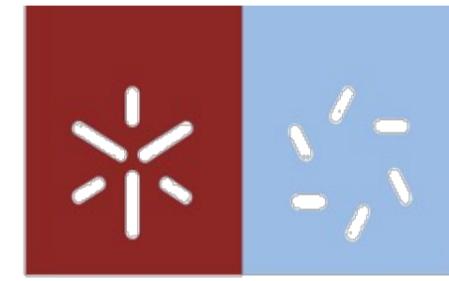




Áureo Capuma Ucuajongo Estudo da emissão singular de fótons por defeitos na rede de boro hexagonal

UMinho | 2020

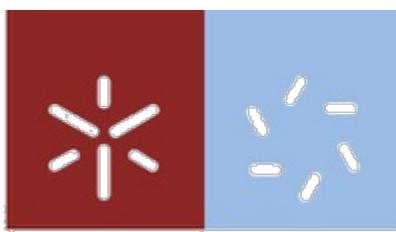


Universidade do Minho  
Escola de Ciências

Áureo Capuma Ucuajongo

Estudo da emissão singular de fótons  
por defeitos na rede do nitreto de boro  
hexagonal

Janeiro de 2020



Universidade do Minho  
Escola de Ciências

Áureo Capuma Ucuanjongo

Estudo da emissão singular de fótons por  
defeitos na rede do nitreto de boro hexagonal

Dissertação de Mestrado em Física

Trabalho efetuado sob orientação de:

**Professor Doutor Peter Michael Schellenberg**  
**Professor Doutor João Pedro dos Santos Hall Agorreta**  
**de Alpuim**

Janeiro de 2020



## Direitos de autor e condições de utilização do trabalho por terceiros

Este é um trabalho académico que pode ser utilizado por terceiros desde que respeitadas as regras e boas práticas internacionalmente aceites, no que concerne aos direitos de autor e direitos conexos.

Assim, o presente trabalho pode ser utilizado nos termos previstos na licença abaixo indicada. Caso o utilizador necessite de permissão para poder fazer um uso do trabalho em condições não previstas no licenciamento indicado, deverá contactar o autor, através do Repositório UM da Universidade do Minho.



Atribuição-NãoComercial-SemDerivações  
CC BY-NC-ND

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

## Agradecimentos

Durante o período de formação deparei-me com diversos obstáculos, deste modo, necessitei de auxílios para os transpor. Portanto, dedico essa secção para expressar a minha profunda gratidão.

Primeiramente, agradeço a Deus todo Poderoso, pela proteção divina. Expresso o profundo agradecimento ao Doutor Peter Schellenberg e ao Doutor Pedro Alpuim, pela atenção e disponibilidade durante a realização do trabalho e compromisso total para comigo. Estou profundamente grato por tornarem este trabalho possível e por me terem dado a oportunidade de investigar nesta área tão fascinante.

Em especial e em representação da minha grande e querida Família meus Pais Job Ucuajongo e Albertina Ucuajongo, meu irmão Nilton Ucuajongo. Mesmo distante de mim nunca deixaram de manifestar sua atenção, acompanhamento e suporte.

Ao Doutor Michael Belsley pela disponibilidade, ajuda e observações quanto a instrumentação e as técnicas usadas durante a pesquisa.

Ao Doutor Paulo Marques Professor do departamento de Física da Universidade do Porto, pela ajuda na reparação da fibra fotónica.

Aos colegas de laboratório César Bernardo e Manuel Rodrigues que estiveram sempre disponíveis para partilhar suas experiências e sugestões vantajosas durante a realização da tese.

A Universidade do Minho e em particular ao Centro de Física, pelo suporte material disponibilizado.

Ao Governo Angolano pelo apoio financeiro, à Professora Zenaida Fuentes (Msc) e ao Doutor Bernardo Camunda, Decano da Escola Superior Pedagógica do Namibe (Angola) pelo apoio durante a fase de candidatura ao Mestrado.

Aos amigos e companheiros Andreia Neto, António Kamengo, Paulo Boano, Bruno Alexandre, José Nuno, João Martins, Lucas Rocha, que durante a formação muito ajudaram de forma científica e moral para que eu chegasse a este patamar, ao colega Salvador Tito pela ajuda quanto a ortografia.

## **Declaração de integridade**

Declaro ter atuado com integridade na elaboração do presente trabalho académico e confirmo que não recorri à prática de plágio nem a qualquer forma de utilização indevida ou falsificação de informações ou resultados em nenhuma das etapas conducente à sua elaboração. Mais declaro que conheço e que respeitei o Código de Conduta Ética da Universidade do Minho.

## Resumo

Com a descoberta do grafeno em 2004, o estudo de materiais 2D e a busca pela compreensão das suas propriedades fascinantes têm crescido. A possibilidade de materiais 2D hospedarem defeitos que funcionam como pontos emissores de fótons singulares como o caso do nitreto de boro hexagonal (h-BN) têm motivado estudos nesse âmbito. Embora a natureza dos defeitos emissores de fótons singulares seja ainda um assunto de muito debate acadêmico, a propriedade de emissão óptica tem motivado numerosas pesquisas científicas.

Nesta tese estudou-se a emissão de fótons por defeitos atômicos em h-BN. A amostra foi excitada por uma fonte que consiste num laser pulsado que emite pulsos de cem femtossegundos de largura com uma repetição de 76MHz e o comprimento de onda de excitação de 530nm com a emissão acima de 600nm. O comprimento de onda de excitação foi obtido a partir de uma fibra fotônica que foi usada para produzir luz branca da qual separou-se o comprimento de onda de interesse para excitar a amostra.

A emissão de fluorescência foi estudada com o recurso da técnica *Fluorescence Lifetime Imaging* (FLIM), usando-se o método *Time Correlated Single Photon Counting* (TCSPC). Os primeiros resultados mostraram uma grande densidade de pontos emissores na amostra e de uma forma geral as fontes emissoras apresentaram *bleaching* gradual, quando sobre eles se incidiu o feixe de excitação e em alguns casos terminando com o *bleaching* total da fonte emissora. As medições revelaram também a manifestação do *blinking* das fontes emissoras.

A forte manifestação do *bleaching* que terminou com o *bleaching* total em alguns casos, questionou a natureza das fontes, pois era suposto que esses se mantivessem estáveis durante longas medições. Portanto, um *annealing* a 500°C em alto vácuo foi realizado para limpar a amostra de possíveis impurezas que funcionam como fontes emissoras de fluorescência. Os resultados depois do *annealing* mostraram uma densidade mais baixa de fontes emissoras de fluorescência.

## ABSTRACT

With the discovery of graphene in 2004, the study of 2D materials and the pursuit of understanding its fascinating properties have grown. The possibility of 2D materials hosting defects that function as single photon emitting points such as in hexagonal boron nitrate (h-BN) has motivated further study in the area. Although the nature of single photon emitting defects is still a matter of much academic debate, the optical emission property has motivated numerous scientific research.

In this thesis, the photon emission by atomic defects in h-BN was studied. The sample was excited by an excitation source consisting of a pulsed laser that emits one hundred femtoseconds wide pulses with a repetition of 80 MHz and the excitation wavelength of 530 nm with emission above 600 nm. The excitation wavelength was activated from a photonic fiber that was used to produce white light where it was selected or the wavelength of interest to excite a sample.

Fluorescence emission was studied using the Fluorescence Lifetime Imaging (FLIM) technique using the Time Correlated Single Photon Counting (TCSPC) method. The first results showed a high density of emitting points in the sample and generally, the emitting sources showed gradual bleaching when the excitation beam was focused on them and in some cases ending with the total bleaching of the emitting source. The measurements also revealed the manifestation of blinking from the emitting sources.

The strong bleaching outbreak that ended in full bleaching in some cases questioned the nature of the sources as they were supposed to remain stable over long measurements. Therefore, annealing at 500°C was performed to clean the sample of possible impurities that act as fluorescence emitting sources and to increase the number of single photon emitting defects. The results after annealing showed a density of fluorescence emitting sources. Such sources showed low intensity in relation to fluorescent spots observed before annealing

## Lista de figuras

<b>Figura 1.1</b> Defeitos de Schottky (Sh) e de Frenkel (F) em um cristal iônico. As setas indicam o deslocamento de iões. O defeito de Schottky consiste em lacunas criadas quando um átomo ou ião é tirado de um sítio cristalino interno para um sítio cristalino situado na superfície do cristal. E o defeito de Frenkel também é um defeito associado a lacunas no qual um átomo ou ião é transferido de um sítio da rede cristalina para uma região intersticial, ou seja, uma posição que normalmente não é ocupada por um átomo [5].....	3
<b>Figura 2.1</b> Empilhamento de materiais 2D formando heteroestruturas [1].....	7
<b>Figura 2.2</b> Estrutura cristalina do h-BN.....	7
<b>Figura 2.3</b> Estrutura eletrônica da energia de banda do BN com bangap igual a 5,9eV em comparação com a do grafeno bangap igual a 0eV.....	8
<b>Figura 2.4</b> Esquema mostrando a comparação da estrutura cristalina da grafite a direita, e a esquerda do h-BN [11].....	9
<b>Figura 2.5</b> (a) absorção, (b) emissão espontânea (c) emissão estimulada [14]. ....	10
<b>Figura 2.6</b> Diagrama de Perrin Jablonski mostrando os níveis de energia e transições envolvidas entre absorção e emissão (que no caso específico trata-se de emissão de fluorescência) [15]...	11
<b>Figura 2.7</b> Valores típicos se transições entre estados [15]-[19].....	12
<b>Figura 2.8</b> Diagrama de energia potencial mostrando as transições envolvidas na absorção, fluorescência e fosforescência e cruzamento entre sistemas entre o estado de singlete excitado [15]-[19].....	13
<b>Figura 2.9</b> Esquema ilustrando o princípio da fluorescência resolvida no tempo, para a técnica de fluorometria por pulso [16].....	14
<b>Figura 2.10</b> Princípio da medição do tempo de vida no domínio do tempo. A amostra é excitada com um pulso curto de luz, após o qual a fluorescência emitida é medida resolvida no tempo [27].....	15
<b>Figura 2.11</b> Convolução do decaimento de fluorescência com o IRF. Onde IRF é a função que o sistema FLIM gravaria se detetasse diretamente o pulso de laser [17]. ....	16
<b>Figura 2.12</b> (a) esquema do processo de fotoluminescência, em que o defeito é excitado com uma luz verde (495–570nm), e emite na faixa do amarelo (570–590nm) (b) Esquema do diagrama de coordenadas de configuração unidimensional, exibindo a energia total como uma função da	

coordenada de configuração Q para as estruturas do estado de excitação (superior) e do estado de fundamental [18] .....	17
<b>Figura 2.13</b> Estrutura molecular de um defeito do tipo o $N_bV_N$ em uma rede de h-BN [8] .....	17
<b>Figura 2.14</b> Ilustração dos mecanismos de fluorescência. Na figura, está representado o processo de emissão do fóton de fluorescência quando o elétron retorna do estado excitado $S_1$ para o estado fundamental $S_0$ . [24] .....	18
<b>Figura 3.1</b> Esquema da instrumentação geral usada para o experimento .....	21
<b>Figura 3.2</b> Esquema ótico do laser Ti: Sa – Coherent Mira 900 [25] .....	22
<b>Figura 3.3</b> Instrumentação para obtenção do comprimento de onda para excitação. Sendo; IO: Isolador ótico; $\lambda/2$ : Placa de meio comprimento de onda; PO: polarizador; OM: Objetiva microscópica; FF: Fibra fotônica; F550: Filtro de interferência de 550nm shortpass. ....	23
<b>Figura 3.4</b> Imagem do espectro da luz branca transmitida pela fibra fotônica .....	24
<b>Figura 3.5</b> Princípio do TCSPC: (A) Decaimento exponencial de fótons emitidos. (B) Ciclo de medição entre o pulso de excitação da luz do laser e a observação do fóton de fluorescência. A diferença entre a pulso do laser e o sinal do detetor é medida pela eletrônica que age como um cronômetro. (C) Os tempos de chegada são agrupados em caixas (“canais” ou “bins”) com resolução de tempo de picossegundos e um histograma de sua distribuição é acumulado [26] .	25
<b>Figura 3.6</b> Diagrama do circuito electrónico da placa TCSPC Becker & Hickl (bh SPC -150) na configuração revertida .....	26
<b>Figura 3.7</b> Adição de desvio de fase do sinal de saída PMT. (A) pulso de chegada, (B) adição do deslocamento de fase invertida, (C) cruzamento zero da adição .....	27
<b>Figura 3.8</b> Esquema da arquitetura do FLIM de um sistema multidimensional TCSPC [27] .....	29
<b>Figura 3.9</b> Instrumentação para microscopia a laser usado na investigação. Sendo que; A: amostra, 2X: Motor com 2 eixos; OM: objetiva microscópica; DF; divisor de feixe; ED: espelho dicróico; L: lente; F: filtro; E: espelho; FMT: fotomultiplicador e CA: câmara Andor Luca EMCCD (1000 x 1000 pixels).....	30
<b>Figura 3.10</b> Obtenção da imagem da superfície da amostra de h-BN, foco e discos de difração da luz. Com recurso a câmara Andor equipada apenas com um filtro de intensidade.....	31
<b>Figura 3.11</b> Espelho dicróico de 600nm, com uma reflexão abaixo de 550nm quando colocado a 45° .....	32

