

Maurício S. Baptista

Departamento de Bioquímica - Instituto de Química - Universidade de São Paulo - CP 26077 - 05599-970 - São Paulo - SP

Recebido em 20/7/98; aceito em 10/9/98

ULTRASENSITIVE ANALYTICAL METHODS: THERMAL LENS AND RELATED TECHNIQUES.

Among the emergent laser based spectrometric methods, thermal lensing and other photothermal techniques present a great potential for solving a variety of problems in the fields of chemistry, physics and biology. Their main advantages are high concentration sensitivity, sensibility to physical-chemical properties of the medium, excellent spatial resolution and noninvasive characteristics. In this article, theoretical principles, main applications and practical hints as well as fundamental limitations of these techniques will be carefully described. It is hoped that this will give the reader a clear picture of this field of investigation as well as provide to the ones who are not specialists in the area, the necessary background to understand, implement and use photothermal techniques. In the final sections the development frontiers of photothermal spectrometry will be discussed.

Keywords: thermal lens; photothermal spectrometry; chemical analysis.

ASPECTOS GENÉRICOS DE ESPECTROMETRIA FOTOTÉRMICA

Espectrometria fototérmica engloba uma classe de técnicas emergentes cujo sinal medido é proporcional à energia térmica liberada pela amostra, decorrente de absorção luminosa e decaimento não-radiativo¹. O aumento da temperatura resultante do calor liberado, causa alterações na densidade do meio e consequentemente causa a formação de ondas de pressão e de alterações no índice de refração. As ondas de pressão podem ser detectadas utilizando microfone ou cerâmica piezo-elétrica, sendo que este método de detecção é denominado fotoacústica. O gradiente de índice de refração pode ser detectado através de alterações na propagação de um feixe de laser, sendo que este método de detecção é denominado fototermia^{1,2}.

Após a excitação eletrônica ou vibracional de moléculas, diversos canais fotofísicos podem estar envolvidos na desativação do estado excitado (Eq. 1). Em princípio, todos os processos de liberação de energia na forma de calor (ΔE_{nr-rap} , ΔE_{nr-len} , ΔE_{reac}) podem ser estudados por técnicas fototérmicas^{3,4}.

$$\Delta E_{Abs} = \Delta E_{emi} + \Delta E_{nr-rap} + \Delta E_{nr-len} + \Delta E_{reac} \quad (1)$$

onde ΔE_{Abs} é a energia absorvida, ΔE_{emi} é a energia dissipada na forma luminosa, ΔE_{nr-rap} é a energia liberada na forma de calor decorrente de decaimento não-radiativo rápido (conversão interna e relaxamento vibracional), ΔE_{nr-len} é a energia armazenada em espécies transientes que acabam subsequenteiramente liberando calor numa escala de tempo mais longa, ΔE_{reac} é a energia envolvida em reação química.

Alterações de índice de refração podem ser decorrentes não somente de alterações térmicas do meio. Como pode ser observado pela equação 2, alterações de volume (não relacionadas com relaxação térmica) e alteração de absorção luminosa devido a populações de estados excitados e produtos de reação com coeficientes de absorção diferenciados, também causam alterações no índice de refração. Como será comentado posteriormente, alterações de índice de refração não relacionadas com o relaxamento térmico, podem ser utilizadas para diversas medidas como por exemplo, alteração de volume molar fotoinduzida^{3,4}.

$$\Delta n = \frac{dn}{dT} \Delta T + \frac{dn}{dp} \Delta \rho_{vol} + \Delta n_{abs} \quad (2)$$

onde Δn é alteração de índice de refração, ΔT é alteração de temperatura, $\Delta \rho_{vol}$ é alteração na densidade decorrente de mudança no volume molar dos reagentes, Δn_{abs} é a alteração de índice de refração devido a diferenças de absorvância entre estados excitados e fundamentais, dn/dT e dn/dp representam a variação do índice de refração em função da temperatura e da densidade, respectivamente.

Pode-se definir dois grupos distintos de aplicações das técnicas fototérmicas. No caso de sistemas que têm rendimento quântico de decaimento não-radiativo rápido (Φ_{nr-rap}) igual a 1, que não apresentem alterações volumétricas decorrentes de excitação e processos subsequentes ($\Delta V_{exc} = 0$) e cuja alteração de índice de refração devido a populações de estados excitados e produtos seja insignificante⁵, pode-se utilizar espectrometria fototérmica para obter informações sobre propriedades absorptivas da amostra e propriedades físico-químicas do ambiente onde esta estiver localizada. No caso em que $\Phi_{nr-rap} < 1$ ($\Phi_{nr-len} > 0$ e/ou $\Phi_{nr-reac} > 0$) e/ou ocorram alterações de volume da amostra decorrentes de excitação ($\Delta V_{exc} > 0$), as técnicas fototérmicas podem também ser utilizadas para medidas calorimétricas e de alteração de volume de reação^{3,4}.

Dependendo do esquema experimental, as técnicas fototérmicas podem ser subdivididas em várias classes incluindo, lente térmica coaxial (LTC), lente térmica transversal (LTT) também chamada de refração fototérmica e deflexão fototérmica transversal (DFT) (Figura 1)². Em LTC a lente térmica formada tem geometria esférica, enquanto que em LTT a lente térmica tem geometria cilíndrica^{1,2,5}. Em ambos os casos o elemento termo-óptico formado em solução causa alterações nas características espaciais de propagação axial e radial de um feixe de laser. Em DFT o elemento termo-óptico formado se assemelha a um prisma ocasionando alterações no ângulo de propagação (ϕ) do feixe luminoso (Figura 1)².

Independentemente da configuração geométrica, em todas as técnicas fototérmicas o sinal obtido é dependente da potência de excitação luminosa, da magnitude de absorção, de processos fotofísicos da amostra e de propriedades termo-ópticas do meio. Desta forma, técnicas fototérmicas podem ser utilizadas para se medir absorção com alta sensibilidade, caracterizar

baptista@quim.iq.usp.br

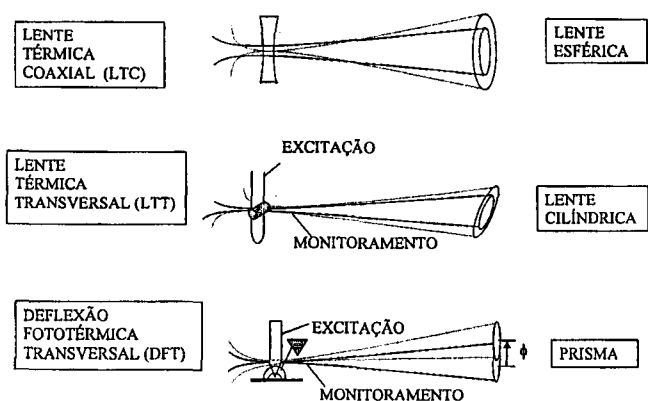


Figura 1. Efeitos fototérmicos, linhas inteiras e pontilhadas referem-se a propagação do feixe de laser sem e com respectivamente, a atuação do elemento termo-óptico. À esquerda dos esquemas encontram-se as denominações das técnicas e à direita os respectivos elementos termo-ópticos.

propriedades fotofísicas de moléculas que apresentem decaimento não-radiativo e propriedades estruturais do meio em que estas estiverem situadas².

LENTE TÉRMICA COAXIAL

A característica que distingue lente térmica coaxial das demais técnicas fototérmicas é que a propagação do laser de monitoramento é alterada por um elemento termo-óptico que se assemelha a uma lente de simetria esférica (Figura 1)⁵⁻⁸. A intensidade do feixe de excitação possui um perfil radial Gaussiano, de forma que o gradiente de temperatura e de índice de refração gerados seguem a mesma simetria (mais intensos no centro e de menor intensidade na periferia). É importante ressaltar que para a maioria dos problemas de interesse químico, os gradientes de temperatura ($\Delta T \cong 10^{-5}$ °C) e de índice de refração ($\Delta n \cong 10^{-8}$) gerados são extremamente pequenos, de forma que os diversos passos físicos necessários para caracterizar a formação da lente térmica ($Abs \rightarrow \phi_{nr} \rightarrow \Delta T \rightarrow \Delta n$) podem ser tratados independentemente⁹.

