrente passa pelo fio. No final da bobina, há um braço pivotado com um contato de interruptor, que é atraído ou repelido pelo campo magnético (EVANS, 2021; WITTER; POLEVOY, 1996). Os relés eletromagnéticos têm muitas aplicações diferentes, desde produtos de massa até componentes de sistemas críticos e especializados (KIRSCHBAUM et al., 2022). Por exemplo, relés automotivos são usados no controle de fios de ignição, faróis e buzinas, e devem ser capazes de lidar com correntes de até 30 – 40 A (BHATT; KAMDAR, 2019).

O conjunto Drive de Modulação + Atuador eletromagnético (relé automotivo DNI0102) teve o desempenho superior ao esperado, superando dispositivos comerciais. O tempo de desobstrução observado $\approx 90 \mu\text{s}$ foi, de fato, surpreendente. Dispositivos eletromecânicos comerciais, conhecidos como "shutters" e "choppers", que atuam com o mesmo objetivo de modulação óptica, interrompendo ou permitindo a passagem de um laser, são capazes de conceder tempos de desobstrução da ordem de 1 – 50 ms para "shutters" e abaixo de 1 ms para "choppers", e são caros (BONETTI; GOBRECHT, 2000; PASCHOTTA, 2008). O tempo de obstrução do feixe, $\approx 550 \mu\text{s}$ também se mostrou bastante satisfatório. A implementação do circuito elétrico do equipamento Driver de modulação demandou muito tempo, sendo a versão apresentada neste trabalho, a terceira experimentada. A dificuldade encontrada na adaptação do relé automotivo DNI0102 residiu na fixação da bandeira de alumínio ao braço de ação do relé. Diversos tipos de cola foram testados sem sucesso, já que devido a velocidade envolvida, o elemento sempre se desprendia em função da grande flexão gerada. Por fim, a cola de contato utilizada para junta de motores automotivos (3M Brasil) foi a responsável pela solução. O próprio relé automotivo DNI0102 foi selecionado em meio a dois outros relés de uso industrial, porém que apresentaram desempenho inferior quando ao tempo de desobstrução do laser. O funcionamento do conjunto na frequência 0,25 Hz e regime de carga (duty cycle) 20% foi fundamental, pois, mesmo após operar por horas seguidas, não foi evidenciado aquecimento do elemento. A utilização do chip monoestável SN74121 (TEXAS INSTRUMENTS, 2005), dos transistores NPN 2N222 (PHILIPS, 1997) e 2SD1459 (SANYO, 1998) possibilitou a implementação dos dois regimes de tensão e ajuste de

tempo necessário entre eles, necessários ao projeto. O emprego dos transistores em cascata deveu-se ao fato do transistor 2N2222 ter a capacidade de chaveamento rápido, sendo então utilizado como amplificador de corrente para saturação do transistor 2SD1459, que trabalha em até 150 V de tensão.

A espectroscopia de absorção UV-Visível é a melhor forma para o estudo quantitativo do fenômeno de agregação de corantes em função da concentração (GHASEMI; NIAZI; KUBISTA, 2005). O estudo dos espectros obtidos apresenta como resultado dois picos de absorção distintos, centrados em ≈ 605 nm e em ≈ 663 nm. Embora exista uma sobreposição das bandas do dímero e do monômero, em uma primeira aproximação, pode-se afirmar que a absorção em 663 nm é principalmente devida à presença da espécie monomérica e a absorção em 605 nm é principalmente devida à presença do espécime dimérico. No espectro do azul de metileno dissolvido em água, com o aumento da concentração o pico em 605 nm, devido ao dímero, aumenta de intensidade em detrimento da intensidade daquele em 663 nm, atribuído ao monômero. Um ponto isobéptico aproximado foi observado a 630 nm (PATIL; PAWAR; TALAP, 2000). A elevação da concentração ocasiona um acréscimo na quantidade de dímeros, visto que diminui a distância intermolecular e favorece a probabilidade de encontro de duas moléculas com conseqüente acoplamento entre elas. Contudo, essa ocorrência é indesejável, uma vez que a dimerização reduz a eficiência de produção do radical oxidante (oxigênio singlete), que é a espécie molecular ativa sob o ponto de vista terapêutico. Por esse motivo, pesquisadores têm se dedicado a criar mecanismos que minimizem o processo de agregação molecular, visando maximizar a eficiência terapêutica desses fármacos.

A análise da influência do resfriamento e aquecimento da amostra na conversão dímero-monômero, foi essencial para o entendimento da relação da dinâmica entre as bandas diméricas e monoméricas e o distúrbio causado ao equilíbrio dos espécimes pela deposição de calor. Esta técnica foi observada em diversos estudos, nos quais amostras são aquecidas em um forno ou em um banho de água aquecido (MORADIAN; GHASEMI; DEZHAMPANAH, 2020; MORADIAN et al., 2020; SABATE; ESTELRICH, 2008; SYAMALA et al., 2019; YAZDANI et al., 2012). Devido a baixa concentração ($3,00 \times 10^{-5}$ M) e, também baixa razão dímero-monômero, o modelo computacional exibiu espectros predominantemente monoméricos, potencializados pelo aumento da temperatura da amostra. Já o teste experimental, utilizando a concentração $6,25 \times 10^{-4}$ M (0,20 g/L), escolhida devido a sua razão dímero-monômero intermediária, foi eficaz em ilustrar um regime predominantemente dimérico, onde a desagregação molecular foi impulsionada pela deposição de calor na amostra, evidenciada pela redução da banda dimérica e conseqüente incremento da banda monomérica.

A concentração da amostra e do caminho óptico escolhidos, sendo mantida a temperatura, tem papel fundamental no fenômeno de agregação molecular do corante azul de metileno, seja na razão entre as espécies constituintes da amostra em equilíbrio, seja em sua capacidade de absorção. A combinação destas variáveis gera grande versatilidade no uso experimental do corante azul de metileno. Além das altas razões dímero-monômero observadas, as concentrações $2,08 \times 10^{-3}$ M, $1,56 \times 10^{-3}$

M e $1,04 \times 10^{-3}$ M (0,670 g/L, 0,500 g/L e 0,330 g/L) também foram escolhidas devido a facilidade para confecção das amostras, sendo as razões soluto-solução esteque 1 : 2, 1 : 1 e 2 : 1, respectivamente. Já as concentrações $6,25 \times 10^{-4}$ M e $4,69 \times 10^{-4}$ M surgiram da necessidade, durante os experimentos de deposição de calor via laser, onde observou-se a carência de menores concentrações para melhor investigação das assimetrias encontradas.