<b>Figura 3.12</b> imagem FLIM de uma amostra de h-BN com recurso ao SPCImage. À esquerda imagem de tempo de vida da fluorescência, á direita por cima temos o gráfico que mostra a distribuição do tempo de vida em toda imagem, e ainda á direita por baixo temos a curva do decaimento de fluorescência e os seus respetivos parâmetros de decaimento.....	33
<b>Figura 4.1</b> Imagem de fluorescência da amostra de h-BN com recurso a camara Andor Luca EMCCD equipada com um filtro de interferência para transmissão apenas do comprimento de onda de fluorescência, mostrando uma região de interesse para análise FLIM. ....	36
<b>Figura 4.2</b> Imagem FLIM da amostra de h-BN mostrando um defeito emissor de fótons localizado numa área de scan de $50\mu\text{m}$ . (A) corresponde à imagem de intensidade da emissão e (B) corresponde à imagem de tempo de vida. ....	37
<b>Figura 4.3</b> Imagem FLIM da amostra de h-BN. o mesmo spot da figura 3.12 visto numa área de $10\mu\text{m} \times 10\mu\text{m}$ . ....	38
<b>Figura 4.4</b> Imagem representativa de um <i>spot</i> em posição para medição em modo <i>time-series</i> no canto superior esquerdo .....	39
<b>Figura 4.5</b> Bleaching de um ponto emissor de fótons de fluorescência Antes(A) e depois(B). ..	39
<b>Figura 4.6</b> Perfil experimental do decaimento de fluorescência de um defeito em h-BN, representado por contornos da intensidade ao longo do tempo. A figura mostra um conjunto de 32000 decaimentos ao longo dos 6400s de aquisição .....	41
<b>Figura 4.7</b> Outra representação do perfil experimental do decaimento de fluorescência dos defeitos em h-BN formando um conjunto de 32000 curvas. ....	41
<b>Figura 4.8.</b> (A) Região da figura 4.6 que correspondem aos canais de tempo que se encontram no intervalo de: 3.98s a 4.27s azul, vermelho ao intervalo de 4.39s a 4.68s, preto ao intervalo de 4.98s a 5.27s e verde corresponde ao intervalo de 5.56s a 5.85. (B) Perfil experimental do blinking dos defeitos em h-BN ao longo das intensidades dos canais de tempo nos intervalos marcados. ....	42
<b>Figura 4.9</b> Flutuações dos perfis de decaimento ao longo dos tempos de aquisição 1332.6s, 1333.2s, 1333.8s. ....	43
<b>Figura 4.10</b> A figura apresenta o decaimento 1333.2s acima e o decaimento 1332.6s abaixo da figura 4.9 ajustado a função de decaimento de acordo com a equação (4.2).....	45
<b>Figura 4.11</b> Comparação em FLIM das imagens de intensidade da amostra em regiões não idênticas. Acima a imagem FLIM de $50\mu\text{m}$ antes do annealing, por baixo de imagem de $50\mu\text{m}$	

depois do annealing e à direita de cada imagem temos a sua distribuição do tempo de vida em cores. ....	46
<b>Figura 4.12</b> Imagem de FLIM da amostra de h-BN depois do annealing. A direita imagem de tempo de vida de fluorescência, a esquerda imagem de intensidade de fluorescência e ao lado sua distribuição do tempo de vida em cores.....	47
<b>Figura 4.13</b> Perfil experimental do decaimento de fluorescência do spot representativo da amostra antes do annealing por cima, e outro spot representativo da amostra depois do annealing por baixo. ....	48
<b>Figura 4.14</b> Perfil de decaimento de fluorescência do tempo de aquisição 1333.2s da figura 4.13 depois do annealing.....	49
<b>Figura 4.15</b> Perfil do decaimento de fluorescência após o annealing ajustado a equação (4.2).	49

## Acrónimos

FLIM – *Fluorescence lifetime imaging microscopy*

TCSPC - *Time-Correlated Single Photon Counting*

s - Segundo

ns – nanosegundos

ps – Picosegundos

fs – femtosegundos

CFD – *Constant-fraction discriminators*

TAC – *Time to amplitude Converter*

PGA – *Programmable gain amplifier*

ADC – *Analog digital converter*

Ti: Sa - *titanium-sapphire*

IRF – *Instrument response function*

EM – *Electron Multiplying*

PMT – *Photomultiplier tubes*

PMMA – *Polymethyl methacrylate*

## Índice

1	Introdução .....	1
1.1	Breves considerações sobre cristais 2D .....	2
1.2	Estrutura da Tese .....	4
2	Fundamentos .....	5
2.1	Materiais 2D e Heteroestruturas .....	6
2.1.1	Nitreto de Boro Hexagonal .....	7
2.2	Interação radiação Matéria .....	9
2.3	Fluorescência .....	14
2.3.1	Fluorescência resolvida no tempo: fluorimetria por pulso .....	14
2.4	Espectroscopia por defeito em h-BN .....	16
2.4.1	Defeitos em Nitreto de Boro Hexagonal .....	16
3	Secção experimental.....	19
3.1	Síntese.....	20
3.2	Instrumentação .....	20
3.2.1	Laser .....	21
3.2.2	Fibra fotónica.....	23
3.2.3	Contagem de fótons singulares correlacionados no tempo (TCSPC) .....	24
3.2.4	Microscopia FLIM.....	28
3.2.5	Fluorescência Resolvida no tempo.....	32
4	Resultados e discussão.....	35
4.1	Annealing.....	46
5	Conclusão .....	52
6	Bibliografia .....	56

# 1 Introdução

---

## 1.1 Breves considerações sobre cristais 2D

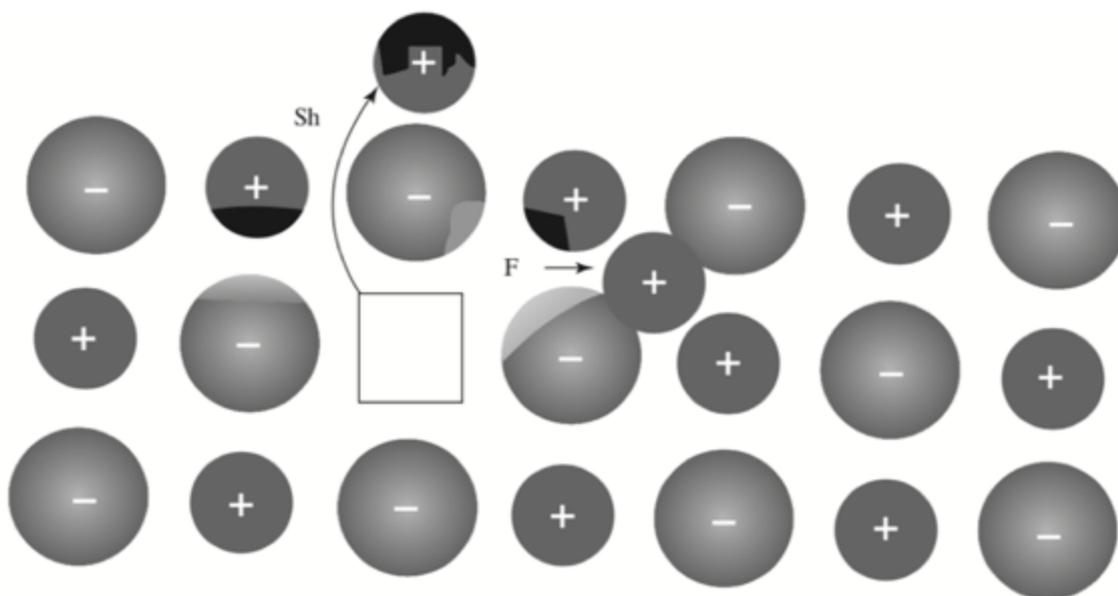
A busca pela compreensão das estruturas e propriedades dos materiais de forma cristalina e em camadas de duas dimensões (2D) levou a descoberta de materiais cujas propriedades fascinam e têm revolucionando o desenvolvimento de novas tecnologias. O grafeno foi o primeiro material 2D descoberto [1]. É a estrutura básica de outros alótropos do carbono, como a grafite (3D), nanotubos de carbono (1D) e fulerenos (0D). É constituído por folhas de carbono, de espessura atômica e estrutura hexagonal. Desde que foi descoberto, isolado e caracterizado em 2004 é considerado um material com propriedades promissoras para aplicações em componentes eletrônicos, biossensores, transferência de calor, baterias e compósitos avançados [2]. É o material em monocamada mais resistente conhecido, é ainda o material mais condutivo para a sua espessura e possui um elevado coeficiente de absorção (2.3%) da luz [3]. Pode ser utilizado para aplicações como condutor transparente, além disso possui muitas propriedades extraordinárias, incluindo excelente desempenho mecânico, excelente condutividade térmica e alta estabilidade química o que permite uma ampla aplicação em vários campos, como engenharia biológica, eletrônica, em materiais compósitos muito leves e fortes, energia fotovoltaica e armazenamento de energia.

Com o avanço de estudos na área da física do estado sólido, além do grafeno, foi possível a descoberta de outras estruturas de materiais 2D em que suas propriedades têm incentivado pesquisas avançadas, o que permite o crescimento da família de cristais 2D incluindo metais, semicondutores, e isolantes como por exemplo o nitreto de boro hexagonal (h-BN). Com características estruturais que o assemelham ao grafeno, o h-BN é isoelétrico com o grafeno mas tem no entanto uma larga banda de energia proibida [2]. Tal como a grafite, o nitreto de boro hexagonal existe como material composto de muitas camadas atômicas de h-BN e encontra uso como lubrificante e como material refratário. Devido à elevada dureza também se usa em ferramentas industriais, sendo a sua utilização apenas limitada por uma relativamente baixa temperatura de oxidação (430 °C)[4]

Estudos avançados sobre as características das redes periódicas de materiais 2D mostram as diversidades entre as estruturas topológicas de diferentes materiais, mostrando desvios na rede periódica que formam imperfeição [5].

De algum modo, as estruturas cristalinas 2D apresentam imperfeições. Para alguns materiais a natureza dessas imperfeições são bem compreendidas, enquanto que para outros a sua natureza ainda levanta debate [5].

Associando a presença de imperfeições quânticas as propriedades dos materiais hospedeiros dessas imperfeições, muitas propriedades importantes são manifestadas. Por exemplo, a condutividade de alguns semicondutores, as cores de muitos cristais, a luminescência de alguns materiais, são consequência da presença de imperfeições na rede periódica. Com a descoberta dos defeitos de Frenkel e de Schottky em 1925 e 1936 (figura 1.1). Uma grande porta se abriu para a compreensão e estudos aprofundados das propriedades desses defeitos [5]



**Figura 1.1** Defeitos de Schottky (Sh) e de Frenkel (F) em um cristal iônico. As setas indicam o deslocamento de íons. O defeito de Schottky consiste em lacunas criadas quando um átomo ou íon é tirado de um sítio cristalino interno para um sítio cristalino situado na superfície do cristal. E o defeito de Frenkel também é um defeito associado a lacunas no qual um átomo ou íon é transferido de um sítio da rede cristalina para uma região intersticial, ou seja, uma posição que normalmente não é ocupada por um átomo [5].

As pesquisas mostraram que esses defeitos podem funcionar como centros de cor. O desafio atual foca-se em estudos relacionados à emissão de fótons em cristais cuja rede periódica hospeda defeitos pontuais.

## 1.2 Estrutura da Tese

O presente trabalho está constituído por cinco capítulos.

No capítulo 1 faz-se a introdução da tese e apresenta-se as abordagens dos restantes capítulos.

No capítulo 2 apresenta-se os Fundamentos onde abordou-se os principais conceitos que sustentam o estudo que se propõe, tais como, materiais 2D, nitreto de boro hexagonal, interação radiação-matéria, fluorescência, fluorescência resolvida no tempo, Espectroscopia de defeitos, defeitos em nitreto de boro hexagonal.

O capítulo 3 é dedicado a Secção experimental onde descreveu-se a técnica experimental usada para excitação da amostra e a instrumentação para detecção da emissão de fluorescência, apresentamos também todo aparato instrumental usado durante a tese tais como a fonte de laser, instrumentação para obtenção do comprimento de onda para excitação e a instrumentação para microscopia de tempo de vida de fluorescência (*Fluorescence Lifetime Imaging*) baseada na técnica TCSPC (*Time Correlated single Photon Counting*) bem como seus respetivos softwares de análise.

O Capítulo 4 Resultados e discussões, destina-se a análise e discussão sobre os resultados obtidos.

Por último, o capítulo 5 o qual chamamos de Conclusão, apresentamos uma breve discussão sobre as ilações tiradas a partir dos resultados obtidos na investigação.

## 2 Fundamentos

---

## 2.1 Materiais 2D e Heteroestruturas

Com o advento de pesquisas com o grafeno na última década, despertou-se interesse em uma ampla variedade de materiais bidimensionais formado por camadas de diferentes materiais com propriedades distintas. O grafeno apesar de possuir certas propriedades que o distinguem de outros materiais bidimensionais, apresenta pequenas debilidades que são melhoradas quando combinado com outros materiais 2D como uma melhor mobilidade alcançada quando encapsulado com h-BN [1].

Por outro lado, existem outras famílias de materiais 2D, tais como: condutores, semicondutores com diferentes hiatos de energia proibida (*bandgap*) e isolantes como por exemplo o nitreto de boro (BN).

Esses diferentes materiais bidimensionais com diferentes propriedades podem ser integrados de forma heterogênea numa escala atômica criando novas estruturas que exibem propriedades novas com funcionalidades interessantes e únicas que não se podia alcançar anteriormente [1].

Os materiais 2D proporcionam-nos ponto de partida para gerar hétero estruturas que apresentam propriedades distintas.

As pesquisas sobre os materiais 2D possibilitaram a criação de uma variedade de família de materiais como cristais de um átomo de espessura com várias propriedades. O primeiro material incluído na família de materiais 2D foi o grafeno que é um semimetal de *bandgap* zero.

Atualmente, a família de matérias 2D inclui metais, semicondutores e isolantes como o nitreto de boro hexagonal. Estudos mostram que as propriedades dos materiais 2D diferem muito das suas estruturas 3D, demonstrando assim propriedades físicas interessantes e possibilitando uma gama de aplicações diferentes [1], [6].

Uma infinidade de oportunidade aparece quando diferentes cristais são combinados empilhados de forma vertical, reunidos pela força de Van der Waals. A combinação vertical de materiais 2D para formar heteroestruturas possibilitou a observação de fenômenos interessantes como por exemplo a observação do espectro borboleta de Hofstadter (do inglês *Hofstadter butterfly*), em um dispositivo de grafeno fabricado sobre um substrato de nitreto de boro.