A primeira observação do efeito de lente térmica (LT) foi realizada por Gordon e coautores¹⁰. Neste trabalho, uma cubeta contendo solventes diversos foi colocada dentro da cavidade de um laser e observou-se variações de intensidade e do modo de emissão deste em função do tempo (transientes da ordem de segundos). Os autores relacionaram o efeito observado com a formação de lente térmica na solução. O problema físico de formação e relaxação do gradiente de temperatura e de índice de refração foi resolvido para a geometria de intracavidade. Assumiu-se que o meio de propagação do calor é infinito em relação ao diâmetro do feixe de luz, que a amostra é suficientemente fina de forma que o diâmetro do feixe de laser é constante (na amostra), que a condução radial de calor é o efeito preponderante (negligência condução axial de calor e fluxo de matéria) e que o perfil do gradiente de índice de refração é parabólico (verdadeiro somente para as vizinhanças do centro da lente térmica). A intensidade do efeito foi relacionada com o inverso da distância focal da lente formada na solução. Caracterizou-se que a intensidade do efeito aumenta com o tempo de excitação até o momento em que a quantidade de calor depositada no meio se iguala a quantidade de calor que se difunde (estado estacionário). O efeito de LTC foi extensivamente utilizado para medir absorção com alta sensibilidade (traços de impurezas e absorção de sobretons de solventes)¹⁰⁻¹². No entanto, a geometria de intracavidade, embora possa fornecer ótimos valores de limites de detecção para medida de absorção ($Abs = 10^{-6}$ u.a.), é extremamente inconveniente pela dificuldade de se alinhar a cubeta dentro da cavidade do laser^{9,10}.

Baseados nos fundamentos descobertos por Gordon e coautores, Hu e Whinnery construíram um modelo teórico de lente térmica parabólico para amostras posicionadas fora da cavidade do laser⁹. Desenvolveram também a metodologia de detecção do sinal de lente térmica extra-cavidade. Pode-se notar na Figura 2A que a instrumentação de lente térmica de feixe único é relativamente simples. A fonte de luz é um laser de modo transversal eletromagnético-00 (TEM_{00}), que é focado com lente e modulado através de shutter eletrônico ou chopper. O feixe de laser alcança a amostra e é alinhado no centro de um detector posicionado a uma grande distância (vários metros). A intensidade de luz no centro do feixe é detectado através de abertura óptica (frís) e fotodiodo. Com a abertura do shutter a luz de excitação começa a incidir na amostra (I_0), causando a liberação de calor e formação de lente térmica. A diminuição na intensidade mostrada na Figura 2B indica que o efeito térmico em solução causa a defocagem do feixe de monitoramento. A tempos longos após a excitação a liberação de calor é balanceada pela condução térmica e o efeito entra num estado estacionário (I_∞). Nota-se também que além do sinal fototérmico propriamente dito (ΔI), na configuração geométrica de feixe único existe também o sinal de claro-escuro do laser, que possui a mesma frequência de modulação do instrumento modulador ($I_0 - I_{escuro}$). Este fato dificulta estratégias de demodulação do sinal usando amplificadores lock-in. Geralmente utiliza-se osciloscópios ou box-cars de dois canais para detecção do sinal⁵⁻⁷. A magnitude do sinal de lente térmica (LT) é medida como a variação relativa na intensidade de luz no centro do feixe ($I_0 - I_\infty / I_\infty$, onde I_0 é a intensidade de luz no tempo zero e I_∞ é a intensidade de luz em tempo infinito). Como mostrado na Figura 2B este parâmetro pode ser facilmente calculado num transiente de lente térmica^{1,2,5,8,11}.

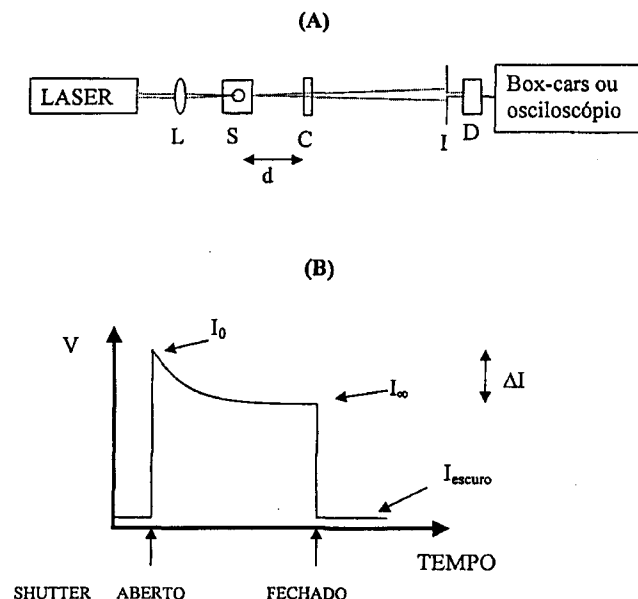


Figura 2. (A) Instrumentação de lente térmica de feixe único, onde L é lente, S é shutter, C é cubeta, I é frís, D é detector (fotodiodo e amplificador), d é a distância entre o foco do feixe de laser e a amostra. (B) Transiente típico de sinal de lente térmica de feixe único (voltagem x tempo).

O modelo teórico proposto por Hu e Whinnery prevê qualitativamente todos os aspectos do sinal de lente térmica⁹. Entretanto o modelo não é exato, uma vez que considera somente a parte central do gradiente de índice de refração e desconsidera as partes periféricas deste (modelo parabólico). Vale ressaltar que as previsões do modelo parabólico podem ser facilmente

corrigidas aplicando-se simples fatores de correção¹³. O modelo obtido tem sido denominado de modelo parabólico corrigido.

Sheldon e coautores desenvolveram um modelo teórico que considera as aberrações na lente térmica, tratando a propagação do feixe de laser através da teoria de difração¹⁴. O efeito da lente térmica formada no meio é considerado como uma aberração. Esta é incluída na forma de uma pequena perturbação na propagação do feixe, especificamente uma alteração na fase do sinal. O modelo aberrante de lente térmica prevê precisamente a variação do efeito em função do tempo de medida e da posição relativa entre o foco do feixe de laser (w_0) e a posição da cubeta (d-Figura 2). A intensidade de lente térmica é máxima quando a amostra estiver $\pm\sqrt{3} z_c$ do w_0 , onde z_c é a distância confocal do feixe de laser ($z_c = \pi\omega_0^2/\lambda$). Distância confocal é a posição no feixe de laser em que o raio de curvatura da frente de onda é mínimo e consequentemente a alteração relativa na curvatura da frente de onda (proporcional a magnitude da lente) devido a lente térmica, é máxima. É necessário perceber que existem dois efeitos concorrentes que influenciam a intensidade do efeito de LT. O primeiro é de geração de calor e gradiente de índice de refração, que será máximo no ponto focal do laser (densidade de excitação é maior). No entanto, neste ponto a defocagem que este gradiente de índice de refração causará no feixe de monitoramento será mínima (o raio de curvatura do laser nesse ponto é infinito). Se a amostra for colocada a $\pm\sqrt{3} z_c$, embora a intensidade de LT não seja máxima, neste ponto o efeito que esta lente exercerá no feixe de monitoramento é maximizada^{14,15}.

Existem diversos outros modelos teóricos que foram criados para explicar sinais obtidos com diferentes configurações instrumentais. Não pretende-se descrever a todos, mas sim aqueles mais genéricos e de maior impacto. Um modelo teórico recente para lente térmica de feixe único foi desenvolvido por Wu e Dovichi para explicar sinais de lentes térmicas em amostras finas e capilares¹⁶. Os autores aplicaram difração de Fresnel a um modelo tridimensional de condução de calor. A característica básica deste modelo é que a condução de calor axial é considerada. Como a condução térmica de sólidos é maior do que em líquidos (Tabela 1), parte considerável do calor gerado na solução difunde-se rapidamente pelas paredes do capilar ou substrato da amostra fina. Este modelo teórico possibilita também a análise de sinais de LT quando o detector é posicionado próximo da amostra^{5,16}. (a maioria dos modelos teóricos de LT descritos consideram a situação em que o detector está posicionado a alguns metros da amostra). Prevê-se que o valor de $\Delta I/I_\infty$ quando o detector é colocado a $5*Z_c$ (Z_c tem geralmente valor em torno de alguns centímetros) é em torno de 90% do valor que seria obtido se o detector fosse posicionado a grande distância da amostra¹⁶. Este fato teve importantes implicações na construção de instrumentação de LT compacta¹⁷. Vale ressaltar, no entanto, que para a maioria dos problemas de interesse químico o modelo aberrante ou parabólico corrigido são suficientemente exatos.

A magnitude do sinal de lente térmica, na condição em que o calor gerado é igual ao difundido, está expressa na Equação 3, onde θ (Equação 4) é uma quantidade sem dimensão, proporcional à intensidade da lente térmica, cujo o significado físico pode ser compreendido como a mudança de fase do feixe (comparando centro e periferia) induzida pelo gradiente de índice de refração^{1,2,9,13,14}.

$$\frac{\Delta I}{I_\infty} = 0,52\theta + 0,13\theta^2 \quad (3)$$

$$\theta = \frac{2,303P(-dn/dT)A}{\lambda k} \quad (4)$$

$$\frac{\Delta I}{I_\infty} = \frac{1,2P(-dn/dT)A}{\lambda k} \rightarrow \frac{\Delta I}{I_\infty P} = KA \quad (5)$$

onde P é a potência da *laser* de excitação, dn/dT é a derivada do índice de refração em relação a temperatura, A é a absorvância da amostra, k é a condutividade térmica do meio, λ é o comprimento de onda do *laser* de monitoramento, K é fator de proporcionalidade.

