

**Estudos de fenômenos óticos não lineares em
nanocristais semicondutores para aplicações como
marcadores biológicos.**

MYCHEL GONÇALVES SILVA

Março 2012



Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG
Instituto de Ciências Exatas - ICEx
Programa de Pós Graduação em Física

Estudos de fenômenos óticos não lineares em nanocristais semicondutores para aplicações como marcadores biológicos.

Mychel Gonçalves Silva

Orientador: Prof^ª. Dra. Ana Maria de Paula

Dissertação apresentada à UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Física.

Área de Concentração: Ótica, Física da Matéria Condensada, Física de Sistemas Biológicos.

Março de 2012

*"As palavras só têm sentido se nos ajudam a ver o mundo melhor. Aprendemos palavras para
melhorar os olhos."*

*"Há muitas pessoas de visão perfeita que nada veem... O ato de ver não é coisa natural. Precisa ser
aprendido!"*

Rubem Alves

Agradecimentos

Gostaria de agradecer aos meus pais Renato e Elizete, minhas irmãs Renata, Raquel e Rayssa e a minha família que deram o apoio, a coragem e a motivação necessária para me tornar um físico. Agradeço a Ester pelo companheirismo, amizade e compreensão durante o mestrado.

A minha orientadora Ana Maria de Paula, pela ajuda no desenvolvimento das montagens experimentais e discussões teóricas, pela motivação e paciência durante todo o desenvolvimento do trabalho, o profissionalismo e a amizade. Gostaria também de agradecer aos meus colegas do Laboratório de Biofotônica pela ajuda durante as medidas, e pelas discussões.

Também quero agradecer ao Laboratório de Espectroscopia Raman da UFMG pelas medidas de absorção, ao professor Luis Alberto Cury do Laboratório de Propriedades Ópticas e Elétricas de Polímeros Conjugados da UFMG pelas medidas de tempo de decaimento, ao Laboratório de Física de Sistemas Biológicos pelas medidas de aplicação biológica e ao Centro de Microscopia da UFMG pelas imagens de MET. Também a Claudilene Chaves do Grupo de Nanotecnologia Biomédica da UFPE pela sintetização das amostras, e discussões teóricas.

Quero agradecer meus colegas da graduação e pós graduação em física da UFMG e meus companheiros do Student Chapter Minas, também ao Gilberto e Isaac pelas longas discussões sobre ótica, física e educação.

Também a Shirley Marciel e Maria Clarice por toda a ajuda e empenho para disponibilizar sempre a melhor informação possível. A Marluce e a equipe da secretaria de pós-graduação pela ajuda.

A Capes pela bolsa de mestrado, ao CNPq, a Fapemig, ao INCT Nanomateriais de Carbono pelo apoio financeiro ao laboratório e participações em congressos.

Resumo

Apresentamos nesse trabalho a caracterização ótica de fenômenos não lineares em amostras de nanocristais semicondutores coloidais do tipo núcleo casca de CdTe/CdS sintetizados em água, utilizando como estabilizantes o ácido mercaptosuccínico (MSA) ou o ácido 3-mercaptopropiônico (AMP). Devido ao confinamento espacial dos elétrons os nanocristais apresentam efeitos de confinamento quântico e são denominados pontos quânticos. Estas propriedades óticas são importantes para aplicações dos pontos quânticos como marcadores biológicos e para obtenção de imagens de fluorescência de excitação por dois fótons (TPEF). Fizemos as montagens experimentais para medidas de fotoluminescência e de fotoluminescência de excitação (PLE) utilizando laser pulsado com pulsos de femtosegundos e com a possibilidade de controle da taxa de repetição do laser de excitação. Obtivemos também imagens de fluorescência de excitação por dois fótons (TPEF) e imagens por geração de segundo harmônico (SHG) utilizando microscópio ótico de varredura. A análise dos resultados aplicando o modelo de massa efetiva demonstra que as amostras tem uma distribuição de tamanhos estreita. O espectro de emissão por absorção de dois fótons é estreito (devido a distribuição de tamanho estreita) e o espectro PLE mostra um pico bem largo, possibilitando a utilização de uma faixa larga de comprimentos de onda de excitação. Dependendo da potência por pulso os fenômenos não lineares são mais eficientes, e começam a saturar os pontos quânticos quando a potência fica muito grande. E por último, apresentamos alguns teste preliminares da aplicação dos pontos quânticos como marcadores biológicos em embriões de galinha.

Palavras-chave: ponto quântico, absorção de dois fótons, CdTe/CdS, geração de segundo harmônico, fluorescência de excitação por dois fótons

Abstract

In this work, we present the characterization of nonlinear optical phenomena in samples of CdTe/CdS core shell colloidal semiconductor nanocrystals synthesized in water using the mercaptosuccinic acid (MSA) or 3-mercaptopropionic acid (MPA) as stabilizers. Due to spatial confinement of electrons the nanocrystals exhibit quantum confinement effects and are denominated quantum dots. These optical properties are important for application of the quantum dots as biological markers and for image acquisition by two photons excitation fluorescence (TPEF). We implemented the experimental setups for photoluminescence and photoluminescence excitation (PLE) measurements using pulsed laser with femtoseconds pulses and the possibility to control the excitation laser repetition rate. We have also obtained images by two photons excitation fluorescence (TPEF) and images by second harmonic generation (SHG) using a scanning optical microscope. The results applying the effective mass model show that the samples have a narrow size distribution. The emission spectrum by two photon absorption is narrow (due the narrow size distribution) and the PLE spectrum shows a broad peak, allowing the use of a broad band of wavelengths of excitation. Depending on the power per pulse the nonlinear phenomena are more efficient and begins to saturate when the power is high. Finally, we present some preliminary tests of the application of quantum dots as biological markers in chicken embryos.

Keywords: quantum dot, two photon absorption, CdTe/CdS, second harmonic generation, two photons excitation fluorescence.

Sumário

Lista de Figuras	p. V
Lista de Tabelas	
1 Introdução	p. 1
2 Ótica não-linear	p. 4
2.1 Absorção por dois fótons (2PA)	p. 4
2.2 Geração de Segundo Harmônico (SHG)	p. 6
3 Cristais - Pontos Quânticos	p. 7
3.1 Física de Semicondutores	p. 7
3.2 O Mundo do Muito Pequeno	p. 9
3.3 Amostras	p. 11
3.3.1 Ponto Quântico de CdTe/CdS	p. 11
3.3.2 Síntese das amostras	p. 13
3.3.3 Aproximação de Massa Efetiva	p. 15
4 Montagens Experimentais	p. 19
4.1 Laser de Titânio Safira	p. 19
4.2 Absorção	p. 20
4.3 Espectro de Emissão (PL)	p. 20
4.4 Fotoluminescência de Excitação (PLE)	p. 20
4.5 Controle da Taxa de Modulação do Laser	p. 21
4.6 Medidas de Intensidade x Potência	p. 22
4.7 Medida de Tempo de Vida	p. 22
4.8 Imagem por Microscopia Confocal	p. 22

4.9	Medida da Geração de Segundo Harmônico	p. 24
5	Resultados Experimentais	p. 26
5.1	Absorção Ótica	p. 26
5.2	Fotoluminescência	p. 28
5.2.1	Deslocamento Stokes	p. 31
5.2.2	Fotoluminescência de Excitação (PLE)	p. 32
5.3	Tempo de Vida	p. 37
5.4	Intensidade x Potência	p. 39
5.5	Geração de Segundo Harmônico	p. 45
5.6	Aplicação: Marcador Biológico	p. 46
6	Conclusão	p. 50
	Referências	p. 52

Lista de Figuras

1	Absorção de dois fótons: degenerado e não degenerado	p. 4
2	Esquema da absorção por dois fótons no plano focal.	p. 5
3	Geração de Segundo Harmônico (SHG)	p. 6
4	Estrutura cristalina do NaCl	p. 7
5	Potencial periódico do modelo de Kronig Penney	p. 8
6	Ocupação das bandas em condutores, isolantes e semicondutores.	p. 8
7	Densidade de estados em cristais de diferentes dimensionalidades.	p. 10
8	Discretização da estrutura de bandas em cristais 0D	p. 10
9	Estrutura cristalina e banda de energia do CdTe	p. 11
10	Estrutura cristalina e banda de energia do CdS	p. 12
11	Diagrama de LaMer	p. 12
12	Efeitos da passivação no ponto quântico.	p. 13
13	Estrutura química dos estabilizantes utilizados na síntese dos pontos quânticos.	p. 14
14	Esquema da sintetização da pontos quânticos.	p. 14
15	Imagem por MET do cristal CdTe/CdS MSA	p. 15
16	Ponto quântico esférico de potencial infinito na casa.	p. 16
17	Simulação das bandas de energia	p. 18
18	Gráfico de Potência Média x Comprimento de Onda do laser de titânio safira	p. 19
19	Montagem para medir fotoluminescência	p. 21
20	Diagrama esquemático do Dazzler	p. 21
21	Esquema da técnica confocal	p. 23
22	Montagem da microscopia confocal	p. 24
23	Montagem para medir segundo harmônico	p. 25
24	Espectro de Absorção	p. 27
25	Ajuste gaussiano da absorção	p. 28

26	Absorção por um e dois fótons no corante de rodamina	p. 29
27	Espectro de fotoluminescência das amostras AMP e MSA	p. 29
28	Imagem da fotoluminescência da amostra MSA	p. 30
29	Deslocamento <i>Stokes</i> dos pontos quânticos	p. 31
30	Relaxamento em estados de superfície	p. 32
31	PLE de excitação por dois fótons	p. 33
32	Deslocamento do pico de emissão no PLE	p. 33
33	PLE testado em diferentes comprimentos de onda	p. 35
34	Comparação entre o espectro de PLE por absorção de um e dois fótons	p. 35
35	Comparação da PLE por excitação de dois fótons e a absorção.	p. 36
36	Comparação da PLE por excitação de um fóton e a absorção.	p. 36
37	Curvas de decaimento da amostra AMP.	p. 37
38	Curvas de decaimento da amostra MSA.	p. 38
39	Gráficos que relacionam a intensidade de emissão com energia por pulso de excitação nas amostras AMP.	p. 39
40	Gráficos que relacionam a intensidade de emissão com energia por pulso de excitação nas amostras MSA.	p. 40
41	Intensidade x Potência em função da taxa de modulação do laser na amostra AMP	p. 42
42	Gráfico na escala log da relação intensidade por energia por pulso da amostra AMP	p. 42
43	Gráfico de intensidade x potência em função da taxa de modulação do laser na amostra MSA.	p. 43
44	Gráfico na escala log da relação intensidade por potência por pulso da amostra MSA	p. 43
45	Gráfico de intensidade x potência de amostra MSA concentrada e diluída em água	p. 44
46	Espectro de emissão de segundo harmônico gerado pela amostra de CdTe/CdS MSA	p. 45
47	Imagem do segundo harmônico gerado de uma gota de CdTe/CdS MSA	p. 46
48	Embrião de galinha com 36 hs de desenvolvimento, as áreas pelúcidas e opaca são muito vascularizadas.	p. 47

49	Marcação do embrião de galinha com pontos quânticos 1	p.48
50	Marcação do embrião de galinha com pontos quânticos 2	p.49

Lista de Tabelas

1	Distribuição de tamanhos de pontos quânticos das amostras de CdTe/CdS AMP e MSA	p. 28
2	Constante de decaimento da amostra AMP	p. 37
3	Constante de decaimento da amostra MSA	p. 38

1 *Introdução*

A microscopia multifóton é a técnica que utiliza de fenômenos óticos não lineares dos materiais para a obtenção de imagem, e através dela estudar suas propriedades óticas. A absorção multifóton obedece à regras de seleção diferentes daquela da absorção por um fóton, sendo então ferramenta importante no estudo da estrutura eletrônica dos materiais, complementando resultados obtidos por outros tipos de espectroscopia.

Um caso particular da técnica multifóton é a fluorescência de excitação por dois fótons (TPEF) [1], onde dois fótons são absorvidos quase-simultaneamente para levar o material para o estado excitado. A técnica explora a dependência quadrática com a intensidade da probabilidade de dois fótons serem absorvidos, permitindo o controle espacial da excitação no material.

A necessidade de grandes intensidades na absorção de dois fótons tornou os lasers pulsados de alta potência essenciais no estudo dos processos não lineares e na microscopia por excitação por dois fótons. Como exemplo de laser ideal para essa aplicação, o laser comercial de titânio safira gera um feixe laser pulsado em femtosegundos, com alta taxa de repetição e com comprimento de onda sintonizável em larga faixa espectral [2].

Com o desenvolvimento de lasers ultra rápidos, a técnica TPEF tem sido largamente utilizada em aplicações biológicas, por exemplo, corantes aplicados como marcadores biológicos são excitados por dois fótons permitindo a obtenção de imagens de tecidos biológicos [3, 4] com melhor resolução e em maiores profundidades e com menos fotosaturação e foto dano ao material vivo do que as permitidas pela microscopia de fluorescência.

Outro material que têm sido largamente utilizado como marcador biológico são os pontos quânticos (*quantum dots*), esse pontos quânticos são cristais de tamanho reduzido (da ordem de nanômetros), que apresentam características física e químicas diferentes do cristal *bulk*. O confinamento espacial dos átomos muda a estrutura de bandas, tornando os estados discretos e criando uma relação entre suas propriedades óticas e o tamanho dos nanocristais [5, 6].

Em comparação com marcadores biológicos orgânicos, os pontos quânticos têm a banda de absorção larga (do visível ao ultravioleta), o espectro de emissão é estreito, a posição do pico é controlável através do tamanho dos nanocristais, são fotoestáveis e com grande eficiência quântica [6, 7]. Os pontos quânticos de semicondutores podem ser ligados (funcionalizados) a peptinas, anticorpos, e pequenas moléculas e utilizados como marcadores biológicos. [8, 9].

Quando aplicados diretamente em tecidos biológicos, é importante que os nanocristais mantenham-se estáveis e que não modifique o tecido a ser estudado. Nanocristais dispersos em água têm sido muito utilizados como marcadores biológicos, a síntese de pontos quânticos de semicondutores de *gap* direto em meio aquoso [10,11] tem se mostrado promissor na marcação de tecidos biológicos.

O Grupo de Nanotecnologia Biomédica da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) tem estudado rotas de síntese de pontos quânticos em meio aquoso com diferentes estabilizantes, produzindo pontos quânticos de semicondutor do tipo núcleo casca CdTe/CdS para aplicação na marcação biológica e obtenção de imagens em tecidos.

Em cada aplicação é necessário determinar as características óticas do ponto quântico que será usado na marcação dos tecidos biológicos, e compreender em quais circunstâncias físicas (comprimento de onda de excitação, potência de excitação, polarização do feixe de excitação, diluição, temperatura e pH), a absorção por dois fótons e a emissão da fotoluminescência são mais eficientes, e como controlar suas propriedades óticas.

Nos próximos capítulos, mostrarei o estudo sobre as propriedades óticas não lineares de pontos quânticos de semicondutor de *gap* direto, do tipo núcleo casca de CdTe/CdS dispersos em meio aquoso.

O capítulo 2 mostra a análise teórica dos fenômenos óticos não lineares (absorção por dois fótons e geração de segundo harmônico (SHG)) observados na caracterização ótica dos pontos quânticos. No capítulo 3 faço uma breve revisão sobre a física de estado sólido aplicada em nanocristais, mostro os processos de síntese dos pontos quânticos e discuto a aproximação de massa efetiva utilizado para modelar a estrutura de bandas.

No capítulo 4 descrevo as montagens experimentais que desenvolvemos para as medidas de fotoluminescência, absorção, fotoluminescência de excitação (PLE), geração de segundo harmônico (SHG) e obtenção de imagem por microscopia confocal. Descrevo também como é realizado o controle da modulação do trem de pulso do laser e as medidas de tempo de vida.

No capítulo 5 mostro e discuto os resultados das medidas de caracterização ótica nos pontos quânticos. Através do espectro de absorção e utilizando o modelo de aproximação de massa efetiva, calculo o raio médio e a distribuição de raios dos pontos quânticos da amostra. Nas medidas de fotoluminescência, obtenho a imagem da emissão dos pontos quânticos em uma lâmina de microscópio e dos espectros de fotoluminescência por excitação de dois fótons, construo as curvas de PLE e determino o comprimento de onda de excitação onde a emissão é máxima. Observo também o deslocamento do espectro de emissão dependendo do comprimento de onda usado na absorção por dois fótons e o raio dos pontos quânticos.

Nas medidas de intensidade de emissão em função da potência de excitação por dois fótons, mostro a região de potências onde o processo de absorção de dois fótons é mais eficiente. Nessas medidas descrevo ainda processos de saturação da emissão e reabsorção da fotoluminescência pela própria amostra. Mostro o resultado de medidas preliminares do espectro e da imagem da

geração de segundo harmônico dos pontos quânticos.

Por último mostro os resultados da aplicação dos pontos quânticos de CdTe/CdS em meio aquoso como marcador biológico. As imagens de emissão obtidas através do microscópio confocal, mostram células da corrente sanguínea de embriões de galinha marcadas com pontos quânticos.

No capítulo 6 apresento as conclusões sobre os processos óticos não lineares em pontos quânticos, e discuto os próximos passos do trabalho.

2 Ótica não-linear

2.1 Absorção por dois fótons (2PA)

A absorção por dois fótons (2PA) é o processo em que na interação da luz com o material, dois fótons são absorvidos quase-simultaneamente por um elétron, levando-o para um estado excitado.

Essa dinâmica foi descrita inicialmente por Maria Göppert-Mayer [12], ela ocorre em duas etapas: inicialmente um fóton de energia E_1 interage com o material, e um elétron é retirado do estado fundamental (\mathbf{g}) e levado para um estado virtual, e ali permanece durante um intervalo de tempo τ (da ordem de 10^{-15} s), e depois retorna para a banda de valência.

Se após a interação do primeiro fóton com o material, durante esse intervalo τ um segundo fóton de energia E_2 interagir com o material, existe a probabilidade de que o elétron sofra uma transição do estado virtual para o estado final disponível (\mathbf{n}), de energia $E_1 + E_2$. Esse processo é chamado de absorção de dois fótons não degenerado, quando os dois fótons absorvidos tem a mesma energia E_1 o processo é chamado de degenerado, como mostrado na figura 1. O estado virtual não é um autoestado do material, e devido ao pequeno valor do τ , o processo de absorção por dois fótons é chamado de quase-simultâneo quando o estado intermediário não é um estado real.

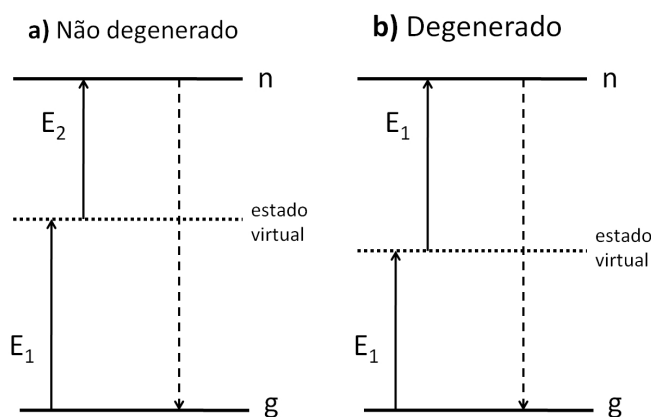


Figura 1

No processo de 2PA dois fótons são absorvidos levando o elétron para o estado excitado, quando a energia dos fótons são diferentes o fenômeno é chamado de não degenerado, caso contrário é chamado de degenerado.

O hamiltoniano de interação da luz com os momentos de dipolo eletrônico do material é descrito usando a teoria da perturbação dependente do tempo, o hamiltoniano é escrito da seguinte forma:

$$\hat{H}(t) = H_0 - \hat{\mu}E(t) \quad (2.1)$$

onde H_0 é o hamiltoniano do elétron livre, $\hat{\mu}E(t)$ é o termo de interação do campo externo com os dipolos elétricos. Para uma onda plana monocromática e usando a notação da figura 1, a taxa de transição da absorção por dois fótons entre o estado fundamental (\mathbf{g}) e o estado final (\mathbf{n}) [13] fica:

$$R_{ng}^{(2)} = \sigma_{ng}^{(2)}(\omega)I^2 \quad (2.2)$$

$I \sim |E^2|$ é a intensidade do feixe de excitação e $\sigma_{ng}^{(2)}$ é a seção de choque de absorção de dois fótons. Na literatura é encontrado o valor para a seção de choque de absorção de dois fótons para corantes da ordem de 10^{-50} cm⁴s/fotons² [14] e 10^{-47} cm⁴s/fotons² [15].

A dependência quadrática da taxa de transição com a intensidade mostra que, focando-se o feixe de excitação, o processo não linear é mais eficiente no plano focal, o que permite o controle espacial da excitação no material. A figura 2 mostra um esquema de como acontece a absorção por um fóton e por dois fótons na direção de propagação do feixe focado.

As regras de seleção na absorção por dois fótons são diferentes daquelas estabelecidas para absorção de um fóton, é necessária a existência de um estado eletrônico com energia $E_1 + E_2$, e também as regras de simetria desempenham um papel fundamental [16]. Sistemas cristalinos com centro de inversão obedecem a regra onde somente estados que tenham a mesma simetria em relação ao centro de inversão sofrerá transição.

Em cristais onde não existe a simetria de inversão, a absorção por dois fótons irá depender da simetria da estrutura, e o estado de polarização do feixe de excitação [17].

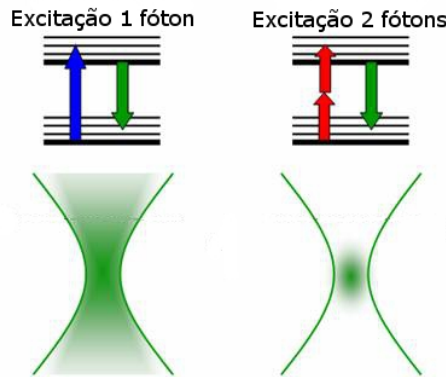


Figura 2

No processo de excitação por um fóton, a absorção ocorre em todo o caminho ótico pela amostra, enquanto na excitação por dois fótons ela acontece majoritariamente na região focal [18].