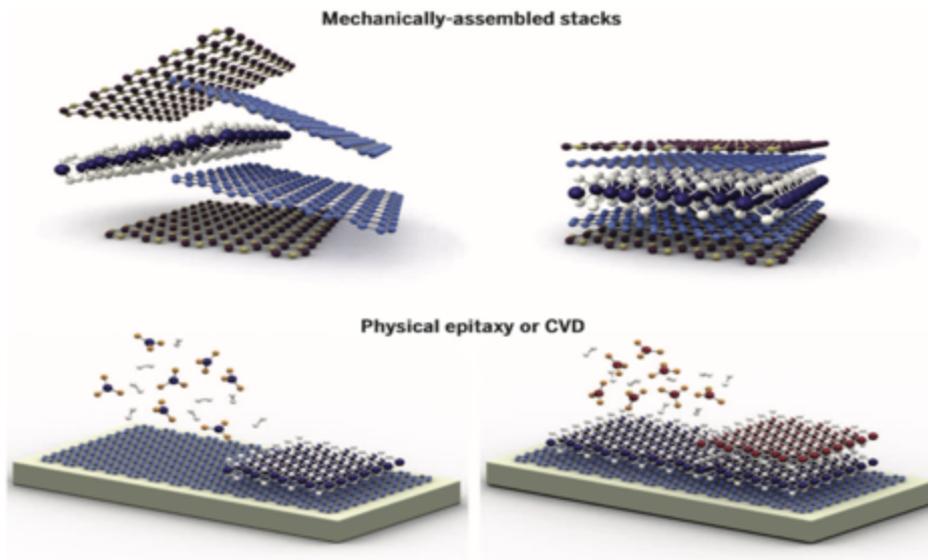


Figura 2.1 Empilhamento de materiais 2D formando heteroestruturas [1].

### 2.1.1 Nitreto de Boro Hexagonal

O Nitreto de Boro hexagonal (h-BN) é um material que possui uma estrutura planar em favo de mel, cristalina e estável formadas por átomos de boro e azoto que normalmente se empilham em camadas. Os átomos de boro e azoto encontram-se fortemente ligados no plano de forma covalente e as camadas são mantidas juntas por ligações fracas de Van der Waals.

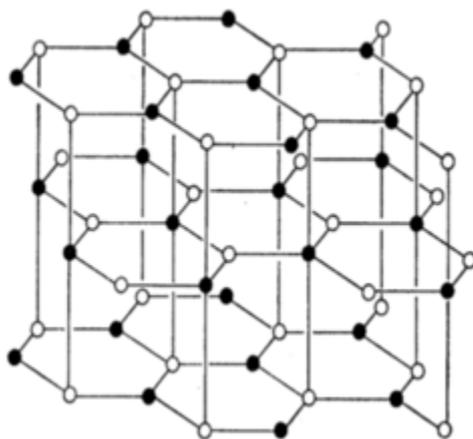
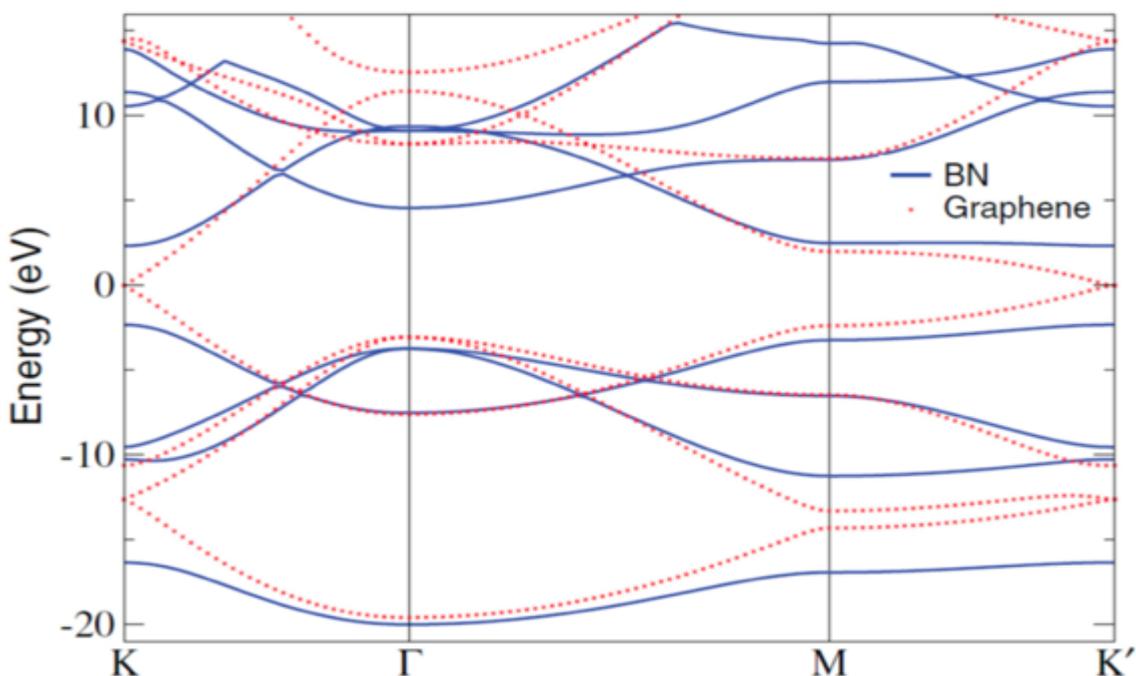


Figura 2.2 Estrutura cristalina do h-BN.

O h-BN é frequentemente tratado como isolador por causa da sua banda de *gap* de 5,9eV e frequentemente usada como dielétrico em dispositivos elétricos [7], [8].

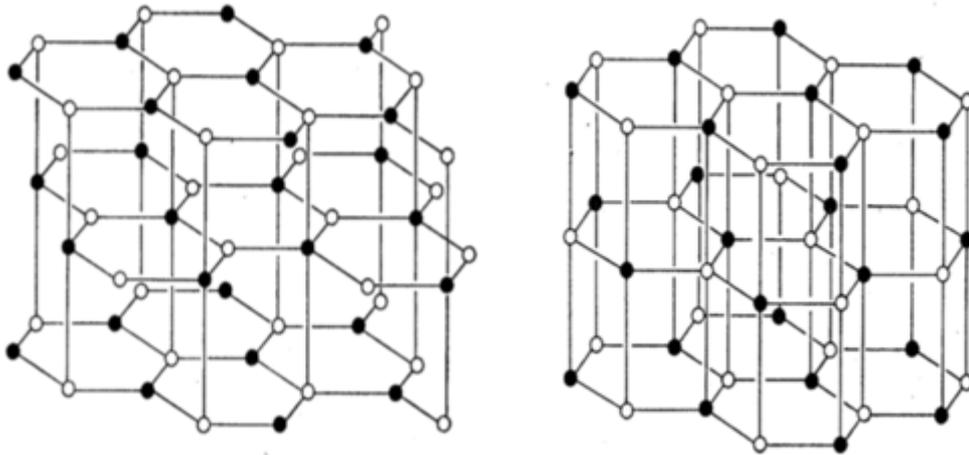
Em uma comparação entre as estruturas de bandas do nitreto de boro e do grafeno (figura 2.3), é possível notar que a estrutura de bandas dos dois materiais é bastante parecida, exceto pela região dos pontos K e K' onde ao contrário do grafeno, o nitreto de boro apresenta uma larga banda de energia proibida que como consequência o torna isolador e transparente.[9]



**Figura 2.3** Estrutura eletrônica da energia de banda do BN com *bandgap* igual a 5,9eV em comparação com a do grafeno *bandgap* igual a 0eV.

Um dos processos de sintetização do h-BN passa pelo método de deposição química de vapor (CVD) [10].

Tal como o grafeno, o h-BN contém duas bordas com terminações diferentes, uma em zig-zag e outra em formato *armchair*. Segundo as investigações de Hassel e Brager e mais recente por Pease, [11] mostraram que células unitárias hexagonais do nitreto de boro são bimoleculares e as estruturas consistem em camadas planas hexagonais. Semelhante ao grafite [12], com camadas com ligações  $sp^2$ .



**Figura 2.4** Esquema mostrando a comparação da estrutura cristalina da grafite a direita, e a esquerda do h-BN [11].

O Nitreto de Boro hexagonal apresenta propriedades interessantes como boa resistência mecânica, resistência a manipulação química e também possui uma larga banda de energia proibida que como consequência o torna opticamente transparente. [7] [13]. Como resultado da sua forte ligação covalente, o h-BN possui alta estabilidade térmica até aproximadamente 2600°C em contraste ao seu isolamento elétrico possui alta condutividade térmica.

## 2.2 Interação radiação Matéria

O contributo de Niels Bohr ao estabelecer que átomos e moléculas só podem ter níveis de energia discretos separados por quantas de energia [14], tornou-se fundamental para o desenvolvimento da mecânica quântica que conhecemos. A partir dessas ideias desenvolveram-se conceitos relacionados à interação entre a matéria e a radiação eletromagnética em um meio material como:

- Um átomo possui níveis discretos de energia;
- A emissão da luz em um meio, quer seja espontânea ou estimulada, só ocorre se houver transição entre níveis eletrônicos;

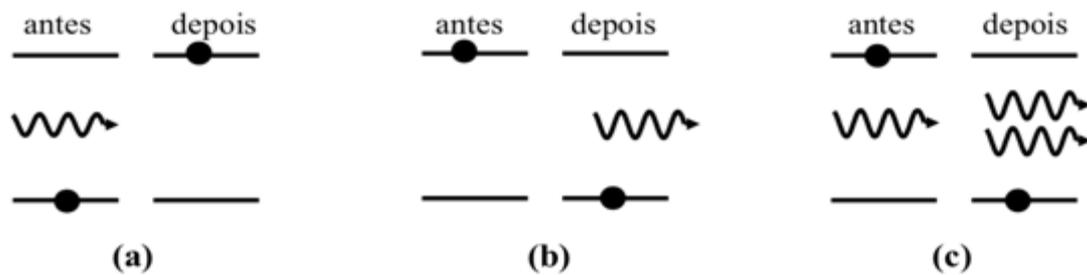


Figura 2.5 (a) absorção, (b) emissão espontânea (c) emissão estimulada [14].

Na natureza é comum a manifestação de fenômenos que envolvem a interação entre a radiação e a matéria. A radiação, é caracterizada por uma onda eletromagnética que transporta uma certa quantidade de energia, e esta, por sua vez em determinadas condições pode ser transferida para um meio material quando essa onda interagir com a matéria. Segundo Louis de Broglie (1892 – 1987) em sua tese de doutoramento, apresentou a hipótese de que toda a matéria apresenta um comportamento dual, ou seja, dependendo da experiência em causa, a matéria pode apresentar um comportamento corpuscular ou ondulatório. De Broglie apresentou esse postulado partindo das ideias de Albert Einstein (1879 – 1955) sobre a natureza corpuscular da luz. Para Einstein a luz possui uma energia que é quantificada em pequenos pacotes de energia chamados de quanta de luz e depois veio a chamar-se fóton. Einstein apresentou dessa forma a ideia de que em determinados processos a onda eletromagnética apresentava um comportamento corpuscular.

O fóton é a partícula que dá corpo à natureza corpuscular da radiação e a sua energia ( $E$ ) mostra o carácter dual da radiação ao ser dada por:

$$E = h\nu \quad (2.1)$$

Onde  $h$  é a constante de Planck ( $h = 6,62607015 \times 10^{-34} \text{ J.s}$ ) e  $\nu$  é a frequência da radiação que por sua vez é dada por:

$$\nu = \frac{c}{\lambda} \quad (2.2)$$

Onde  $c$  é a velocidade da luz no vácuo ( $299792458 \text{ m/s}$ ) e  $\lambda$  é o comprimento de onda da radiação eletromagnética.

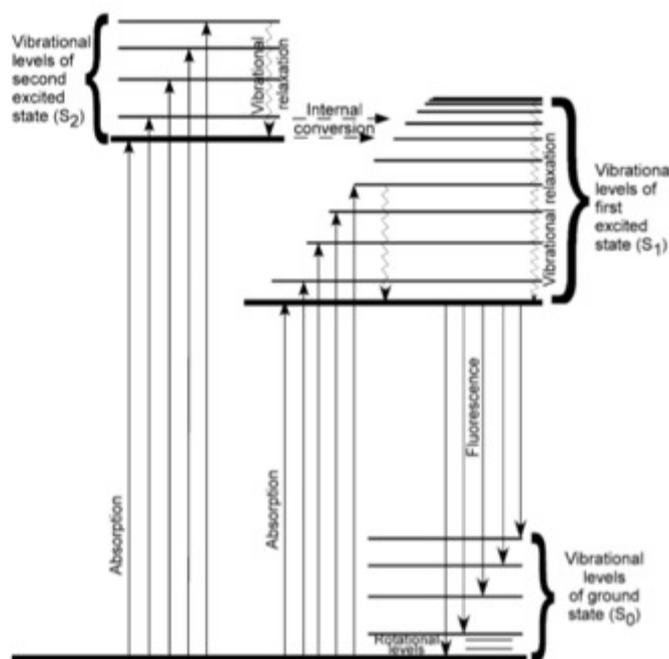
Assim, podemos escrever a equação da energia do fóton da seguinte forma.

$$E = h \frac{c}{\lambda} \quad (2.3)$$

Podemos ver pela equação que a energia do fóton depende unicamente da frequência ( $\lambda$ ) da radiação e não da intensidade da fonte que emite a radiação.

Conforme abordado, o fóton é o elemento que caracteriza a interação entre a radiação e um meio material, com isso pretende-se dizer que a matéria emite e absorve a radiação em forma de fótons.

De acordo com a mecânica quântica o espectro de energia de um átomo ou molécula é composto por níveis de energia específicos tendo em conta a composição e estrutura da matéria em causa. Sendo assim, um elétron será apenas promovido do estado fundamental ( $S_0$ ) para um estado superior ( $S_1$ ) se lhe for fornecido um fóton com uma quantidade de energia igual à diferença de energia entre esses dois estados [15].



**Figura 2.6** Diagrama de Perrin Jablonski mostrando os níveis de energia e transições envolvidas entre absorção e emissão (que no caso específico trata-se de emissão de fluorescência) [15].

Os níveis de energia do estado fundamental e excitados em uma molécula podem ser descritos um diagrama de Perrin -Jablonski, conforme mostra a figura 2.6. Antes de qualquer interação com a radiação, o sistema se encontra no nível mais baixo do estado fundamental ( $S_0$ ). Após a absorção de um fóton o elétron é excitado do estado ( $S_0$ ). Esse fenómeno acontece numa escala temporal de  $10^{-15}$ s [15] [19], (ver figura 2.7). Pela conservação da energia, o excesso de

energia do elétron excitado, deve ser exatamente igual a energia do fóton absorvido. Desse modo, o processo de excitação pode levar o elétron para níveis superiores dos níveis do primeiro estado excitado ( $S_1$ ). Dependendo da energia do fóton absorvido pela excitação, um elétron pode ser excitado para o estado ( $S_1$ ) ou ( $S_2$ ).