Para avaliar a sensibilidade da técnica de lente térmica, pode-se comparar o sinal de lente térmica com o sinal que seria obtido pela simples medida de absorção de luz por transmitância (mantendo-se a absorvância constante). No limite de absorção pequena, considera-se que a variação relativa na intensidade de luz absorvida é igual a 2,303A (Equação 6).

$$\frac{(I_0 - I)}{I_0} = 2,303A \quad (6)$$

$$\frac{(I_0 - I_\infty)}{I_\infty} = 2,303EA \quad (7)$$

$$E = \frac{0,52P(-dn/dT)}{\lambda k} \quad (8)$$

Quando a lente térmica formada é de pequena intensidade somente o primeiro termo da equação 3 é necessário para expressar a magnitude desta (Equação 5, 7)⁵. Comparando as equações 6 e 7, percebe-se que a diferença fundamental é o fator E (Equação 8), que é conhecido como "enhancement factor" (aumento relativo do sinal de LTC em relação a medida de absorção por transmitância). Vale ressaltar que E não considera fatores importantes para determinação dos limites de detecção (LODs) como absorção residual de solvente e outras fontes de ruído das medidas (vide seção de Relação Sinal-Ruído)¹. Como pode ser observado pela equação 8, E é proporcional a propriedades de solvente (dn/dT e k), potência de excitação e comprimento de onda de monitoramento. Percebe-se que utilizando lasers de alta intensidade, maximiza-se E e consequentemente pode-se medir absorção com alta sensibilidade (medidas de absorção de até 10^{-7} u.a. já foram reportadas)¹. A Tabela 1 mostra os valores de dn/dT , k e E em função do meio para estados líquido, sólido e gasoso. Os valores de k e dn/dT devem ser considerados como aproximações, uma vez que estes variam com o laboratório em que foram medidos e também com a temperatura. Pode-se notar que líquidos apresentam os maiores valores de E , pois os dn/dT são maiores e k menores. Gases e sólidos, com poucas exceções (Csl), apresentam valores de E extremamente pequenos. Nota-se também, que no estado líquido ocorre uma grande variação de E , sendo que os casos extremos são água e tetracloreto de carbono que possuem o menor e maior valor de E , respectivamente.

É importante considerar também o perfil temporal do sinal de LT. O tempo de formação da LT depende das propriedades físico-químicas do meio relacionadas com a condução térmica. Como pode ser observado pela equação 9, o tempo característico de formação da LT (t_c) é dependente do tamanho do feixe de laser (ω_0), densidade (ρ), capacidade calorífica a pressão constante (C_p) e condutividade térmica do meio^{1,5,11,27}. Meios que conduzem calor mais lentamente (k é menor) demoram mais para alcançar o regime de estado estacionário, sendo estes os meios que geralmente apresentam os maiores valores de E . Pode-se notar na Tabela 1 que sólidos possuem os maiores valores de k seguidos por líquidos e gases.

$$t_c = \frac{\omega_0^2 \rho C_p}{4k} \quad (9)$$

Embora LT de feixe único possa fornecer alta sensibilidade analítica, esta é uma técnica que apresenta diversas restrições. Por exemplo, é difícil obter informação espectral¹⁸. A obtenção

Tabela 1. Propriedades Termo-Ópticas (dn/dT , k) e fatores de aumento de sensibilidade (E , $P=10mW$, $\lambda=632,8nm$) em diversos meios.

Líquidos			
	k ^(a) (mW/cmK)	$dn/dT \times 10^4$ ^(a) (K ⁻¹)	E
CCl ₄	1,0	-5,8	48
Acetona	1,6	-5,0	26
Metanol	2,0	-3,9	16
Água	6,1	-0,8	1,1
Sólidos			
Quartzo	85	-0,054	$5,2 \times 10^{-3}$
Diamante	1510	0,098	$5,4 \times 10^{-4}$
CsI	11,3	-1,0	0,73
Gases			
Ar	0,26	-0,0088	$2,8 \times 10^{-3}$
C ₂ H ₆	0,22	-0,023	$8,8 \times 10^{-2}$

a) (referências 5,6)

de espectros pode ser facilitada se a geração e o monitoramento da lente térmica forem separados, ou seja, um feixe é utilizado para gerar a lente térmica e outro feixe é utilizado para monitorá-la (Figura 3). Esta configuração é denominada de lente térmica coaxial de duplo feixe. Os feixes de excitação e monitoramento são alinhados colinearmente na amostra utilizando filtro dicrótico. Após passar pela amostra, o feixe de excitação é bloqueado ou separado do feixe de monitoramento, utilizando filtro ou prisma, respectivamente. A intensidade de luz no centro do feixe de monitoramento é medida utilizando-se frís e fotodiodo. Somente o laser de excitação é modulado, sendo que o feixe de monitoramento incide continuamente na amostra (idealmente este não deve ser absorvido pela amostra). A variação de voltagem na frequência de modulação (I_0-I_∞) é diretamente proporcional a magnitude da lente térmica (não existe sinal de claro escuro), o que facilita estratégias de detecção utilizando amplificador lock-in (instrumento que amplifica somente sinais que possuem uma frequência de modulação específica)¹⁸.

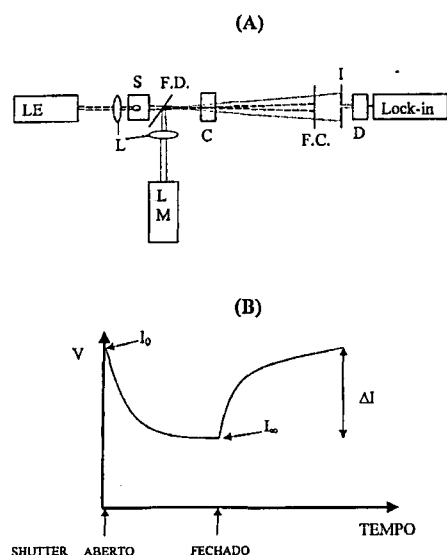


Figura 3. (A) Lente térmica coaxial de duplo feixe, onde LE e LM são os lasers de excitação e monitoramento respectivamente, L é lente, S é shutter, F.D. é filtro dicrótico, C é cubeta, F.C. é filtro de corte, I é íris, D é detector, lock-in é amplificador lock-in. (B) Tensão típica de lente térmica de duplo feixe (voltagem x tempo).

Como pode ser observado pela equação 5, o sinal de LT dividido pela intensidade de excitação é proporcional a diversos fatores (K) independentes do comprimento de onda de excitação (dentro das condições de absorções pequenas) e a absorvância da amostra. Utilizando-se laser sintonizável para proporcionar a excitação da amostra e laser monocromático para a detecção da lente, pode-se variar o comprimento de onda do feixe de excitação e medir alterações de intensidade de luz no centro do feixe de monitoramento. Desta forma, obtêm-se espectros de absorção de LT que possuem as características espectrais de absorção mas com limites de detecção em torno de 10^{-6} - 10^{-7} u.a.¹⁸⁻²⁰.

Existem outras vantagens da instrumentação de duplo feixe em relação a feixe único. A própria sensibilidade analítica pode ser maximizada no duplo feixe. Como comentado anteriormente, o efeito de monitoramento da lente térmica é maximizado a $\pm\sqrt{3} z_c$. No entanto, a intensidade de formação da lente térmica é máxima no ponto focal do laser de excitação. Desta forma, alinhando-se o foco do laser de excitação no centro da amostra e alinhando-se o laser de monitoramento na posição de $\pm\sqrt{3} z_c$, maximiza-se o sinal de LT. Esta configuração (duplo feixe desemparelhado) está apresentada na Figura 3¹⁸.

Facilidade na construção de instrumentos de LT com diferentes configurações geométricas, possibilidade de utilização de diferentes tipos de luz de excitação e simplicidade de detecção (pode-se utilizar amplificador lock-in), são também qualidades de instrumentos de feixe duplo. Por exemplo, utilizando luz de excitação com diferentes propriedades de polarização, pode-se determinar a absorvância de meios anisotrópicos e moléculas quirais de acordo com a polarização da luz incidente¹⁸. As desvantagens de feixe duplo em relação a feixe único são o preço da instrumentação e a dificuldade de alinhamento dos lasers de excitação e monitoramento.