2.2 Geração de Segundo Harmônico (SHG)

A geração de segundo harmônico descoberta por Franken *et al* em 1961 [19], é a resposta do material a interação não linear de um campo externo muito intenso com os dipolos elétricos. Durante o processo, dois fótons de energia E_1 são destruídos ao interagir com o material e um fóton com o dobro da energia $2E_1$ é criado como mostrado na figura 3.

Considera-se que a interação da luz com o material produz uma polarização não linear em relação ao campo elétrico externo, essa relação é obtida adotando a expansão em série de potências do vetor de polarização:

$$\vec{P}(t) = \epsilon_0[\chi^{(1)}\vec{E}(t) + \chi^{(2)}\vec{E}^2(t) + \chi^{(3)}\vec{E}^3(t) + \dots + \chi^{(N)}\vec{E}^N(t)] \quad (2.3)$$

$\chi^{(N)}$ é o tensor susceptibilidade ótica de ordem N, \vec{E} é o campo elétrico incidente. O termo $\vec{P}^{(2)}(t) = \chi^{(2)}\vec{E}^2(t)$ é a polarização de segunda ordem que é responsável pela geração do segundo harmônico. O tensor susceptibilidade $\chi^{(N)}$ é determinado pela estrutura cristalina do material e desempenha um papel importante como condição para a geração de segundo harmônico e harmônicos de ordem maiores que dois.

Para que a interação de segunda ordem seja possível, o tensor de segunda ordem $\chi^{(2)}$ deve ser não nulo, o que ocorre para cristais com estrutura que não apresenta simetria de inversão (não centrosimétrico). Através de medidas da polarização do segundo harmônico gerado é possível determinar a forma do tensor susceptibilidade de segunda ordem $\chi^{(2)}$ do nanocristal e assim obter a estrutura cristalina [20].

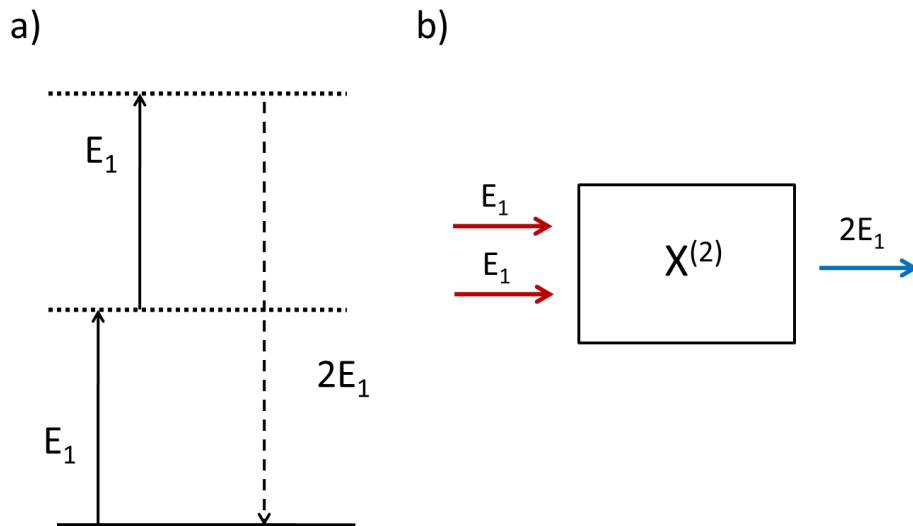


Figura 3

Em **a)** é mostrado o desenho esquemático da geração do segundo harmônico, onde dois fótons de energia E_1 geram um fóton com dobro da energia, a dependência do SHG com o material é descrito pelo tensor $\chi^{(2)}$ na letra **b)**

3 Cristais - Pontos Quânticos

3.1 Física de Semicondutores

Quando estudamos um material qualquer, formado por um conjunto grande de átomos, os núcleos e elétrons começam a interagir com outros íons do material, e dessa troca de energia entre as partículas originam-se as propriedades óticas, magnéticas, mecânicas, etc.

Os cristais são uma classe de materiais que tem como característica principal a organização periódica dos seus átomos no espaço. A figura 4 mostra um exemplo de arranjo cristalino do cloreto de sódio (NaCl) de estrutura tipo cúbica.

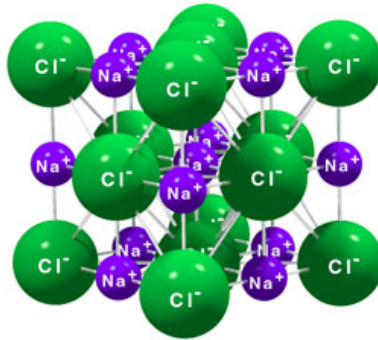


Figura 4
Estrutura cristalina tipo cúbica do cristal de NaCl [21].

A forma mais simples de calcular os estados eletrônicos é considerar um arranjo infinito e periódico de átomos (sem bordas ou superfícies), formando uma distribuição também periódica de potencial (figura 5), que é sentido por cada elétron de cada átomo da rede [22].

Desconsiderando a interação elétron-elétron, e assumindo que a energia do elétron é muito pequena se comparada com a energia da barreira de potencial, o sistema é descrito como uma partícula em um poço de potencial quadrado [22] chamado de modelo de Kronig-Penney. Nesse modelo os autoestados eletrônicos na presença de um potencial é o produto de uma função de onda plana por um termo periódico da rede, chamadas de ondas de Bloch.

$$\Psi_{k,i}(\vec{r}) = e^{ikr} u_{k,i}(\vec{r}) \quad (3.1)$$

onde

$$u_{k,i}(\vec{r}) = u_{k,i}(\vec{r} + \vec{R}) \quad (3.2)$$

\vec{k} é o vetor de onda, i é o índice do elétron.

A solução da equação de Schrödinger aplicando as condições de contorno discutidas acima, descreve a relação de dispersão como bandas de energias separadas por regiões óticamente proibidas (*gap*).

As bandas de mais baixa energia que estão completamente preenchidas por elétrons são chamadas de banda de valência, e aquelas que estão vazias ou parcialmente preenchidas são chamadas de banda de condução. Os materiais são classificados de acordo com a forma como são preenchidas as bandas de condução e valência, e o tamanho do *gap* entre elas, como mostrado na figura 6.

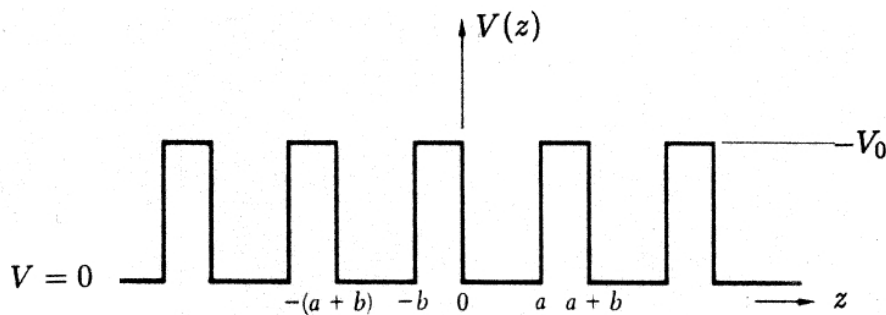


Figura 5

Potencial periódico unidimensional sentido pelo elétron que fica "preso" entre as barreiras de potencial (Modelo de Kronig Penney) [22].

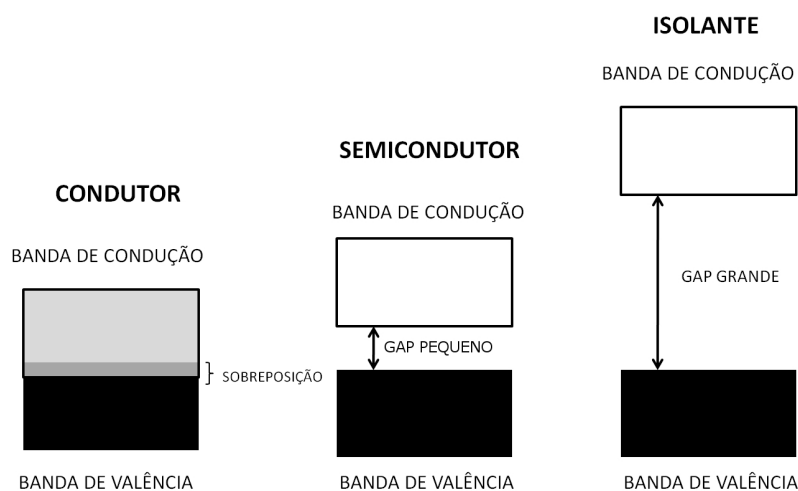


Figura 6

O tamanho do *gap* de energia entre a banda de valência e a banda de condução determina o tipo de material, no condutor (metais) as bandas se sobrepõem, para materiais com energia de *gap* < 4 eV o material é um semiconductor, e para materiais de *gap* > 4 eV é um isolante.

As propriedades óticas de um semicondutor são determinadas pelas transições eletrônicas da banda de condução para a banda de valência. Quando o material absorve um fóton, um elétron é retirado da banda de valência e vai para a banda de condução (estado excitado), deixando uma vacância na banda de valência. Essa vacância é chamada de buraco, e se comporta como uma partícula com carga positiva, vetor de onda e spin oposto a do elétron.

O par elétron buraco criado na absorção é uma quasipartícula chamada exciton, que existe somente em cristais. Para semicondutores *bulk* de *gap* direto, centrado em $\vec{k} = 0$ na zona de Brillouin, a expressão para os níveis de energia do exciton é [23]:

$$E(n) \approx E_g - \frac{E_b}{n^2} \quad (3.3)$$

Onde E_g é a energia do *gap* do material *bulk*, E_b a energia de ligação do par elétron buraco devido a interação coulombiana e n é o número quântico principal.

3.2 O Mundo do Muito Pequeno

Os cristais podem ser sintetizados controlando as formas e tamanhos, sob diferentes substratos, em matriz vítrea ou em coloide, possibilitando a criação de estruturas da ordem de alguns nanômetros.

Quando o tamanho do cristal é muito pequeno, a estrutura cristalina deixa de ser infinita e uma região de descontinuidade aparece na superfície, e os elétrons são aprisionados pela barreira de potencial, dando origem ao confinamento do elétron. Essa situação ocorre quando o tamanho do cristal na direção estudada é da ordem do raio de Bohr do exciton, que para semicondutores típicos é da ordem de dezenas de nanômetros, nas outras direções o elétron se comporta como um elétron livre (onda de Bloch).

Os sistemas de baixa dimensionalidade são classificados como bidimensionais (2D): filmes finos, sistemas em camadas; uma dimensão (1D): estruturas de cadeias lineares, nanofios; e zero-dimensão (0D): *Clusters*, pontos quânticos.

A principal diferença entre o material semicondutores *bulk* e os materiais sob confinamento quântico é a densidades de estados (figura 7). No material *bulk* a densidade de estados não tem descontinuidades, nas estruturas 2D e 1D aparecem degraus devido ao confinamento do elétron em uma das direções e duas das direções respectivamente. O confinamento nas três direções (0D) cria níveis discretos de energia, modificando as bandas de condução e de valência como mostra a figura 8; dessa forma estruturas como pontos quânticos tem propriedades intermediárias entre a do cristal *bulk* e a molecular.

O confinamento do cristal nas três direções faz com que a distância entre a banda de condução e a banda de valência aumente, fazendo com que o cristal absorva fótons com energias maiores comparado a absorção do cristal *bulk*. O deslocamento para o azul do espectro de

absorção devido a distribuição de tamanhos dos nanocristais é observado experimentalmente por diferentes autores [24–26].

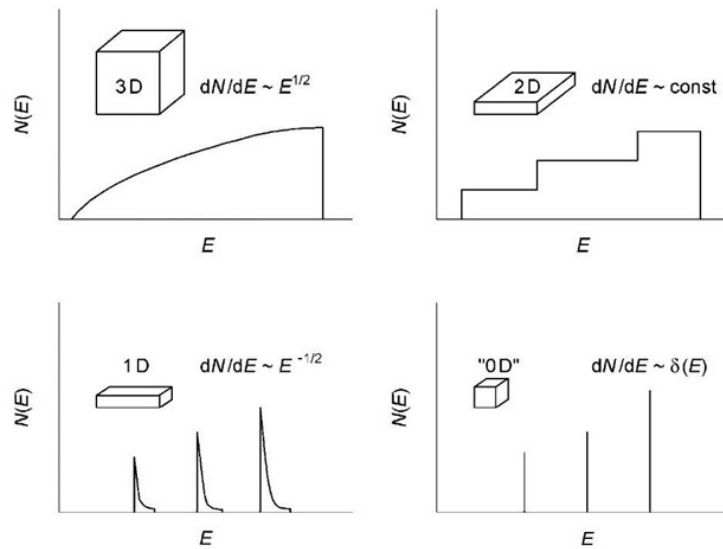


Figura 7

Densidade de estados $N(E)$ de cristais de diferentes dimensionalidades, semicondutor *bulk* (3D), filmes finos (2D), fios quânticos (1D), e pontos quânticos (0D) [27].

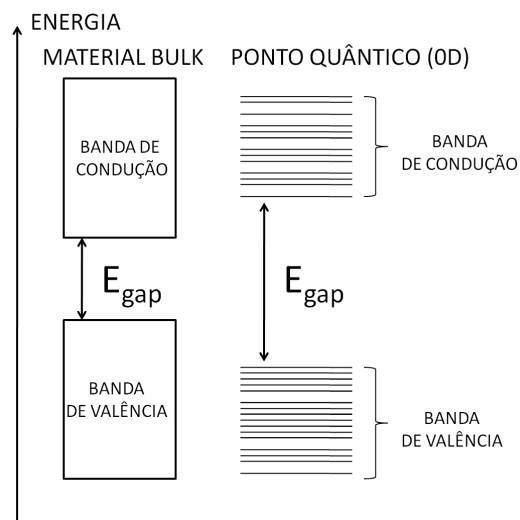


Figura 8

O confinamento espacial discretiza a estrutura de bandas do material *bulk* aumentando o tamanho do *gap* do nanocristal.

3.3 Amostras

3.3.1 Ponto Quântico de CdTe/CdS

O nanocristal que é fonte de estudos nesse trabalho é um ponto quântico (0D) considerado esférico, formado por um núcleo de telureto de cádmio (CdTe) e é revestido por uma capa de sulfeto de cádmio (CdS), esse tipo de estrutura recebe o nome de núcleo-casca (*core-shell*).

O cristal de CdTe é um semiconductor de *gap* direto ($E_g = 1,45$ eV a 300 K [28]), estrutura cristalina do tipo *zincblende* (cúbica) pertencente ao grupo espacial F43m. A estrutura de banda do material *bulk* é mostrada na figura 9.

O CdS é também um semiconductor de *gap* direto ($E_g = 2,44$ eV a 300 K [28]) que pode apresentar duas formas cristalinas, estrutura hexagonal *wurtzite* ou estrutura *zincblende*. A estrutura cristalina e as bandas de energia do CdTe e CdS são mostradas nas figuras 9 e 10 respectivamente.

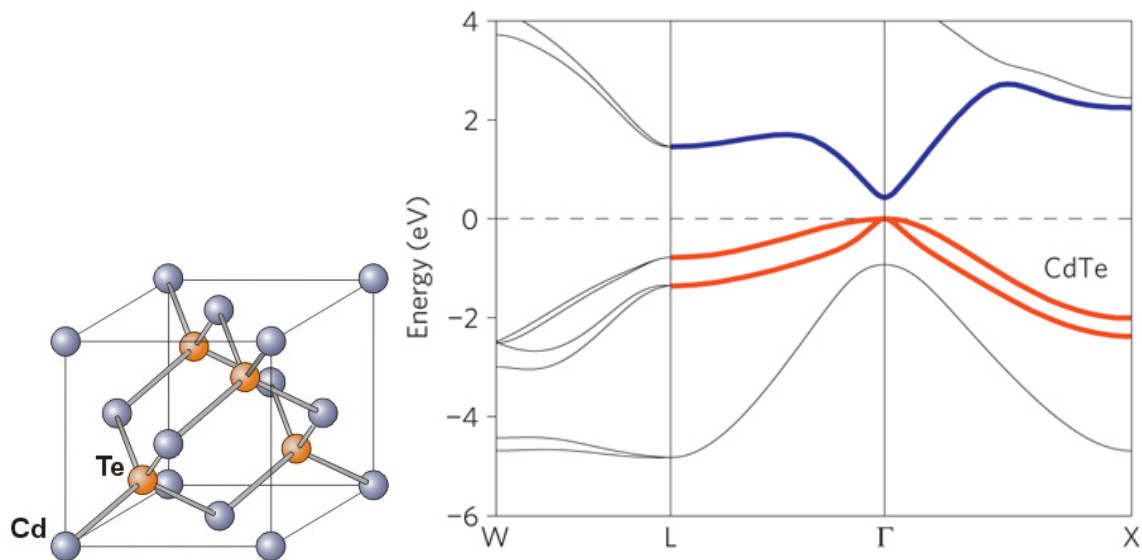


Figura 9
Estrutura cristalina tipo cúbica (*zincblende*) [29] e estrutura de bandas do cristal *bulk* de CdTe [30].

Os pontos quânticos de CdTe/CdS são sintetizados usando técnicas de química coloidal que obedece a dinâmica típica de nucleação e crescimento. O controle do tamanho dos nanocristais e estabilização da solução é determinado pelo pH do meio, temperatura, tempo de reação e a quantidade de estabilizantes que controlam o tamanho do núcleo inicial e evitam a aglomeração dos nanocristais.

A técnica não utiliza substratos e produz uma solução coloidal de partículas em água, e através do controle da interação entre esses dois compostos é possível estabilizar o sistema. Pelo seu tamanho diminuto, os pontos quânticos tem uma relação área de superfície por volume muito grande, fazendo com que ao ser dispersado em um meio polar, apareça na superfície uma distribuição de cargas.

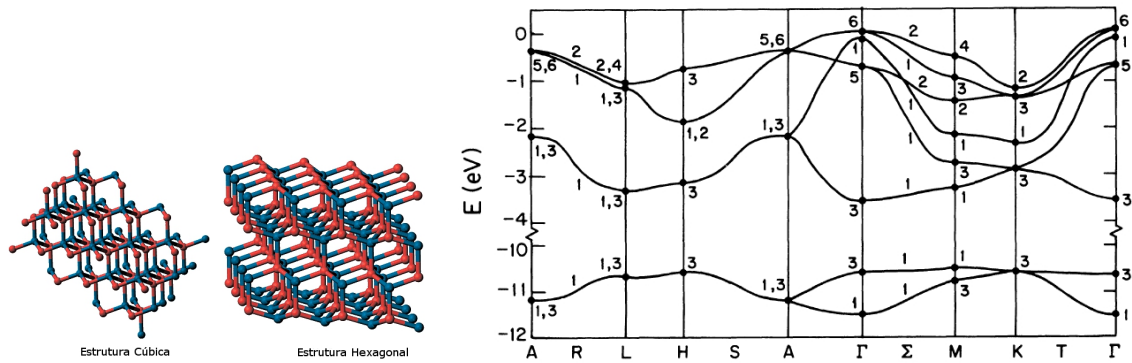


Figura 10

Estrutura cristalina tipo cúbica (*zincblende*) e hexagonal (*wurtzite*) [31], e a estrutura de bandas do cristal *bulk* do tipo hexagonal de CdS [32].

A dinâmica da síntese coloidal de cristais acontece em duas etapas: crescimento e nucleação. Inicialmente é necessário a existência de um conjunto pequeno de átomos (molécula) que irá se decompor e transformar em monômero, para então passar para o processo de nucleação.

A figura 11 mostra o diagrama de *LaMer* que descreve o processo de nucleação e crescimento, mostrando a variação da quantidade de soluto em diferentes etapas do processo. Na etapa I a concentração de soluto aumenta devido a decomposição dos compostos, ao atingir o valor de concentração C_{cr} a etapa II se inicia e começa a formação de núcleos (nucleação) até que a concentração de soluto começa a diminuir. Na etapa III a nucleação cessa e os núcleos preexistentes agregam material da fase líquida, e as partículas começam a crescer até que a concentração de soluto atinja o equilíbrio.

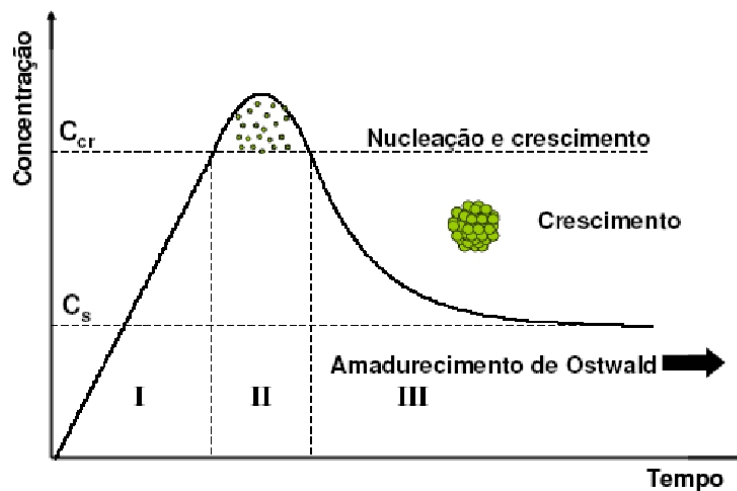


Figura 11

O diagrama de LaMer mostra o processo de nucleação e crescimento de pontos quânticos em colóides. [11]

Um processo importante para a proteção da superfície do nanocristal é a técnica de passivação. Uma casca de CdS com poucos átomos é crescida envolta do núcleo de CdTe. É importante que a energia do *gap* do material da casca seja maior que o *gap* do material do

núcleo, dessa forma a estrutura de bandas é modificada e os estados devido aos defeitos são deslocados para as regiões acima da banda de condução e abaixo da banda de valência.