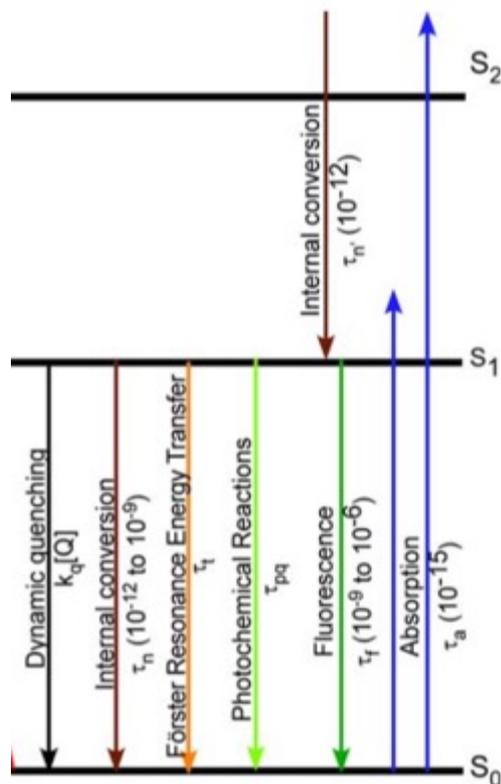


Figura 2.7 Valores típicos se transições entre estados [15]-[19]

Se o elétron for excitado para o estado ( $S_2$ ) acontecerá uma rápida conversão interna dos níveis de energia do estado ( $S_2$ ) para os níveis mais altos do estado ( $S_1$ ) durante um tempo da ordem dos  $10^{-12}$ s e na mesma ordem de tempo, esse elétron passará para os níveis mais baixos do estado ( $S_1$ ). A partir do nível mais baixo do estado ( $S_1$ ) o elétron cairá do estado excitado para o estado fundamental ( $S_0$ ) e como consequência emitirá um fóton de fluorescência como mostra a figura 2.6. A emissão do fóton de fluorescência quer dizer que o elétron caiu do nível mais baixo do estado excitado ( $S_1$ ) para um dos níveis do estado fundamental ( $S_0$ ) emitindo assim num amplo espectro de fluorescência, em que a energia do fóton de fluorescência emitido, será igual a diferença de energia entre os estados.

$$h \frac{c}{\lambda} = E_1 - E_0 \tag{2.4}$$

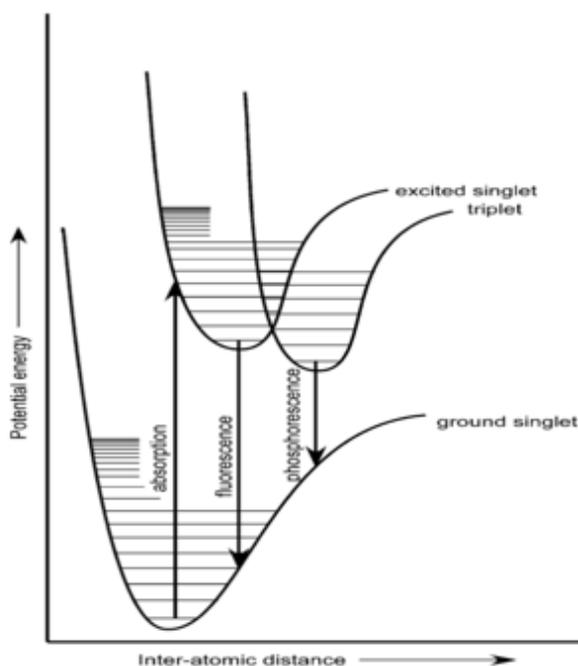
De acordo com a equação 2.5

$$\tau_f = \frac{1}{k_f + k_{nr}} \quad (2.5)$$

O tempo médio que uma molécula passa no estado excitado singlete ( $S_1$ ) representa o tempo de vida da fluorescência,  $\tau_f$ , em que  $k_f$  e  $k_{nr}$  são constantes radiativas e não radiativas respetivamente. O tempo de vida da fluorescência de uma população de fluoróforos pode ser descrito como um decréscimo em função do tempo, do número de fluoróforos excitados na sequência de uma excitação ótica por pulso de luz curto de acordo com a equação (2.6).

$$\frac{d[F(t)^*]}{dt} = -(k_f + k_{nr})[F(t)^*] \quad (2.6)$$

Onde o número de fluoróforos excitados  $[F(t)^*]$  é proporcional a intensidade da fluorescência da amostra em função do tempo produzindo o decaimento mono exponencial.



**Figura 2.8** Diagrama de energia potencial mostrando as transições envolvidas na absorção, fluorescência e fosforescência e cruzamento entre sistemas entre o estado de singleto excitado [15]-[19].

## 2.3 Fluorescência

Pelo que podemos notar, segundo o diagrama de Perrin-Jablonski (figura 2.6), a fluorescência é um processo pelo qual um átomo ou molécula emite luz como consequência da relaxação do estado excitado para o estado fundamental depois de absorção de um fóton de excitação de um certo comprimento de onda.

Como consequência da transição da linha do fonão zero ser normalmente a mesma para o processo absorção e emissão de fluorescência [16], (figura 2.14), a emissão de fluorescência é localizada em comprimentos de onda maiores que a excitação, pela perda de energia no estado excitado por causa da relaxação vibracional. De acordo com a regra de Stokes, o comprimento de onda de emissão de fluorescência deve ser sempre maior que o da absorção.

### 2.3.1 Fluorescência resolvida no tempo: fluorimetria por pulso

Além da fluorimetria por pulso, a fluorescência resolvida no tempo também inclui uma outra técnica que é a fluorimetria por modulação [16].

Somente será abordada a fluorimetria por pulso, pois essa é a técnica usada neste trabalho (figura 2.9).

Comummente usada para conhecer o tempo de vida de uma amostra fluorescente, a fluorimetria por pulso consiste em excitar uma amostra fluorescente com um pulso de luz curto e a resposta da fluorescência é apresentada como um decaimento exponencial em função do tempo [16].

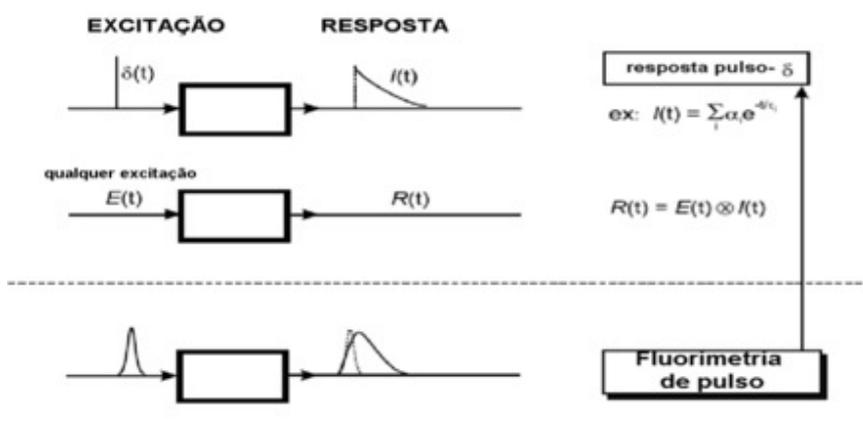
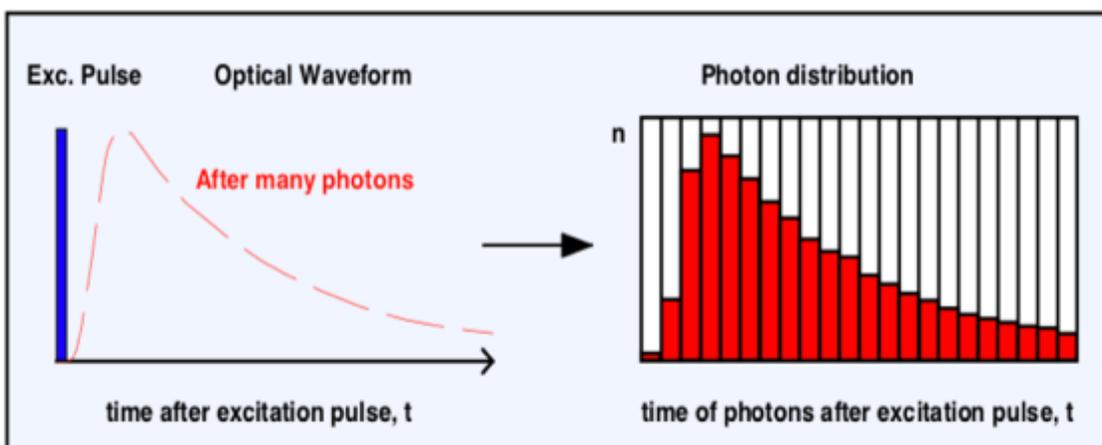


Figura 2.9 Esquema ilustrando o princípio da fluorescência resolvida no tempo, para a técnica de fluorimetria por pulso [16].



**Figura 2.10** Princípio da medição do tempo de vida no domínio do tempo. A amostra é excitada com um pulso curto de luz, após o qual a fluorescência emitida é medida resolvida no tempo [17].

Na medição da vida útil da fluorescência no domínio temporal é dado um curto pulso de luz de excitação. Esse pulso de luz é curto relativamente ao tempo de vida da fluorescência. Depois desse pulso, a fluorescência é emitida dando lugar a uma medição resolvida no tempo, o que resulta numa curva de decaimento de fluorescência.

A técnica de medição de tempos de vida da fluorescência é feita usando o método de contagem de fótons resolvido no tempo [18] [16]. O tempo de chegada do fóton de fluorescência ao detetor após cada pulso de excitação é monitorado em alta resolução temporal. Quando é registado o tempo de chegada de um considerável número de fótons, obtém-se uma representação da curva de decaimento do tempo de vida da fluorescência.

No caso simples de um decaimento mono exponencial em que a duração do pulso seja muito menor que o tempo de vida da fluorescência o decaimento da intensidade da fluorescência  $I(t)$  pode ser escrito por:

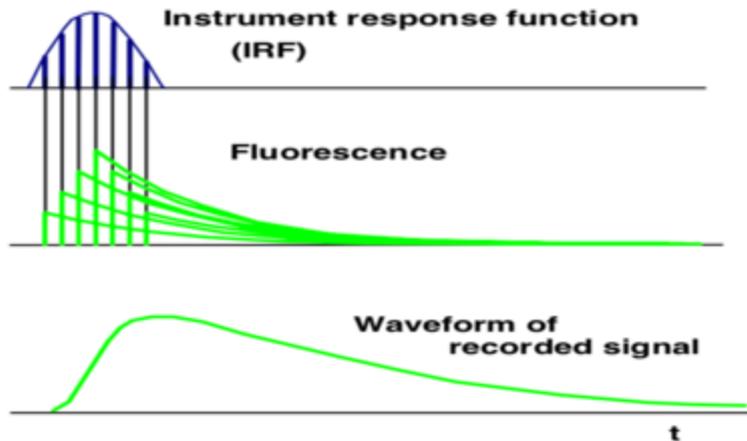
$$I(t) = I_0 \cdot e^{\left(\frac{-t}{\tau}\right)} \quad (2.9)$$

Onde  $I_0$  é a intensidade da fluorescência logo após ao pulso e  $\tau$  é o tempo de vida do estado excitado.

Mesmo que o pulso do laser seja suficientemente curto (0.1ps), temos uma fibra fotónica que prolonga o pulso do laser para alguns picossegundos, o cartão *Becker & Hickel* com 8ps de resolução e um PMT com mais 100ps de resolução. Deste modo o sinal do decaimento obtido, é uma convolução da função de decaimento de fluorescência com a resposta do instrumento (IRF) dado por:

$$D(t) = \int_0^t IRF(t')F(t-t')dt \quad (2.10)$$

Onde  $D(t)$  é o sinal experimental e  $F(t)$  é o parâmetro do decaimento de fluorescência



**Figura 2.11** Convolução do decaimento de fluorescência com o IRF. Onde IRF é a função que o sistema FLIM gravaria se detetasse diretamente o pulso de laser [17].

Para separar o IRF do sinal real de decaimento é necessário fazer uma deconvolução do sinal medido.

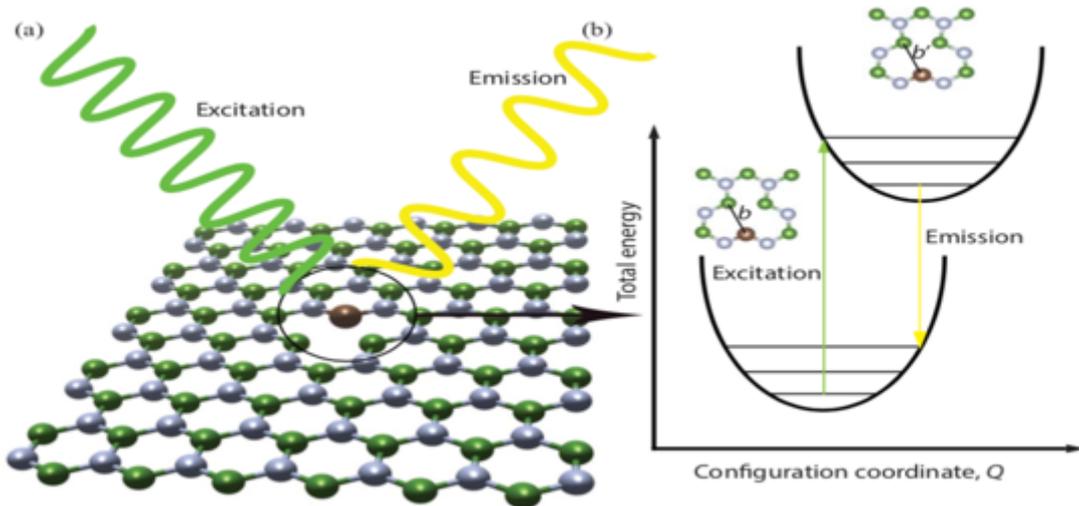
## 2.4 Espectroscopia por defeito em h-BN

### 2.4.1 Defeitos em Nitreto de Boro Hexagonal

Em materiais cujas bandas de energia proibida são largas, os defeitos em suas estruturas são pouco compreendidos, como é o caso do h-BN. Esses defeitos em h-BN apresentam, normalmente, comportamento não clássico e funcionam como fonte de emissão de um único fóton. As origens destes defeitos embora muito se estude a respeito, ainda permanecem em debate. Alguns registos sugerem que esses defeitos se devem a presença de azoto (N), carbono (C) e lacuna na rede atômica do boro (B) [19], [20].