Sendo a deposição de calor induzida pelo laser empregada na conversão de dímeros em monômeros (desagregação), resultando em comportamentos dinâmicos assimétricos durante o processo de acumulação de calor, dependendo se o comprimento de onda de excitação do laser está dentro das bandas de absorção ótica do monômero ou do dímero, surgem duas premissas. Se o comprimento de onda de excitação do laser estiver ajustado na banda de absorção do dímero, o acúmulo de calor na amostra deve causar a desagregação do dímero, resultando em uma diminuição na intensidade da banda de absorção do dímero e uma redução na eficiência do processo de deposição de calor do laser. À medida que mais dímeros se desintegram, a eficiência de deposição de calor diminui ainda mais ao excitar com um comprimento de onda de absorção de dímero. Por outro lado, quando o comprimento de onda de excitação do laser é ajustado na banda de absorção do monômero, o acúmulo de calor na amostra deve levar à desagregação do dímero, resultando em um aumento na absorção óptica devido ao aumento da concentração de monômero. Isso, por sua vez, deve melhorar a eficiência do processo de deposição de calor do laser. A melhoria da eficiência de deposição de calor deve, então, retroalimentar o processo de desintegração do dímero (produção de monômero) com novos incrementos na absorção de luz do laser e assim por diante podendo, tal efeito cooperativo, levar a um provável efeito avalanche induzido pelo laser no processo de desagregação do dímero (produção de monômero).

Analisando agora, a partir dos comprimentos de onda empregados nesta pesquisa, no momento que o laser de 663 nm aquece a amostra, a conversão de dímeros em monômeros é iniciada, o que aumenta a concentração de monômeros e torna a amostra mais absorvente. Isso resulta em uma redução na transmissão da amostra e em uma diminuição no sinal capturado pelo fotodetector. Conforme a amostra se torna mais absorvente, a absorção de luz do laser aumenta, melhorando a eficiência de deposição de calor e cooperando com o processo de conversão de dímeros em monômeros. Isso, por sua vez, diminui ainda mais a luz recebida pelo fotodetector, criando um efeito em cascata que pode ser interpretado como um processo de avalanche induzido pelo laser em nível molecular/supramolecular.

Enquanto para a excitação de 663 nm a transmissão da amostra diminui com o tempo, como visto pela diminuição do sinal do detector, para a excitação de 532 nm, a transmissão da amostra é vista aumentando à medida que o tempo passa, como observado pelo aumento do sinal do fotodetector. Esse comportamento crescente de transmissão é explicado pela redução progressiva da concentração de dímeros devido ao calor depositado pelo laser.

As relações de potência de entrada e potência de saída, para as diferentes concentrações e caminhos ópticos, em excitações na banda dimérica e monomérica, mostraram resultados que

corroboram com a análise acima descrita, onde as assimetrias positivas vistas na excitação na banda dimerica, ou seja, valores acima de referentes lineares, ilustram uma amostra mais transmissiva nesta banda e, no caso da excitação na banda monomérica, as assimetrias negativas, com valores menores que os possíveis referenciais lineares, uma amostra mais absorvedora nesta banda.

As assimetrias observadas exibem regiões de mudança súbita na linearidade. Possivelmente, nestas regiões de transição, toda a quantidade de dímero em solução se dissocie repentinamente em monômeros, alterando assim o coeficiente de extinção óptica da amostra. Uma vez que a amostra se aproxima de uma solução de monômero puro, é razoável esperar que a amostra siga um comportamento linear novamente. Para os comportamentos parabólicos encontrados, o regime de alta potência se afasta da linearidade à medida que o sistema passa a se comportar como um limitador óptico dentro da faixa de densidade de potência empregada neste trabalho, provavelmente devido ao surgimento de outros tipos de não linearidades, entre elas a própria degradação da amostra. Em direção à espessuras óptica mais curtas, ou seja, concentrações mais baixas combinadas com comprimentos de amostra mais curtos, a diferença entre os regimes de baixa e alta potência diminui.

No regime de alta potência, espera-se um aumento da concentração de monômeros acompanhado de um aumento da densidade óptica da amostra e, portanto, uma menor transmissão óptica. Os dados apresentados mostram que, de fato, para a faixa de alta potência, a transmissão da amostra é menor do que a observada ao longo da faixa de baixa potência para as amostras medidas. A estreita região de transição observada aponta para uma densidade de potência óptica crítica bem definida para que o efeito avalanche ocorra.

É relevante destacar que mudanças nos regimes lineares e descontinuidades (assimetrias) nas curvas de potência de saída em função da potência de entrada, presentes nos dados apresentados, foram identificadas em publicações anteriores. Entretanto, até o momento, nenhum autor havia percebido a existência de um fenômeno distinto, que foi discutido neste trabalho e observado nos dados. A literatura existente demonstra curvas de potência de saída em função da potência de entrada para outros corantes em outras concentrações, com assimetrias não lineares semelhantes, porém não discutidas, como pode ser observado em Pramodini, Poornesh e Nagaraja (2013), Pramodini, Rao e Poornesh (2014), Rashidian et al. (2009) e Yao et al. (2013).

7 Considerações Finais

O estudo do fenômeno de modulação termo-óptica no composto fenotiazínico azul de metileno por meio de deposição de calor por laser levou à descoberta de um novo fenômeno de avalanche no nível molecular, além da observação de comportamentos ópticos de materiais ainda não relatados. Os dados experimentais obtidos confirmaram a hipótese inicial de existência de respostas ópticas assimétricas de corantes agregados sob excitação de laser com comprimentos de onda nas bandas de absorção do monômero ou do dímero.

Os comportamentos ópticos observados, que resultam da modulação via laser de estados de agregação molecular, podem encontrar aplicações no aperfeiçoamento e evolução de técnicas praticadas na Terapia fotodinâmica, assim como no campo da eletrônica orgânica e dispositivos, como portas lógicas ópticas.