Como mostrado na figura 12, o processo de passivação facilita a recombinação radiativa do elétron da banda de condução para a banda de valência do CdTe, aumentando a eficiência da luminescência.

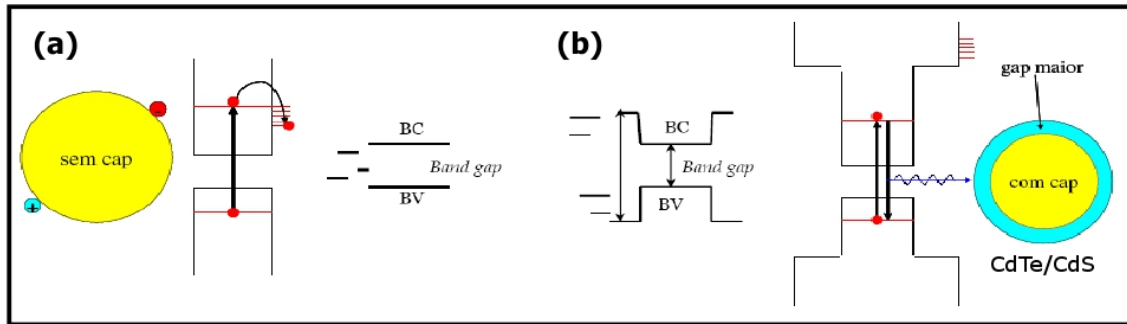


Figura 12

a) Os defeitos da superfície geram níveis de energia que possibilitam a transição não radiativa e o aprisionamento de elétrons, b) Com a passivação, a casca de CdS protege o núcleo de CdTe. [11]

3.3.2 Síntese das amostras

A síntese dos pontos quânticos utilizados nesse trabalho foram realizadas pela Dra. Claudilene Chaves do Grupo de Nanotecnologia Biomédica da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), os detalhes do processo descritos abaixo podem ser encontrados no texto [11].

A síntese foi realizada utilizando um dos dois estabilizantes (surfactantes), o ácido 3-mercaptopropiônico (AMP) ou o ácido mercaptosuccínico (MSA) cujas estruturas químicas são mostradas na figura 13. Inicialmente o telúrio é reduzido utilizando o redutor boridreto de sódio (NaBH_4) e separadamente sob uma atmosfera inerte de argônio, utilizando água deionizada, a solução de cádmio (Cd^{2+}) com um agente estabilizante (AMP ou MSA) é preparada. Juntando as duas soluções são sintetizados os pontos quânticos de CdTe/CdS, o processo é mostrado na figura 14.

- **Síntese PQs CdTe/CdS AMP**

Para obtenção dos cátions de cádmio (Cd^{2+}) adiciona-se 20 mL de solução de $\text{Cd}(\text{ClO}_4)_2$ (0,01 M e pH 5,2) a 1,2 mL de solução AMP (4,9% e pH 2,4), elevando o pH para 10,5. A solução é aquecida a 80 °C sob agitação.

O íon de telúrio reduzido (Te^{2-}) é obtido solubilizando 0,013 g de telúrio metálico (Te^0) em 100 μL de NaOH a 2 M na ausência de oxigênio (atmosfera de argônio). São adicionados a essa solução 0,144 g de boridreto de sódio (NaBH_4) solubilizado em 2,0 mL de água. A temperatura é elevada a 80 °C reduzindo o metal totalmente. Após uma hora a coloração transparente mostra que a redução do telúrio de Te^0 para Te^{2-} foi completada.

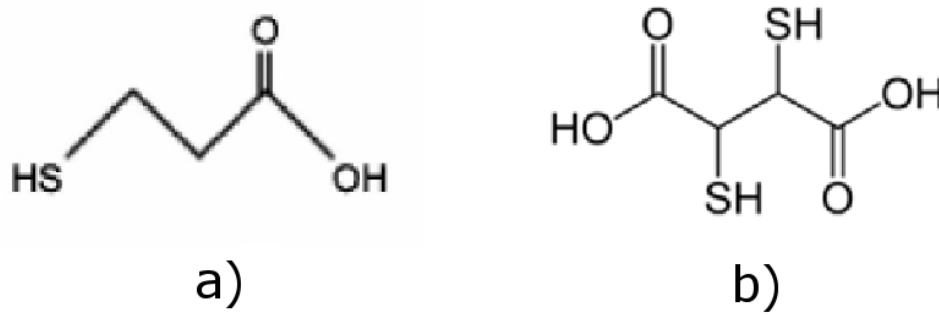


Figura 13

Estrutura química dos estabilizantes (surfactantes) utilizados na síntese dos pontos quânticos, **a)** ácido 3-mercaptopropiônico (AMP) e **b)** ácido mercaptosuccínico (MSA) [11].

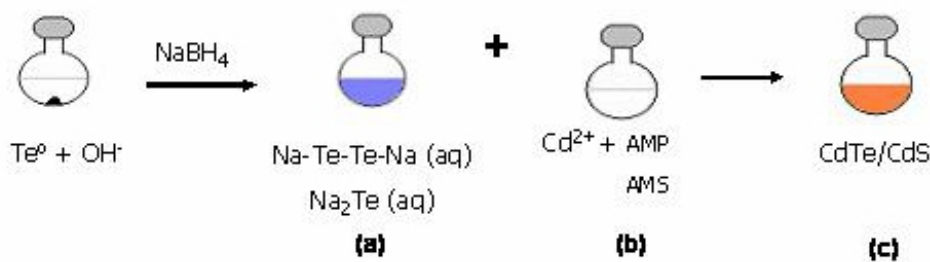


Figura 14

Esquema da sintetização da pontos quânticos.

A solução de $\text{Cd}^{2+} + \text{AMP}$ é adicionada a solução de telúrio reduzido (Te^{2-}) e mantêm-se o sistema sob agitação e aquecimento a $(80 \pm 10) ^\circ\text{C}$ por 7 hs. O resultado final são pontos quânticos de CdTe passivados com uma fina casca de CdS; a proporção de Cd: Te: AMP é de 2:1:1.

• Síntese PQs CdTe/CdS MSA

O procedimento para obtenção do CdTe/CdS MSA é parecido ao adotado para obtenção do CdTe/CdS AMP. São dissolvidos 0,032 g de estabilizante MSA em 5 mL de água; 0,013 g de telúrio (Te^0), 20 mL de solução de $\text{Cd}(\text{ClO}_4)_2$ a 0,01 M, 100 μL de NaOH a 2 M e boridreto de sódio (NaBH_4) diluído em 2,0 mL de água.

Por último, é adicionado 80 mL de PBS (Tampão Fosfato Salino) que eleva a osmolaridade da suspensão, necessária para aplicação em sistemas biológicos [33]. A reação é então agitada e aquecida a $(90 \pm 10) ^\circ\text{C}$ por 10 hs. A proporção final de Cd: Te: AMP é de 2:1:2,4 .

Os valores de raio médio das amostras de pontos quânticos de CdTe/CdS AMP e CdTe/CdS MSA utilizadas nesse trabalho, obtidos pela Dra. Claudilene foram respectivamente, para a amostra AMP o raio médio de 2,6 nm e para a amostra MSA o raio médio de de 3,5 nm [11].

Imagens por microscopia eletrônica de transmissão (MET) dos pontos quânticos foram

obtidas no Centro de Microscopia da UFMG também pela Dra. Claudilene Chaves. Na figura 15 observamos planos atômicos e partículas com tamanhos da ordem de nanômetros da amostra MSA. A análise das imagens obtidas por MET e do difratograma de raio-x são importantes para demonstrar o tamanho nanométrico das amostras de CdTe/CdS estudadas.

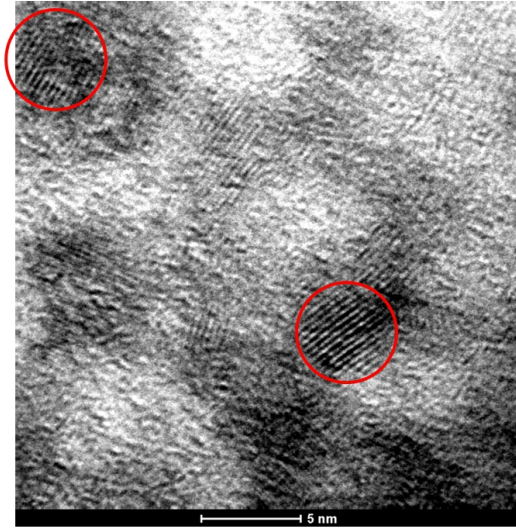


Figura 15

Imagem de MET da amostra de pontos quânticos MSA obtido no Centro de Microscopia da UFMG, nos círculos vermelhos é mais evidente os planos cristalinos de um ponto quântico .

3.3.3 Aproximação de Massa Efetiva

Para obter a estrutura de bandas dos pontos quânticos de CdTe/CdS, desconsideraremos a casca de CdS pois o seu *gap* é grande comparado ao núcleo de CdTe, e pouco modifica as bandas de energia do topo (fundo) da banda de valência (condução). O modelo de aproximação de massa efetiva é usado, assumindo que a superfície do ponto quântico seja esférica e que nesse ponto a barreira de potencial é infinita (figura 16) e também as bandas de condução e de valência sejam parabólicas [34]. Para a região em torno do ponto Γ na estrutura de bandas do CdTe *bulk* na figura 9 a aproximação parabólica pode ser aplicada.

Para descrever o comportamento de um elétron ou buraco sob a ação de um campo externo qualquer, a relação entre a força externa aplicada e a energia:

$$dE = \vec{F} \cdot \vec{V}_g dt \quad (3.4)$$

Onde $V_g = \hbar^{-1} \frac{dE(k)}{dk}$ é a velocidade de grupo do pacote de onda. Usando a relação entre força e massa da segunda lei de Newton, a massa efetiva é descrita como:

$$m_{eff}^{-1} = \hbar^{-2} \frac{\partial^2 E}{\partial k^2} \quad (3.5)$$

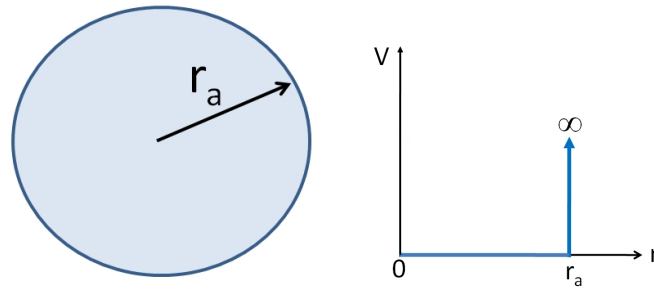


Figura 16

O ponto quântico é modelado como uma esfera de CdTe de raio r_a de potencial infinito em sua superfície.

A força total que age sobre uma partícula (elétron ou buraco), é a soma das forças geradas por campos externos, íons, e outros elétrons da rede; fazendo com que a partícula se comporte como se possui-se uma massa efetiva que pode ter um valor diferente da massa de repouso. A derivada parcial $\frac{\partial^2 E}{\partial k^2}$ têm um valor constante e diferente de zero para a banda parabólica, assim a massa efetiva da partícula é uma constante.

Nos pontos quânticos de CdTe/CdS os raios de Bohr para os elétrons e os buracos são $a_{eletron} = 7,4$ nm e $a_{buraco} = 1,7$ nm respectivamente. Assumindo o estado de confinamento forte ($r_a < a_{eletron}, a_{buraco}$) onde r_a é o raio médio dos nanocristais, consideraremos um ponto quântico esférico e de potencial infinito na superfície. O hamiltoniano é escrito separadamente para elétrons e buracos [35]:

$$\left[-\frac{\hbar^2}{2m_{eff}^i} \nabla^2 + V_i(\vec{r}) \right] \Psi_{n,i}(\vec{r}) = E_{n,i} \Psi_{n,i}(\vec{r}) \quad (3.6)$$

O termo de interação do par elétron buraco foi desprezado por ser muito pequeno comparado ao termo cinético, $V_i(\vec{r})$ é o potencial de confinamento, que é infinito para $r = r_a$ e zero para $r < r_a$, pois o potencial está sendo calculado em relação ao topo da banda de valência ou ao fundo da banda de condução; o índice i é igual a e (elétron) ou h (buraco) e n é o número quântico principal.

A solução para a equação de Schrodinger em coordenadas esféricas $\Psi_{nlm}(r, \theta, \phi)$ é escrita como o produto de harmônicos esféricos por uma função radial, $\Psi_{nlm}(r, \theta, \phi) = Y_{lm}(\theta, \phi) R_{nl}(\vec{r})$; l é o número quântico orbital e m é o número quântico magnético. A solução para a equação radial é a combinação de uma função esférica de Bessel com uma função de Neumann.

$$R_{nl}(r) = A_{nl} j_l(kr) + B_{nl} \eta_l(kr) \quad (3.7)$$

e na região ($0 < r < r_a$):

$$k_{nl} = \frac{\sqrt{2m_{eff}^i E_{nl}}}{\hbar^2} \quad (3.8)$$

Aplicando as condições de contorno, temos que a função radial (3.7) deve ser finita em $r = 0$ fazendo com que a constante $B_{nl} = 0$. Na superfície do ponto quântico $R(r = a) = 0$ e $j_l(ka) = 0$. As raízes da função esférica de Bessel são escritas como χ_{nl} , onde n é a n -ésima raiz da função de ordem l .

Dessa forma, a energia dos estados confinados será inversamente proporcional ao raio ao quadrado para um ponto quântico isolado.

$$E_{nl} = \frac{\hbar^2 \chi_{nl}^2}{2m_{eff}^i r^2} \quad (3.9)$$

Usando a massa efetiva de elétrons e buracos, para o CdTe a massa efetiva do elétron é $m_{eff}^e = 0,096m_0$, e a massa efetiva do buraco é $m_{eff}^h = 0,4m_0$ [25] onde m_0 é a massa de repouso do elétron e o *gap* de energia do CdTe *bulk* $E_{gap} = 1,60$ eV [25], a relação da energia em função dos raios dos pontos quânticos é obtida.

O confinamento no ponto quântico fará com que suas bandas de energias sejam discretizadas, modificando o tamanho do *gap* em comparação com o material *bulk*.

Se considerarmos a interação coulombiana a energia do nanocristal é escrita:

$$E_{nl} = \frac{\hbar^2 \chi_{nl}^2}{2r^2} [(m_{eff}^e)^{-1} + (m_{eff}^h)^{-1}] + E_{gap} - E_{binding} \quad (3.10)$$

o termo de interação do exciton é [36, 37]:

$$E_{binding} = \frac{e^2}{\epsilon|r_e + r_h|} \quad (3.11)$$

E_{gap} é o *gap* de energia do CdTe *bulk* e $r = |r_e + r_h|$

Para nanocristais muito pequenos o termo de interação coulombiana $\frac{1}{r}$ aumenta mais lentamente do que o termo cinético $\frac{1}{r^2}$, logo o termo coulombiano é muito pequeno [36]. Sem a interação entre o par elétron buraco o exciton não é formado.

A dependência da energia com o raio do ponto quântico é mostrado na figura 17. A discretização das energias fica mais clara a medida que aumenta o confinamento do cristal, principalmente para transições de maiores energias $l = 1, 2, 3$.

Muitos autores aperfeiçoaram o modelo ao considerar outros parâmetros, como a interação entre o par elétron buraco [38–41], a influência do meio, potencial finito [42–45], influência do formato dos nanocristais [46].

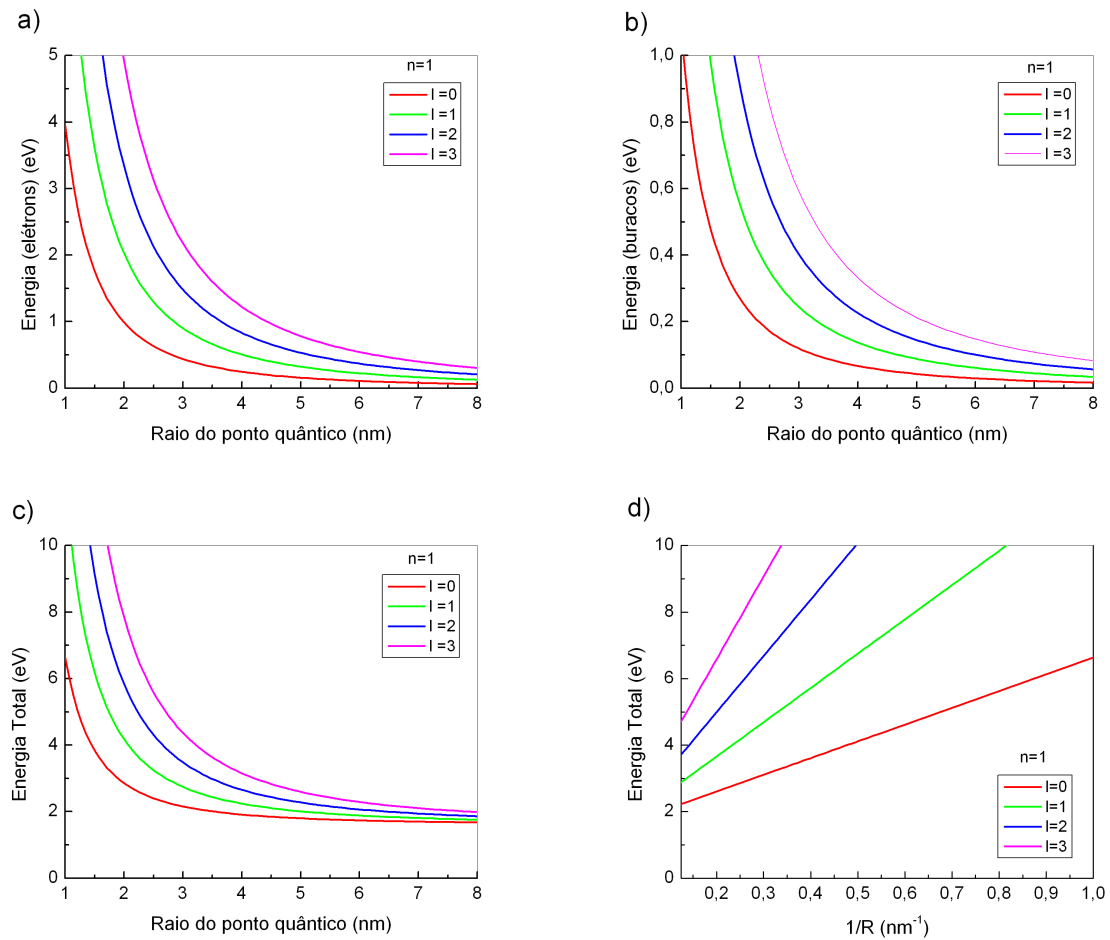


Figura 17

Dependência da energia de confinamento de elétrons e buracos para $n = 1$ com o tamanho do ponto quântico de CdTe/CdS nos gráficos **a)** e **b)**. A energia total (**c)** e **d)**) é a soma da energia do *gap* do material *bulk* com as energias de confinamento do elétron e buraco desprezando a energia de ligação.

4 Montagens Experimentais

4.1 Laser de Titânio Safira

Em todos os experimentos relacionados a fenômenos da ótica não linear (2PA, SHG) abordados nesse trabalho, o laser pulsado de titânio safira (*Ti:sapphire*) descrito abaixo é o utilizado.

O laser *Chameleon* da *Coherent* é do tipo oscilador *mode locked*, o feixe laser pulsado é gerado a uma taxa de 80 MHz pelo cristal de safira dopado com titânio que é excitado por um laser cw de diodo, a largura de cada pulso é de 140 femtosegundos.

A banda espectral de emissão do laser de *Ti:sapphire* é larga (de 690 nm à 1040 nm) indo do visível ao infravermelho. A potência do feixe varia com o comprimento de onda, sendo menor nos limites inferiores e superiores da banda de emissão e é máxima em 800 nm, veja a figura 18. Em nossas montagens, a potência na amostra é controlada colocando uma placa de meia onda seguida de um polarizador na saída da cavidade do laser.

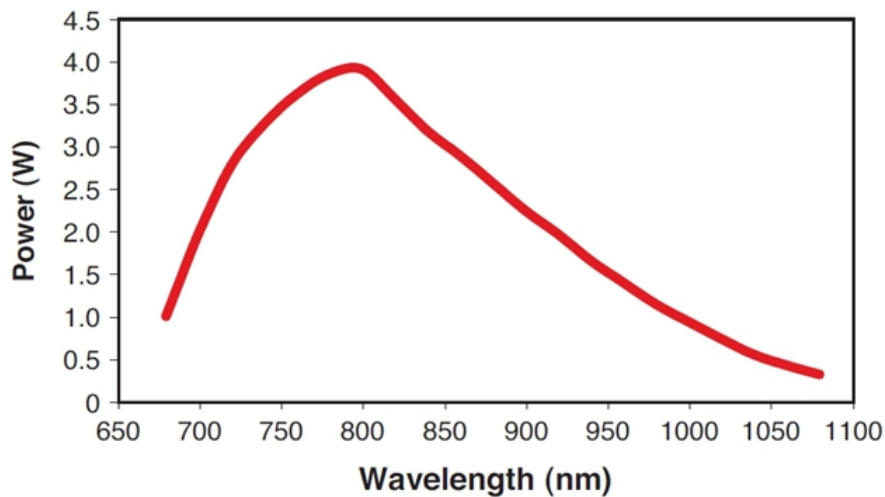


Figura 18

Gráfico da potência média do feixe de saída pelo comprimento de onda do laser de titânio safira [47].

4.2 Absorção

Os experimentos de absorção foram realizados no laboratório de Espectroscopia Raman da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) e os espectros de absorção foram obtidos usando o espectrômetro modelo *UV-3600 UV-VIS-NIR Spectrophotometer* da Shimadzu. A linha de base foi estabelecida usando o modo de feixe duplo *Double Beam* utilizando duas cubetas de quartzo de 1 mm de caminho ótico preenchidas com água destilada.