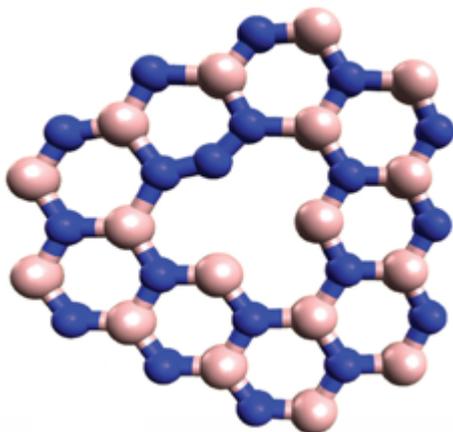
De certa forma, os defeitos em estruturas de h-BN estarão relacionados com as impurezas mais prováveis durante o crescimento e o processamento do h-BN. Durante o processo de crescimento do h-BN o carbono e o oxigênio são incorporados no h-BN, e por outro lado durante o processo de *annealing* do h-BN para a formação do emissor, dá-se o caso do h-BN estando num substrato de silício, átomos de silício podem ser induzidos ao h-BN [17].

A figura 2.12 mostra uma rede hexagonal de nitreto de boro com defeito que consiste em um anti-sítio de carbono ( $C_B V_N$ ) [19]



**Figura 2.12** (a) esquema do processo de fotoluminescência, em que o defeito é excitado com uma luz verde (495–570nm), e emite na faixa do amarelo (570–590nm) (b) Esquema do diagrama de coordenadas de configuração unidimensional, exibindo a energia total como uma função da coordenada de configuração  $Q$  para as estruturas do estado de excitação (superior) e do estado de fundamental [19]

De entre os candidatos identificados para defeito em h-BN, o candidato mais provável para a emissão ótica é o  $N_B V_N$  [8], [21], que consiste em um anti sítio em que o azoto ocupa um sítio do Boro e o sítio do azoto é deixado vago [22], como se pode ver na figura 2.13.



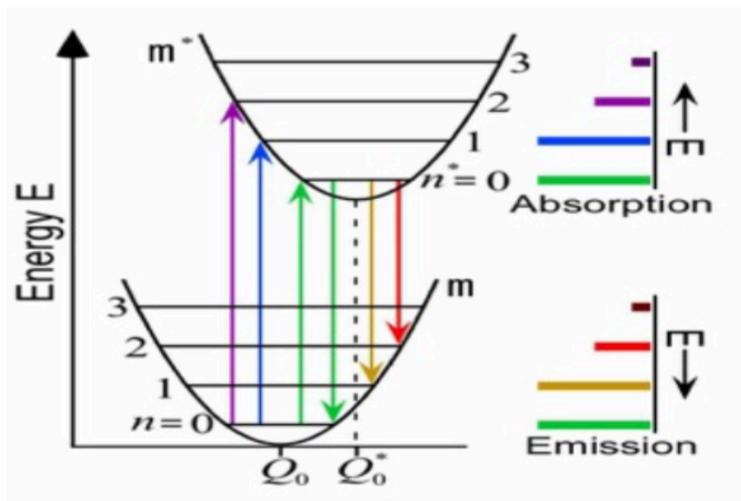
**Figura 2.13** Estrutura molecular de um defeito do tipo o  $N_B V_N$  em uma rede de h-BN [8]

Hoje em dia, há muitos exemplos para emissores de fótons singulares como o caso do diamante que é visto como um material com emissão de fótons singulares a partir de defeitos. Nos últimos anos, descobriu-se fontes de fótons singulares que podem ser emitidos por defeitos

em estruturas bidimensionais, quer na forma de monocamadas ou em heteroestruturas como por exemplo no nitreto de boro hexagonal.

O h-BN, pela sua larga banda de energia proibida (5,9eV) que corresponde a uma excitação com uma de absorção de comprimento de onda eletromagnético cerca de 210nm [23], tratado como isolante, tem a capacidade de hospedar defeitos que exibem propriedades que têm sido foco de investigação. Esses defeitos da estrutura hexagonal do nitreto de boro apresentam características óticas com a capacidade de exibir emissão luminosa a temperatura ambiente. A emissão de fótons por defeito numa estrutura do h-BN, pode ser ultra brilhante e permanecer estável até aos 800K [24], [25]. O foco principal é, atualmente, caracterizar as fontes do fenómeno de emissão em h-BN

A descrição da absorção e emissão por defeitos é apresentada no diagrama de energia versus coordenadas de configuração, ou nucleares, como se pode ver na figura 2.14



**Figura 2.14** Ilustração dos mecanismos de fluorescência. Na figura, está representado o processo de emissão do fóton de fluorescência quando o elétron retorna do estado excitado  $S_1$  para o estado fundamental  $S_0$ . [25]

O eixo horizontal  $Q$  corresponde às coordenadas configuracionais nucleares e o eixo vertical representa a energia total da rede com defeito.

As transições electrónicas entre estados de energia definida representados no diagrama de configuração de coordenadas da figura 2.14, fornecem o mecanismo fundamental para explicação do processo de absorção e emissão por defeitos pontuais[25].

## 3 Secção experimental

---

### 3.1 Síntese

O h-BN usado na pesquisa foi obtido por deposição química vapor (CVD) sobre um catalisador de folha de cobre, e depois transferido para um substrato de quartzo usando uma de duas técnicas. Na primeira técnica de transferência do cobre ao substrato de quartzo usou-se *gel-film*. Esta técnica consiste em anexar o *gel-film* sobre o substrato de cobre, cobrindo a parte em que está depositado o h-BN com boa qualidade. Durante esse processo deve-se ter cuidado de remover pequenas bolhas de ar que se podem formar entre a interface do cobre e do *gel-film*. Estando o *gel-film* bem anexado ao cobre, ambos são colocados em tratamento térmico a 70°C durante 2h sob pressão de uma massa de 2,3kg. Depois de duas horas o cobre é removido e o h-BN fica anexado ao gel-fim estando disponível para ser transferido ao substrato de quartzo. O Processo de remoção do cobre foi feito por meio de uma diluição do cobre durante duas horas em uma solução em que foi dissolvida 0,02mol de  $(\text{NH}_4)_2 \text{S}_2\text{O}_8$  em 25 ml de  $\text{H}_2\text{O}$ . Em seguida, o *gel-film* contendo h-BN é colocado sobre o novo substrato de quartzo pelo mesmo processo de tratamento térmico durante duas horas. Passando as duas horas o gel-fim é removido do quartzo, finalmente deposita-se o h-BN ao substrato de quartzo. Recorreu-se a outra amostra previamente transferidas usando um substrato polimérico que dissolve depois da transferência (poli-metil-metacrilato, PMMA). Foi usada para a investigação uma amostra que consiste em multicamadas de h-BN transferida em um substrato de quartzo.

### 3.2 Instrumentação

A instrumentação usada para o estudo de emissão de fótons por defeitos atômicos consiste num sistema que vai desde uma fonte de laser pulsado para excitação da amostra até um sistema que funciona como microscopia de fluorescência. Sendo assim, tendo em conta o objetivo da investigação que é focada em estudar a emissão de fótons a partir de defeito em uma rede de nitreto de boro hexagonal, a instrumentação foi montada de maneira a se aproximar da melhor forma possível a instrumentação para o experimento de microscopia a laser, a fim de poder produzir a fluorescência e conseqüentemente poder criar a imagem (FLIM) da amostra analisada a partir dos dados adquiridos, conforme apresentado no esquema abaixo.



Figura 3.1 Esquema da instrumentação geral usada para o experimento

### 3.2.1 Laser

Para a resolução de tempos de vida curtos é necessário que a fonte de laser pulsado emita pulsos ultrarrápidos da ordem dos femtossegundos. Para a geração desses pulsos da ordem dos femtossegundos é usada a técnica *mode-locking*. O *mode-locking* é alcançado inserindo um componente ótico não linear na cavidade do laser. Essa técnica consiste em selecionar alguns comprimentos de onda que se propagam pela cavidade ótica do laser, onde as respetivas fases estão fixadas de modo que em apenas um ponto da cavidade haja interferência construtiva.

No caso do laser Ti:Sa o *mode-locking* é alcançado devido a reflexão não linear do cristal Ti:Sa designada por autofocagem, que mantém a cavidade mais otimizada em comparação da operação CW (*continuous wave*). Para iniciar o efeito de o *mode-locking* é introduzida uma pequena perturbação no feixe do laser dentro da cavidade.

O sistema de laser usado como fonte de excitação, consiste num sistema de laser que usa como meio de ganho titânio: safia (Ti: Sa – Coherent Mira 900) que emite pulsos ultrarrápidos da ordem de 100 femtossegundos com a repetição de 76MHz, que usa uma bomba de laser de feixe contínuo do tipo Coherent Verdi

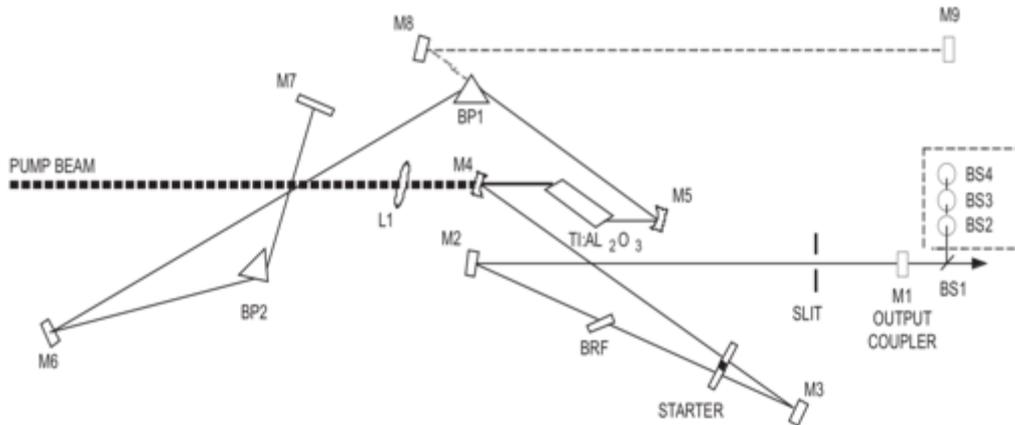


Figura 3.2 Esquema ótico do laser Ti: Sa – Coherent Mira 900 [26]

BP – Prisma de Brewster

BRF – Filtro birrefringente

BS – Divisor de feixe

L – Lente de foco

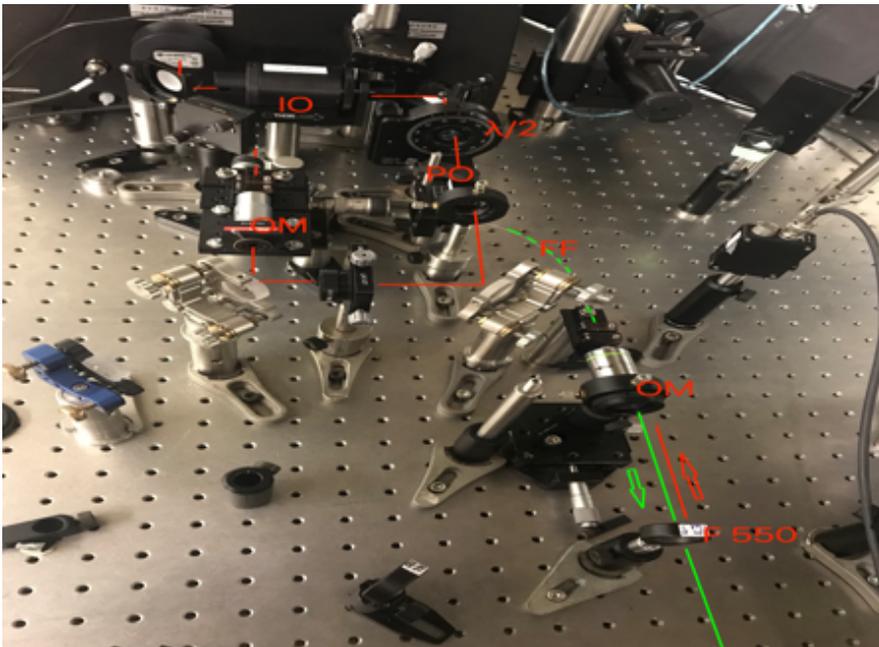
M – Espelho

TiAl<sub>2</sub>O<sub>3</sub> – Cristal de titânio: safira

Para o processo de excitação da amostra de h-BN foi usada a fonte de laser titânio- safira (Ti:Sa – Coherent Mira 900). O pulso de laser proveniente da fonte foi direcionado a um polarizador e em seguida a uma placa de meia onda orientada para transmitir 10% da luz do laser de maneira a regular a potência a 70mW para esta adequar-se a capacidade da fibra fotónica. A excitação da amostra foi feita com um feixe de comprimento de onda de 530nm. Este comprimento de onda, foi obtido por meio do bloqueio dos comprimentos de ondas maiores usando um filtro de interferência FESH0 550nm *shortpass* e um filtro *linos red*. Na figura 3.3 podemos ver o sistema usado para a obtenção dos parâmetros de potência e comprimento de onda do feixe de raio laser.

- Isolador ótico IO-5BB-800-HP
- Placa de meio comprimento de onda
- Polarizador orientado Glan laser polariser
- Fibra fotónica
- Objetivas Plan N 40X/0.65

- Filtro FESH0 550nm



**Figura 3.3** Instrumentação para obtenção do comprimento de onda para excitação. Sendo; IO: Isolador ótico;  $\lambda/2$ : Placa de meio comprimento de onda; PO: polarizador; OM: Objetiva microscópica; FF: Fibra fotónica; F550: Filtro de interferência de 550nm *shortpass*.