Tanto o projeto mecânico e eletrônico do equipamento para atuar na modulação de laser de estado sólido verde utilizado nos experimentos, assim como, os testes experimentais para captura e análise do efeito de modulação óptica associado à agregação molecular do azul de metileno dissolvido em água, a partir da deposição de calor utilizando laser, nos comprimentos de onda dos picos dos espécimes dimérico e monomérico, foram implementados satisfatoriamente. Ambos foram essenciais para a capura e análise do fenômeno de modulação termo-óptica no composto fenotiazínico azul de metileno.

Em próximos trabalhos, almejamos explorar e viabilizar experimentos para aquisição de espectros de absorbância durante o bombeio laser, analisar as constantes de tempo das exponenciais características das assimetrias observadas, assim como utilizar as técnicas/protocolos empregados nesta investigação para explorar outros corantes que possuem auto-agregação.

Existe, também, a intenção de explorar uma configuração onde dois lasers seriam utilizadas, uma para a deposição de calor (bombeio), como aplicado neste trabalho, e outra como sinal de prova (sonda), correspondendo a técnica conhecida, em idioma inglês, "Dual Beam pump-probe". Sendo assim, seria possível operar o sinal de prova em um comprimento de onda diferente do aplicado para a deposição de calor, amplificando a possibilidade de análise da deposição de calor na conversão dímero-monômero.

Referências

- ABDELBAR, M. F. et al. Halogen bond triggered aggregation induced emission in an iodinated cyanine dye for ultrasensitive detection of ag nanoparticles in tap water and agricultural wastewater. *RSC advances*, v. 8, p. 24617–24626, 2018.
- ACKROYD, R. et al. The history of photodetection and photodynamic therapy. *Photochemistry and Photobiology*, v. 74, n. 5, p. 656–669, 2001.
- AGHAHOSSEINI, F. et al. Methylene blue-mediated photodynamic therapy: A possible alternative treatment for oral lichen planus. *Lasers in Surgery and Medicine*, v. 38, p. 33–38, 2006.
- AL-AMRI, M. D.; EL-GOMATI, M. M.; ZUBAIRY, M. S. Optics in our time. *Springer International Publishing AG*, 2016.
- ALLISON, R. R. et al. Photosensitizers in clinical pdt. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, v. 1, p. 27–42, 2004.
- ALMEIDA, A. C. L. *Modelos Matemáticos de Propagação de Epidemias Baseados em Redes Sociais e Detecção de Clusters de Doenças*. Tese (Doutorado) — Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil, 2011.
- ALVES, L. P. *Absorção Óptica Transiente No Composto Fenotiazínico Azul De Toluidina*. Tese (Doutorado) — Universidade Camilo Castelo Branco, São José dos Campos, Brasil, 2014.
- BACELLAR, I. Membrane damage efficiency of phenothiazinium photosensitizers. *Photochem. Photobiol.*, v. 90, n. 4, p. 801–813, 2014.
- BHATT, M.; KAMDAR, J. Automation in automotive electric system. *International Journal of Scientific Engineering and Science*, v. 3, n. 6, p. 1–4, 2019.
- BIALAS, D. et al. Perspectives in dye chemistry: A rational approach toward functional materials by understanding the aggregate state. *Journal of the American Chemical Society*, v. 143, n. 12, p. 4500–4518, 2021.
- BONETTI, Y. C.; GOBRECHT, J. Rotating shutters: a mechanical way of flattening gaussian beam profiles in time average. *Dyes and Pigments*, v. 31, n. 39, p. 5806–5810, 2000.
- BRICKS, J. L. et al. Fluorescent j-aggregates of cyanine dyes: basic research and applications review. *Methods and applications in fluorescence*, v. 6, n. 1, p. 012001, 2017.
- CECATTO, R. B. et al. Methylene blue mediated antimicrobial photodynamic therapy in clinical human studies: The state of the art. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, v. 31, p. 101828, 2020.
- COATES, E. Aggregation of dyes in aqueous solutions. *J. Soc. Dyers Colour.*, v. 85, p. 355–368, 1969.

- COLLINA, G. A. da. *Avaliação de um enxaguante bucal a base de azul de metileno na inativação de Candida albicans por terapia fotodinâmica*. Dissertação (Mestrado) — Universidade Nove de Julho, São Paulo, Brasil, 2016.
- DENNIS, E. et al. Photodynamic therapy for cancer. *Nat. Rev. Cancer*, v. 3, p. 381–387, 2003.
- 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.
- EG&G OPTOELETRONICS. *EG&G Optoelectronics SGD SERIES datasheet*. EUA, 2000.
- EG&G OPTOELETRONICS. *EG&G Optoelectronics UV SERIES datasheet*. EUA, 2004.
- EVANS, P. How relays work. 2021. Disponível em: <<https://theengineeringmindset.com/how-relays-work/>>.
- FERNANDEZ-PEREZ, A.; MARBAN, G. Visible light spectroscopic analysis of methylene blue in water; what comes after dimer? *ACS omega*, v. 5, n. 46, p. 29801–29815, 2020.
- FLORENCE, N.; NAOREM, H. Dimerization of methylene blue in aqueous and mixed aqueous organic solvent: A spectroscopic study. *Journal of Molecular Liquids*, v. 198, p. 255–258, 2014.
- GERSCHMAN, R. et al. Oxygen poisoning and x-irradiation: a mechanism in common. *Science*, v. 119, n. 3097, p. 623–6, 1954.
- GHANADZADEH, A. et al. Concentration effect on the absorption spectra of oxazine1 and methylene blue in aqueous and alcoholic solutions. *Journal of Molecular Liquids*, v. 138, p. 100–106, 2008.
- 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*, v. 62, p. 649–656, 2005.
- GILES, C. H.; DU, D. G. Water: A comprehensive treatise. *F. Franks, Plenum, New York*, vol. II., 1973.
- GIROLDO, L. M. et al. Photodynamic antimicrobial chemotherapy (pact) with methylene blue increases membrane permeability in candida albicans. *Lasers in medical Science*, v. 24, n. 1, p. 109–112, 2009.
- GUNAYDIN, G.; GEDIK, M. E.; AYAN, S. Photodynamic therapy - current limitations and novel approaches. *Frontiers in Chemistry*, v. 9, 2021.
- GUO, C.; KRIDER, E. P. The optical and radiation field signatures produced by lightning return strokes. *Journal Of Geophysical Research*, v. 87, n. C11, p. 8913–892, 1982.
- GUO, H. et al. Singlet oxygen-induced apoptosis of cancer cells using upconversion fluorescent nanoparticles as a carrier of photosensitizer. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine.*, v. 6, n. 3, p. 486–495, 2010.
- HA, T.; TINNEFELD, P. Photophysics of fluorescent probes for single-molecule biophysics and super-resolution imaging. *Annual review of physical chemistry*, v. 63, 2012.
- HECHT, M.; WURTHNER, F. Supramolecularly engineered j-aggregates based on perylene bisimide dyes. *Accounts of Chemical Research*, v. 54, n. 3, p. 642–653, 2020.