4.3 Espectro de Emissão (PL)

Montei o experimento para obtenção da emissão como mostrado na figura 19. O feixe pulsado é gerado pelo laser de titânio safira, e é usado como fonte de excitação por dois fótons (2PA) e sua potência é controlada por uma placa de meia onda seguida de um polarizador. Logo após passar pelo controle de potência, a montagem permite desviar o feixe usando o divisor de feixes para um cristal modulador que é utilizado em outras medidas, porém nas medidas de fotoluminescência o cristal não é usado.

A amostra de ponto quântico é colocada em uma cubeta de quartzo com as quatro faces polidas e de 1 cm de caminho ótico. Uma objetiva de microscópio de 10X de aumento é usada para focar o laser na amostra, uma segunda objetiva de microscópio de 40X de aumento é posicionada perpendicularmente ao feixe de excitação de forma a coletar e colimar a emissão. A amostra é posicionada de forma que o foco fique próximo da parede da cubeta voltada para a objetiva de coleta, para evitar reabsorção da emissão pela amostra.

Em seguida uma lente de distância focal de 5 cm focaliza o feixe colimado na fibra ótica, para evitar a luz espalhada do laser, é colocado entre a lente e a ponta da fibra um filtro que corta o infravermelho e transmite o visível.

A fibra ótica está acoplada a um espectrômetro da Andor - Shamrock com uma CCD modelo iDus também da Andor.

4.4 Fotoluminescência de Excitação (PLE)

A fotoluminescência de excitação é uma técnica que relaciona o comprimento de onda de excitação com a intensidade da emissão da amostra. Quando não existem processos que impeçam a recombinação do par elétron buraco (como os *traps* de elétrons por exemplo), a informação fornecida pelo PLE é comparável ao espectro de absorção. Quando não é possível medir o espectro de absorção de uma amostra, o PLE é usado para estudar a absorção.

A montagem experimental é a mesma mostrada na figura 19; a fotoluminescência da amostra é medida pelo espectrômetro para diferentes comprimentos de onda de excitação, mantendo a potência constante para todos os comprimentos de onda de excitação.

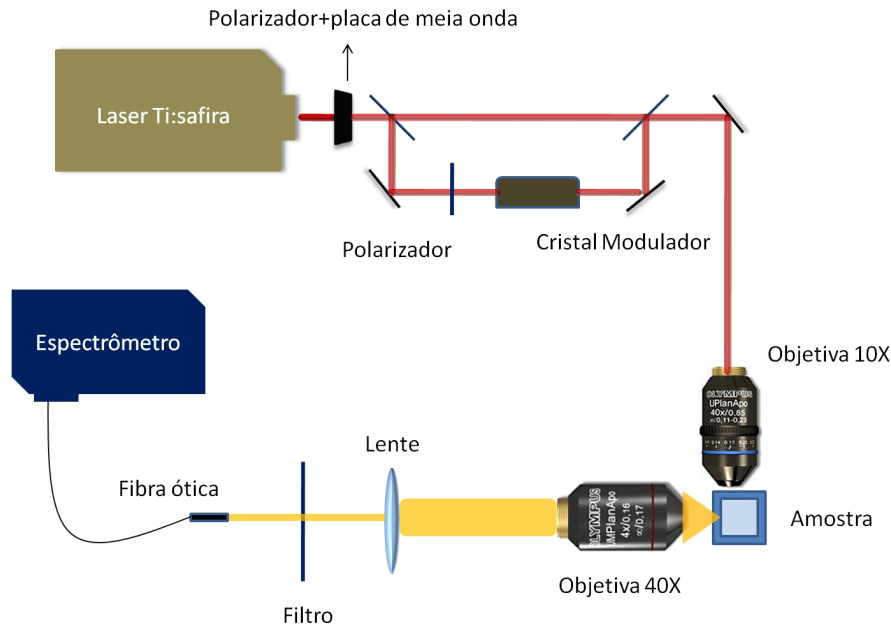


Figura 19

Montagem experimental para medir o espectro de fotoluminescência, o cristal modulador não é utilizado nesse experimento.

4.5 Controle da Taxa de Modulação do Laser

Para controlar a dispersão dos pulsos do laser utilizamos um filtro dispersivo acusto-óptico programável (AOPDF) da *Fastlite - Dazzler*, onde um sinal analógico de radio frequência programável de alta potência gerado por um dispositivo externo gera uma onda acústica no cristal, modulando o índice de refração do mesmo [48]. O cristal também modula o trem de pulso do laser de excitação e o feixe de luz ao incidir no cristal será difratado produzindo um feixe com trem de pulso modulado. A taxa de repetição pode ser selecionada de 10 Hz à 1 kHz. A duração da modulação é o tempo de propagação da onda acústica no cristal que é de $32 \mu\text{s}$. Neste intervalo de tempo tem-se 2608 pulsos, veja o diagrama esquemático na figura 20.

A montagem é a mesma utilizada para medir a PL (figura 19), porém o feixe é desviado e passa por um polarizador e pelo cristal modulador. Essa montagem é usada nas medidas de intensidade por potência da seção 4.6.



Figura 20

Diagrama esquemático que mostra a modulação do trem de pulso pelo Dazzler.

4.6 Medidas de Intensidade x Potência

No fenômeno de absorção por dois fótons (2PA), a intensidade de emissão é proporcional a potência de excitação ao quadrado $I \propto P^2$. A forma como a intensidade da emissão varia em função da potência de absorção indica o tipo de fenômeno ótico que está ocorrendo.

A montagem experimental é idêntica a da figura 22, mantendo o comprimento de onda de excitação fixo, variamos a potência do feixe de excitação e medimos a emissão através do espectrômetro. Em uma segunda etapa, variamos a taxa de repetição do laser usando o cristal modulador para estudar a sua influência na absorção da luz pela amostra.

4.7 Medida de Tempo de Vida

As medidas de tempo de vida foram realizadas com a ajuda do Prof. Luiz Alberto Cury no Laboratório de propriedades ópticas e elétricas de polímeros conjugados da UFMG. Foi utilizado um laser de *Ti:sapphire* com taxa de repetição de 80 MHz para gerar o segundo harmônico em um cristal BBO, produzindo o feixe de excitação em 400 nm.

O tempo de vida da luminescência é o tempo médio que o elétron permanece no estado excitado até que recombinde radiativamente. Essa dinâmica é descrita como um decaimento exponencial:

$$N(t) = N_0 e^{-\frac{t}{\tau}} \quad (4.1)$$

$N(t)$ é a quantidade de elétrons no estado excitado no termo t , N_0 é a quantidade de elétrons no estado excitado no tempo $t = 0$ e τ é a constante de decaimento da luminescência. Quando processos não radiativos estão envolvidos, o tempo de vida é escrito como uma soma do termo radiativo τ_{rad} e termos não radiativos τ_{nrad}

$$\tau = \tau_{rad} + \tau_{nrad} \quad (4.2)$$

4.8 Imagem por Microscopia Confocal

A obtenção de imagens por microscopia confocal utiliza da técnica confocal mostrada no diagrama na figura 21. Nessa técnica um feixe de laser é refletido por um espelho dicróico e é focado por uma objetiva na amostra. A emissão é coletada pela mesma objetiva e é transmitida pelo espelho dicróico que filtra o laser de excitação. A íris confocal tem a abertura selecionada para que somente a luz proveniente do plano focal seja transmitida, enquanto a luz vinda de outra região fora do foco é bloqueada. As imagens são obtidas varrendo o ponto focal sobre a área da amostra a ser estudada, elas tem maior resolução, menos ruído se comparadas com

aquelas obtidas através de microscopia convencional.

Na obtenção da imagens por microscopia confocal, é utilizado o microscópio confocal FV-300 da *Olympus*. Na montagem mostrada na figura 22 é possível excitar a amostra por um ou dois fótons, além do laser no infravermelho (Ti:safira) outros dois lasers contínuos (cw) em 488 nm e 543 nm foram utilizados. Os feixes de laser entram no microscópio por um espelho dicróico (DM 1) que transmite a banda (680-1080) nm e reflete abaixo de 680 nm.

O feixe de excitação entra na unidade de escaneamento e é refletido por um espelho dicróico (DM 2) para o par de espelhos que permite o movimento de varredura. Em seguida o feixe é focado na amostra pela objetiva de focalização, o movimento de varredura acontece sobre o plano focal na amostra. O laser transmitido é coletado por uma lente no interior do condensador e focaliza na fotomultiplicadora (PMT3).

A fluorescência é coletada pela mesma objetiva de focalização, que ao passar novamente pelo dicróico DM 2, reflete o laser de excitação e transmite a fluorescência. Uma íris é colocada no caminho do feixe para deixa passar somente a luz proveniente do plano focal e bloquear a restante. No interior da unidade de escaneamento tem duas fotomultiplicadoras PMT1 e PMT2 que são usadas para obter imagens de diferentes regiões da banda da fluorescência.

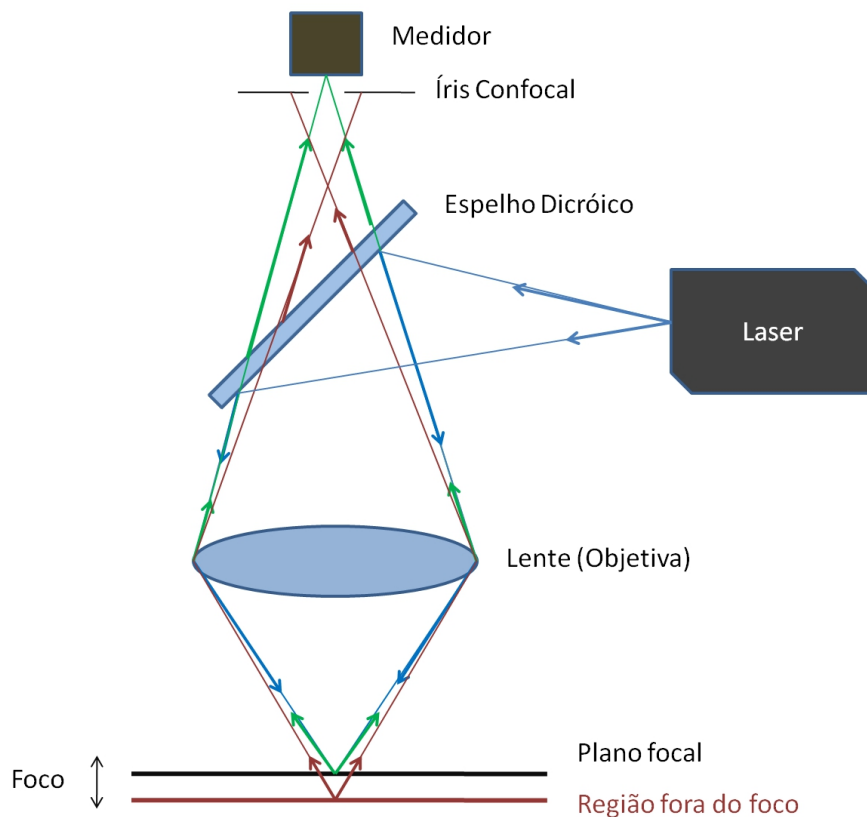


Figura 21

Esquema da técnica confocal, aqui a íris seleciona somente a fluorescência proveniente do plano focal.

A montagem permite a escolha de três componente óticos para separar a fluorescência, pode-se usar um espelho metálico que reflete toda a fluorescência para PMT1, um espelho dicroico (DM 3) que reflete os comprimentos de onda menores que 505 nm, ou um segundo espelho dicroico (DM 4) que reflete comprimentos de onda menores que 570 nm e transmite o restante.

Antes da fotoluminescência ser coletada pelas fotomultiplicadoras, é colocado um filtro na frente de cada uma. Na PMT2 foram usados dois filtros: passa banda (560-600) nm e o filtro passa alta 565 nm, na PMT1 foram usados os filtros passa banda (510-540) nm e (430-460) nm.

Através de um motor piezoelétrico a objetiva de focalização pode se movimentar na direção da propagação do feixe de excitação, movimentando assim o plano focal e obtendo imagens de diferentes profundidades. Através de um software gráfico podemos usar as imagens de diferentes profundidades e montar uma imagem em três dimensões da amostra analisada.

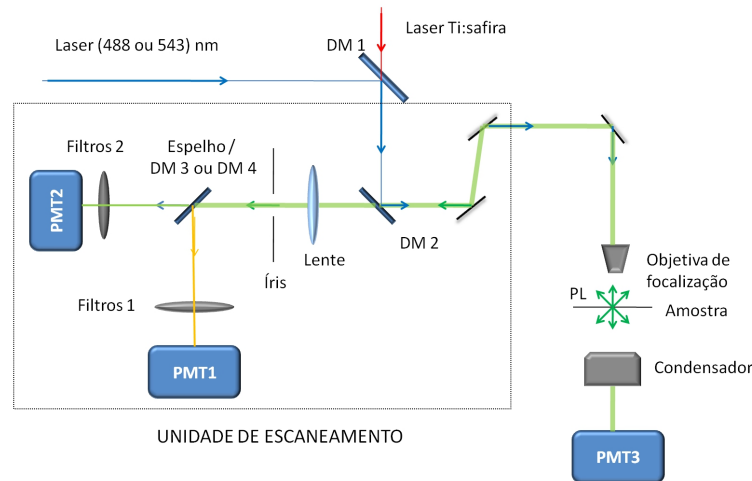


Figura 22

A técnica confocal é usada em conjunto com os espelhos de varredura para obter imagem da amostra excitando com um e dois fótons

4.9 Medida da Geração de Segundo Harmônico

Para medir o espectro do segundo harmônico gerado pelos pontos quânticos, a amostra foi pingada sobre uma lamina de vidro e colocada no microscópio, e o SHG foi obtido através da montagem mostrada na figura 23.

A imagem do segundo harmônico é obtida usando o microscópio confocal FV-300 da *Olympus*, o laser sai da unidade de escaneamento, é transmitido pelo espelho dicroico que transmite o infravermelho e reflete o UV, e uma objetiva de 10X de aumento focaliza a luz sobre a amostra. O segundo harmônico gerado é coletado de duas formas:

- Através do Espectrômetro: o SHG transmitido através da amostra é coletado por uma objetiva de 5X de aumento, um espelho reflete o feixe para o filtro que transmite somente

o UV e absorve o infravermelho, o feixe é focalizado (pela objetiva) na ponta de uma fibra ótica conectada ao espectrômetro.

- Através da Fotomultiplicadora: De modo análogo a microscopia confocal, o SHG é coletado pela mesma objetiva de focalização, o espelho dicróico transmite o infravermelho e reflete o visível. Um filtro 400/20 nm é colocado na frente da fotomultiplicadora PMT4, o resultado é a formação da imagem por varredura do plano focal do segundo harmônico da amostra.

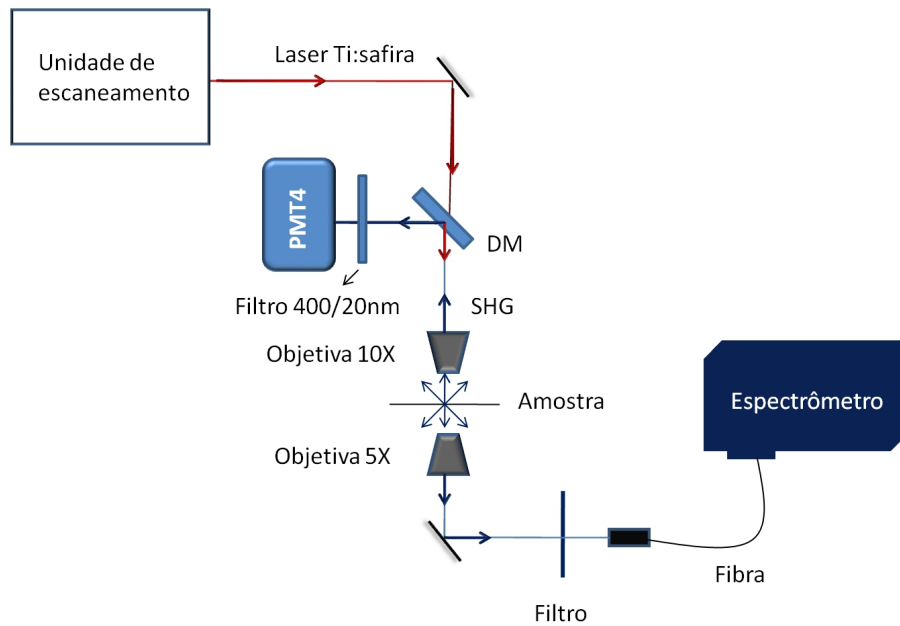


Figura 23

Obtenção da imagem e espectro por geração de segundo harmônico usando o microscópio.

5 *Resultados Experimentais*

Nesse capítulo iremos apresentar e discutir os resultados das medidas de absorção, fotoluminescência, fotoluminescência de excitação PLE por um e dois fótons, tempo de decaimento e a relação entre intensidade e potência dos pontos quânticos de CdTe/CdS sintetizados com diferentes agentes estabilizantes (AMP e MSA), comparando os processos lineares e não lineares envolvidos nos experimentos.

Os resultados discutidos adiante mostram que as amostras de pontos quânticos sintetizadas em meio aquoso são estáveis. Amostras em solução coloidal e guardadas sob refrigeração, mantêm constante suas propriedades físicas e óticas como a posição do pico de emissão e absorção, a largura de linha e distribuição de tamanhos.

Mostrarei também os testes iniciais na aplicação dos pontos quânticos em embriões de galinha como marcadores biológicos.

5.1 Absorção Ótica

Os espectros de absorção ótica para as amostras de pontos quânticos de CdTe/CdS AMP e MSA foram obtidos em temperatura ambiente (300 K) e são mostrados no gráfico da figura 24. A posição do pico de absorção do primeiro estado excitado foi determinada ajustando-se uma curva gaussiana na posição de menor energia do espectro de absorção.

A curva de ajuste é mostrada na figura 25 e está centrada em 484 nm e 530 nm nas amostras AMP e MSA respectivamente com largura de linha à meia altura de $\Delta\lambda = 34$ nm para AMP e $\Delta\lambda = 52$ nm para MSA.

A partir do modelo de aproximação de massa efetiva visto na seção 3.3.3, descrevemos a relação entre a energia de excitação e o tamanho dos pontos quânticos. A largura de linha do primeiro pico de absorção está associada a distribuição de tamanhos dos pontos quânticos da amostra, o raio do ponto quântico referente aos picos de absorção é obtido a partir dos gráficos da figura 17 letra **c**) e letra **d**). Obtivemos os raios de 2,1 nm para a amostra AMP e de 2,4 nm para a amostra MSA.

Espera-se que o espectro de absorção de um único ponto quântico seja bem fino aproximando de uma delta. A largura de linha observada no pico de absorção é devido a dois fatores, a distri-

buição de tamanhos de pontos quânticos da amostra chamado de alargamento inhomogêneo [49], e o alargamento devido ao acoplamento elétron fônon que depende da temperatura e é chamado de alargamento homogêneo.

Quanto menor o tamanho do ponto quântico, maior é a diferença entre o alargamento homogêneo e o alargamento inhomogêneo [50]. As amostras de pontos quânticos de CdTe estudadas nesse trabalho são da ordem de 2 nm, iremos desconsiderar o alargamento homogêneo e considerar a largura de linha como sendo devido somente a distribuição de pontos quânticos.

A figura 25 mostra o ajuste do primeiro pico de absorção por uma gaussiana para as amostras AMP e MSA. Para fazer o ajuste foi estabelecido a posição do primeiro pico de absorção e utilizando somente os pontos a direita do pico o ajuste gaussiano foi realizado.

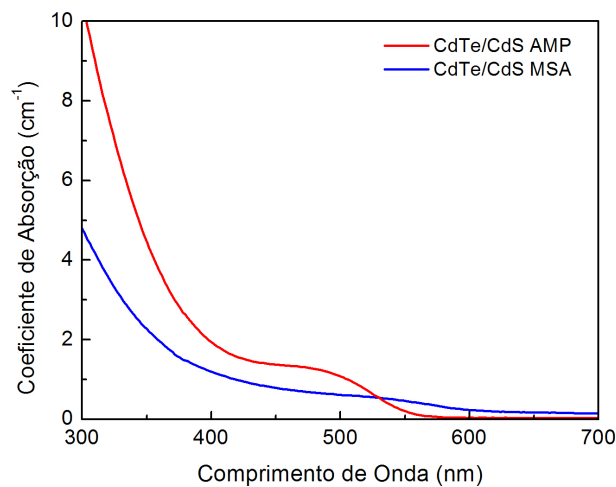


Figura 24

Espectro de absorção das amostras de pontos quânticos CdTe/CdS AMP e MSA a 300 K.

A distribuição de tamanhos dos pontos quânticos resultante é de $(2,1 \pm 0,2)$ nm de raio nas amostras AMP e $(2,4 \pm 0,3)$ nm nas amostras MSA, a variação média é em torno de 10% em relação ao pico de absorção. A diferença no tamanho dos pontos quânticos obtidos através do espectro de absorção, comparado com os tamanhos obtidos através da difração de raio-x (2,6 nm para AMP e 3,5 nm para MSA) é provavelmente devido a simplicidade das aproximações do modelo de aproximação de massa efetiva de bandas parabólicas.

O modelo utilizado mostra que a distância entre a banda de condução (elétrons) e a banda de valência (buracos) é inversamente proporcional ao quadrado do raio dos pontos quânticos. O espectro de absorção aumenta rapidamente em regiões de UV, esse aumento é explicado pela superposição de efeitos das transições interbanda e intrabanda e também pela distribuição não uniforme e não centrosimétrica da densidade de elétrons [51].

Os resultados estão resumidos na tabela 1 para cada tipo de amostra.