### 3.2.2 Fibra fotónica

Foi usada a fibra fotónica com o objetivo de obter o comprimento de onda necessário para a excitação. Como o laser tem uma emissão de 800nm e precisa-se de um comprimento de onda dentro da banda de absorção dos defeitos no h-BN, usa-se como recurso a fibra fotónica. Com a fibra é possível obter espectro de luz branca, a partir do qual selecionou-se o comprimento de 530nm usando o filtro de interferência 550nm *shortpass*. O filtro *linos red* foi usado para bloquear os restantes comprimentos de onda maiores que 530nm, obtendo assim apenas o comprimento de onda necessário para a excitação.



**Figura 3.4** Imagem do espectro da luz branca transmitida pela fibra fotónica

No decorrer das medições, a fibra apresentou danos na sua estrutura interna e como consequência a intensidade de saída do feixe que passa pela fibra foi afetada drasticamente baixando para  $355 \mu\text{W}$  de  $1 \text{ mW}$  de potência que se tem, quando a fibra está em boas condições.

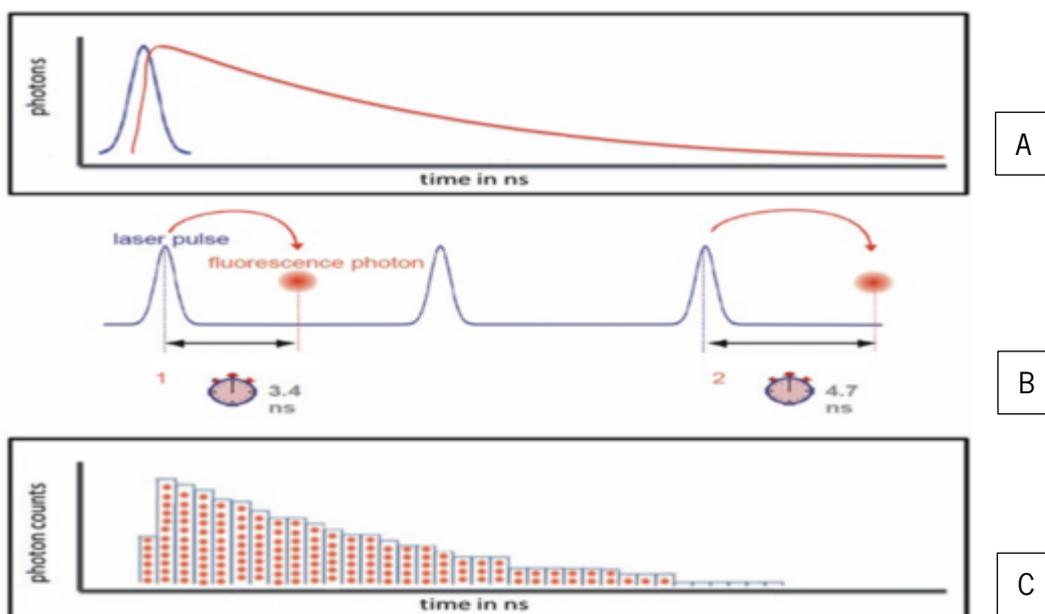
Para resolver a situação foi necessário fazer um corte transversal no lado da secção danificada da fibra para remover a parte danificada. Este procedimento foi realizado pelo grupo especialista da Universidade do Porto. Portanto, conseguiu-se obter de novo a fibra em boas condições para que se pudesse seguir com as experiências.

### **3.2.3 Contagem de fótons singulares correlacionados no tempo (TCSPC)**

Do Inglês *Time Correlated Single Photon Counting* (TCSPC), esta técnica consiste em medir decaimentos de fluorescência. Ela é baseada na deteção de fótons singulares de uma luz pulsada a uma frequência de  $76\text{MHz}$ , na medição do tempo de deteção desses fótons individuais e na construção da curva temporal de emissão de fluorescência. Essa medição é feita sobre a condição de que a probabilidade de detetar um único fóton deve ser menor que 1 a cada poucas centenas de pulso de laser.

Por razões estatísticas, é necessário garantir que não mais de um fóton por pulso seja detetado. Eventos de múltiplos fótons afetam a estatística do histograma e resultam em medições incorretas como consequência do acúmulo.

Muitos instrumentos são baseados no método de contagem de fótons singulares correlacionado com o tempo para a contagem de fótons, e nesse trabalho foi utilizado um instrumento cujo princípio é apresentado.



**Figura 3.5** Princípio do TCSPC: (A) Decaimento exponencial de fótons emitidos. (B) Ciclo de medição entre o pulso de excitação da luz do laser e a observação do fóton de fluorescência. A diferença entre a pulso do laser e o sinal do detetor é medida pela eletrônica que age como um cronómetro. (C) Os tempos de chegada são agrupados em caixas ("canais" ou "bins") com resolução de tempo de picossegundos e um histograma de sua distribuição é acumulado [27].

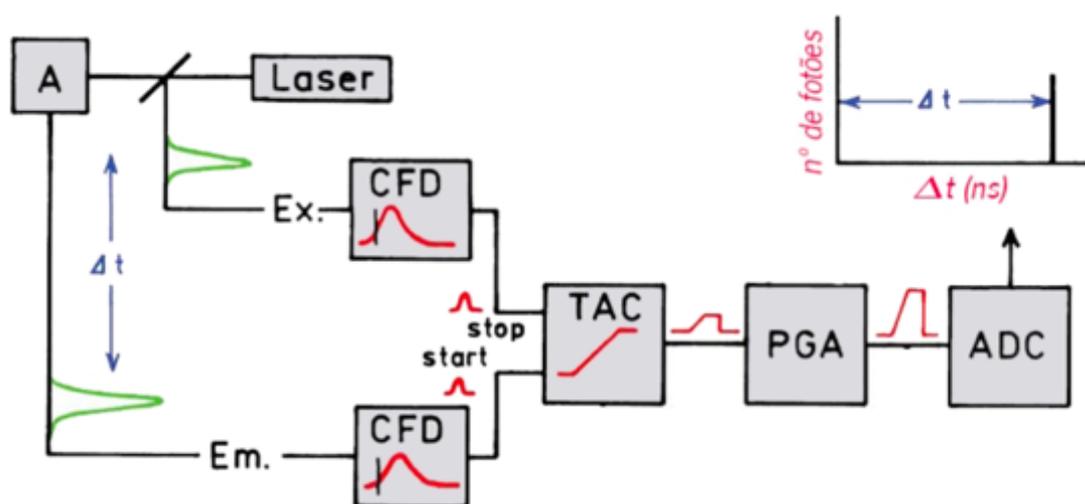
De princípio, na configuração clássica do TCSPC o tempo de detecção do fóton único de fluorescência, é dado pelo ciclo de medição entre o pulso de excitação da luz do laser e a observação do fóton de fluorescência, ver figura 3.5. Esse tempo é armazenado em um histograma. O ciclo de medição é feito por um sinal de partida e parada para iniciar e interromper a medição. Estes sinais controlam o disparo, a contagem e a temporização da medição. O sinal de partida é dado pelo pulso de excitação e o sinal de parada é dado pelo fóton de fluorescência.

Ao contrário da configuração clássica, usamos uma configuração revertida em que o sinal de partida para o início da medição é dado pelo fóton de fluorescência quando este chega ao detetor e inicia uma contagem temporal, enquanto que o sinal de excitação é atrasado durante

um intervalo de tempo previamente escolhido para que chegue ao cartão depois de um tempo suficientemente atrasado do sinal de excitação, tem a função de dar o sinal de parada.

Para adquirir uma imagem de tempo de vida de fluorescência, os fótons têm que ser atribuídos aos diferentes pixels, o que é feito armazenando os tempos de chegada absolutos dos fótons, adicionalmente ao tempo de chegada relativo em relação ao pulso de laser.

TCSPC permite obter decaimentos na ordem de algumas dezenas de picossegundos até centenas de microssegundos. Para levar a cabo uma experiência de TCSPC é necessário utilizar sistemas eletrónicos especializados, uma vez que os tempos medidos podem ser na ordem dos 120ps. Por este motivo a técnica TCSPC utiliza montagens do tipo apresentado na figura 3.6 que foi usada durante todo processo do trabalho que se apresenta para calcular o tempo de vida da fluorescência.

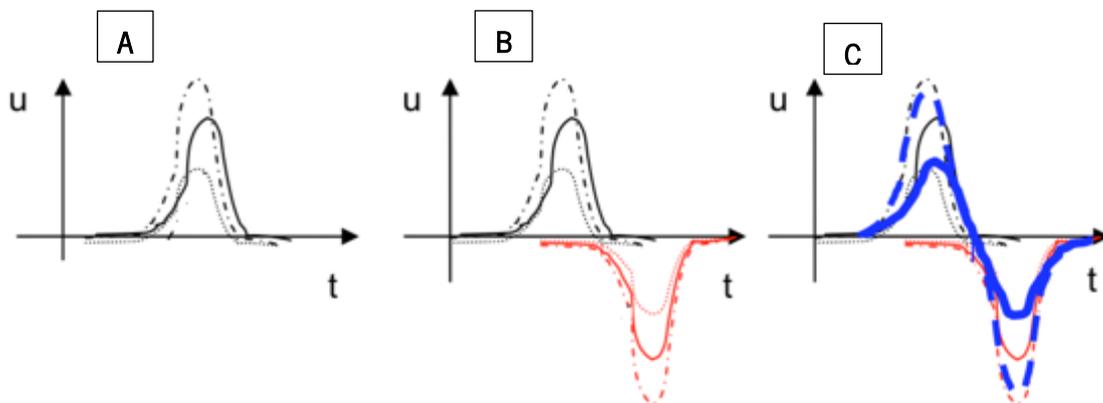


**Figura 3.6** Diagrama esquemático do circuito electrónico da placa TCSPC Becker & Hickl (bh SPC -150) na configuração revertida

Os fótons detetados individualmente são agrupados em um histograma em cada coluna desse histograma representa um canal temporal.

O fóton de fluorescência que é emitido pela amostra (A) é transformado num pulso eléctrico pelo fotomultiplicador, que é rapidamente processado pela eletrónica de rápida execução, que em seguida é convertido num sinal digital pelo *Analog digital converter* (ADC) para que seja gravado num histograma.

Quando o fóton atinge o fotocátodo do fotomultiplicador, uma avalanche de eletrões secundários formam-se dentro do tubo fotomultiplicador produzindo um pulso de corrente eléctrica (*start*). Esse pulso de corrente eléctrica consiste num sinal analógico, [17] que é enviado a um *constant-fraction discriminators* (CFD) que é usado para accionar os pulsos de PMT. O CFD dispara em uma fração constante da amplitude do pulso, evitando assim uma instabilidade temporária induzido pela altura do pulso. Os pulsos que saem do detetor podem ter alguma flutuação de amplitude ou desvio de amplitude. O uso de um CFD impede que essas flutuações causem instabilidade ou desvio de tempo



**Figura 3.7** Como exemplo da adição de desvio de fase do sinal de saída do PMT apresenta-se três pulsos diferentes. (A) pulso de chegada, (B) adição do deslocamento de fase invertida, (C) cruzamento zero da adição[28]

Como mostra a figura 3.7, a medição do tempo é iniciada após a deteção de um fóton pelo fotomultiplicador. Como existem amplitudes fortes e flutuações de fase na saída do fotomultiplicador, o CFD é usado para gerar o pulso inicial. Através de uma adição de desvio de fase do sinal de saída PMT negativo (invertido) e do sinal de saída PMT original, ele gera um sinal cujo cruzamento de zero é independente da amplitude e tremulação do sinal.

Tal como o sinal de emissão de fluorescência, o sinal de excitação também é enviado para o CFD, este os seleciona e os envia para o *time to amplitude converter* (TAC). O TAC cria uma rampa de voltagem (*stop*) figura 3.6. Esse sinal de saída é aumentado pelo *programmable gain amplifier* (PAG) e como consequência do aumento, o tempo de torna-se mais curto. O percurso do sinal a cima descrito ainda é analógico. O ADC converte o sinal analógico em um sinal digital

que é usado para distinguir diferentes canais de tempo e em seguida pode agrupá-los em um histograma.

### **3.2.4 Microscopia FLIM**

Do inglês *Fluorescence Lifetime Imaging Microscopy*, O FLIM consiste na aquisição multi-dimensional do perfil de decaimento do estado excitado de espécies fluorescentes através da técnica TCSPC efetuada com um varrimento espacial da amostra.

Essa técnica produz uma imagem baseada nas diferenças das taxas de decaimento do estado excitado de uma amostra fluorescente. Assim, o FLIM é uma técnica de imagem de fluorescência em que o contraste é baseado no tempo de vida da fluorescência e não no seu espectro de emissão.

Os componentes essenciais de uma configuração FLIM são:

- Fonte de laser pulsado;
- Detetor de fóton único;
- Espelho dicróico (para separar o sinal de fluorescência da luz de excitação);
- Objetiva (focalizar a luz de excitação na amostra e coletar sinal de fluorescência);
- Unidade TCSPC para medir o tempo entre a excitação e a emissão de fluorescência;

O princípio do FLIM, é mostrado na figura 3.8. Um feixe de laser varre a amostra com pulsos curtos de alta repetição como por exemplo na ordem do fentossegundo. O fóton de fluorescência da amostra é detetado pela técnica de contagem de fóton individual. Para cada fóton detetado o detetor envia um sinal elétrico ao sistema de contagem de fóton singular com o tempo correlacionado.