- HESTAND, N. J.; SPANO, F. C. Molecular aggregate photophysics beyond the kasha model: novel design principles for organic materials. *Accounts of chemical research*, v. 50, n. 2, p. 341–350, 2017.
- HEYNE, B. Self-assembly of organic dyes in supramolecular aggregates. *Photochemical & Photobiological Sciences*, v. 15, n. 9, p. 1103–1114, 2016.
- HOLLAS, J. M. Modern spectroscopy. *John Wiley & Sons Ltd*, 2004.
- HUFF, J. S. et al. Excited-state lifetimes of dna-templated cyanine dimer, trimer, and tetramer aggregates: The role of exciton delocalization, dye separation, and dna heterogeneity. *The Journal of Physical Chemistry B*, v. 125, n. 36, p. 10240–10259, 2021.
- JELLEY, E. E. Spectral absorption and fluorescence of dyes in the molecular state. *Nature*, v. 138, p. 1009–1010, 1936.
- JI, C. et al. Organic dye assemblies with aggregation-induced photophysical changes and their bio-applications. *M. Aggregate*, v. 2, n. 4, p. e39, 2021.
- JUNQUEIRA, H. C. et al. Modulation of the methylene blue photochemical properties based on the adsorption at aqueous micelle interfaces. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, v. 4, p. 2320–8, 2002.
- JURGENS, M.; MAYERHOFER, T.; POPP, J. Handbook of biophotonics. vol.1: Basics and techniques. *Wiley-VCH Verlag GmbH and Co. KGaA*, 2011.
- KARSENTI, E. Self-organization in cell biology: a brief history. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, v. 9, p. 255–262, 2008.
- KIRSCHBAUM, L. et al. Prognostics for electromagnetic relays using deep learning. *IEEE Access*, v. 10, p. 4861–4895, 2022.
- KOCHEVAR, I. E.; REDMOND, R. W. Photosensitized production of singlet oxygen. *Methods Enzymol.*, v. 319, p. 20–8, 2000.
- LAUSTRIAT, G. Molecular mechanisms of photosensitization. *Biochimie*, v. 68, n. 6, p. 771–8, 1986.
- LI, Z. et al. Single mode optofluidic distributed feedback dye laser. *Optics Express*, v. 14, n. 2, p. 696–701, 2006.
- LINS, R. D. A. U. et al. Biostimulation effects of low-power laser in the repair process. *An Bras Dermatol*, v. 85, n. 6, p. 849–855, 2010.
- LUTKUS, L. V.; RICKENBACH, S. S.; MCCORMICK, T. M. Singlet oxygen quantum yields determined by oxygen consumption. *Journal of Photochemistry & Photobiology A: Chemistry*, v. 378, p. 131–135, 2019.
- MAGUIRE, L. P.; SZILAGYI, S.; SCHOLTEN, R. E. High performance laser shutter using a hard disk drive voice-coil actuator. *Review of Scientific Instruments*, v. 75, n. 9, p. 3077–3079, 2004.
- MARTINEZ, S.; HERNANDEZ, L.; REYES, D. Fast, small, and low vibration mechanical laser shutters. *Review of Scientific Instruments*, v. 82, n. 046102, 2011.
- MENDES, B. et al. Influence of rose bengal dimerization on photosensitization. *Photochemistry and Photobiology*, v. 97, n. 4, p. 718–726, 2021.

- MOORE, C. M. et al. Does photodynamic therapy have the necessary attributes to become a future treatment for organ-confined prostate cancer? *Br J Urol Int*, v. 96, p. 754–758, 2005.
- MORADIAN, S. et al. Spectrophotometric-chemometrics study of the effect of solvent composition and temperature on the spectral shape and shift of copper and nickel phthalocyanines in different aqueous-nonaqueous mixed solvents. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, v. 227, p. 117621, 2020.
- MORADIAN, S.; GHASEMI, J. B.; DEZHAMPANAH, H. Chemometrics-spectroscopic study of the effect of temperature and pre-micellar to post-micellar forms of various surfactants on the dimerization of nickel and copper phthalocyanines. *Journal of Molecular Liquids*, v. 300, p. 112350, 2020.
- MUNIN, E. et al. Study of germtube formation by candida albicans after photodynamic antimicrobial chemotherapy. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, v. 88, n. 1, p. 16–20, 2007.
- NATHAN, C.; DING, A. Snapshot: Reactive oxygen intermediates (roi). *Cell*, v. 140, n. 6, p. 951–951, 2010.
- NAZEMISALMAN, B.; FARSADEGHI, M.; SOKHANSANJ, M. Types of lasers and their applications in pediatric dentistry: a review. *Lasers Med Sci*, v. 6, n. 3, p. 96–101, 2015.
- NISBET, E. G.; SLEEP, N. H. The habitat and nature of early life. *Nature*, v. 409, n. 6823, p. 1083–91, 2001.
- NONELL, S.; FLORS, C. Singlet oxygen: Applications in biosciences and nanosciences. *Comprehensive Series In Photochemistry And Photobiology*, v. 13, 2016.
- OCEAN OPTICS INC. *USB4000 Fiber Optic Spectrometer Installation and Operation Manual*. EUA, 2008.
- ORMOND, A. B.; FREEMAN, H. S. Dye sensitizers for photodynamic therapy. *Materials*, v. 6, p. 817–840, 2013.
- PASCHOTTA, R. Beam shutters. *Encyclopedia of Laser Physics and Technology*, n. 1, 2008.
- PATIL, K.; PAWAR, R.; TALAP, R. Self-aggregation of methylene blue in aqueous medium and aqueous solutions of bu4nbr and urea. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, v. 2, p. 4313–4317, 2000.
- PHILIPS. *2N2222 NPN switching transistor Datasheet*. EUA, 1997.
- PHILP, D.; STODDART, J. F. Self-assembly in natural and unnatural systems. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, v. 35, p. 1155–1196, 1996.
- POWELL, R. Types of lasers. *Springer Handbook of Atomic, Molecular, and Optical Physics. Springer Handbooks*, 2006.
- PRAMODINI, S.; POORNESH, P.; NAGARAJA, K. K. Thermally induced nonlinear optical response and optical power limiting of acid blue 40 dye. *Current Applied Physics*, v. 13, n. 7, p. 1175–1182, 2013.
- PRAMODINI, S.; RAO, A.; POORNESH, P. Studies on thermally induced third-order optical nonlinearity and optical power limiting response of azure b under cw he–ne laser excitation. *Optics and Laser Technology*, v. 62, p. 58–62, 2014.