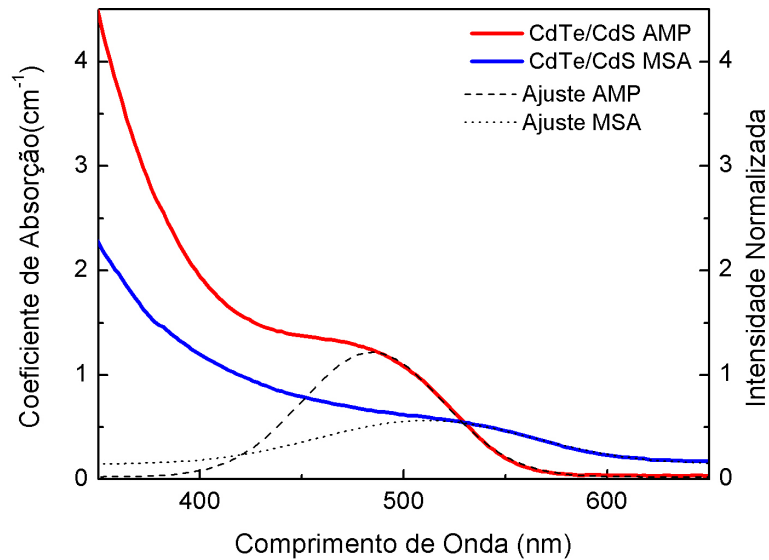


Figura 25

No pico de absorção de menor energia é ajustado uma gaussiana, obtendo os picos de absorção em 484 nm e 530 nm para as amostras de pontos quânticos AMP e MSA respectivamente .

Tabela 1

Distribuição de tamanhos de pontos quânticos das amostras de CdTe/CdS AMP e MSA obtidos usando aproximação de massa efetiva.

Amostra	Pico de absorção (nm)	Largura de linha (nm)	Raio médio (nm)
AMP	484	34	$2,1 \pm 0,2$
MSA	530	52	$2,4 \pm 0,3$

5.2 Fotoluminescência

Como foi discutido na seção 2.1 do capítulo 2, a absorção por dois fótons (2PA) acontece principalmente na região focal onde a intensidade é maior, enquanto a absorção por um fóton (1PA) acontece em todo o caminho ótico no interior da amostra. Essa diferença pode ser observada na fotografia (figura 26) obtida no laboratório, a fotoluminescência do corante rodamina excitando com um fóton ($\lambda = 533$ nm), por dois fótons ($\lambda = 800$ nm) focando com uma objetiva de 5X.

Na excitação por um fóton a fluorescência do corante é muito intensa em quase todo o caminho ótico, a emissão diminui ao longo da direção de propagação devido à absorção por um fóton, na excitação por dois fótons a fluorescência é mais intensa na região do foco, demonstrando a diferença espacial da absorção multifóton em relação a absorção linear. Nas amostras de pontos quânticos também é observada a mesma disposição espacial da emissão devido aos processos de absorção de um e dois fótons.

O gráfico da figura 27 mostra a fotoluminescência dos pontos quânticos AMP e MSA submetido a dois processos diferentes de excitação, a excitação por um fóton (1PA) e a excitação

por dois fótons (2PA).

Todos os espectros de emissão foram obtidos em temperatura ambiente (300 K), as amostras AMP e MSA foram excitadas por um fóton em 400 nm e por dois fótons em 800 nm. Os espectros tem uma forma parecida com uma gaussiana e o pico de emissão está centrado em 558 nm e 598 nm para as amostras AMP e MSA respectivamente. A posição dos picos de emissão são próximos comparando os processos de excitação por um fóton e por dois fótons, as emissões por absorção de dois fótons são mais estreitas com um decaimento mais rápido para comprimentos de onda maiores em relação a posição do pico. Essa diferença acontece devido a excitação de pontos quânticos de tamanhos diferentes, pontos quânticos maiores excitados por dois fótons menos eficientemente do que por um fóton.

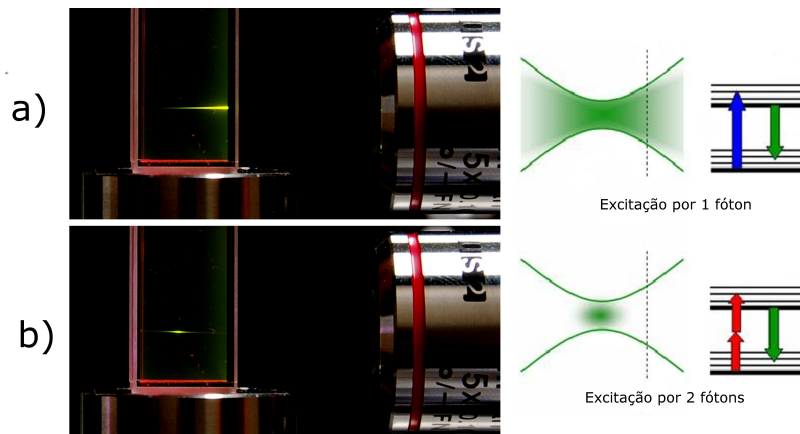


Figura 26

Corante de rodamina sob excitação por um a) e dois fótons b). A absorção por dois fótons acontece principalmente na região focal, enquanto a absorção por um fóton se estende por todo caminho ótico.

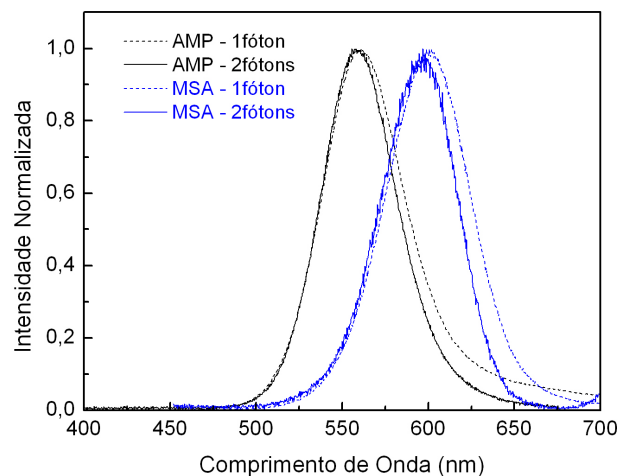


Figura 27

Espectro de fotoluminescência das amostras AMP e MSA excitados com um fóton (linha pontilhada) e por dois fótons (linha cheia).

Através da técnica de microscopia multifóton com o laser de excitação em 800 nm (2PA), obtemos a imagem da fotoluminescência da amostra de pontos quânticos MSA que foi depositada sobre uma lamina de microscópio, e foi coletada usando a montagem mostrada na figura 22.

A figura 28 mostra a borda da gota formada ao secar a solução de pontos quânticos, no seu interior identificamos pontos de emissão mais intensos, esses pontos são regiões de aglomeração de pontos quânticos (*clusters*). Na região interior a borda, a intensidade da emissão observada é muito baixa, mostrando que quando a solução seca, os pontos quânticos concentram-se principalmente nas bordas.

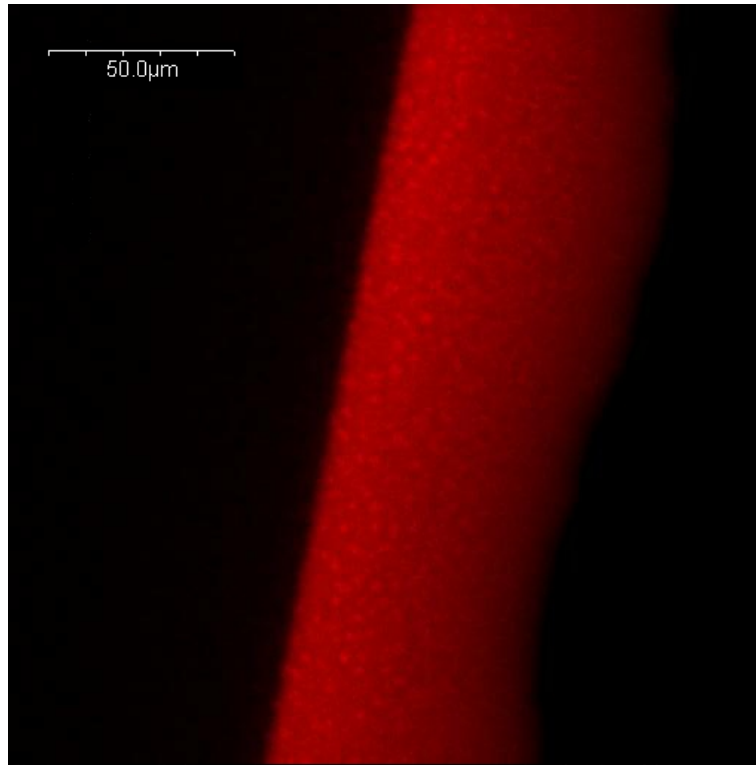


Figura 28

Imagem da fotoluminescência da amostra MSA sobre uma lâmina de microscópio, os pontos mais intensos são *clusters* de pontos quânticos

Colocando as curvas de absorção e emissão em um mesmo gráfico (figura 29) observamos que o pico de emissão em ambas amostras está deslocado em relação ao pico de absorção de menor energia. Esse deslocamento do espectro de emissão é chamado de deslocamento para o vermelho (*Deslocamento Stokes*). A distância entre o pico de absorção e o pico de emissão é de 74 nm na amostra AMP e de 68 nm na amostra MSA. Vamos discutir a seguir as diferentes formas de entender esse deslocamento.

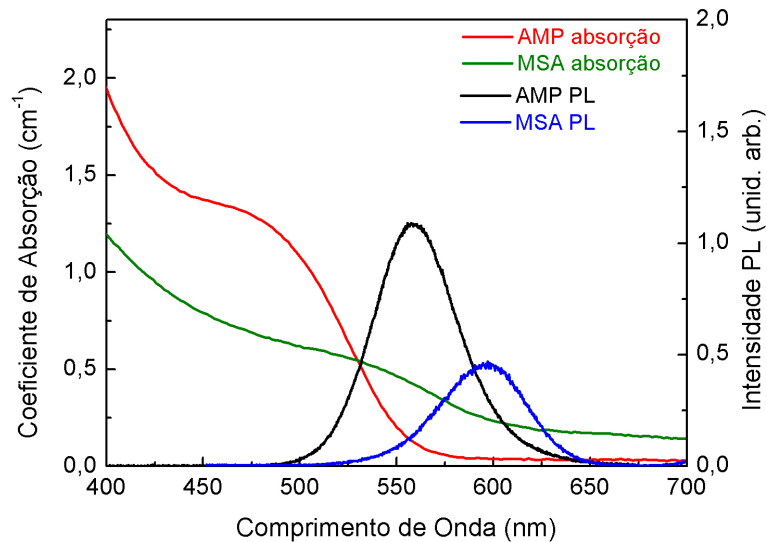


Figura 29

Deslocamento para o vermelho (deslocamento Stoke) do pico de emissão. Na amostra AMP $\Delta\lambda = 74$ nm e na amostra MSA $\Delta\lambda = 68$ nm.

5.2.1 Deslocamento Stokes

O deslocamento para o vermelho observado na figura 29 não pode ser explicado pelo modelo de massa efetiva de banda parabólicas adotado até aqui. É necessário o refinamento do modelo do cálculo de bandas de energia adicionando os termos de interação coulombiana do par elétron buraco (exciton) e a interação de troca.

Muitos modelos tem sido adotados para descrever o processo de emissão em pontos quânticos, os mais utilizados são o método $\mathbf{k}\cdot\mathbf{p}$ [52], cálculo *ab initio* [53] e o método tight-binding [54], esses três modelos têm sido usados para determinar a forma das bandas de condução e valência e as regras de seleção.

Efros *et al.* (1996) obteve a estrutura fina do exciton e da força do oscilador em pontos quânticos com banda de valência degenerada [55], determinando-se a relação entre a distância do deslocamento Stokes e o tamanho dos pontos quânticos.

Os modelos teóricos [53, 55–58] aplicados em pontos quânticos com raio maior que 2 nm, conseguem uma boa comparação com os dados experimentais para a relação entre o deslocamento para o vermelho e o tamanho dos nanocristais. Para tamanhos menores que 2 nm o deslocamento para o vermelho fica muito grande e os dados teóricos não são mais comparáveis com os experimentais.

A emissão em pontos quânticos depende da relação do tamanho do seu raio R com o raio de Bohr a_B do exciton. Para confinamento forte ($R < a_B$) a emissão em pontos quânticos do tipo II-IV é devido principalmente a efeitos de superfície como impurezas e defeitos (figura 30), o processo de recombinação passa a ser mais intenso nesses níveis de superfície.

Outros fenômenos podem estar contribuindo no processo de emissão e aumentando o deslo-

camamento para o vermelho, a influência do meio onde os pontos quânticos se encontram dispersos e participação de fônons no processo de emissão.

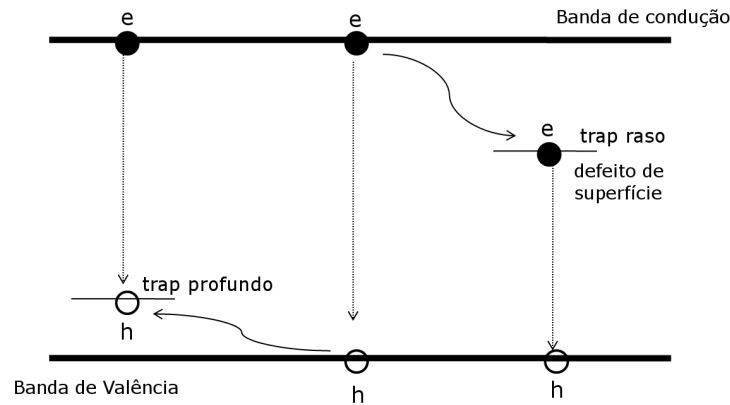


Figura 30
Possíveis formas de relaxamento do par elétron buraco antes da recombinação ótica.

5.2.2 Fotoluminescência de Excitação (PLE)

A PLE por absorção de dois fótons foi realizada com feixe de excitação por dois fótons em 800 nm e a potência constante em 80 mW nas amostra AMP e MSA. Na figura 31, o gráfico mostra um pico largo centrado em 875 nm e um pequeno em 1027 nm na amostra AMP, e um pico em 871 nm e 1029 nm na amostra MSA. A intensidade foi medida fazendo-se o ajuste gaussiano em cada espectro de emissão e tomando-se a área sob a curva.

A dependência do comprimento de onda de emissão com o tamanho dos pontos quânticos, faz com que quando excitados com energia muito acima do primeiro pico de absorção, a intensidade obtida integrando toda a área de cada espectro de emissão mostra a contribuição na emissão de toda distribuição de tamanhos dos pontos quânticos.

Analisando o espectro de emissão para cada comprimento de onda de excitação utilizado na obtenção do PLE (figura 32), observamos que ao excitar com dois fótons em baixa energia (1040 nm), o pico de emissão desloca para o vermelho, indicando que os pontos quânticos de raios maiores estão emitindo com mais intensidade. Aumentando-se a energia de excitação, os pontos quânticos de raios menores emitem mais intensamente.

O deslocamento observado é resultante da seleção de quais tamanhos de pontos quânticos são excitados mais eficientemente e/ou tem a recombinação facilitada pela energia de excitação aplicada, privilegiando a emissão de pontos quânticos grandes quando a energia de excitação é pequena.

Outra forma de montar a curva de PLE é medir a intensidade de emissão para um comprimento de onda específico do espectro de emissão e determinar a variação da intensidade nesse ponto em função do comprimento de onda de excitação, mantendo o comprimento de onda

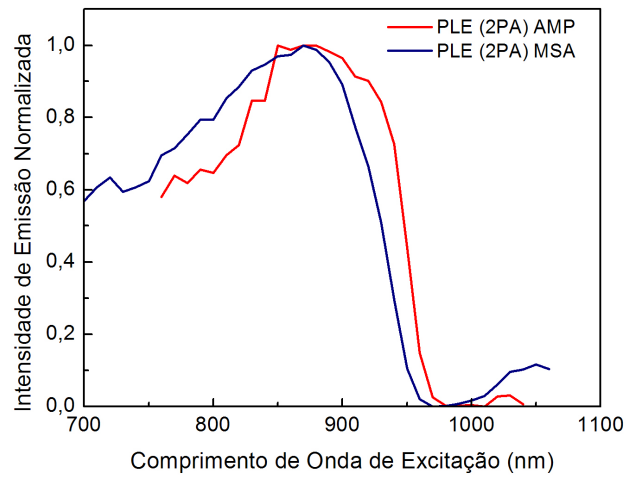


Figura 31

A fotoluminescência de excitação por dois fótons (2PA) relaciona a intensidade de emissão com o comprimento de onda de excitação para as duas amostra AMP e MSA.

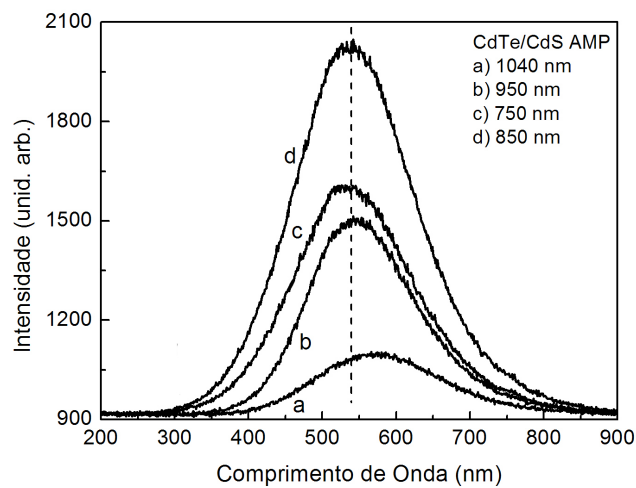


Figura 32

Deslocamento do pico de emissão em função do comprimento de onda de excitação.

constante.

Montamos as curvas de PLE selecionando diferentes comprimentos de onda em torno do pico de emissão de menor energia. Observamos que testando em comprimentos de onda maiores, os pontos quânticos de raio maior tem a emissão mais intensa do que os menores, deslocando a curva de PLE para o vermelho. Mudando o comprimento de onda de teste para valores menores, o PLE desloca-se para o azul e diminui a intensidade de emissão dos pontos quânticos grandes e aumenta a emissão dos menores. Esse processo é visto para as amostras AMP e MSA na figura 33.

O deslocamento do espectro de fotoluminescência de emissão acontece devido a distribuição de tamanhos de pontos quânticos, testando-se em comprimentos de onda de emissão maiores, faz-se com que o PLE obtido mostre a emissão de todos os tamanhos de pontos quânticos com energia acima daquela testada, testando-se em comprimentos de onda de emissão menores, estaremos observando a contribuição de poucos pontos quânticos na emissão. Essa é uma forma de selecionar o tamanho do ponto quântico que será caracterizado e determinar qual comprimento de onda de absorção que melhor o excita.

Apesar de não observar-se picos bem definidos no espectro de PLE por excitação de dois fótons, as curvas obtidas por excitação de um fóton (1PA) mostram picos mais definidos a medida que aumenta-se a energia de excitação testada [59].

O espectro de fotoluminescência por absorção de um fóton das amostras AMP e MSA foi medido no Grupo de Nanotecnologia Biomédica da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) pela Claudilene Chaves. Foi selecionado o comprimento de onda de emissão de teste em 540 nm e 590 nm nas amostras AMP e MSA respectivamente. Na figura 34 comparamos o PLE por absorção de um fóton (onde o comprimento de onda é multiplicado por dois para poder fazer a comparação), e o PLE por absorção de dois fótons testando o comprimento de onda de emissão em 540 nm (AMP) e 590 nm (MSA) no espectro de emissão. As curvas são largas para ambos os processos e o espectro obtido por excitação de um fóton mostram picos que aparecem devido a seleção de tamanhos dos pontos quânticos que emitem de forma mais eficiente.

As regras de seleção na absorção por dois fótons depende de parâmetros como a simetria da função de onda do par elétron buraco, polarização do feixe de excitação e tamanho dos pontos quânticos [60], essa diferença em relação a absorção por um fóton pode explicar a ausência de picos bem definidos no PLE por absorção de dois fótons [61], e também o deslocamento para o vermelho da curva obtida por excitação de dois fótons em relação a obtida por excitação de um fóton na amostra MSA.

Para comparar o espectro de fotoluminescência de excitação com a posição do primeiro pico de absorção, plotamos no mesmo gráfico a curva de absorção onde multiplicamos o comprimento de onda por dois e o espectro de PLE, visto na figura 35. Observamos que o pico do PLE está deslocado de 93 nm na amostra AMP e 149 nm na amostra MSA em relação ao pico de absorção.

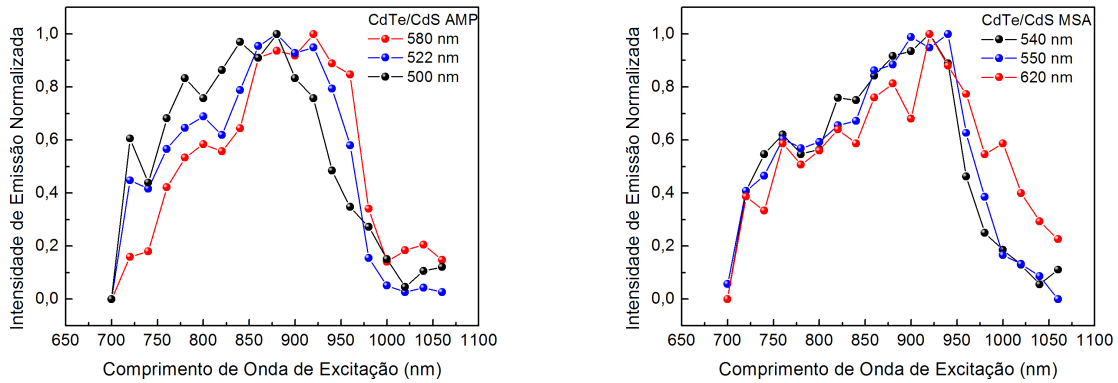


Figura 33

PLE das amostras AMP e MSA obtida testando em diferentes comprimentos de onda do espectro de emissão.