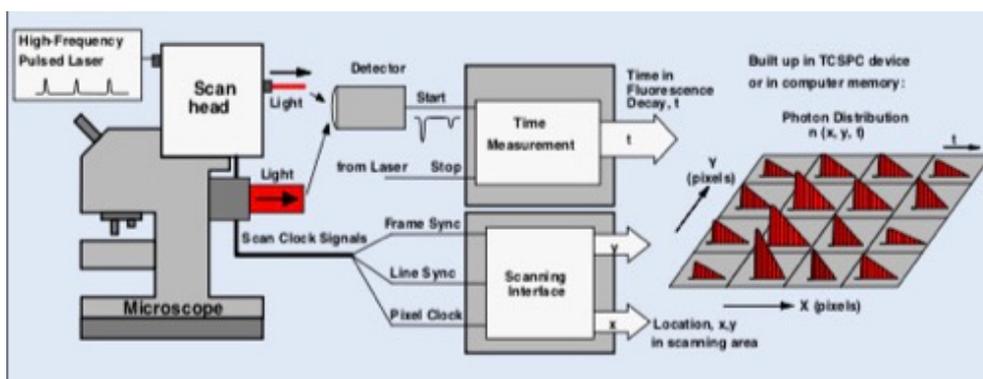
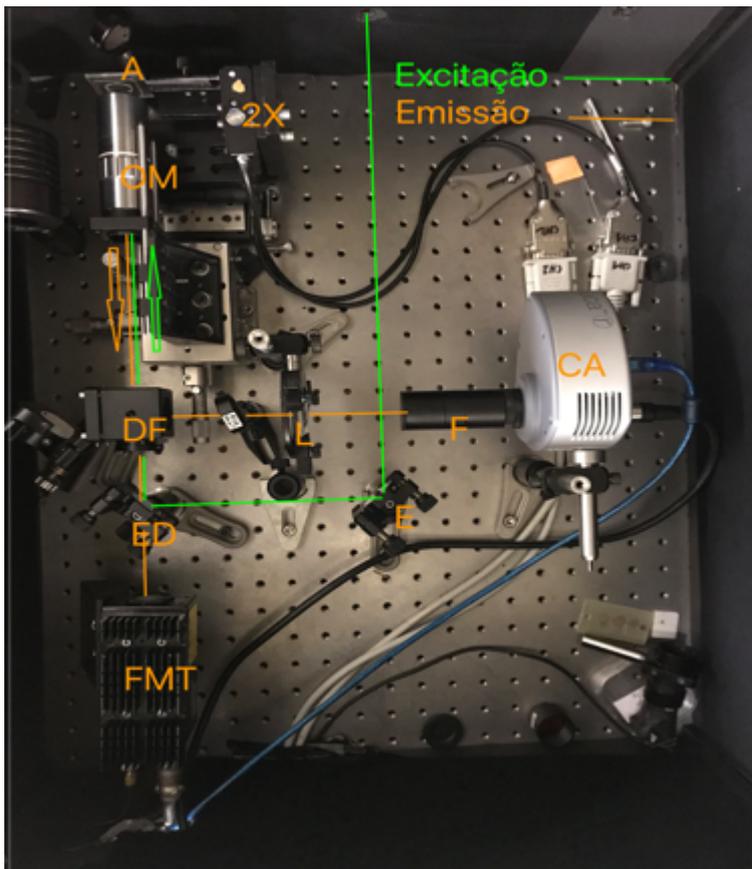


Figura 3.8 Esquema da arquitetura do FLIM de um sistema multidimensional TCSPC [17]

Uma instrumentação que se aproxima da figura 3.8, diferenciando-se principalmente pelo facto de não possuir um *scan head* foi usada durante o trabalho (figura 3.9). No instrumento usado durante a investigação, ao invés de mover o feixe de excitação com um *scan head* usou-se um *Stage PI Motor* com movimentos bidimensionais em relação ao eixo X e Y para mover a amostra.

A instrumentação usada para o estudo de emissão de fótons por defeito em h-BN, consiste num sistema que vai desde uma fonte de laser pulsado para excitação da amostra a um sistema que funciona como microscopia de fluorescência (figura 3.9) constituído pelos seguintes instrumentos;

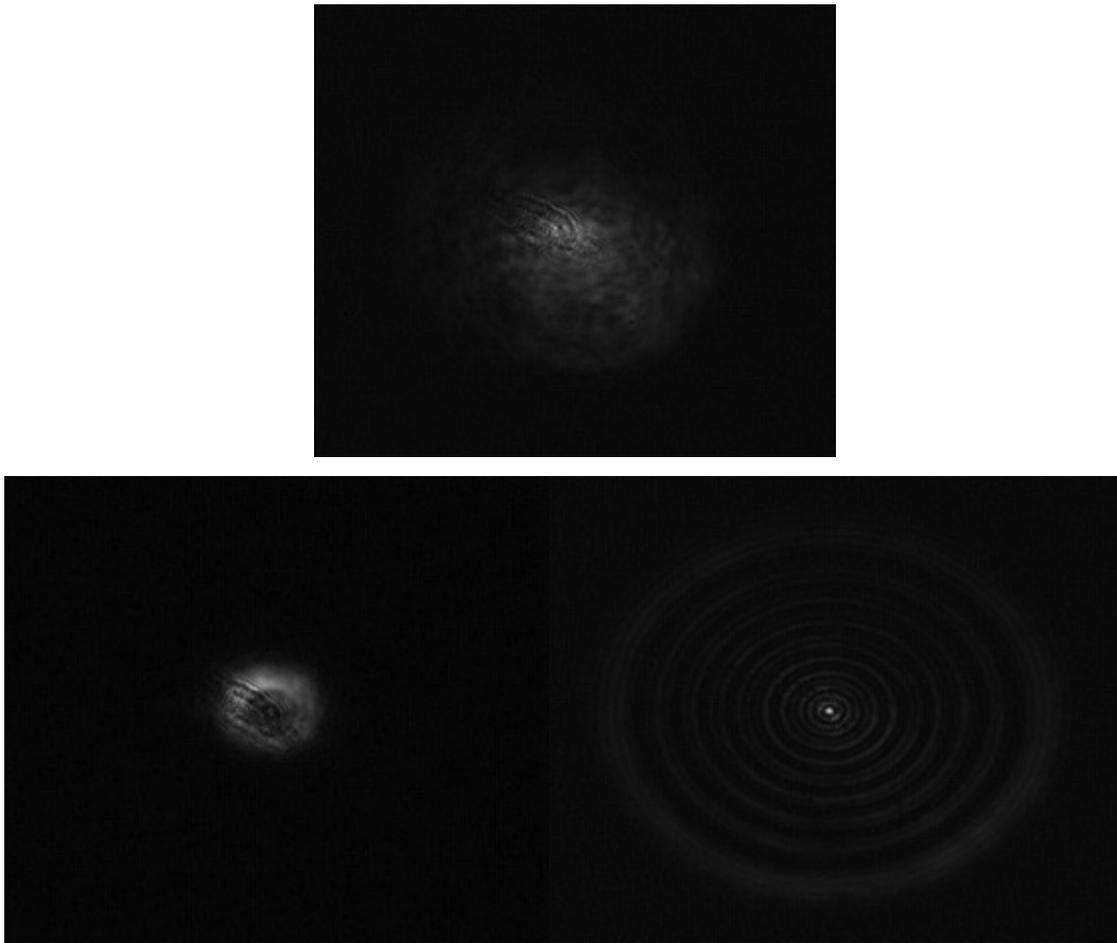
- Espelho dicróico de 600nm
- Divisor de feixes
- Objectiva M Plan Apo 100X Mituloyo Corporation
- Stage PI Motor
- Fotomultiplicador (Hamamatsu H7422)
- Camara Andor *Luca EMCCD* (1000 x 1000 pixels)
- Sistema de contagem de fótons individual SPC-150



**Figura 3.9** Instrumentação para microscopia a laser usado na investigação. Sendo que; A: amostra, 2X: Motor com 2 eixos; OM: objetiva microscópica; DF; divisor de feixe; ED: espelho dicroico; L: lente; F: filtro; E: espelho; FMT: foto-multiplicador e CA: câmara Andor *Luca EMCCD (1000 x 1000 pixels)*

Na figura 3.9, observa-se a instrumentação usada para o processo de excitação e emissão.

O feixe com o comprimento de onda de 530nm, passa por um conjunto formado por lentes, espelhos, divisor de feixe e objetiva com um fator de ampliação 100X e uma abertura de 0,7 que funcionam como microscópio de fluorescência. A varredura da amostra com o laser foi feita usando um mecanismo *Stage PI Motor* com movimento em duas dimensões em relação as coordenadas X e Y. Esse sistema foi concebido para ter uma resolução acima de 600nm partindo de uma excitação de 530nm, a área de scan pode ser variada desde  $1\mu\text{m}^2$  até  $2.5\text{ cm}^2$  usando o Stage PI Motor.



**Figura 3.10** Obtenção da imagem da superfície da amostra de h-BN, foco e discos de difração da luz. Com recurso a câmara Andor equipada apenas com um filtro de intensidade.

Pelo processo de interação radiação-matéria consequente da luz focada pela objetiva na amostra, a amostra emite a partir de 600nm uma luz de fluorescência que é captada pela objetiva em seguida passa pelo divisor de feixes e filtrada por um espelho dicróico com uma reflexão nominal abaixo de 600nm a zero graus, colocado formando um ângulo de 45° em relação ao feixe de emissão para lhe dar a reflexão abaixo de 550nm como se pode ver na figura 3.11. Parte da luz dividida através do divisor de feixes é conduzida à câmara (figura 3.9) que foi usada para obter imagens da superfície da amostra para a obtenção do foco (figura 3.10), sendo que para a obtenção do FLIM com boa resolução é necessária uma posição correta do foco. E outra parte do feixe é dirigido ao foto multiplicador com 120 picossegundos de resolução, cuja abertura foi equipada com um filtro de interferência de 600nm com a capacidade de bloquear os comprimentos de onda menores (*longpass*).

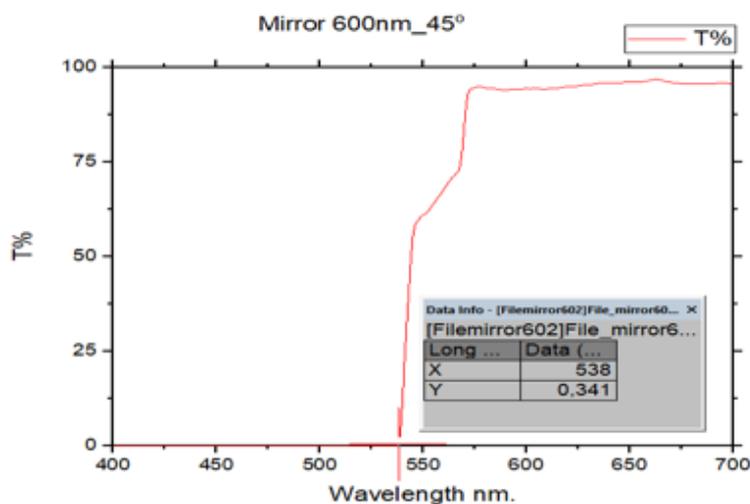


Figura 3.11 Espelho dicróico de 600nm, com uma reflexão abaixo de 550nm quando colocado a 45°.

O sistema computadorizado é usado para analisar e processar o sinal da emissão. Um fotodiodo conectado ao sistema computadorizado, é utilizado para a sincronização através da linha de atraso (*do inglês delay line*). Este sistema computadorizado, através do hardware MultiSPC-150 e software (SPCM-64bit), permite a análise da curva de decaimento do tempo de vida fluorescência emitida bem como a obtenção da imagem a partir do tempo de vida da fluorescência (FLIM).

### 3.2.5 Fluorescência Resolvida no tempo

A partir da aplicação da técnica de contagem de fótons individuais com tempo correlacionado (TCSPC), foi possível observar o decaimento de fluorescência da amostra de nitrato de boro hexagonal. Para a excitação da amostra foi usado o módulo de laser (Ti:Sa – Coherent Mira 900). A detenção da fluorescência foi feita usando um detetor fotomultiplicador (Hamamatsu H7422) e um sistema para coletar dados SPC-150. O sistema tem uma resolução de 120ps. A luz de excitação é encaminhada a uma Objetiva M Plan Apo 100X infinit, que foi usada para focar o feixe de laser na amostra de nitrato de boro hexagonal, e coletar a emissão da luz de fluorescência.

A imagem do tempo de vida da fluorescência foi obtida também a partir da técnica contagem de fótons individuais com tempo correlacionado com recurso a microscopia de imagem por tempo de vida de fluorescência (FILM).

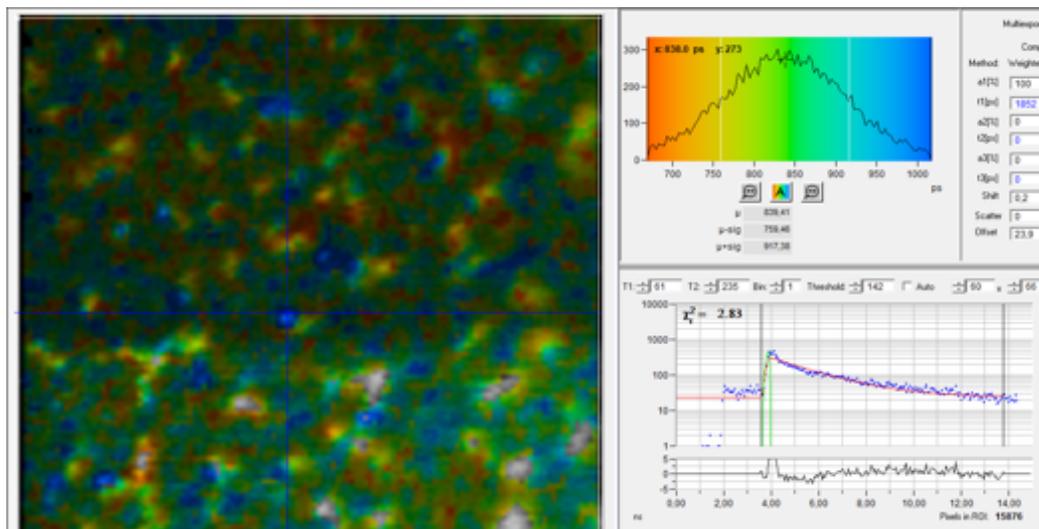
Como já acima citado, os dados foram obtidos com recurso ao módulo SPC-150. Utilizaram-se os modos de medição: osciloscópio, Scan Sync In e F(t,T) *Time-Series Mode*, este último permitiu observar as flutuações no decorrer do tempo do decaimento de fluorescência.

No modo osciloscópio o módulo SPC funciona como um osciloscópio e é usado para ajustamento. Neste modo, a medição é repetida automaticamente na velocidade selecionada. A coleção de fótons é controlada pelos parâmetros: tempo de coleta, tempo de parada. Os ciclos de medição são concluídos no fim do tempo de medição e o resultado é exibido no ecrã no final de cada ciclo. [17].