- PU, Y. et al. Synthesis of dye conjugates to visualize the cancer cells using fluorescence microscopy. *Applied optics*, v. 53, n. 11, p. 2345–2351, 2014.
- PZ HTL S.A. *Labmate Pro Handbook*. Polônia, 2015.
- QI, Y. et al. Effect of ethylene glycol and its derivatives on the aggregation properties of reactive orange 13 dye aqueous solution. *RSC Advances*, v. 10, n. 57, p. 34373–34380, 2020.
- RASHIDIAN, M. et al. Nonlinear responses and optical limiting behavior of basic violet 16 dye under cw laser illumination. *Optik*, v. 120, n. 18, p. 1000–1006, 2009.
- RODRIGUES, A. de S. *Estudo do Perfil Espacial de Feixes Através da Técnica Knife-edge*. Tese (Doutorado) — Universidade Federal De Uberlândia, Uberlândia, Brasil, 2009.
- ROTH, S. M. et al. Synthetic access to benzimidacarbocyanine dyes to tailor their aggregation properties. *The Journal of Organic Chemistry*, v. 86, n. 13, p. 8641–8651, 2021.
- SABATE, R.; ESTELRICH, J. Determination of the dimerization constant of pinacyanol: Role of the thermochromic effect. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, v. 70, n. 2, p. 471–476, 2008.
- SAIKIN, S. K. et al. Photonics meets excitonics: natural and artificial molecular aggregates. *Nanophotonics*, v. 2, p. 21–38, 2013.
- SANTIN, L. R. R. *Determinação das propriedades fotofísicas e fotoquímicas de corantes fenotiazínicos em misturas binárias de água/solvente orgânico*. Dissertação (Mestrado) — Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, Brasil, 2014.
- SANYO. *2SD1459 NPN Planar Silicon Transistors Datasheet*. Japan, 1998.
- SCHMIDT, R. Photosensitized generation of singlet oxygen. *Photochemistry and photobiology*, v. 85, n. 5, p. 1161–1177, 2006.
- SHEPPARD, S. E. The optical and sensitizing properties of the isocyanine dyes. *J. Chem. Soc. Trans.*, v. 95, p. 15–19, 1909.
- SIBATA, C. et al. Photodynamic therapy: a new concept in medical treatment. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research.*, v. 33, n. 8, p. 869–880, 2000.
- SIGMA-ALDRICH. *M9140 Methylene Blue certified by the Biological Stain Commission - Product Specification*. EUA, 2022. Disponível em: <<https://www.sigmaaldrich.com/BR/pt/product/sial/m9140>>. Acesso em: 30 jan. 2022.
- SILVA, A. C. P. et al. Application of chemometric method and computational analysis in the spectroscopic study of azure a dimerization. *Journal of Molecular Liquids*, v. 366, p. 120316, 2022.
- SOUZA, R. C. et al. Comparison of the photodynamic fungicidal efficacy of methylene blue, toluidine blue, malachite green and low-power laser irradiation alone against candida albicans. *Lasers in medical Science*, v. 25, n. 3, p. 385–389, 2010.
- SOUZA, S. C. et al. Photosensitization of different candida species by low power laser light. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, v. 83, n. 1, p. 34–38, 2006.

- SPANNO, F. C. The spectral signatures of frenkel polarons in h-and j-aggregates. *Accounts of chemical research*, v. 43, n. 3, p. 429–439, 2010.
- SPEISER, S. Prospects of luminescence based molecular scale logic gates and logic circuits. *Journal of Luminescence*, v. 169, p. 458–465, 2016.
- SPERANDIO, F. F. et al. Photodynamic therapy mediated by methylene blue dye in wound healing. *Photomedicine and Laser Surgery*, v. 28, n. 5, p. 581–587, 2010.
- SPIKES, J. D. Historical development of ideas on applications of photosensitised reactions in health sciences. *Primary Photoprocesses in Biology and Medicine*, p. 209–227, 1985.
- SVELTO, O.; HANNA, D. C. Principles of lasers. *Plenum Press New York*, 1989.
- SYAMALA, P. P. et al. Thermodynamic insights into the entropically driven self-assembly of amphiphilic dyes in water. *Chemical science*, v. 10, n. 40, p. 9358–9366, 2019.
- TAFULO, P.; QUEIROS, R.; GONZALEZ-AGUILAR, G. On the “concentration-driven” methylene blue dimerization. *Spectrochimica Acta Part A*, v. 73, p. 295–300, 2009.
- TARDIVO, J. P. et al. Methylene blue in photodynamic therapy: From basic mechanisms to clinical applications. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, v. 2, p. 175–191, 2005.
- TEXAS INSTRUMENTS. *SN74121 Monostable Multivibrators with Schmitt-trigger Inputs Datasheet*. EUA, 2005.
- UDT SENSORS INC. *Silicon Photodiodes Physics and Technology*. EUA, 1982.
- URRUTIA, M. N.; ORTIZ, C. S. Spectroscopic characterization and aggregation of azine compounds in different media. *Chemical Physics*, v. 412, p. 41–50, 2013.
- USHUI, Y. Determination of quantum yield of singlet oxygen formation by photosensitization. *Chemistry Letters*, p. 743–744, 1973.
- VOHNSEN, B. A short history of optics. *Physica Scripta.*, T109, p. 75–79, 2004.
- WAINWRIGHT M.; CROSSLEY, K. Methylene blue—a therapeutic dye for all seasons? *J. Chemother.*, v. 14, n. 5, p. 431–443, 2002.
- WANG, X.; LUO, D.; BASILION, J. P. Photodynamic therapy: Targeting cancer biomarkers for the treatment of cancers. *Cancers*, v. 13, p. 2992, 2021.
- WARDLE, B. Principles and applications of photochemistry. *John Wiley & Sons Ltd*, 2009.
- WATKINS, S. E. et al. Electrical performance of laser damaged silicon photodiodes. *APPLIED OPTICS*, v. 29, n. 6, p. 827–835, 1990.
- WITTER, G.; POLEVOY, I. Contact erosion and material transfer for contacts in automotive relays. *IEEE*, v. 9, p. 223–228, 1996.
- WU, G. et al. Molecular engineering of noncovalent dimerization. *Journal of the American Chemical Society*, v. 144, n. 33, p. 14962–14975, 2022.