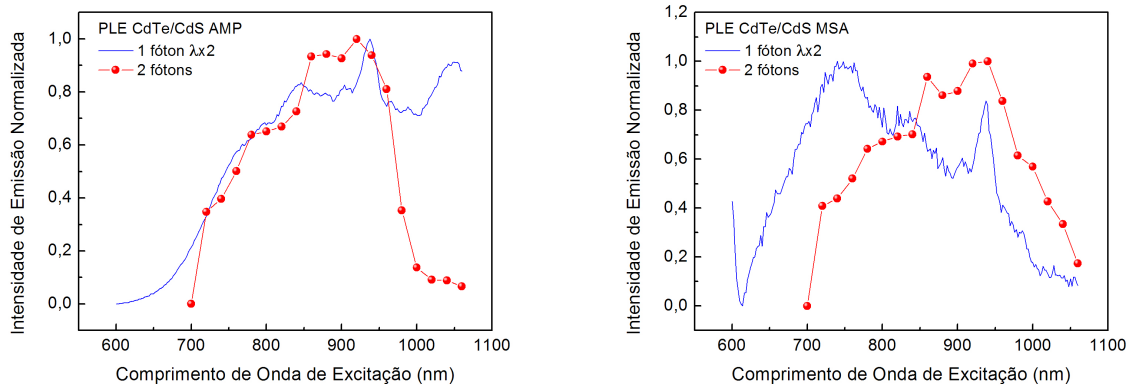


Figura 34

Comparação entre o espectro de PLE por absorção de um fóton multiplicado por dois com a PLE por absorção de dois fótons das amostras AMP e MSA. O Comprimento de onda de teste é de 540 nm na amostra AMP e 590 nm na amostra MSA.

O mesmo deslocamento da curva de PLE em relação ao pico de absorção de menor energia também é observado na fotoluminescência por absorção de um fóton visto na figura 36. O processo de emissão dos pontos quânticos é mais eficiente quando excitados com energias maiores que o pico de absorção, independente se a excitação é por um ou dois fótons.

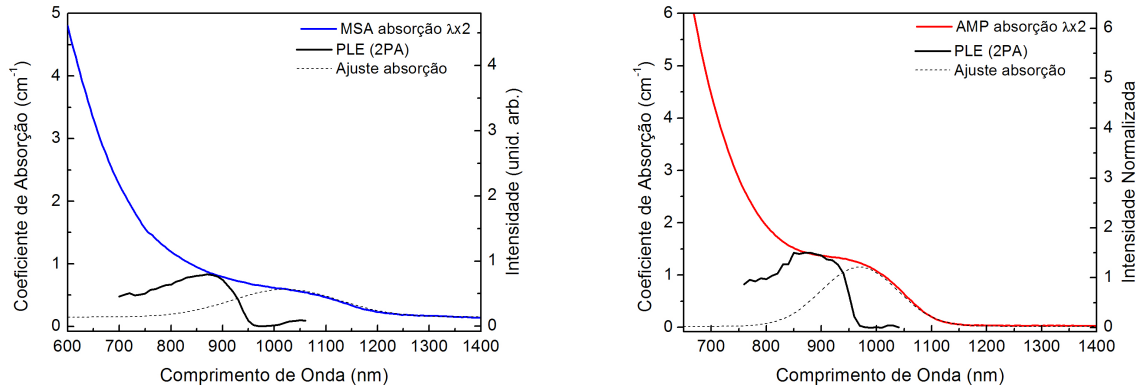


Figura 35

Comparação da fotoluminescência de excitação por dois fótons e o espectro de absorção das amostra AMP e MSA, no eixo y esquerdo é o coeficiente de absorção e o eixo y direito é a intensidade de emissão.

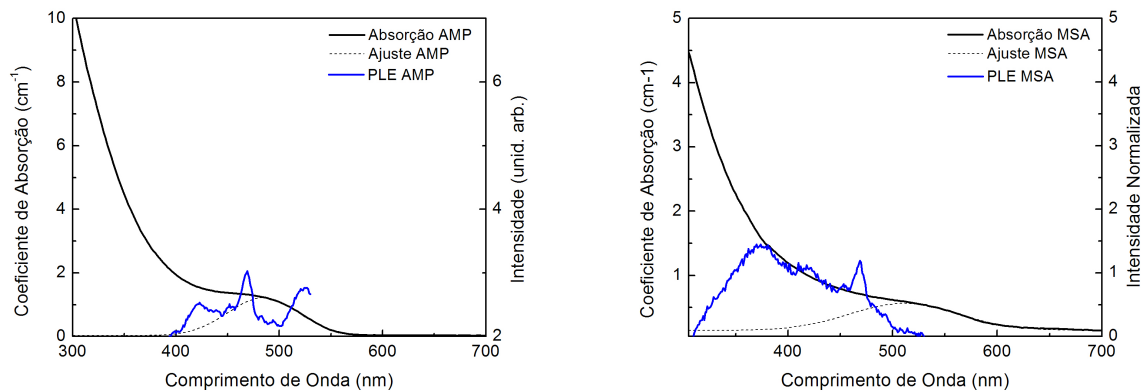


Figura 36

Comparação da fotoluminescência de excitação por um fóton e o espectro de absorção das amostra AMP e MSA, assim como na figura 35, o PLE está deslocado do pico de absorção.

5.3 Tempo de Vida

As curvas do tempo de vida da luminescência da amostra AMP são mostradas na figura 37, a constante de decaimento foi obtida através do ajuste exponencial da equação 4.1 para cada comprimento de onda de emissão. Os resultados obtidos estão resumidos na tabela 2 abaixo.

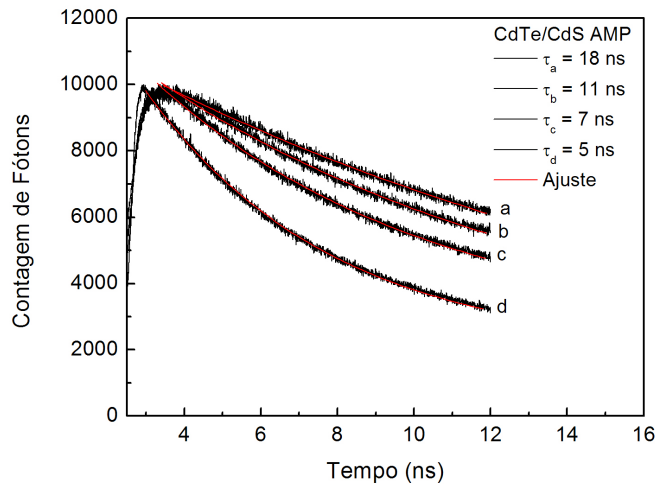


Figura 37
Curvas de decaimento da amostra AMP.

Tabela 2
Constante de decaimento da amostra AMP para diferentes comprimentos de onda de emissão.

Índice da curva	Comprimento de onda de emissão (nm)	Constante de decaimento (ns)
a	580	18
b	560	11
c	540	7
d	520	5

O mesmo procedimento foi usado para obter as constantes de decaimento na amostra MSA, cujas curvas são mostradas na figura 38 e os resultados do ajuste na tabela 3.

O gráfico da amostra MSA (figura 38) mostra a curva de resposta do sistema de medida que está sendo excitado em 400 nm, o tempo de decaimento é de 0,3 ns.

Em ambas as amostras, observamos que para comprimentos de onda de emissão maiores, a curva de decaimento tem uma forma mono exponencial caracterizada por uma única constante de decaimento. A diminuição do tempo de decaimento em função do comprimento de onda de emissão analisado pode ser explicado pela transferência de energia dos pontos quânticos menores para os maiores. O elétron excitado em um ponto quântico pequeno é transferido para pontos quânticos maiores até recombinar, quanto maior a diferença de energia entre os tamanhos dos

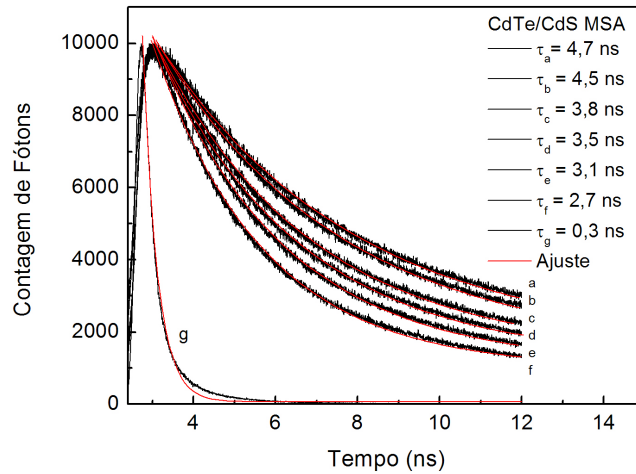


Figura 38
Curvas de decaimento da amostra MSA.

Tabela 3
Constante de decaimento para diferentes comprimentos próximos ao pico de absorção da amostra MSA

Índice da curva	Comprimento de onda de emissão (nm)	Constante de decaimento (ns)
a	620	4,7
b	610	4,5
c	600	3,8
d	590	3,5
e	575	3,1
f	560	2,7
g	400	0,3

pontos quânticos mais lento é o tempo de vida observado. Se medirmos em comprimentos de onda de emissão menores, existirá poucos pontos quânticos com energia maior para transferir elétrons, e o tempo de vida é pequeno [62].

O laser utilizado opera com taxa de repetição de 80 MHz, ou seja, o intervalo entre cada pulso é de 13 ns, assim o resultado da constante de decaimento obtido na amostra AMP de 18 ns (580 nm) está acima da taxa de repetição do laser. Isso significa que mais de um pulso está passando pela amostra antes que o sistema esteja totalmente no estado fundamental, logo o valor do tempo de vida não pode ser ajustado por uma mono exponencial.

A dificuldade na determinação da origem das transições não radiativas em nanocristais são devido a dependência de muitos parâmetros físicos dos tempos de decaimento. Para citar algumas, a dependência com o tamanho da casca do ponto quântico em relação ao caroço, quanto maior a casca maior será a constante de decaimento [63,64]; dependência com a temperatura [65] e também com o meio de dispersão [62,66].

5.4 Intensidade x Potência

Um aspecto importante no estudo da absorção por dois fótons em pontos quânticos é a dependência da intensidade da emissão com a potência de excitação por dois fótons. De um modo geral a intensidade de emissão pode ser escrita como $I \propto P^B$, onde o valor de B indica a ordem do fenômeno ótico envolvido. Linearizando a equação, temos:

$$\ln(I) = B\ln(P) \quad (5.1)$$

Assim medidas de intensidade em função da potência podem ser ajustadas por uma reta onde a inclinação indica a ordem do fenômeno ótico. Inicialmente medimos a intensidade de emissão em função da potência de excitação por dois fótons das amostras AMP e MSA, o comprimento de onda foi mantido constante em 800 nm e variamos a potência média do laser de excitação na amostra, veja as figuras 39 e 40. Na apresentação dos resultados utilizamos o valor da energia por pulso, obtido dividindo a potência média pelo número de pulsos do laser vezes a taxa de modulação. O ajuste linear aplicado as curvas mostram uma inclinação de 1,5 na amostra AMP e 1,7 nas amostra MSA.

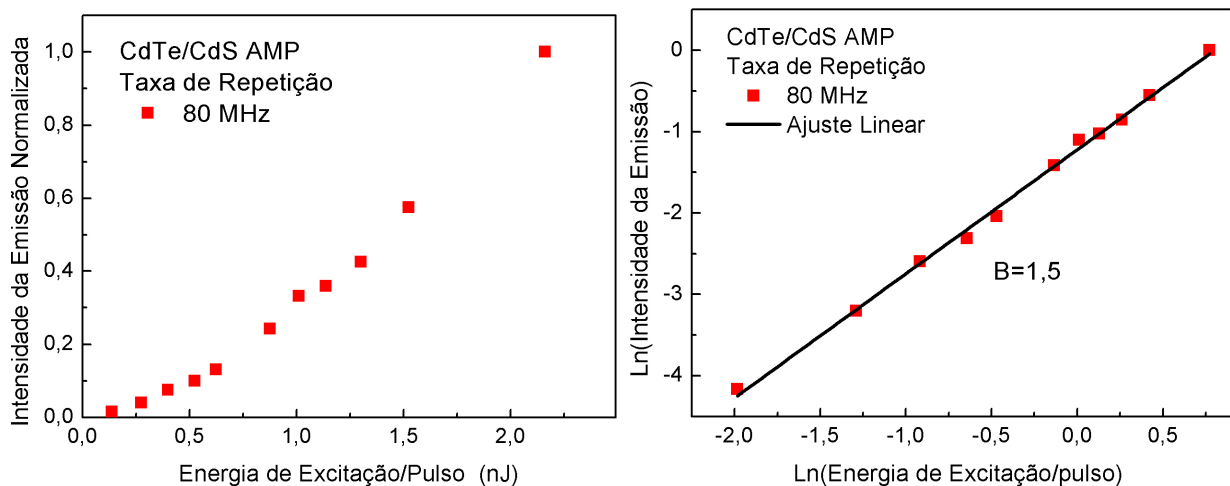


Figura 39

Gráficos que relacionam a intensidade de emissão com a energia por pulso de excitação com taxa de repetição de 80 MHz nas amostras AMP, B é o valor da inclinação da reta.

Os valores da inclinação obtidos para ambas amostras é maior do que um, porém é menor do que o valor esperado ($B = 2$) para o processo de absorção de dois fótons. O valor de $B = 1,5$ da amostra AMP é também obtido na literatura para amostras similares de pontos quânticos de CdTe coloidais em meio aquoso [67]. Não existem trabalhos que tenham obtido valores maiores que 1,5 para a inclinação da reta em pontos quânticos de CdTe. Outros trabalhos tem obtido valores de inclinação entre 1,7 á 2 [67] para pontos quânticos de CdSe.

Um processo que estaria influenciando no valor da inclinação da reta é a taxa com que os pulsos chegam na amostra(o laser de *Ti:sapphire* opera em 80 MHz, ou seja com intervalo

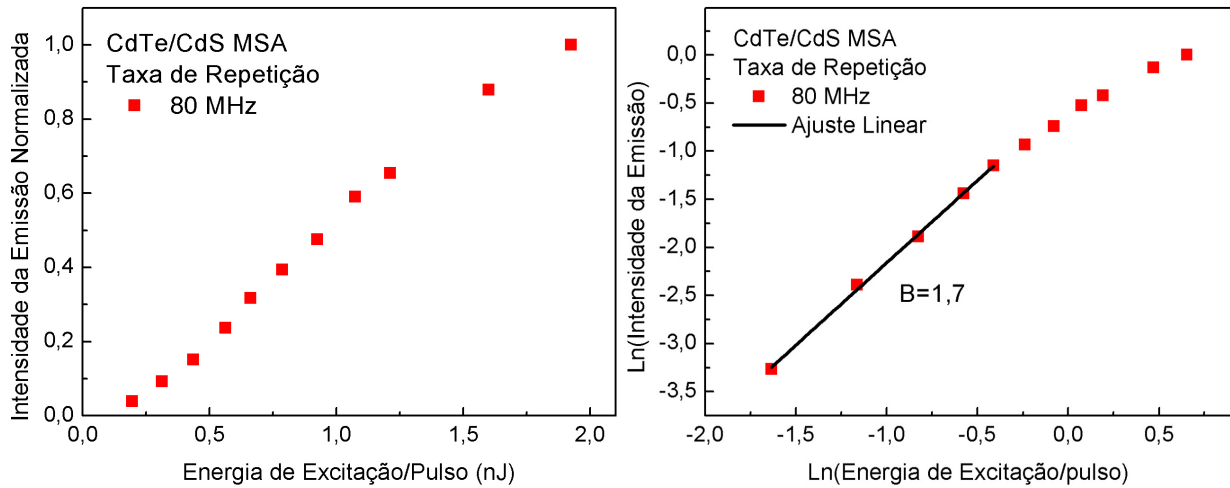


Figura 40

Gráficos que relacionam a intensidade de emissão com a energia por pulso de excitação com taxa de repetição de 80 MHz nas amostras MSA.

de 13 ns entre cada pulso). Se o tempo de vida dos pontos quânticos tiverem constante de decaimento muito lenta comparado a taxa com que os pulsos de excitação chegam no material, o processo de absorção ficará saturado entre cada pulso, e o valor da inclinação da reta será diferente do esperado.

Medimos a intensidade de emissão em função da potência de excitação variando a quantidade de pulsos do laser de excitação que chega na amostra. Utilizamos o cristal modulador como descrito na seção 4.5 para variar a taxa de modulação do laser de excitação entre 300 Hz e 1 kHz, e pré compensar a dispersão do pulso deixando-o mais gaussiano e mantendo a excitação em 800 nm.

Foram observados diferentes dependências da fluorescência com a potência de excitação em ambas amostras de CdTe/CdS. O gráfico da figura 41 mostra as medidas da intensidade da emissão em função da energia por pulso de excitação da amostra AMP, a medida foi repetida para diferentes taxa de modulação do feixe de excitação. As medidas foram normalizadas dividindo os dados pelo valor máximo para cada taxa de modulação. Em 1 kHz observamos três comportamentos distintos; para energias de excitação por pulso menores que 1 nJ/pulso a intensidade aumenta não linearmente, depois torna-se linear até em torno de 3,6 nJ/pulso quando tende a ficar constante. Esse mesmo padrão de comportamento é também observado nas medidas com taxa de modulação de 500 Hz e 300 Hz.

Plotando o gráfico 41 na escala logarítmica e fazendo um ajuste linear obtemos a inclinação de cada curva mostrada na figura 42. Obtemos a inclinação da reta $B \sim 2$ para energias de excitação entre 0,3 nJ/pulso até 1,7 nJ/pulso nas medidas de 1 kHz e 300 kHz, e para potências acima de 1,7 nJ/pulso a inclinação é aproximadamente um em todas as taxa de modulação.

Os diferentes valores da inclinação da reta em função da energia por pulso de excitação vistos nas figuras 39, 40 e 42 mostram que existe uma competição no processo de absorção

entre fenômenos não lineares como a absorção por dois fótons onde espera-se que $B = 2$, e fenômenos lineares como transições assistidas por fônons [68] em que $B = 1$. Podemos observar duas regiões distintas, na região de potências onde $B \sim 2$ a probabilidade de absorção por dois fótons é máxima, e a região de potências onde $B \sim 1$ em que ocorre a saturação da absorção da amostra.

A saturação em pontos quânticos em meio aquoso em que a inclinação da reta é diferente de um, é observada em outros trabalhos [61] e pode ser explicada pela presença de pequenos defeitos que permitem mecanismos de acoplamento elétron fônon no processo de absorção [67, 69]. O acoplamento depende do tamanho do ponto quântico, pois quanto menor o *gap* de energia mais comparável com a energia dos fônons ele será.

As medidas realizadas com laser de excitação não modulado (figura 39), e as realizadas com o feixe modulado (figura 42) mostram um valor de inclinação da reta diferente para os mesmos valores da energia por pulso de excitação. A inclinação da reta de aproximadamente 2 é provavelmente devido a pré compensação da dispersão do pulso do laser de excitação, deixando-o mais gaussiano e aumentando a potência de pico do pulso. Com o aumento da potência, a probabilidade de absorção por dois fótons é mais eficiente.

O estudo da influência da taxa de modulação do feixe de excitação sobre a curva de intensidade por potência foi repetida para as amostras MSA, e é mostrado nos gráficos das figuras 43 e 44. Excitando-se com taxa de modulação de 1 kHz, obtemos o valor da inclinação da reta de 2,3 entre as potências 0,3 nJ/pulso e 0,8 nJ/pulso, depois muda para forma linear e acima de 1,3 nJ/pulso a amostra satura a absorção mudando a inclinação da reta, e depois começa a diminuir. Essa diminuição pode estar ocorrendo devido a reabsorção da emissão pelos pontos quânticos da amostra. Excitando em 500 kHz acima de 3 nJ/pulso, obtemos o valor da inclinação de 1,2, evidenciando a saturação da absorção da amostra.

Assim como na amostra de CdTe/CdS AMP, a taxa de modulação não influencia no tipo de processo ótico envolvido, porém aumenta a potência de pico do pulso maximizando a absorção por dois fótons. As faixas de potências onde a absorção por dois fótons é mais eficiente é menor se comparado com as amostras AMP, isso acontece devido a diferença de tamanhos dos pontos quânticos. As transições mediadas por fônons são mais prováveis quanto maior forem os pontos quânticos.

Para compreender se a reabsorção da emissão dos pontos quânticos pelos pontos quânticos vizinhos está influenciando na inclinação da reta, a medida de intensidade por potência foi realizada com a excitação por dois fótons em 800 nm e modulando em 1 kHz com a mesma amostra de CdTe/CdS MSA diluída em água na proporção de 1:10, e comparada com a amostra de CdTe/CdS MSA concentrada. O resultado é mostrado na figura 45.

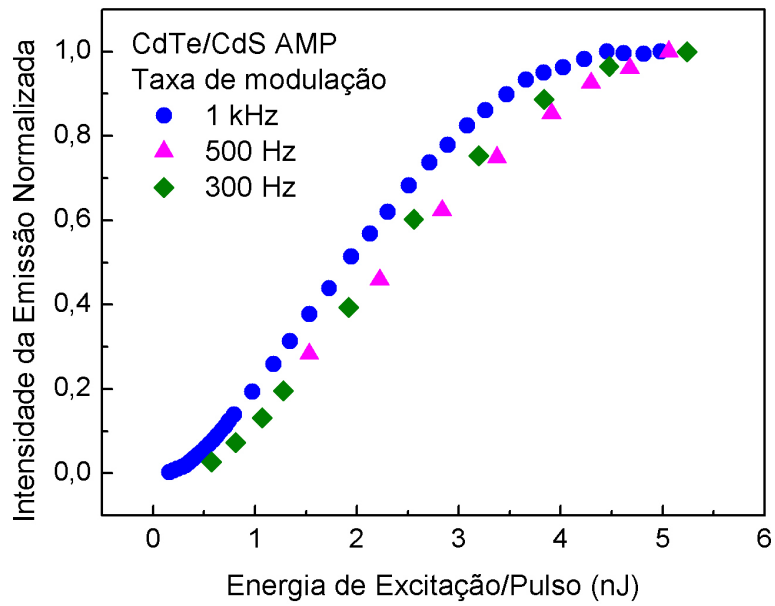


Figura 41

Gráfico da intensidade de emissão pela energia de excitação por dois fótons por pulso variando a taxa de modulação do laser de excitação na amostra AMP.