Existem vários modelos teóricos que foram desenvolvidos para tratar exatamente sinais obtidos em instrumentação de duplo feixe. Na condição em que o feixe de monitoramento é igual ao feixe de excitação e ambos os feixes são perfeitamente alinhados, o modelo parabólico corrigido ou modelo aberrante são adequados. No entanto, existem vários fatores que precisam ser levados em conta para outras situações. Shen e coautores elaboraram modelo que considera o grau de desemparelhamento dos feixes de excitação e monitoramento²². Este modelo foi estendido recentemente considerando condução de calor tridimensional (tratamento de amostras finas)²³. Gupta e coautores desenvolveram modelo robusto que considera também as posições relativas dos feixes de excitação e de monitoramento, posição do fotodiodo em relação ao centro do feixe de excitação, diâmetro e alinhamento da íris e velocidade de fluxo do meio líquido^{1,24}. Vale ressaltar que em termos de aplicações analíticas não é necessário considerar os detalhes teóricos da configuração geométrica escolhida. Geralmente procura-se a posição ideal das lentes de focagem e de outras variáveis instrumentais através de maximização experimental do sinal.

LENTE TÉRMICA TRANSVERSAL

Como está mostrado na Figura 1, incidindo-se dois feixes cruzados na amostra (um sendo considerado o de excitação e o outro de monitoramento), a técnica fototérmica resultante é denominada de lente térmica transversal (LTT). Neste caso, o gradiente de temperatura e índice de refração são monitorados somente na região de encontro dos dois feixes, resultando em um elemento termo-óptico semelhante a uma lente cilíndrica^{5,25,26}. Esta configuração é particularmente adequada para medida de volumes pequenos, ou também quando se deseja maximizar os limites de detecção em função de quantidade de amostra e não de concentração (detecção de HPLC ou eletroforese capilar). O sinal fototérmico obtido é independente do tamanho da cubeta, isto porque o volume monitorado (V) é dependente da região de

cruzamento dos dois feixes, que pode ser aproximado a um cilindro de intersecção. Considerando dois feixes de mesmo tamanho, V será igual a 6 pL quando os feixes tiverem 10µm e será igual a 6 fL quando os lasers tiverem diâmetro de 1µm²⁴. Percebe-se que quantidades extremamente pequenas podem ser medidas. Fento-moles de compostos já foram detectados usando esta configuração^{25,26}.

Dovich comparou a sensibilidade das técnicas de LT nas geometrias transversal e coaxial⁵. Além de uma pequena variação temporal (t_c), a configuração coaxial tem sinal maior quando o caminho óptico da amostra (L) é muito maior do que o tamanho do feixe de laser (ω), como pode ser observado pela Equação 10.

$$\frac{\Delta I_{COAXIAL}}{\Delta I_{CRUZADA}} = \frac{L}{\omega_{EXCITA}} (2/\pi)^{1/2} (1 + 2t/t_c)^{-1/2} \quad (10)$$

RELAÇÃO SINAL-RUÍDO E APLICAÇÕES ANALÍTICAS DA TÉCNICA DELENTE TÉRMICA

O principal determinante de sensibilidade analítica em aplicações da técnica de lente térmica é o sinal de matriz (por exemplo, devido a absorção do solvente)²⁷. Da mesma forma que em espectrometria de fluorescência, aumentando-se a intensidade de excitação causará aumentos proporcionais nos sinais da amostra e do solvente, sendo que este efeito geralmente determina os limites de detecção (LODs) encontrados na literatura. A escolha de meios menos absorptivos (por exemplo, solventes organoclorados apresentam os menores coeficientes de absorção no visível) estão geralmente associados com melhores limites de detecção (estes solventes geralmente possuem também melhores propriedades termo-ópticas, Tabela 1). A estratégia de medir matriz e amostra sequencialmente e subtrair o sinal de matriz, não leva geralmente a uma melhora significativa dos LODs, devido principalmente a variações randômicas na intensidade do laser. Dovich e Harris desenvolveram metodologia interessante para contornar esse problema²⁸. Estes autores verificaram que lentes térmicas formadas em posições simétricas em relação à posição de foco do laser de monitoramento anulam os seus efeitos mutuamente. Sendo assim, colocando-se uma cubeta com solvente a $-\sqrt{3}z_c$ e outra cubeta com o mesmo solvente a $+\sqrt{3}z_c$ o sinal de LT seria nulo. Substituindo-se o solvente pela amostra em uma das cubetas, forneceria uma medida da intensidade de LT da amostra, sendo que o sinal da matriz teria sido automaticamente subtraído. Esta técnica tem sido denominada lente térmica diferencial^{28,29}.

Variações randômicas na intensidade do laser são comuns para a maioria dos lasers disponíveis no mercado (variação em torno de 5%)⁵. A maneira mais comum que tem sido utilizada para contornar esse problema é utilizar um segundo canal de referência que mede diretamente a intensidade do laser. O sinal medido no canal de amostragem seria então dividido pelo sinal obtido no canal de referência. Outra estratégia que tem

sido utilizada é aumentar a estabilidade do laser utilizando modulador eletro-óptico (pockels cell) entre dois polarizadores e retro alimentação³¹. Vale ressaltar que as últimas gerações dos lasers de diodo, possuem melhora significativa destas variações^{29,30}.

A outra fonte importante de ruído no sinal de LT são as alterações no perfil Gaussiano do feixe de monitoramento. A instabilidade no feixe de monitoramento é medida diretamente no fotodetector. Essa fonte de ruído é particularmente importante quando uma seção de área pequena e central do feixe de monitoramento é detectada (região de maior variação). Várias estratégias tem sido utilizadas para diminuir essa fonte de ruído incluindo medir o perfil inteiro do feixe de monitoramento utilizando *diode array*, ou utilizar máscara parabólica de transmissão para o feixe de monitoramento^{15,18}.

Outras fontes de ruído comuns em instrumentos espectroscópicos estão também presentes em um sinal de LT (Jhonson e quantum)^{11,31}. Vale ressaltar, que todos os ruídos que não forem em fase com a modulação do feixe de excitação podem ser consideravelmente minimizados utilizando amplificadores lock-in³¹.

A maioria dos exemplos de utilização da técnica de LT em química, encontram-se no campo analítico. Como pode ser observado na Tabela 2 diversos tipos de amostras foram medidas com esta técnica. Cabe ressaltar a alta sensibilidade encontrada em praticamente todos os sistemas investigados. A faixa de LOD encontrada para cada caso depende de propriedades absorptivas da amostra e do meio, propriedades termo-ópticas do meio, intensidade de excitação luminosa e de características específicas do instrumento (S/R)⁵.

Diversas aplicações interessantes tem sido demonstradas em meios líquidos (Tabela 2). Por exemplo, determinação de traços de fósforo em mananciais e em água salgada com LOD de até 10^{-10} M,³² determinação de íons actinídeos em mananciais³³ e detecção de compostos de interesse toxicológico (formaldeído)³⁴ e fisiológico (teofilina)³⁵.

Para amostras gasosas utiliza-se geralmente configuração instrumental com caminho óptico relativamente longo (10-100cm) e lente de distância focal longa ou sem focalização⁵. O caminho óptico relativamente longo é necessário uma vez que os coeficientes de absorção e as propriedades termo-ópticas do meio gasoso são menos favoráveis para aplicação de LT, comparando-se com meios líquidos (Tabela 1). Pode-se citar a determinação de NO₂³⁶ com LOD em torno de 5ppb no visível e detecção de hidrocarbonetos (LOD = 4ppb para etileno)³⁷ e CF₂Cl₂ (LOD = 8×10^{-9} mol/dm³)³⁸ no infravermelho.

Devido a sua alta sensibilidade e ótima resolução espacial, a técnica de LT se mostra particularmente aplicável no desenvolvimento de detectores para cromatografia (líquida, alta performance e supercrítica), bem como eletroforese (gel e capilar) (Tabela 2). Pode-se citar detecção de aminoácidos com sensibilidade de fento-mole³⁹, separação de proteínas com LOD duas ordens de magnitude menor do que os LODs obtidos com densitometria convencional⁴⁰. No caso de cromatografia de fluido supercrítico, Leach e Harris determinaram que há

Tabela 2. Principais aplicações analíticas e faixas de limites de detecção da técnica de LT^(a).

Meio	Faixa de LOD	Aplicações
FASE LÍQUIDA	10^{-5} - 10^{-11} M	Compostos inorgânicos: NO ₂ ⁻ , Fe, P, Co, Ar, Cu, Ni, Cd, U, lantanídeos Compostos orgânicos: formaldeído, teofilina Pureza de solventes
FASE GASOSA	ppb	NO ₂ , SO ₂ , NH ₃ compostos orgânicos voláteis (MetOH, benzeno, organoclorados)
CROMATOGRAFIA ELETROFORESE CAPILAR	0,5pg-ng	Nitroanilinas, organoclorados corantes(purpurinas, rodaminas, etc) aminoácidos, enantiômeros
FIA	10^{-4} - 10^{-7} u.a.	Co, Tb, corantes (azul de bromofenol)

(a) referências 1,5,27

um aumento de até 100 vezes na sensibilidade em relação à determinação realizada em CCl₄. Este efeito é devido às excelentes propriedades termo-ópticas de CO₂ supercrítico⁴¹.