YAN, Q.; SCHMIDT, B. F.; PERKINS, L. A. Near-instant surface-selective fluorogenic protein quantification using sulfonated triarylmethane dyes and fluorogen activating proteins. *Organic & biomolecular chemistry*, v. 13, n. 7, p. 2078–2086, 2015.

YANO, S. et al. Current states and future views in photodynamic therapy. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews*, v. 12, p. 46–67, 2011.

YAO, C. B. et al. Study of all-optical switching and optical limiting properties in phenoxy-phthalocyanines liquid. *Optics and Laser Technology*, v. 47, p. 228–231, 2013.

YAZDANI, O. et al. 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.

ZHANG, G. H. et al. Fast compact laser shutter using a direct current motor and three-dimensional printing. *Review of Scientific Instruments*, v. 86, p. 126105, 2015.

ZULUAGA, M. et al. Selective photodetection and photodynamic therapy for prostate cancer through targeting of proteolytic activity. *Mol Cancer Ther*, v. 12, p. 306–313, 2013.

Anexos

ANEXO A – FOTODETETORES SGD-444 e UV-444A

Para ambos os fotodetectores EG&G SGD-444 e UV-444A, carcaças cilíndricas de alumínio com dimensões 650 mm (diâmetro)×780 mm (comprimento)×6 mm (espessura), foram usinadas em torno mecânico Manrod MR-2007 (Manrod Quality Machines). A Figura 59 mostra o elemento, ainda sem o fotodiodo e seu respectivo circuito interno instalados. A Figura 60 exibe a versão final do fotodido.

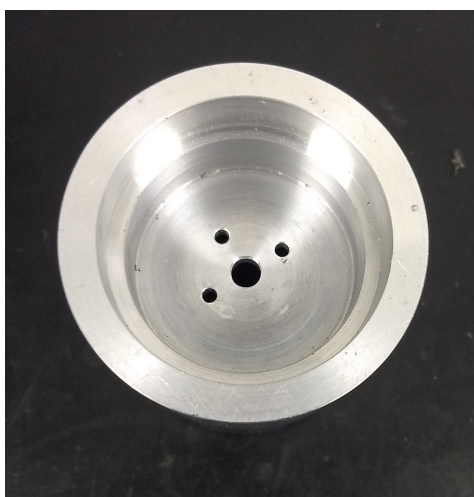


Figura 59 – Carcaça usinada em alumínio para fotodetectores EG&G SGD-444 e UV-444A.



Figura 60 – Fotodetector SGD-444 finalizado, e sua vista posterior.

Projetadas e produzidas com o intuito de acomodar o fotodiodo e os componentes de seu circuito interno, as carcaças de alumínio tiveram, ainda, que possibilitar seu acoplamento aos postes de suporte (Newport, USA) de uso corrente na bancada óptica.

As Figuras 61 e 62 mostram o esquema de pinos e dimensões dos fotodetores SGD-444 e UV-444A, respectivamente.

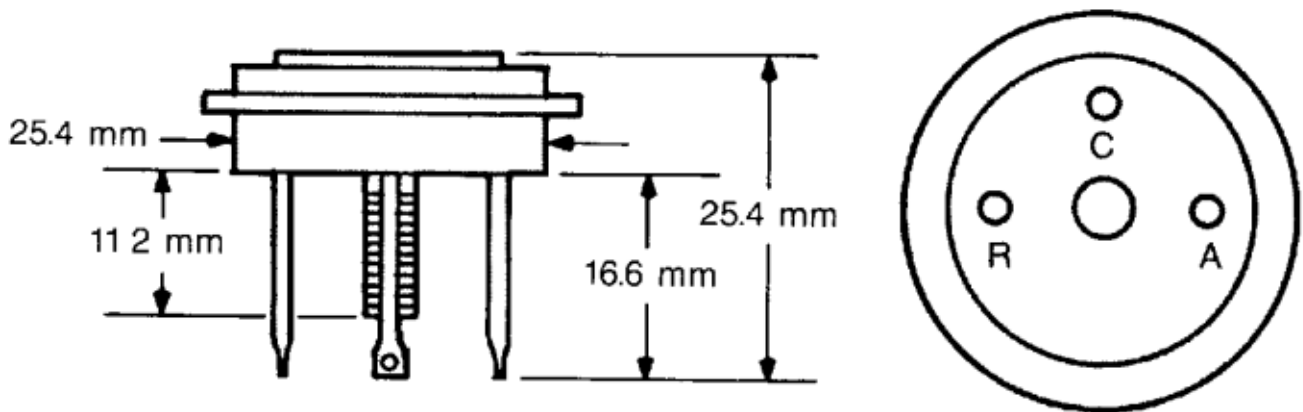


Figura 61 – Esquema de pinos EG&G SGD-444. R = Catodo de Anel de Guarda (Guard Ring Cathode), C = Anodo Comum (Common Anode) e A = Catodo Ativo (Active Cathode).