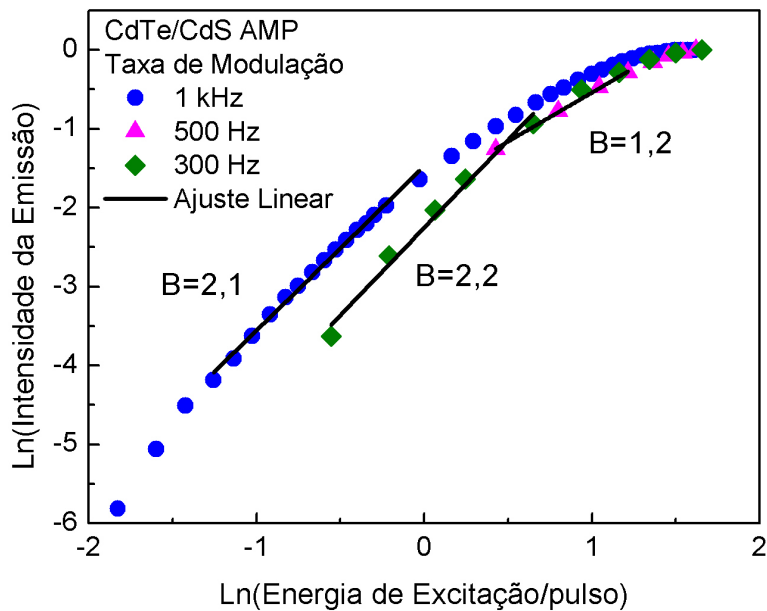


Figura 42

Gráfico na escala log da relação intensidade por energia por pulso da amostra AMP, B é a inclinação da reta.

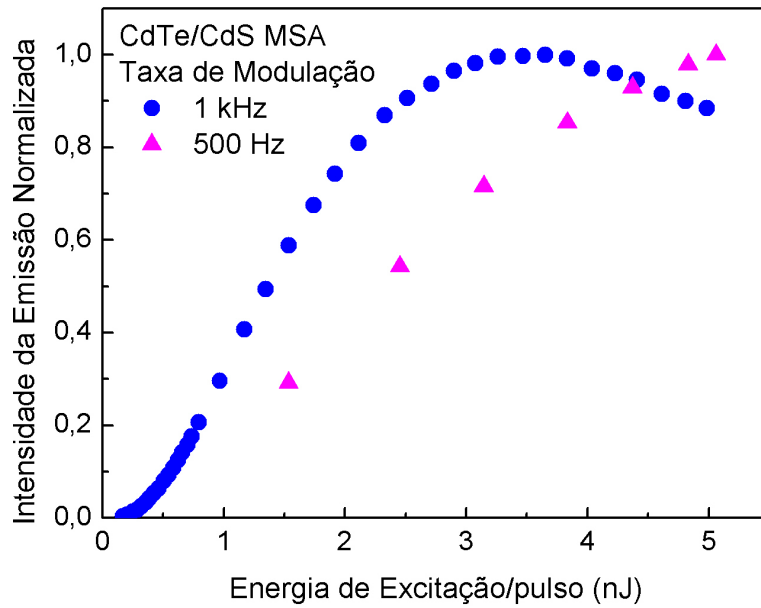


Figura 43

Gráfico da intensidade pela energia por pulso variando a taxa de modulação do laser de excitação na amostra MSA.

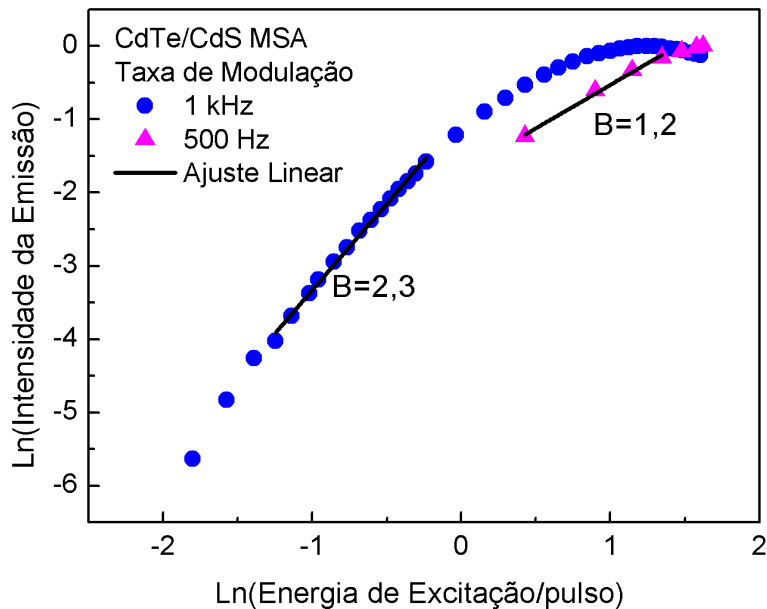


Figura 44

Gráfico na escala log da relação intensidade por potência por pulso da amostra MSA, B é a inclinação da reta.

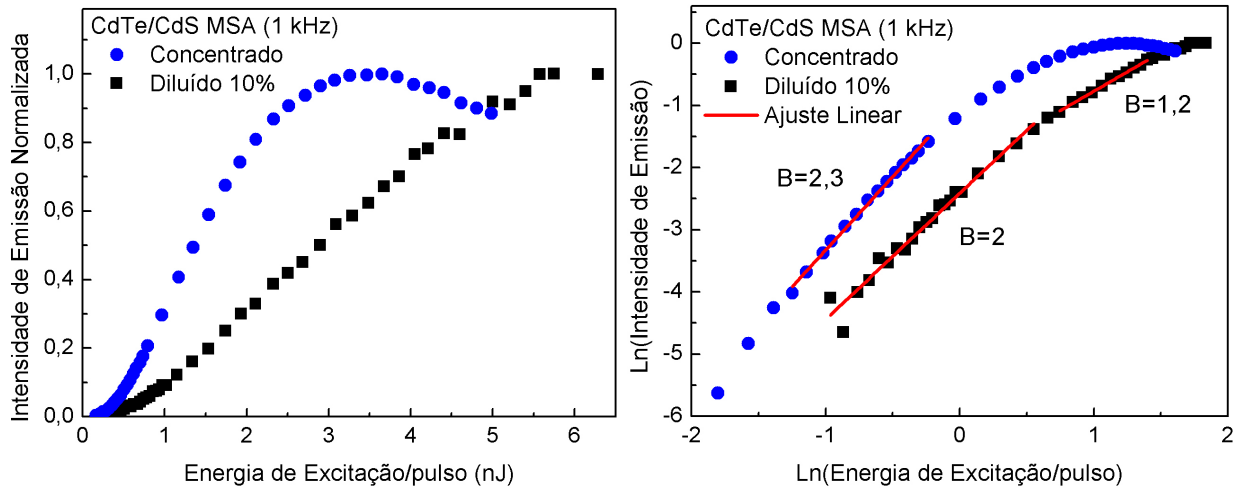


Figura 45

Os gráficos mostram a relação entre intensidade e potência por pulso de amostra MSA pura e diluída em água, B é a inclinação da reta.

Na região de energia entre 0,3 nJ/pulso e 0,8 nJ/pulso, a inclinação da reta é $B \sim 2$ em ambas amostras, isso mostra que o processo de reabsorção é muito fraco nessa região de energia, influenciando muito pouco no processo de absorção de dois fótons. O ajuste linear da amostra diluída onde $B = 2$ cobre uma região maior de energia (de 0,3 nJ/pulso à 2 nJ/pulso), mostrando que a diminuição da concentração dos pontos quânticos faz com que o processo de reabsorção seja mais fraco, diminuindo a saturação da amostra.

Para energias maiores que 3,5 nJ/pulso a absorção da amostra concentrada satura, porém a amostra diluída ainda mantém o caráter linear, logo a saturação da absorção é devido principalmente a reabsorção pelos pontos quânticos. O valor de $B = 1,2$ obtido nessa região na amostra diluída, mostra novamente que o processo de diluição diminui a saturação da absorção e aumenta a eficiência do processo de absorção de dois fótons em relação a amostra concentrada.

A importância em determinar o comportamento da emissão em função da potência de excitação de pontos quânticos é na sua aplicação como marcadores biológicos. Ao usar os pontos quânticos como marcadores biológicos e obter imagens por excitação de dois fótons, a região de potência onde a absorção de dois fótons é mais eficiente garante que o processo de excitação por dois fótons tenha pouco foto dano e as imagens possam ser obtidas sem danificar os tecidos biológicos.

5.5 Geração de Segundo Harmônico

A amostra de pontos quânticos MSA foi pingada e secada sobre uma lamina de microscópio e colocada na montagem para medir segundo harmônico mostrada na figura 23. Excitando com o laser em 1000 nm, 900 nm e 800 nm os espectros de segundo harmônico coletado são mostrados na figura 46. O gráfico mostra a posição do segundo harmônico gerado por cada comprimento de onda de excitação.

A imagem do segundo harmônico foi feita excitando em 800 nm e coletando com a fotomultiplicadora PMT4, a amostra é a mesma utilizada na obtenção da luminescência na seção 5.2. A figura 47 mostra o SHG emitido somente da borda da gota, e identificamos alguns pontos mais intensos no seu interior, são *clusters* de pontos quânticos que também são observados na imagem da luminescência. A figura a direita é a imagem da fotoluminescência na mesma posição, mostrando que o SHG e a emissão estão sendo emitidas pelos mesmos aglomerados.

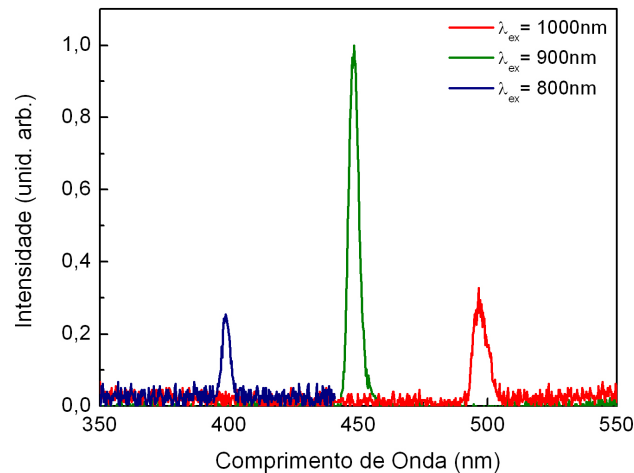


Figura 46

Espectro de emissão de segundo harmônico gerado pela amostra de CdTe/CdS MSA, cada pico corresponde aos comprimentos de excitação de 800 nm, 900 nm e 1000 nm respectivamente.

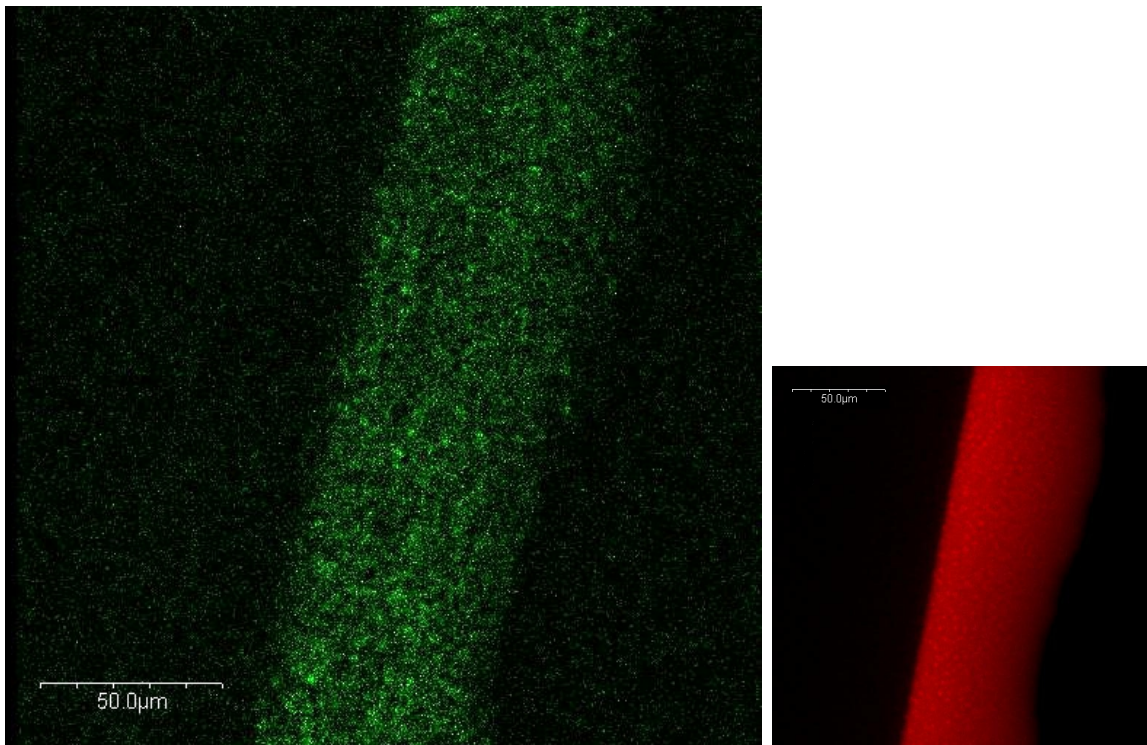


Figura 47

Imagem do segundo harmônico gerado de uma gota de CdTe/CdS MSA sobre uma lâmina de microscópio. A segunda imagem é a fotoluminescência na mesma posição.

5.6 Aplicação: Marcador Biológico

Nessa seção vamos mostrar os resultados preliminares obtidos em testes de marcação de tecido biológico com pontos quânticos de CdTe/CdS em colaboração com a aluna de doutorado Ana Paula Alves e o Prof. Ubirajara Agero. Pontos quânticos são aplicados em embriões de galinha com algumas horas de vida e a imagem da fotoluminescência é obtida. A tentativa de marcar células em embriões de galinha tem sido feita com diferentes objetivos [70].

O tecido biológico estudado são embriões de galinha com 46 hs de vida incubados com temperatura e umidade controladas. Nesse estágio o coração já está funcionando e é possível observar circulação no interior de alguns vasos. A figura 48 mostra a imagem de um embrião, a região mais clara (área pelúcida) e a região mais escura (área opaca) aparece após a formação do coração, e são muito vascularizadas [71].

Em uma placa de petri de poliestireno é preparado o meio de cultura (ágar + albumina) onde o embrião irá permanecer durante o experimento, em seguida o embrião é retirado do ovo e colocado sobre o meio de cultura. A marcação é feita colocando sobre o embrião 20 μL de solução de pontos quânticos, o embrião retorna a incubadora que mantém o coração batendo e a corrente sanguínea circulando por aproximadamente 12 hs.

A imagem de fluorescência é obtida por microscopia confocal excitando com um laser contínuo (**cw**) em 488 nm, a imagem é mostrada na figura 49. A esquerda a imagem mostrada

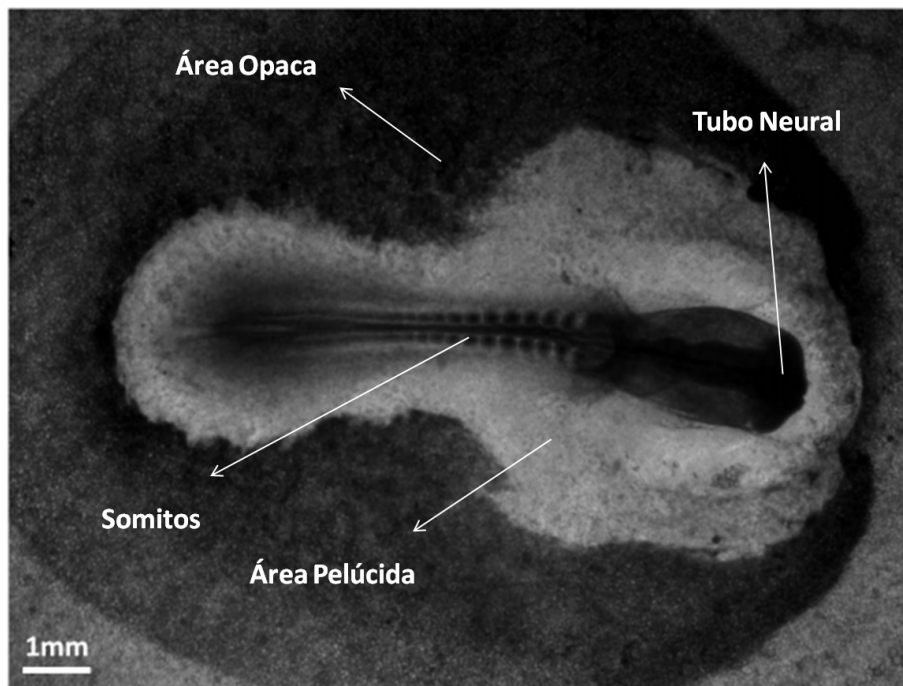


Figura 48

Embrião de galinha com 36 hs de desenvolvimento, as áreas pelúcidas e opaca são muito vascularizadas.

é da fluorescência dos pontos quânticos no embrião de galinha e a direita é a superposição da imagem de fluorescência com a imagem de transmissão. As células marcadas com pontos quânticos estão localizadas em sua maioria dentro de vasos sanguíneos, como mostra a disposição em linha das células na imagem da letra **b**), provavelmente os pontos quânticos estão marcando células da corrente sanguínea.

Para certificar-se que as imagens obtidas não são de luz espalhada pelos tecidos ou autofluorescência, os espectros de emissão dos embriões de galinha foram coletados na transmissão através da montagem experimental da figura 23, confirmando que emissão é proveniente da fotoluminescência dos pontos quânticos.

O processo de marcação das células ainda não está bem compreendido, em outros testes a marcação está localizada fora da corrente sanguínea, e parece marcar aleatoriamente outras células no embrião e na membrana que o envolve como podemos ver na figura 50.

Os resultados ainda preliminares indicam que o processo de marcação dos tecidos pelos pontos quânticos é muito eficiente, visto que a imagem de fluorescência mostra muitas células marcadas e com emissão muito intensa, porém a dificuldade de padronização do processo de inserção dos marcadores no embrião dificulta o estudo da dinâmica da marcação.

Uma vantagem em relação aos marcadores biológicos a base de corantes, é que os pontos quânticos mantiveram-se estáveis durante as medidas, não observamos fotosaturação mesmo quando o embrião marcado permanecia alguns dias guardado sob refrigeração.

O próximo passo será estudar a forma como os pontos quânticos marcam as células sem

estarem funcionalizados, e também compreender como funcionalizá-los para marcar vírus, parasitas e proteínas, podendo então montar um protocolo para o processo de marcação. Algumas tentativas de marcação em protozoários [72] tem sido feita com resultados satisfatórios, demonstrando a viabilidade de utilização de pontos quânticos de CdTe/CdS como bons marcadores biológicos [11].

Conhecendo a dinâmica do processo de marcação, podemos obter as imagem por absorção de dois fótons, a excitação no infravermelho permite alcançar maiores profundidades no tecido do que o visível e com menos espalhamento. Outra forma de obtenção de imagens é por geração de segundo harmônico (SHG), que permite visualizar detalhes da estrutura do tecido que pode ser relacionado entre inúmeras propriedades com patologias [73] e estrutura celular [74].

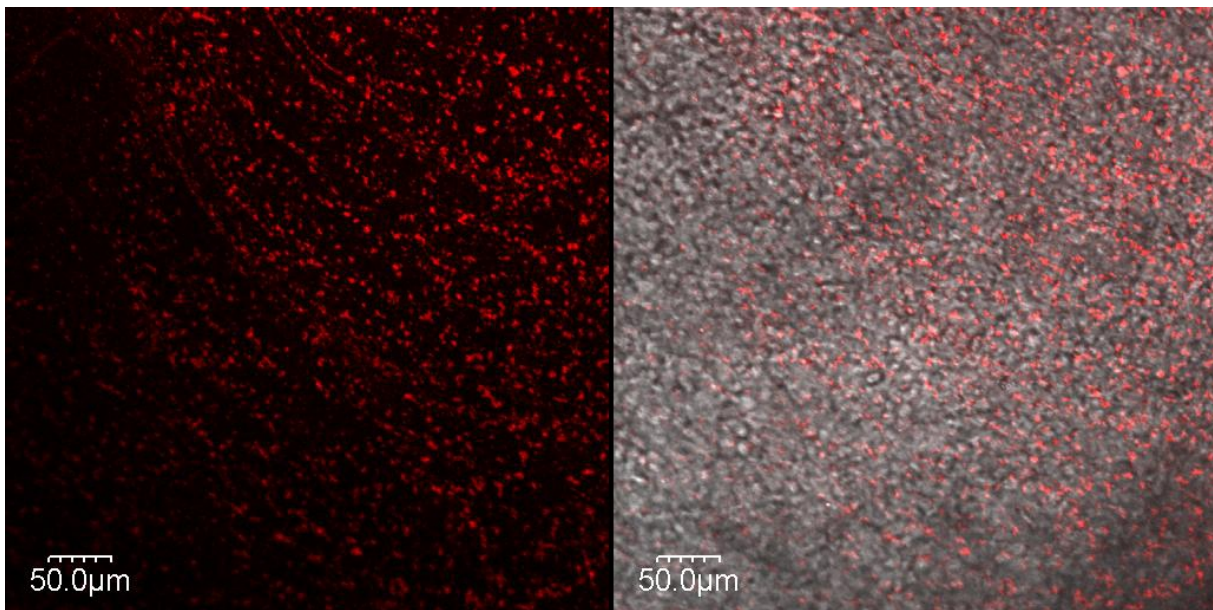


Figura 49

Marcação do embrião de galinha com pontos quânticos, as células marcadas estão no interior dos vasos sanguíneos.