Existem algumas aplicações de LT para detecção de sinais de injeção de fluxo (FIA, Tabela 2)¹. Fluxo laminar relativamente intenso, pulsos de solvente e cubetas de fluxo com volume grande, são geralmente as maiores fontes de ruído neste caso²⁷. No entanto, minimizando as fontes de ruído descritas acima, Yang e Hairrel conseguiram obter LOD da ordem de 10⁻⁷ u.a. em amostras sintéticas (detecção de bromofenol em etanol, Tabela 2).

APLICAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS

Como descrito anteriormente o sinal de LT é proporcional a propriedades ópticas e térmicas do meio onde a substância que absorve luz se encontra (Equação 3, 4). De fato LT tem sido utilizada para medir o valor de k e/ou dn/dT de líquidos⁴³, soluções de micelas⁴⁴, micelas reversas,⁴⁵ cristais líquidos,⁴⁶ misturas críticas⁴⁷ e sólidos⁴⁸. A vantagem de LT em relação a outros métodos é o fato da técnica ser não invasiva e ter alta sensibilidade.

Além disso, demonstrou-se recentemente que é possível utilizando LT, determinar alterações na estrutura de líquidos e agregados supramoleculares induzidas por determinados agentes, desde que estas alterações de estrutura estejam relacionadas com alterações em propriedades ópticas e/ou térmicas do meio⁴⁹⁻⁵¹. Caracterizou-se através de medidas de dn/dT e k o efeito de uréia, álcool t-butílico e micelas na estrutura de água, bem como a estrutura de microemulsões em regime de percolação⁴⁹⁻⁵¹. Estes estudos abriram a possibilidade de utilizar LT para determinações de alterações de estrutura em fenômenos como transição de fase de polímeros e filmes.

A técnica de LT pode ser utilizada para se medir cinética de reações químicas. Para o caso de reações químicas lentas (concentração constante no tempo de formação da lente) os modelos teóricos já apresentados podem ser utilizados normalmente. No caso de reações químicas rápidas, os modelos teóricos para formação da lente térmica (parabólico e aberrante) foram implementados com teorias cinéticas, de forma a permitir a variação de concentração de espécies no tempo de formação de lente^{52,53}. A utilização desses modelos permite a análise de velocidade e ordem de cinética de reações lentas e rápidas. A vantagem em relação a outros métodos de análise é novamente a alta sensibilidade que pode ser obtida com LT, o que permite a medida de cinética de espécies com concentrações muito abaixo das permitidas por espectrofotometria^{52,53}.

A medida de constantes de equilíbrio de dimerização e complexação é outra aplicação físico-química interessante^{54,55}. Georges e colaboradores demonstraram recentemente as vantagens de se medir constantes de dimerização utilizando LT comparativamente com absorção e fluorescência. Genericamente, pode-se utilizar concentrações extremamente pequenas de substâncias e na maioria dos casos a alteração no sinal de LT devido a dimerização é maior do que as variações observadas nos sinais de absorção e fluorescência.

A intensidade do sinal obtido em qualquer técnica fototérmica é dependente do rendimento quântico de decaimento não-radiativo da amostra (vide seção Aspectos Genéricos de Espectrometria Fototérmica). Esse fato possibilita a utilização de espectroscopia fototérmica para determinações calorimétricas em fotoquímica e fotofísica. Nestes casos, estudam-se sistemas em que $\Phi_{nr} > 0$ e/ou $\Delta V_{exc} > 0$ e o sinal obtido vai ser dependente do valor de Φ_{nr} ($\Phi_{nr} = \Phi_{nr-rap} + \Phi_{nr-len}$) e de ΔV_{exc} ^{3,4}. Os valores de Φ_{nr} , ΔV_{exc} , bem como o tempo de vida de espécies transientes podem ser obtidos.^{56,57} Pode-se separar contribuições lentas e rápidas de decaimento não radiativo resolvendo-se temporalmente a formação do gradiente de índice de refração^{3,4,58}. Um exemplo interessante da aplicação desta metodologia foi demonstrado

recentemente para determinação de alterações de volume e de entalpia durante o fotociclo da bacteriorodopsina⁵⁸.

ESTUDO DE SÓLIDOS E SUPERFÍCIES

É possível investigar propriedades de filmes finos, sólidos e vidros que transmitem luz através de LT⁵⁹⁻⁶¹. Pode-se citar medidas de estrutura, k , dn/dT e rendimento quântico de emissão e decaimento não-radiativo⁵⁹⁻⁶¹. No entanto, a técnica fototérmica que tem sido mais utilizada para o estudo de superfícies em geral, é a técnica de deflexão fototérmica, pois pode-se medir amostras opacas e a configuração geométrica é mais adequada à análise de superfícies (Figura 1)^{1,2}. No caso em que o laser de excitação é direcionado perpendicular e o de monitoramento é direcionado paralelo à amostra (Figura 1), a técnica é denominada deflexão fototérmica transversal (DFT)^{1,2}. Em DFT o calor gerado é transferido da amostra para o fluido em contato térmico com esta (na maioria dos casos, ar). O gradiente de índice de refração gerado é monitorado através da deflexão do feixe de monitoramento. O ângulo de deflexão (ϕ), é dependente de propriedades ópticas e de condução de calor do fluido em contato térmico com a amostra, além de propriedades da superfície como absorção, densidade e espessura^{1,2,62,63}.

$$\phi = \left(\frac{dn}{dT} \right)_a \frac{2\alpha_s h_s P_o}{\rho_s C_p (wD_a)^{1/2}} \quad (11)$$

onde, D é difusividade térmica [$D = k/C_p\rho$], α é a absorção por unidade de comprimento, h é espessura do filme ou amostra, P_o é a potência do laser de excitação, w é frequência de modulação, ρ é densidade. Os subscritos a e s entendem-se por ar e superfície, respectivamente.

Esta técnica tem sido aplicada à análise de propriedades de diversos materiais, incluindo-se filmes finos orgânicos (filmes de Zn/Se e de octadeciltricloro silano em silício e filmes de Langmuir-Blodgett de corantes cianinos e ácido aracdônico em substrato sólido de prata)^{64,65,66}, determinação de traços em superfícies⁶⁷, condutividade térmica de pele⁶⁸, além de análise de imagem e estrutura de diversos sólidos⁶⁹.

ÁREAS DE FRONTEIRA

A aplicação das técnicas fototérmicas para solução de problemas diversos em vários campos da ciência e tecnologia já foi demonstrada. A principal vantagem destas técnicas é a grande sensibilidade. Com uma instrumentação relativamente simples (instrumento de feixe único) pode-se obter sensibilidade analítica de até 10⁻¹¹ M, para sistemas de análise simples (amostras conhecidas e ideais). No entanto, para tornar a instrumentação mais maleável e aplicável a amostras desconhecidas, deve-se utilizar instrumentos de duplo feixe, preferencialmente utilizando lasers sintonizáveis como fonte de excitação. Neste ponto a técnica tem esbarrado no seu principal problema que é o preço da instrumentação e a dificuldade de se utilizar lasers sintonizáveis. Estes aspectos tem impedido a expansão da técnica, de forma que até hoje não existem instrumentos de LT ou de outras técnicas fototérmicas disponíveis comercialmente. Neste sentido, uma área de fronteira visa desenvolver a parte prática da técnica, diminuindo o custo e tamanho da instrumentação e aumentando a facilidade de operação. Várias estratégias serão discutidas neste artigo, incluindo utilização de fontes de excitação mais eficientes e baratas, diminuição do tamanho da instrumentação e desenvolvimento de estratégias de multiplexação. A outra área de fronteira das técnicas fototérmicas visa utilizar avanços na área de lasers e de instrumentação em geral para alcançar novos limites da técnica e consequentemente desenvolver metodologias de detecção que não são possíveis de outra maneira. Neste tópico, serão discutidas as áreas, em que na

visão do autor, existe a possibilidade de serem realizadas contribuições científicas mais significativas, sem se preocupar com o preço ou facilidade de utilização da instrumentação.

Aumentar a praticidade da técnica

Uma das estratégias principais utilizadas para se diminuir o preço da instrumentação de LT é utilizar fontes de luz de excitação mais baratas. Lasers de diodo provavelmente serão as fontes de luz ideais, uma vez que possuem características de emissão similares a outros lasers e o preço destes tem decido e a eficiência aumentado expressivamente nos últimos anos³⁰. Além disso, lasers de diodo tem tamanho reduzido e são facilmente acoplados a fibras ópticas, o que facilita o desenho de detectores de LT de tamanho reduzido^{17,69}. Outras fontes de luz desenvolvidas a partir da tecnologia de laser de diodo poderão trazer também grandes avanços na aplicação prática de LT. Por exemplo, demonstrou-se recentemente a utilização de amplificadores de sinal de fibra óptica dopados com erbium (erbium doped fiber amplifier, EDFA), como fontes de luz no infravermelho próximo⁷⁰. Espera-se assim que com os avanços alcançados na tecnologia de lasers de diodo, técnicas espectroscópicas baseadas em excitação com luz de laser (incluindo LT e fototermia em geral) passem a ser utilizadas cada vez mais em aplicações práticas fora dos laboratórios de pesquisa.