Fonte: Adaptada de SGD series datasheet (EG&G OPTOELETRONICS, 2000)

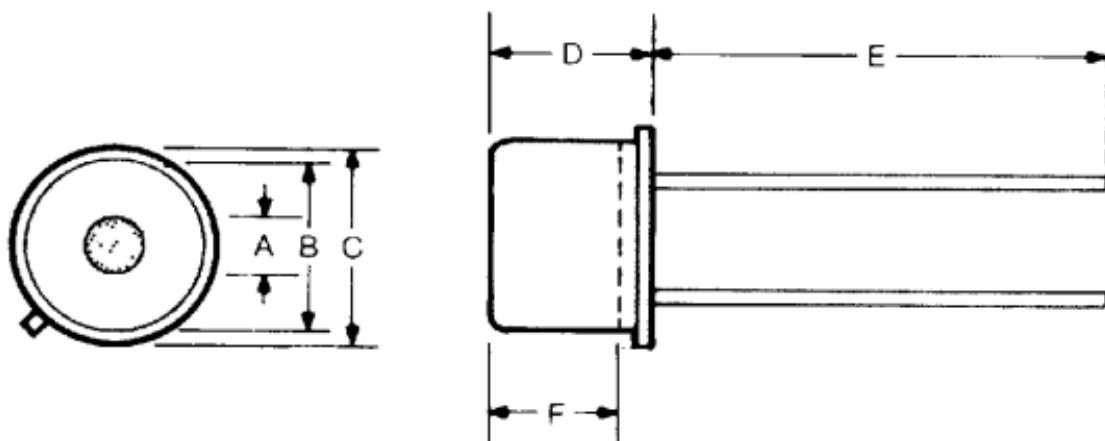


Figura 62 – Esquema de pinos EG&G UV-444A. A = 11,3 mm, B = 27,8 mm, C = 31,8 mm, D = 7,1 mm e E = 12,3 mm,

Fonte: Adaptada de UV series datasheet (EG&G OPTOELETRONICS, 2004)

Com o suporte dos manuais, foi possível elaborar o circuito elétrico para o correto funcionamento de cada um dos fotodiodos. A Figura 63 mostra o esquema do circuito elétrico implementado para o fotodetector SGD-444, e a Tabela 5 trás a descrição dos componentes utilizados neste.

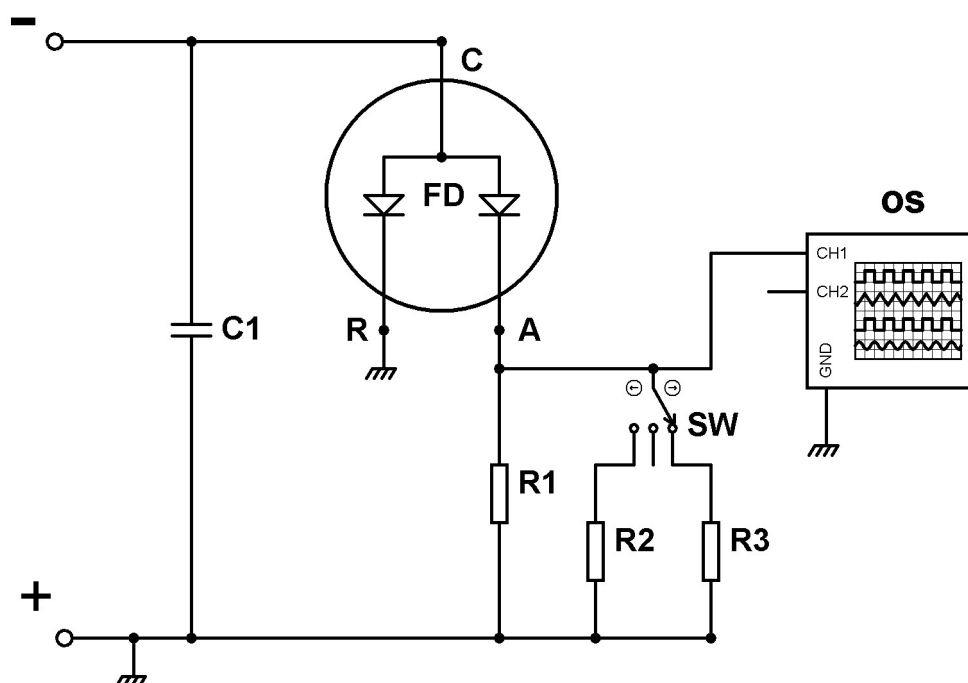


Figura 63 – Esquema do circuito elétrico implementado para o fotodetector EG&G SGD-444.

Tabela 5 – Descrição dos componentes utilizados no circuito elétrico implementado para o fotodetector SGD-444.

Referência	Componente
A	Catodo Ativo (Active Cathode)
C	Anodo Comum (Common Anode)
C1	Capacitor 1 pF 25 V
FD	Fotodiodo EG&G SGD-444
OS	Osciloscópio Digital
R	Catodo de Anel de Guarda (Guard Ring Cathode)
R1	Resistor 10 k Ω 0,25 W
R2	Resistor 1,15 k Ω 0,25 W
R3	Resistor 560 Ω 0,25 W
SW	Chave três posições

É importante ressaltar que o fotodiodo SGD-444 foi implementado inversamente polarizado, conforme especificações técnicas do fabricante. Ademais, o osciloscópio foi adicionado ao esquema somente para ilustrar o caminho de saída do sinal gerado pelo fotodiodo SGD-444.

A Figura 64 mostra o esquema do circuito elétrico implementado para o fotodetector UV-444A, e a Tabela 6 trás a descrição dos componentes utilizados neste.