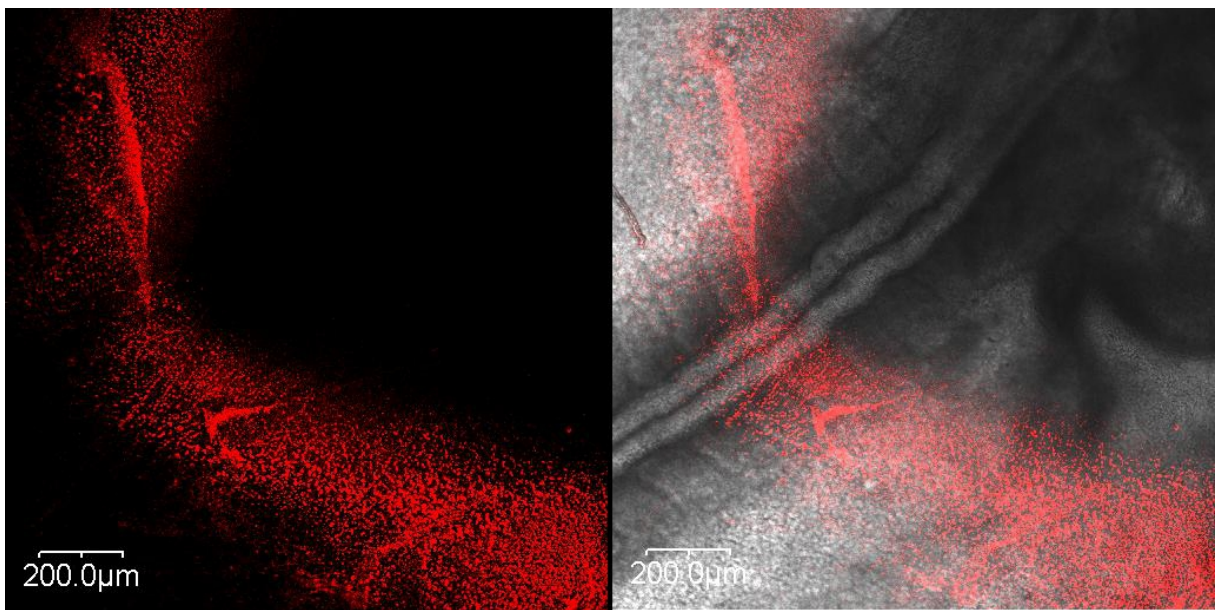


Figura 50

Marcação do embrião de galinha com pontos quânticos, a células marcadas estão dispersas sobre o tecido.

6 Conclusão

Nesse trabalho caracterizamos os parâmetros óticos de pontos quânticos do tipo núcleo casca de CdTe/CdS em colóide, sintetizados em meio aquoso usando um dos diferentes estabilizantes (AMP e MSA). A largura do pico de absorção de menor energia mostra que existe uma distribuição de tamanhos de pontos quânticos nas amostras, e através do modelo de aproximação de massa efetiva calculamos o raio médio de cada uma, $(2,1 \pm 0,2)$ nm de raio na AMP e $(2,4 \pm 0,3)$ nm de raio na MSA. A variação de distribuição comparada ao raio médio foi de 10%.

Medimos o espectro de emissão em ambas amostras, e também a imagem da fotoluminescência da amostra MSA sobre uma lâmina de microscópio. O deslocamento Stokes observado nas medidas de fotoluminescência mostram que devem existir pequenos defeitos de superfície que deslocam a curva de emissão para o vermelho em relação ao pico de absorção. As medidas preliminares dos tempos de decaimento dos pontos quânticos são da ordem de alguns nanosegundos, esse valor dá indícios da existência dos *traps* de superfície.

Com a dificuldade de se obter o espectro de absorção por dois fótons, o PLE mostra uma curva larga centrada em 870 nm para ambas amostras, essa informação é importante na aplicação biológica para determinar qual a energia do feixe de excitação onde a emissão por excitação de dois fótons é mais eficiente. O deslocamento das curvas de PLE em função do comprimento de onda de emissão testada, mostra que a absorção por dois fótons não acontece na mesma intensidade para pontos quânticos de tamanhos diferentes. As diferenças nas posições das curvas de PLE indicam uma diferença nas regras de seleção da absorção por um fóton e absorção por dois fótons.

Mostramos que existe uma região de valores de potências de excitação (de 10^{-3} mW/pulso até 2×10^{-3} mW) onde o processo de absorção por dois fótons pelos pontos quânticos é mais eficiente, essa região é a mesma para as amostras AMP e MSA. Fora dessa região, outros processos lineares como decaimento assistido por fônons torna-se mais eficientes, e em potências grandes ocorre a saturação da absorção. Quando a amostra está em solução, ocorre a reabsorção da fotoluminescência pelos pontos quânticos vizinhos, por ser um processo linear e mais eficiente que a absorção por dois fótons, a reabsorção faz com a fotoluminescência diminua a medida que a potência fica muito grande.

Para demonstrar a geração de segundo harmônico (SHG) pelos pontos quânticos, medimos o espectro de emissão excitando em 800 nm, 900 nm e 1000 nm e a imagem da amostra MSA

sobre uma lamina de microscópio.

Foram feitos alguns testes preliminares da aplicação dos pontos quânticos como marcadores biológicos, amostras de CdTe/CdS AMP e MSA foram colocadas em embriões de galinha e imagens da emissão foram obtidas. Apesar de ainda não compreender como e onde está ocorrendo a marcação, as medidas do espectro de emissão mostram que os pontos quânticos estão fluorescendo com muita intensidade e não estão modificando o tecido estudado. Essas qualidades mostram a viabilidade e a eficiência da utilização dos pontos quânticos em meio aquoso como marcadores biológicos

Os próximos passos do trabalho são o estudo mais detalhado dos processos envolvidos na absorção por dois fótons e nas transições não radiativas e sua dependência com o tamanho do pontos quânticos e o meio em que se encontra. Para isso será necessário estudar as propriedades óticas em pontos quânticos com diferentes tamanhos, sintetizados com casca de diferentes materiais e tamanhos. Medidas de espectroscopias de emissão e absorção resolvidas no tempo, e de tempo de vida usando diferentes energias de excitação ajudarão a esclarecer as dinâmicas envolvidas na emissão.

As imagens obtidas nos embriões de galinha mostram o potencial da aplicação dos pontos quânticos sintetizados em meio aquoso como marcadores biológicos, será necessário compreender como funcionalizá-los, e padronizar a forma de aplicação dos pontos quânticos no tecido.

Referências

- [1] Denk, W., Strickler, J., and Webb, W. Two-photon laser scanning fluorescence microscopy. *Science* **248**(4951), 73 (1990).
- [2] Curley, P., Ferguson, A., White, J., and Amos, W. Application of a femtosecond self-sustaining mode-locked ti: sapphire laser to the field of laser scanning confocal microscopy. *Optical and quantum electronics* **24**(8), 851–859 (1992).
- [3] Theer, P. and Denk, W. On the fundamental imaging-depth limit in two-photon microscopy. *JOSA A* **23**(12), 3139–3149 (2006).
- [4] Helmchen, F. and Denk, W. New developments in multiphoton microscopy. *Current opinion in neurobiology* **12**(5), 593–601 (2002).
- [5] Weller, H. Quantized semiconductor particles: a novel state of matter for materials science. *Advanced Materials* **5**(2), 88–95 (1993).
- [6] Alivisatos, A. Perspectives on the physical chemistry of semiconductor nanocrystals. *The Journal of Physical Chemistry* **100**(31), 13226–13239 (1996).
- [7] Niemeyer, C. Nanoparticles, proteins, and nucleic acids: biotechnology meets materials science. *Angewandte Chemie International Edition* **40**(22), 4128–4158 (2001).
- [8] Chan, W., Maxwell, D., Gao, X., Bailey, R., Han, M., and Nie, S. Luminescent quantum dots for multiplexed biological detection and imaging. *Current Opinion in Biotechnology* **13**(1), 40–46 (2002).
- [9] Bruchez, M., Moronne, M., Gin, P., Weiss, S., and Alivisatos, A. Semiconductor nanocrystals as fluorescent biological labels. *Science* **281**(5385), 2013 (1998).
- [10] Gaponik, N., Talapin, D., Rogach, A., Hoppe, K., Shevchenko, E., Kornowski, A., Eychmüller, A., and Weller, H. Thiol-capping of CdTe nanocrystals: an alternative to organometallic synthetic routes. *The Journal of Physical Chemistry B* **106**(29), 7177–7185 (2002).
- [11] Chaves, C. R. *Síntese, Silanização e Caracterização de Pontos Quânticos de CdTe/CdS e CdS/Cd(OH)₂ Para Aplicações em Sistemas Biológicos*. PhD thesis, Universidade Federal de Pernambuco, PE, (2011).
- [12] Göppert-Mayer, M. Über elementarakte mit zwei quantensprüngen. *Annalen der Physik* **401**(3), 273–294 (1931).
- [13] Boyd, R. *Nonlinear optics*. Academic Pr, (2003).
- [14] Xu, C. and Webb, W. Measurement of two-photon excitation cross sections of molecular fluorophores with data from 690 to 1050 nm. *Journal of the Optical Society of America-B-Optical Physics* **13**(3), 481–491 (1996).

- [15] Drobizhev, M., Karotki, A., Rebane, A., and Spangler, C. Dendrimer molecules with record large two-photon absorption cross section. *Optics Letters* **26**(14), 1081–1083 (2001).
- [16] Peticolas, W. Multiphoton spectroscopy. *Annual Review of Physical Chemistry* **18**(1), 233–260 (1967).
- [17] Monson, P. and McClain, W. Polarization dependence of the two-photon absorption of tumbling molecules with application to liquid 1-chloronaphthalene and benzene. *The Journal of Chemical Physics* **53**, 29 (1970).
- [18] Mertz, J. Nonlinear microscopy. http://www.biomicroscopy.bu.edu/r_nonlinear.html.
- [19] Franken, P. A., Hill, A. E., Peters, C. W., and Weinreich, G. Generation of optical harmonics. *Phys. Rev. Lett.* **7**, 118–119, Aug (1961).
- [20] Zielinski, M., Oron, D., Chauvat, D., and Zyss, J. Second-harmonic generation from a single core/shell quantum dot. *Small* **5**(24), 2835–2840 (2009).
- [21] in St. Louis, W. U. Solutions. http://www.biomicroscopy.bu.edu/r_nonlinear.html.
- [22] Kittel, C. and McEuen, P. *Introduction to solid state physics*, volume 7. Wiley New York, (1976).
- [23] Klingshirn, C. *Semiconductor optics*, volume 1439. Springer Verlag, (2005).
- [24] Dorfs, D., Franzl, T., Osovsky, R., Brumer, M., Lifshitz, E., Klar, T., and Eychmüller, A. Type-I and type-II nanoscale heterostructures based on CdTe nanocrystals: A comparative study. *Small* **4**(8), 1148–1152 (2008).
- [25] Masumoto, Y. and Sonobe, K. Size-dependent energy levels of CdTe quantum dots. *Phys. Rev. B* **56**, 9734–9737, Oct (1997).
- [26] Zhang, Q., Ding, J., Shen, Y., Chen, D., Zhou, Q., Chen, Q., He, Z., and Qiu, J. Synthesis and upconversion luminescent properties of water-soluble CdTe quantum dots. *Journal of Alloys and Compounds* **508**(2), L13–L15 (2010).
- [27] Publishing's, T. C. Density of states of charge carriers of states $n(e)$ as a function of the semiconductor dimensionality. <http://what-when-how.com/nanoscience-and-nanotechnology/nanocrystalline-materials-synthesis-and-properties-part-1-nanotechnology/>.
- [28] Madelung, O., Rössler, U., and Schulz, M. Landolt-börnstein-group III condensed matter numerical data and functional relationships in science and technology, group IV elements, IV-IV and III-V compounds. part b-electronic, transport, optical and other properties. *Part a-Lattice Properties*, (2006).
- [29] Wichert, D. T. Lattice structure of CdTe. <http://www.nssp.uni-saarland.de/forschung/halbleiterenglish.html>.
- [30] Chadov, S., Qi, X., Kübler, J., Fecher, G., Felser, C., and Zhang, S. Tunable multifunctional topological insulators in ternary heusler compounds. *Nature materials* **9**(7), 541–545 (2010).
- [31] Lohninger, H. Lattice structure of CdS. http://www.vias.org/genchem/chem_cds.html.

- [32] Stoffel, N. G. Experimental band structure of cadmium sulfide. *Phys. Rev. B* **28**, 3306–3319, Sep (1983).
- [33] Ying, E., Li, D., Guo, S., Dong, S., and Wang, J. Synthesis and bio-imaging application of highly luminescent mercaptosuccinic acid-coated CdTe nanocrystals. *PloS one* **3**(5), e2222 (2008).
- [34] Efros, A. L. and Efros, A. L. Interband absorption of light in a semiconductor sphere. *SPIE MILESTONE SERIES MS* **182**, 71–74 (2006).
- [35] Arfken, G., Weber, H., and Weber, H. *Mathematical methods for physicists*, volume 3. Academic press New York, (2005).
- [36] Schooss, D., Mews, A., Eychmüller, A., and Weller, H. Quantum-dot quantum well CdS/HgS/CdS: Theory and experiment. *Physical Review B* **49**(24), 17072 (1994).
- [37] Li, J. and Wang, L. First principle study of core/shell structure quantum dots. *Applied physics letters* **84**, 3648 (2004).
- [38] Brus, L. A simple model for the ionization potential, electron affinity, and aqueous redox potentials of small semiconductor crystallites. *The Journal of chemical physics* **79**, 5566 (1983).
- [39] Brus, L. Electron–electron and electron-hole interactions in small semiconductor crystallites: The size dependence of the lowest excited electronic state. *The Journal of chemical physics* **80**, 4403 (1984).
- [40] Brus, L. Zero-dimensional excitons in semiconductor clusters. *Quantum Electronics, IEEE Journal of* **22**(9), 1909–1914 (1986).
- [41] Bawendi, M. G., Wilson, W. L., Rothberg, L., Carroll, P. J., Jedju, T. M., Steigerwald, M. L., and Brus, L. E. Electronic structure and photoexcited-carrier dynamics in nanometer-size CdSe clusters. *Phys. Rev. Lett.* **65**, 1623–1626, Sep (1990).
- [42] Kayanuma, Y. and Momiji, H. Incomplete confinement of electrons and holes in microcrystals. *Phys. Rev. B* **41**, 10261–10263, May (1990).
- [43] Thoai, D. B. T., Hu, Y. Z., and Koch, S. W. Influence of the confinement potential on the electron-hole-pair states in semiconductor microcrystallites. *Phys. Rev. B* **42**, 11261–11266, Dec (1990).
- [44] Hu, Y. Z., Koch, S. W., Lindberg, M., Peyghambarian, N., Pollock, E. L., and Abraham, F. F. Biexcitons in semiconductor quantum dots. *Phys. Rev. Lett.* **64**, 1805–1807, Apr (1990).
- [45] Hu, Y., Koch, S., and Thoai, D. Quantum confinement and coulomb effects in semiconductor quantum dots. *Modern Physics Letters B* **4**, 1009–1016 (1990).
- [46] Kayanuma, Y. and Kuroda, K. Quantum size effect of excitonic molecules in CuCl microcrystals. *Applied Physics A: Materials Science & Processing* **53**(6), 475–479 (1991).
- [47] Lohninger, H. Chameleon ultra family. <http://www.coherent.com/products/?1842/Chameleon-Ultra-Family>.

- [48] Verluise, F., Laude, V., Cheng, Z., Spielmann, C., and Tournois, P. Amplitude and phase control of ultrashort pulses by use of an acousto-optic programmable dispersive filter: pulse compression and shaping. *Optics Letters* **25**(8), 575–577, April (2000).
- [49] Gaponenko, S. *Optical properties of semiconductor nanocrystals*. Number 23. Cambridge Univ Pr, (1998).
- [50] de Paula, A., Barbosa, L., Cruz, C., Alves, O., Sanjurjo, J., and Cesar, C. Size effects on the phonon spectra of quantum dots in CdTe-doped glasses. *Applied physics letters* **69**, 357 (1996).
- [51] Sattler, K. *Handbook of Nanophysics: Nanoparticles and Quantum Dots*, volume 3. CRC, (2010).
- [52] Richard, T., Lefebvre, P., Mathieu, H., and Allègre, J. Effects of finite spin-orbit splitting on optical properties of spherical semiconductor quantum dots. *Phys. Rev. B* **53**, 7287–7298, Mar (1996).
- [53] Demchenko, D. and Wang, L. Optical transitions and nature of stokes shift in spherical CdS quantum dots. *Physical Review B* **73**(15), 155326 (2006).
- [54] Chamarro, M., et al. Interplay of coulomb, exchange, and spin-orbit effects in semiconductor nanocrystallites. *Phys. Rev. B* **57**, 3729–3732, Feb (1998).
- [55] Efros, A. L., Rosen, M., Kuno, M., Nirmal, M., Norris, D. J., and Bawendi, M. Band-edge exciton in quantum dots of semiconductors with a degenerate valence band: Dark and bright exciton states. *Phys. Rev. B* **54**, 4843–4856, Aug (1996).
- [56] Bagga, A., Chattopadhyay, P., and Ghosh, S. The origin of stokes shift in semiconductor quantum dots. *Arxiv preprint cond-mat/0503612*, (2005).
- [57] Moreels, I., Raino, G., Gomes, R., Hens, Z., Stofferle, T., and Mahrt, R. Band-edge exciton fine structure of small, nearly spherical colloidal CdSe/ZnS quantum dots. *ACS nano*, (2011).
- [58] Nirmal, M., Norris, D. J., Kuno, M., Bawendi, M. G., Efros, A. L., and Rosen, M. Observation of the "dark exciton" in CdSe quantum dots. *Phys. Rev. Lett.* **75**, 3728–3731, Nov (1995).
- [59] De Oliveira, C., et al. Probing of the quantum dot size distribution in CdTe-doped glasses by photoluminescence excitation spectroscopy. *Applied physics letters* **66**, 439 (1995).
- [60] Rumi, M. and Perry, J. Two-photon absorption: an overview of measurements and principles. *Advances in Optics and Photonics* **2**(4), 451–518 (2010).
- [61] Larson, D., Zipfel, W., Williams, R., Clark, S., Bruchez, M., Wise, F., and Webb, W. Water-soluble quantum dots for multiphoton fluorescence imaging in vivo. *Science* **300**(5624), 1434 (2003).
- [62] Wuister, S., Swart, I., van Driel, F., Hickey, S., and de Mello Donegá, C. Highly luminescent water-soluble CdTe quantum dots. *Nano letters* **3**(4), 503–507 (2003).
- [63] Li, Z., Dong, C., Tang, L., Zhu, X., Chen, H., and Ren, J. Aqueous synthesis of CdTe/CdS/ZnS quantum dots and their optical and chemical properties. *Luminescence*, (2010).

- [64] Sun, H., Wang, L., Wang, H., Gao, B., Pan, L., Jiang, Y., Chen, Q., and Han, W. Transient absorption spectroscopic study on band-structure-type change in CdTe/CdS core-shell quantum dots. *Quantum Electronics, IEEE Journal of* (**99**), 1–1 (2011).
- [65] Kapitonov, A., Stupak, A., Gaponenko, S., Petrov, E., Rogach, A., and Eychmüller, A. Luminescence properties of thiol-stabilized CdTe nanocrystals. *The Journal of Physical Chemistry B* **103**(46), 10109–10113 (1999).
- [66] Wuister, S., de Mello Donega, C., and Meijerink, A. Influence of thiol capping on the exciton luminescence and decay kinetics of CdTe and CdSe quantum dots. *The Journal of Physical Chemistry B* **108**(45), 17393–17397 (2004).
- [67] Maestro, L., Ramírez-Hernández, J., Bogdan, N., Capobianco, J., Vetrone, F., Solé, J., and Jaque, D. Deep tissue bio-imaging using two-photon excited CdTe fluorescent quantum dots working within the biological window. *Nanoscale* **4**(1), 298–302 (2011).
- [68] Zhao, J., Nair, S., and Masumoto, Y. Exciton-phonon coupled states in CuCl quantum cubes. *Physical review B* **63**(3), 033307 (2000).
- [69] Devreese, J., Fomin, V., Gladilin, V., Pokatilov, E., and Klimin, S. Enhanced probabilities of phonon-assisted optical transitions in semiconductor quantum dots. *Nanotechnology* **13**, 163 (2002).
- [70] Jeshtadi, A., Burgos, P., Stubbs, C., Parker, A., King, L., Skinner, M., and Botchway, S. Interaction of poxvirus intracellular mature virion proteins with the tpr domain of kinesin light chain in live infected cells revealed by two-photon-induced fluorescence resonance energy transfer fluorescence lifetime imaging microscopy. *Journal of virology* **84**(24), 12886 (2010).
- [71] Alves, A. P. Desenvolvimento Embrionário: das Células ao Coração. Master’s thesis, Universidade Federal de Minas Gerais, MG, Brasil, (2011).
- [72] Chaves, C., et al. Application of core-shell pegylated CdS/Cd(OH)₂ quantum dots as biolabels of trypanosoma cruzi parasites. *Applied Surface Science* **255**(3), 728–730 (2008).
- [73] Campagnola, P., Loew, L., et al. Second-harmonic imaging microscopy for visualizing biomolecular arrays in cells, tissues and organisms. *Nature biotechnology* **21**(11), 1356–1360 (2003).
- [74] Campagnola, P., Wei, M., Lewis, A., and Loew, L. High-resolution nonlinear optical imaging of live cells by second harmonic generation. *Biophysical Journal* **77**(6), 3341–3349 (1999).