Outra estratégia que foi explorada recentemente é utilizar luz branca não coerente (lâmpada de Xe de 1kW) para realizar a excitação de amostras⁷¹. Embora os autores consigam medir espectros de LT, a sensibilidade obtida com a instrumentação é ainda muito baixa. O fator de aumento obtido (E) foi de 2×10^{-3} , ou seja, a técnica é em torno de 500 vezes menos sensível do que a medida de absorção por transmitância. Este extremamente pequeno fator de aumento pode ser explicado pela baixa densidade luminosa média da lâmpada de Xe, que é de apenas $7,5 \times 10^3 \text{ W/m}^2$, enquanto que um simples laser de He-Ne de 2mW possui densidade luminosa de $6,4 \times 10^6 \text{ W/m}^2$ (632,8 nm). Embora a idéia de utilizar fontes de luz incoerente para realizar excitação em lente térmica seja interessante, parece improvável que sensibilidades comparáveis àquelas obtidas com lasers, possam ser obtidas⁷¹.

Os benefícios de aumento da relação entre sinal e ruído obtidos em outras técnicas espectroscópicas (por exemplo, absorção de infravermelho e Raman) utilizando-se técnicas de multiplexação e obtenção de informação espectral (transformada de Fourier e Hadamard), deve também ocorrer com LT. No entanto, este campo tem sido muito pouco explorado. Há diversos relatos na literatura que indicam a possibilidade de sucesso na realização de multiplexação espectral de sinais fototérmicos. Tran e coautores desenvolveram uma instrumentação de LTC onde a excitação era realizada por quatro linhas do laser de argônio, que incidiam na amostra simultaneamente⁷². Cada comprimento de onda foi modulado com uma determinada frequência obtida aplicando-se quatro diferentes radio-freqüências em um filtro óptico-acústico (AOTF). Devido a modulação diferenciada foi possível separar do sinal total, os componentes relacionados com determinados comprimentos de onda de excitação⁷⁰. Consequentemente, pôde-se medir a concentração de quatro íons lantanídeos simultaneamente, numa amostra que continha uma mistura destes. Recentemente, Baptista e Tran utilizaram luz transmitida por AOTF (luz total menos luz difratada) para promover a excitação. Desta forma, a cada comprimento de onda, luz total menos uma parcela da luz difratada incidia na amostra. Considerando este perfil de excitação, foi possível obter informação espectral⁷⁰. Uma vez que a luz transmitida do AOTF possui intensidade ordens de magnitude maior do que a luz difratada a um comprimento de onda específico, houve um aumento de sensibilidade da determinação⁷⁰. Estes exemplos, embora não tenham mostrado formalmente aumento de relação entre sinal-ruído associadas com

multiplexação e transformada de Fourier ou Hadamard, mostram que deve ser possível extrair informação espectral de sinais de LT gerados com excitação em diversos comprimentos de ondas simultaneamente. Há diversos relatos de medidas de espectros de infravermelho (excitação com lâmpadas de Nerst ou quartzo-halogênio) de sólidos, utilizando deflexão fototérmica transversal com transformada de Fourier^{1,73}. A metodologia é interessante, mas a sensibilidade obtida é baixa, por causa da pequena intensidade de excitação e das fontes de ruído vibracional¹. Multiplexação de sinais fototérmicos separados espacialmente com o intuito de obtenção de imagem, foi também reportada^{74,75}. Por exemplo, Foutio e Morris demonstraram a detecção de amostras separadas em cromatografia de camada delgada, utilizando um instrumento de deflexão fototérmica com transformada de Hadamard^{74,75}. Vale ressaltar que a técnica de lente térmica transversal possui excelente resolução espacial uma vez que dois feixes de lasers são alinhados obliquamente e a região espacial monitorada depende somente do diâmetro dos feixes incidentes. É possível obter resolução espacial menor do que $1\mu\text{m}$ ⁷⁶. Dessa forma, parece evidente que a utilização da técnica de LT com multiplexação de comprimento de onda é possível e provavelmente trará grandes benefícios para o desenvolvimento de novas metodologias analíticas baseadas em LT.

Em Busca de novos Limites para Técnicas Fototérmicas

Dicroísmo circular fototérmico

A técnica de dicroísmo circular (DC) tem permitido grandes avanços em diversas áreas de pesquisa. Pode-se citar química analítica e bioquímica. Em química analítica existe grande interesse no desenvolvimento de cromatografia quiral e detectores de alta sensibilidade nesta área são de importância vital⁷⁷. Em bioquímica busca-se sempre novas técnicas que tragam informação sobre estrutura de biomoléculas⁷⁸. DC tem sido muito utilizado com este objetivo e técnicas que consigam aumentar a sensibilidade da detecção de DC são também de extrema importância em bioquímica⁷⁸. Utilizando luz de excitação circularmente polarizada, Tran e coautores desenvolveram diversos instrumentos de medida de dicroísmo circular baseado no efeito de lente térmica⁷⁹⁻⁸¹. No instrumento de última geração, luz circularmente polarizada à direita (d) e à esquerda (l) modulada sequencialmente (d-l-d-l...), foi obtida utilizando-se pockels cell (moduladores fotoelásticos podem também ser utilizados)^{18,31}. A diferença de absorção entre os componentes d e l (ou seja, sinal de DC propriamente dito), pode ser medida diretamente utilizando amplificador lock-in. A vantagem é que os sinais de DC podem ser medidos com alta sensibilidade ($\Delta A \cong 10^{-6}$ u.a.)⁸¹. Esses avanços na sensibilidade analítica de medida de DC podem trazer não só benefícios diretos no desenvolvimento de detectores sensíveis à quiralidade, mas podem também ajudar no estudo de diversos processos envolvendo moléculas e macromoléculas quirais em interfaces onde pequenas quantidades de substâncias estão envolvidas. Estes estudos tem implicação em diversos campos de pesquisa em química (eletroquímica, síntese em superfícies ordenadas, etc) e bioquímica (estrutura de biomoléculas em membranas).

Medida de concentração, complexação e especiação em sistemas complexos e análises in situ.

É de grande interesse para química analítica e/ou bioanalítica caracterizar não somente a concentração total de um determinado elemento, mas também caracterizar em que forma (qual composto, número de oxidação e estado de complexação) esse elemento se encontra, uma vez que isso determinará sua biodisponibilidade e toxicidade⁸². É necessário também analisar as transformações cinéticas que possam vir a ocorrer e consequentemente causar

alterações no seu estado⁸³. Este efeito é especialmente importante em sistemas complexos (amostras de meio ambiente e biológicas), uma vez que esses sistemas raramente se encontram em equilíbrio. A ferramenta que é frequentemente utilizada com esse objetivo é espectrofotometria. Esta técnica apresenta a desvantagem de muitas vezes não ter sensibilidade suficiente para a análise de concentrações reais encontradas em sistemas biológicos⁸². Para resolver este problema LT tem sido utilizada em estudos cinéticos e de equilíbrio de complexação de diversos metais com ligantes complexos como ácidos húmicos, fúlvicos e colóides hidrofílicos.⁸³ Devido as suas propriedades de alta sensibilidade analítica, relativa insensibilidade a espalhamento de luz⁸⁴, e facilidade em se medir cinéticas de reações lentas e rápidas^{52,53}, LT possui grande potencial no desenvolvimento de metodologias analíticas que visem não só medir concentração mas também especiação em sistemas complexos.

Está bem descrito na literatura que metais podem ser detectados através de complexação com corantes e alteração espectral induzida por luz (efeito conhecido como fotocromismo). Neste caso a alteração do espectro de absorção e/ou emissão de determinados corantes é relacionada com a concentração de metal presente na amostra⁸⁵. Pode-se citar exemplos clássicos como complexos de metais com ditizona (mercúrio, chumbo, prata, zinco, etc)⁸⁶, com azulol crômico (berílio)⁸⁷, com derivados de porfirinas (cobre)⁸⁸ e com violeta de etila (complexos de cobre, tungstênio, sais de urânio, etc).⁸⁸ Com a escolha certa de sonda e metal, métodos sensíveis (microgramas) e seletivos tem sido demonstrados⁸⁵⁻⁸⁸. No entanto, a maioria desses métodos tem sido considerada secundária, uma vez que outras técnicas, por exemplo absorção e emissão atômica, fornecem maior sensibilidade e facilidade de análise. Recentemente, tem havido um ressurgimento na utilização de métodos fotocromicos com detecção por fototermia e/ou fotoacústica, para a determinação de metais, visando especialmente o desenvolvimento de testes que possam ser executados *in situ* ou testes em que a amostra seja armazenada em tira de papel para poder ser analisada posteriormente. Por exemplo, limites de detecção da ordem de partes por trilhão foram descritos para a determinação de mercúrio (II) com ditizona e para detecção de Be(II) com azulol crômico S^{89,90}. A detecção do fotocromismo nestes trabalhos foi realizada através de espectrometria fototérmica e fotoacústica, respectivamente^{89,90}. Existem várias possibilidades de desenvolvimento neste campo, por exemplo utilizando sondas que absorvam no infravermelho próximo, onde há diminuição de espalhamento de luz e de sinal de matriz biológica⁵¹.