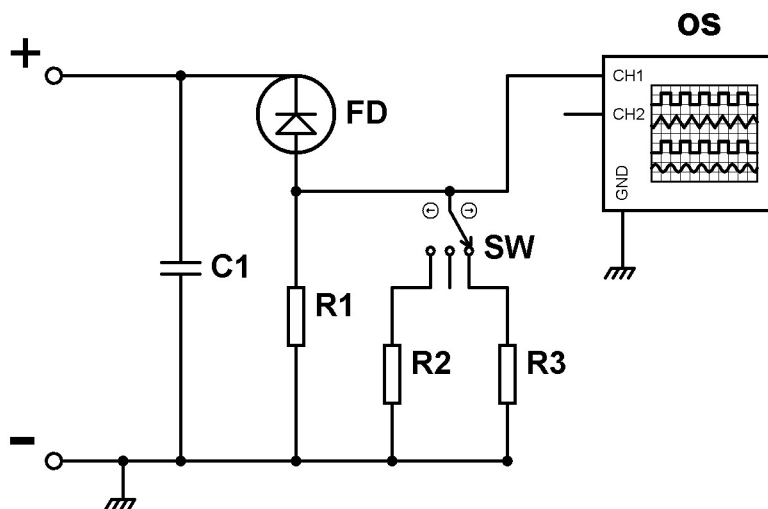


Figura 64 – Esquema do circuito elétrico implementado para o fotodetector EG&G UV-444A.

Tabela 6 – Descrição dos componentes utilizados no circuito elétrico implementado para o fotodetector UV-444A.

Referência	Componente
C1	Capacitor 1 pF 25 V
FD	Fotodiodo EG&G UV-444A
OS	Osciloscópio Digital
R1	Resistor 10 k Ω 0,25 W
R2	Resistor 1,15 k Ω 0,25 W
R3	Resistor 560 Ω 0,25 W
SW	Chave três posições

Em ambos os esquemas mostrados pelas Figuras 63 e 64, é possível notar a chave de 3 posições. Tal elemento viabilizou o ajuste da resistência de carga do circuito (500 Ω , 1 k Ω , 10 k Ω), possibilitando a alteração da relação ganho de sinal versus tempo de resposta.

ANEXO B – Artigo

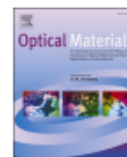
Optical Materials 142 (2023) 113938



Contents lists available at ScienceDirect

Optical Materials

journal homepage: www.elsevier.com/locate/optmat



Research Article

Transient optical properties, laser induced avalanche effect, and all optical switching in molecular aggregates

Fernando Torres Coimbra de Sá Balbina^a, Fernando José Habib Moraes^a,
Adjaci Uchoa Fernandes^{a,b}, Egberto Munin^{a,b,*}

^a Center for Biomedical Engineering, Anhembi Morumbi University (UAM), Rodovia Dr Altino Bondensan 500, São José Dos Campos, 12247-016, SP, Brazil

^b Center for Innovation, Technology and Education (CITE), Rodovia Dr Altino Bondensan 500, São José Dos Campos, 12247-016, SP, Brazil



ARTICLE INFO

Keywords:

Self-aggregation
Thermo-optic effect
Methylene blue
Dimerization
Aggregation

ABSTRACT

Organic dyes have attracted expressive research interest in recent years due to their wide range of applications. Self-aggregation occurs in a variety of organic molecules, a phenomenon that changes the photochemical and photophysical properties of dyes. Laser beams with wavelengths of 663 nm and 532 nm were used for thermal modulation of the aggregation states of the methylene blue dye, which led to the discovery of a novel avalanche phenomena in the molecular/supramolecular level and observations of not yet reported material optical behaviors. The obtained experimental data reveals the existence of asymmetric optical responses of aggregated dyes under laser excitation with wavelengths at the monomer or at the dimer absorption bands. The observed optical behaviors, resulting from the laser modulation of the molecular aggregation states, may find applications in the field of organic electronics and devices, such as optical logical gates and optical power limiters. A dual mechanism all optical switching driven by the simultaneous action of the cooperative effects of the laser induced disruption of dimeric dye units and thermal lensing was achieved.

1. Introduction

Self-aggregation is a well-known phenomenon that occurs in a variety of organic molecules [1–4]. Driven by electrostatic forces, dye molecules may aggregate following three basic arrangements: head to tail (J-aggregates), parallel molecular stacking (H-aggregates), or a geometry that is intermediate between the J and H (oblique aggregates) [5–7]. Upon aggregation, dimers, trimers, and higher order aggregates may be formed [8–11]. The dimeric specie is usually dominant and the presence of the higher order aggregates, commonly at very low concentrations, may be neglected in many studies. In the present work, only the presence of the monomeric and dimeric species will be considered, and higher order aggregates will be neglected. An important consequence of aggregation is the shift of the optical absorption band of the aggregated species, as compared to the monomer. For instance, the parallel (H) aggregation leads to a shift of the optical absorption band towards shorter wavelength (blue shift) with respect to the monomer [12,13], while the J-type aggregation leads to a red shift of the absorption band [14–16].

For the development of the rationale of the present research, it is interesting to highlight the fact that, for a dye solution at a given concentration, if the concentration of the monomer falls due to monomer-to-dimer conversion, the intensity of the monomer absorption peak decreases, while the intensity of the shifted dimer absorption peak increases. Conversely, if dimer disaggregation is somehow induced, the intensity of the monomer absorption peak increases at the expense of a decrement in the dimer absorption peak. Such interchange in the amplitudes of monomer and dimer optical absorption bands is the point of interest for the present investigation.

A liquid solution of an organic dye susceptible to self-aggregation presents the monomer and dimer concentrations in dynamic equilibrium. The mole fractions of monomer and dimer in the solution depend strongly on temperature. Many thermodynamic studies are published in the literature for a variety of dyes [17–21]. In those studies, the samples are heated in an oven or in a heated water bath. In our research work we propose to use a laser beam as a heat source to modulate the relative mole fractions of dimers and monomers. Because the laser deposited heat will induce dimer to monomer conversion, asymmetric dynamic

* Corresponding author. Center for Biomedical Engineering, Anhembi Morumbi University (UAM), Rodovia Dr Altino Bondensan 500, São José dos Campos, 12247-016, SP, Brazil.

E-mail address: egberto.munin@animaeducacao.com.br (E. Munin).

<https://doi.org/10.1016/j.optmat.2023.113938>

Received 14 March 2023; Received in revised form 6 May 2023; Accepted 22 May 2023

0925-3467/© 2023 Elsevier B.V. All rights reserved.