A aplicação de fototermia (como também de fluorescência e fotoacústica) em identificação e quantificação de compostos e anomalias de interesse médico e bioquímico em amostras biológicas, tem recebido grande interesse da comunidade científica e conseqüentemente o número de publicações nesta área tem aumentado consideravelmente⁹¹⁻⁹⁴. Pode-se citar como exemplos a caracterização de pedras renais no infra-vermelho⁹¹, a diferenciação entre células leucêmicas e células normais utilizando espectrometria fototérmica de deflexão no visível⁹², a análise de danos de tecido após processos de ablação por laser⁹³ e imagem fototérmica de tecidos não homogêneos e de neutrófilos⁹⁴. Devido ao grande potencial de espectroscopia fototérmica em termos de sensibilidade analítica, resolução espacial para imagem e o grande interesse da comunidade científica em desenvolver novas metodologias de diagnóstico médico, pode-se prever que esta área trará indubitavelmente grandes contribuições científicas em futuro próximo.

Interfaces

A área de filmes e interfaces é de grande importância para vários campos de pesquisa incluindo bioquímica (membranas) e novos materiais. Devido as pequenas dimensões de ordem

molecular envolvidas, carece-se muitas vezes de técnicas com sensibilidade suficiente para se estudar interfaces. Como descrito anteriormente, espectroscopia fototérmica tem sido utilizada para estudos estruturais e de composição química de sólidos e filmes finos. Recentemente, foram descritos os primeiros estudos utilizando espectroscopia fototérmica para a caracterização direta de interfaces⁹⁵⁻⁹⁹. Pode-se citar difusão de espécies químicas em membranas⁹⁸ e estudo do processo de dissolução de moléculas anfífilicas na interface água-hexano⁹⁹. Devido as suas características intrínsecas de ótimas sensibilidade e resolução espacial, espectroscopia fototérmica mostra-se ideal para o desenvolvimento de novas metodologias de estudo de interfaces em geral.

REFERÊNCIAS

- Bialkowski, S. E.; *Photothermal Spectroscopy Methods for Chemical Analysis*; John Wiley; New York 1996.
- Morris, M. D.; Peck, K.; *Anal. Chem.* **1986**, *58*, 811A.
- Braslavsky, S. E.; Heibel, G. E.; *Chem. Rev.* **1992**, *92*, 1381.
- Braslavsky, S. E.; Heihoff, K.; In *CRC Handbook of Organic Photochemistry*; vol I; Scaiano, J. C.; Ed.; CRC Press 1989; p. 327.
- Dovich, N. J.; *CRC Crit. Rev. Anal. Chem.* **1987**, *17*, 357.
- Harris, J. M.; Dovich, N. J.; *Anal. Chem.* **1980**, *52*, 695A.
- Harris, T. D.; *Anal. Chem.* **1982**, *54*, 741A.
- Tran, C. D.; In *Photoacoustic and Photothermal Phenomena III*; Binamic, D. Ed.; Springer Verlag: Berlin, 1992, p. 463.
- Hu, C.; Whinnery, J. R.; *Appl. Opt.* **1973**, *12*, 72.
- (a) Gordon, J. P.; Leite, R. C. C.; Moore, R. S.; Porto, S. P. S.; Whinnery, J. R.; *J. Appl. Phys.* **1965**, *36*, 3. (b) Gordon, J. P.; Leite, R. C. C.; Moore, R. S.; Porto, S. P. S.; Whinnery, J. R.; *Bull. Am. Phys. Soc.* **1964**, *9*, 501.
- Leite, R. C. C.; Moore, R. S.; Whinnery, J. R.; *Appl. Phys. Lett.* **1964**, *5*, 141.
- (a) Solimini, D.; *J. Appl. Phys.* **1966**, *37*, 3314. (b) Solimini, D.; *Appl. Opt.* **1966**, *5*, 1931.
- Carter, C. A.; Harris, J. M.; *Appl. Opt.* **1984**, *23*, 476.
- Sheldon, S. J.; Knight, L. V.; Thorne, J. M.; *Appl. Opt.* **1982**, *21*, 1663.
- Ramos, G. R.; *Anal. Chim. Acta* **1993**, *283*, 623.
- Wu, S.; Dovich, N. J.; *J. Appl. Phys.* **1990**, *67*, 1170.
- Seinle, E.; Faubel, W.; Ache, H. J.; *Anal. Chim. Acta* **1997**, *353*, 207.
- Franko, M.; Tran, C. D.; *Rev. Sci. Inst.* **1996**, *67*, 1.
- Long, M. E.; Swofford, R. L.; Albrecht, A. C.; *Science* **1976**, *191*, 183.
- Tran, C. D.; Grishko, V. I.; Baptista, M. S.; *Appl. Spectrosc.* **1994**, *48*, 833.
- Kawasaki, S.; Lane, J. L.; Tang, C. L.; *Appl. Opt.* **1994**, *33*, 992.
- Shen, J.; Lowe, R. D.; Snook, R. D.; *Chem. Phys.* **1992**, *165*, 385.
- Shen, J.; Baesso, M. L.; Snook, R. D.; *J. Appl. Phys.* **1994**, *75*, 3738.
- (a) He, Q.; Vyas, R.; Gupta, R.; *Appl. Opt.* **1997**, *36*, 7046. (b) Vyas, R.; Gupta, R.; *Appl. Opt.* **1988**, *27*, 4701.
- (a) Nolan, T. G.; Weimer, W. A.; Dovich, N.; *J. Anal. Chem.* **1984**, *56*, 1700. (b) *Ibid* 1704.
- Teramae, N.; Voigtman, E.; Lanauze, J.; Winefordner, J. D.; *Anal. Chem.* **1986**, *58*, 761.
- Snook, R. D.; Lowe, R. D.; *Analyst* **1995**, *120*, 2051.
- Dovich, N. J.; Harris, J. M.; *Anal. Chem.* **1980**, *52*, 2338.
- Teramae, N.; Winefordner, J. D.; *Appl. Spec.* **1987**, *41*, 164.
- (a) Tataro, I.; Nobuhiko, I.; *Anal. Chem.* **1990**, *62*, 363A. (b) Ueno, M.; Yuasa, T.; In *Infrared Absorbing Dyes*; Matsuoka, M. Ed.; Plenum; New York 1990, p. 97.

31. (a) Ingle, J. D.; Crouch, S. R.; *Spectrochemical Analysis*; Prentice Hall; Englewood Cliffs, 1988. (b) Voigtman, E.; Winefordner, J. D.; *Analytical Instrumentation* **1986**, 15, 287.
32. Fujiwara, K.; Lei, W.; Uchiki, H.; Shomokoshi, F.; Fuwa, K.; Kobayashi, T.; *Anal. Chem.* **1982**, 54, 2026.
33. Berthoud, T.; Mauchien, P.; *Anal. Chim. Acta* **1983**, 153, 265.
34. Alfheim, J. A.; Langford, C. H.; *Anal. Chem.* **1985**, 57, 861.
35. Abroskin, A. G.; Belaeva, T. V.; Ivanova, E. K.; Maya, S. G.; Proskurnin, M. A.; *J. Anal. Chem. USSR Transl.* **1991**, 46, 869.
36. Higashi, T.; Imasaka, T.; Ishibashi, N.; *Anal. Chem.* **1983**, 55, 1907.
37. Higashi, T.; Imasaka, T.; Ishibashi, N.; *Anal. Chem.* **1984**, 56, 2010.
38. Long, G. R.; Bialkowski, S. E.; *Anal. Chem.* **1984**, 56, 2806.
39. Bruno, A. E.; Paulus, A.; Bornhop, D. J.; *Appl. Spec.* **1991**, 45, 462.
40. Peck, K.; Morris, M. D.; *Anal. Chem.* **1986**, 58, 507.
41. Leach, R. A.; Harris, J. M.; *Anal. Chem.* **1984**, 56, 1481.
42. Yang, Y.; Hairrel, R. E.; *Anal. Chem.* **1984**, 56, 3002.
43. Bailey, R. T.; Cruickshank, F. R.; Pugh, D.; Guthrie, S.; McLeod, A.; Foulds, W. S.; Lee, W. R.; Venkatesh, S.; *Chem. Phys.* **1983**, 77, 243.
44. Franko, M.; Tran, C. D.; *J. Phys. Chem.* **1991**, 95, 6688.
45. Lalanne, J. R.; Pouligny, B.; Sein, E.; *J. Phys. Chem.* **1983**, 87, 696.
46. Ono, H.; Takeda, K.; Fujiwara, K.; *Appl. Spec.* **1995**, 49, 1189.
47. (a) Rebbouh, N.; Buchert, J.; Lalanne, J. R.; *Europhys. Lett.* **1987**, 4, 447. (b) Hardcastle, F. D.; Harris, J. M.; *Appl. Spec.* **1986**, 40, 606.
48. Sparks, M.; *J. Appl. Phys.* **1971**, 42, 5029.
49. Baptista, M. S.; Tran, C. D.; *J. Phys. Chem.* **1995**, 99, 12952.
50. Baptista, M. S.; Tran, C. D.; *J. Phys. Chem. B* **1997**, 101, 4209.
51. Baptista M. S.; *Ph. D. Dissertation*, Marquette University, 1996.
52. Franko, M.; Tran, C. D.; *Rev. Sci. Instrum.* **1991**, 62, 2430.
53. Franko, M.; Tran, C. D.; *Rev. Sci. Instrum.* **1991**, 62, 2438.
54. Georges, J.; *Spectrochim. Acta* **1995**, 51A, 985.
55. Fischer, M.; Georges, J.; *Spectrochim. Acta* **1997**, 53A, 1419.
56. Terazima, M.; Azumi, T.; Hirota, N.; *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* **1992**, 65, 21.
57. Terazima, M.; Hirota, N.; Shinohara, H.; Saito, Y.; *J. Phys. Chem.* **1991**, 95, 9080.
58. Schulenberg, P. J.; Gärtner, W.; Braslavsky, S. E.; *J. Phys. Chem.* **1995**, 99, 9617.
59. (a) Andrade, A. A.; Catunda, T.; Lebullenger, R.; Hernandez, A. C.; Baesso, M. L.; *Electronic Letters*, **1998**, 34, 117. (b) Catunda, T.; Baesso, M. L.; Messaddeq, Y.; Aegerter, M. A.; *Journal of Non-Cristaline Solids* **1997**, 213&214, 225.
60. Blume, A. E.; Tittel, K. F.; *Appl. Opt.* **1964**, 3, 527.
61. Taheri, B.; Munoz, A.; St. John, W. D.; Wicksted, J. P.; Poswell, R. C.; Blackburn, D. H.; Crammer, D. C.; *J. Appl. Phys.* **1992**, 71, 3693.
62. (a) Mandelis, A.; *Progress in Photothermal and Photoacoustic Science and Technology*; Elsevier: New York, 1992. (b) Boccara, A. C.; Fournier, D.; Badoz, J.; *Appl. Phys. Lett.* **1980**, 96, 130. (c) Jackson, W. B.; Amer, N. M.; Boccara, A. C.; Fournier, D. *Appl. Opt.* **1981**, 20, 1333.
63. Murphy, J. C.; Aamodt, L. C.; *J. Appl. Phys.* **1980**, 51, 4580.
64. Royce, B. S. H.; Sánchez-Sinencio, F.; Goldstein, R.; Muratore, R.; Williams, R.; Yim, W. M.; *J. Electrochem. Soc.* **1982**, 129, 2393.
65. (a) Knoll, W.; Coufal, H.; *Appl. Phys. Lett.* **1987**, 51, 892. (b) Coufal, H. In *Photoacoustic, Photothermal and Photochemical Processes at Surfaces and in Thin Films*, Hess, P.; Ed.; Springer-Verlag: Berlin 1989, p. 129.
66. Bain, C. D.; Davies, P. B.; Ong, T. H.; *Chem. Phys. Letters* **1992**, 194, 391.
67. Sawada, T.; *Anal. Chem.* **1991**, 63, 217.
68. Brown, S. M.; Baesso, M. L.; Shen, J.; Snnok, R. D.; *Anal. Chim. Acta* **1993**, 282, 711.
69. (a) Rojas, D.; Silva, R. J.; Russo, R. E.; *Rev. Sci. Instrum.* **1992**, 63, 2989. (b) Seidel, B. S.; Faubel, W.; *Opt. Eng.* **1997**, 36, 469. (c) Zimering, B. L.; Boccara, A. C.; *Appl. Opt.* **1997**, 36, 3188.
70. Baptista, M. S.; Tran, C. D.; *Appl. Opt.* **1997**, 36, 7059.
71. Chartier, A.; Bialkowski, S. E.; *Opt. Eng.* **1997**, 36, 303.
72. Tran, C. D.; Furlan, R. J.; Lu, J.; *Appl. Spectrosc.* **1994**, 48, 101.
73. (a) Low, M. J. D.; Lacroix, M.; Morterra, C.; *Appl. Spectrosc.* **1982**, 36, 582. (b) Palmer, R. A.; Smith, M. J.; *Can. J. Phys.* **1986**, 64, 1086.
74. Fotiou, K. F.; Morris, M. D.; *Anal. Chem.* **1987**, 59, 185.
75. Fotiou, K. F.; Morris, M. D.; *Anal. Chem.* **1987**, 59, 1446.
76. Burgi, D. S.; Dovichi, N. J.; *Applied Optics* **1987**, 26, 4665.
77. (a) Stinson, S. *Chemical Engineering News* 1994, September 19, 27. (b) Nafie, L. A.; Diem, M. *Appl. Spectrosc.* **1979**, 33, 130. (c) Tran, C. D. In *HPLC Detection: Newer Methods*; Patonay, G. Ed.; VCH Publisher; New York 1992, p. 111.
78. (a) Yang, J. T.; Wu, C.-S. C.; Martiniez, H. M.; *Methods Enzymol.* **1986**, 130, 208. (b) Fasman, G. D., Ed.; *Circular Dichroism and the Conformational Analysis of Biomolecules*; Plenum; New York 1996.
79. Tran, C. D.; Xu, M.; *Rev. Sci. Instrum.* **1989**, 60, 3207.
80. Xu, M.; Tran, C. D.; *Appl. Spectrosc.* **1990**, 44, 962.
81. Xu, M.; Tran, C. D.; *Anal. Chem.* **1990**, 62, 2467.
82. (a) Moulin, C.; Laszak, I.; Moulin, V.; Tondre, C.; *Appl. Spectrosc.* **1998**, 52, 528. (b) Smith, D. S.; Kramer, J. R.; *Anal. Chim. Acta* **1998**, 363, 21.
83. Langford, C. H.; Cook, R. L.; *Analyst* **1995**, 120, 591.
84. Thorne, J. B.; Bobbitt, D. R.; *Appl. Spectrosc.* **1993**, 47, 360.
85. Brown, G. H.; Ed. *Photochromism, Techniques in Chemistry*; Vol. 3; Wiley Interscience; New York 1971.
86. Meriwether, L. S.; Breitner, E. C.; Sloan, C. L.; *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, 87, 4441.
87. (a) Pakalns, P.; *Anal. Chim. Acta* **1964**, 31, 576. (b) Silverman, L.; Shideler, M. E.; *Anal. Chem.* **1959**, 31, 152.
88. (a) Yamamoto, K.; Kumamaru, T.; *Anal. Sci.* **1995**, 11, 307. (b) Yaozhong, L.; Changsong, L.; Jianlin, G.; Ruiping, W.; *Fenxi Huaxue* **1987**, 15, 41.
89. Lai, E. P. C.; Statham, B. D.; Ansell, K.; *Anal. Chim. Acta* **1993**, 276, 393.
90. Lai, E. P. C.; Wong, B.; VanderNoot, V. A.; *Talanta* **1993**, 40, 1097.
91. Byrne, E. W.; Rintoul, L.; Smith, J. L.; Fredericks, P. M.; *Appl. Spectrosc.* **1995**, 49, 1028.
92. Wu, J.; Kitamori, T.; Sawada, T.; *Appl. Phys. Lett.* **1990**, 57, 22.
93. Skordoulis, C. D.; Makropoulou, M. I.; Bolovnos, A. L.; Serafetinides, A. A.; *Laser in Medical Science* **1997**, 12, 313.
94. Lapotko, D.; Kuchinsky, G.; Potapnev, M.; Pechkovsky, D.; *Cytometry* **1996**, 24, 198.
95. Bain, C. D.; Davies, P. B.; Ong, T. H.; *Chem. Phys. Letters* **1992**, 194, 391.
96. Walther, H. G.; Karpen, W.; *Anal. Chim. Acta* **1994**, 297, 87.
97. Gugliotti, M.; Baptista, M. S.; Dias, L. G.; Politi, M. J.; *Appl. Opt.* **1999**, 38, 1213.
98. Snook, R. D.; Lowe, R. D.; Baesso, M. L.; *Analyst* **1998**, 123, 587.
99. Kawazumi, H.; Kaieda, T.; Inoue, T.; Ogawa, T.; *Chem. Phys. Lett.* **1998**, 282, 159.