O modo Scan Sync In é típico para aplicação em microscopia de varrimento a laser. Neste modo, o módulo SPC-150 recebe pulsos sincronizados do controlador do motor que correspondem a uma região única na amostra.

Com recurso ao SPCImage, obtém-se um mapa com a distribuição de densidade dos fótons por área, intensidade e tempo de vida, ou seja, uma imagem FLIM da amostra.

Para representação do FLIM, com recurso ao SPCImage, obteve-se a distribuição de fótons dentro das coordenadas de varrimento e o tempo do decaimento dos fótons, fornecendo uma curva de decaimento de fluorescência para cada pixel dentro da área de varrimento que forma a imagem, como se pode ver na figura 3.12 [17]



**Figura 3.12** imagem FLIM de uma amostra de h-BN com recurso ao SPCImage. À esquerda imagem de tempo de vida da fluorescência, á direita por cima temos o gráfico que mostra a distribuição do tempo de vida em toda imagem, e ainda á direita por baixo temos a curva do decaimento de fluorescência e os seus respetivos parâmetros de decaimento.

Os instrumentos FLIM são projetados para medir tempos de vida na faixa de nano segundo, uma vez que os tempos de vida da maioria dos fluoróforos usados em microscopia de fluorescência moderna estão dentro dessa faixa.

A amostra foi excitada com um pulso de laser ultracurto e a emissão de fluorescência foi detetada por um detetor de resposta temporal rápida (Photosensor Modules H7422 Series), com uma alta sensibilidade espectral num intervalo compreendido entre os comprimentos de onda de 300nm a 720nm.

# 4 Resultados e discussão

---

Para o estudo da dinâmica do estado pela observação da fluorescência, é necessário usar uma técnica adequada que permite analisar decaimentos de fluorescência. Com recurso a técnica *fluorescence lifetime Imaging microscopy* usando o método *time correlated single photon counting* estudamos a emissão de fluorescência por defeitos em uma amostra que contém nitreto de boro hexagonal. A obtenção de dados foi adquirida no domínio temporal, que tem foco na medição do tempo de vida da fluorescência.

Os resultados foram obtidos por um microscópio composto por softwares e hardwares do sistema *Becker & Hickl* conforme explicado no capítulo 3.

O processo de aquisição de dados começou com a observação da superfície da amostra para seleção de áreas interessantes para realização do scan, com recurso a câmara Andor *Luca EMCCD*.



**Figura 4.1** Imagem de fluorescência da amostra de h-BN com recurso a câmara Andor *Luca EMCCD* equipada com um filtro de interferência para transmissão apenas do comprimento de onda de fluorescência, mostrando uma região de interesse para análise FLIM.

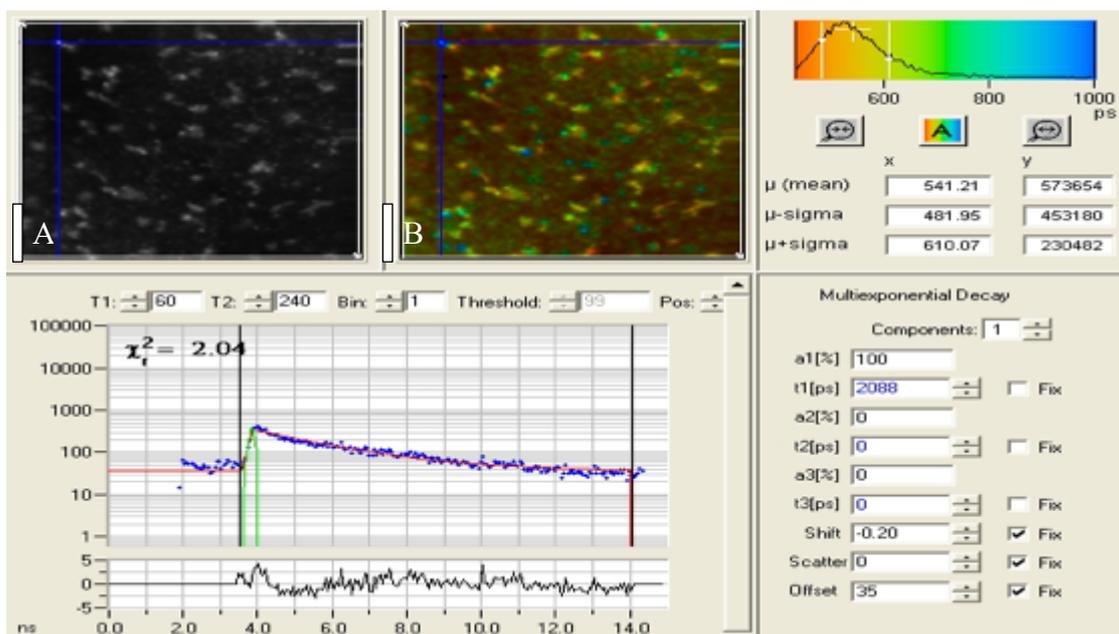
Foram obtidas imagens de reflexão e imagens de fluorescência da superfície da amostra usando a câmara Andor tanto como em FLIM. Com a câmara Andor as imagens de reflexão foram obtidas usando um filtro de densidade neutra (*neutral density*) na abertura da câmara com um fator de absorvência 0.3 pelo qual a intensidade da luz é reduzida 50% para baixar a intensidade da luz refletida pela amostra e adequar assim a intensidade da luz à capacidade da câmara.

Para a imagem de fluorescência com a câmara usou-se um filtro de interferência de *longpass* 600nm na abertura da câmara para obter imagem formada apenas pela fluorescência.

Tais imagens serviram para selecionar áreas de interesse (figura 4.1) e a evitar, principalmente para obtenção do plano focal correto (figura 3.10).

Normalmente um *spot* interessante visto com a câmara *Andor* não significa necessariamente que detetamos um defeito singular na nossa amostra porque algumas matérias minúsculas como impurezas alojadas na superfície da amostra também aparecem como *spots* fluorescentes. Até mesmo uma imagem FLIM não é suficiente para afirmar com certeza que foi detetado um defeito singular na rede periódica da amostra. Para ter a certeza que um defeito singular foi observado é necessário que o *spot* detetado apresente algumas propriedades que são características de um defeito singular como *Blinking* e estabilidade ao longo de várias medições.

Estando a área de interesse identificada realiza-se o FLIM para a sua análise. Sendo assim, faz-se o scan na região que integra o spot como se pode ver na figura 4.2.



**Figura 4.2** Imagem FLIM da amostra de h-BN mostrando um defeito emissor de fótons localizado numa área de scan de  $50\mu\text{m}$ . (A) corresponde à imagem de intensidade da emissão e (B) corresponde à imagem de tempo de vida.

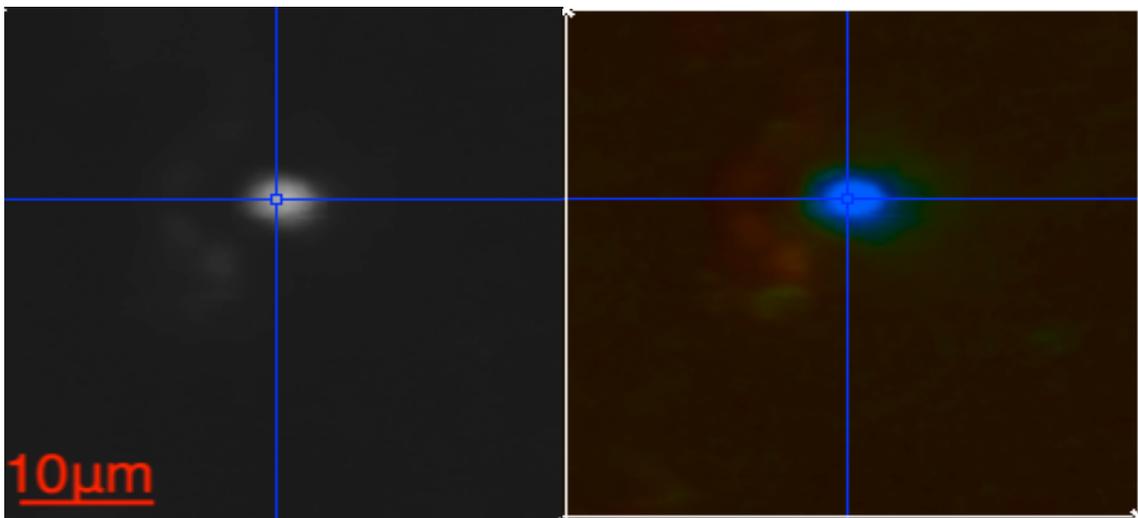
A figura 4.2 mostra a imagem FLIM com recurso ao programa SPCImage de uma área de  $50\mu\text{m} \times 50\mu\text{m}$ . O *scan* com a área correspondente é feito com o objetivo de ter mapas de intensidade e de tempo de vida de uma região maior da área que integra o defeito, pois isso aumenta

a possibilidade de detetar possíveis defeitos que estejam próximos do defeito detetado pela câmara.

A imagem FLIM mostrada na figura 4.2 é uma matriz de dados que contém um único decaimento de fluorescência para cada pixel. Para a imagem de intensidade, o número de fótons medido é determinado somando o número de fótons em todos os canais de tempo. O resultado de todos os fótons medidos é mostrado na imagem de intensidade (A) e o seu respetivo tempo de vida é transferido para uma escala de cores (B).

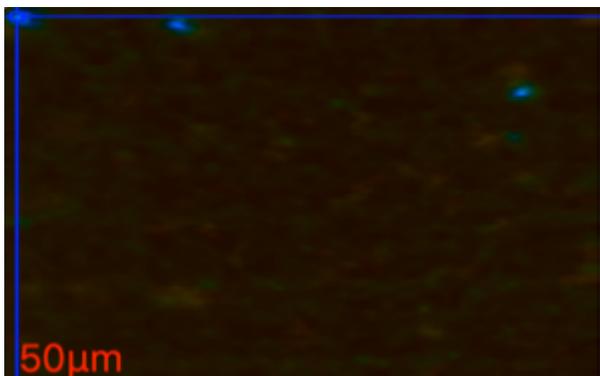
A curva do decaimento apresentada na figura 4.2 consiste nos dados de um único pixel da imagem no ponto especificamente selecionado com o cursor. Os pontos azuis representam os números de fótons nos seus respetivos canais de tempo, a curva verde é o *Instrument response function* (IRF) e a curva vermelha é o ajuste dos dados à função de decaimento.

Para uma análise mais específica com o objetivo de realização da emidição em modo  $F(t,T)$  *Time-Series* começou-se primeiro por diminuir a área do FLIM, fazendo uma imagem FLIM de uma área menor (relativamente a figura 4.2) que contenha o defeito emissor como se vê na figura 4.3



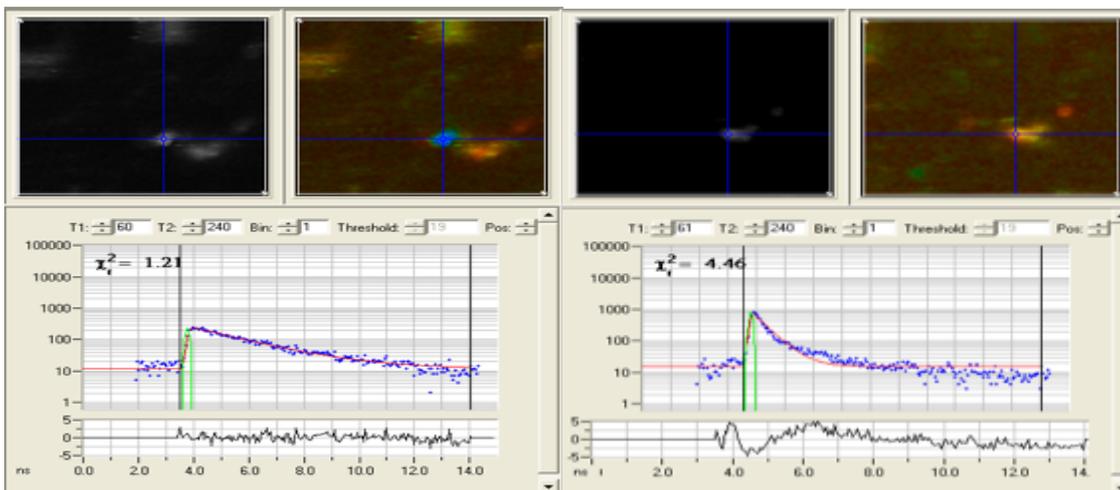
**Figura 4.3** Imagem FLIM da amostra de h-BN. o mesmo spot da figura 3.12 visto numa área de  $10\mu\text{m} \times 10\mu\text{m}$ .

Sendo que para a obtenção dos dados do *spot* em questão é necessário que o feixe de laser incida sobre ele durante o tempo de aquisição, foi necessário mover o *spot* para o canto superior da imagem (figura 4.4), pois, é este o ponto onde o scan começa durante o FLIM, ou seja, é este o local onde o feixe de laser incide quando o motor está parado.



**Figura 4.4** Imagem representativa de um *spot* em posição para medição em modo *time-series* no canto superior esquerdo

Depois de alguns minutos de aquisição alguns *spots* emissores de fluorescência deixaram de emitir fluorescência como consequência de um *bleaching* gradual durante o tempo de incidência do feixe de excitação. Uma imagem FLIM feita na área que integra o *spot* mostrou o desaparecimento total do tempo de vida embora mantendo-se a intensidade o que faz questionar a natureza de alguns *spots* como mostra a figura onde pode-se ver pela imagem de tempo de vida que *spot* emissor de fluorescência foi destruído pela irradiação.



**Figura 4.5** Bleaching de um ponto emissor de fótons de fluorescência Antes(A) e depois(B).

Durante as medições com o modulo SPC em modo osciloscópio, com o feixe de excitação de  $666 \mu\text{W} / \mu\text{m}^2$  notou-se flutuações do espectro de fluorescência durante o tempo, tal como as características do *blinking*. A imagem FLIM pelo modo de obtenção através do *scan* ponto a ponto

da superfície da amostra em que a informação do decaimento refere-se a um ponto e a um tempo relativamente curto, carece de informação para apresentação de dados do perfil do decaimento de fluorescência durante um tempo relativamente longo. Sendo assim, realizou-se o *scan* em função do tempo (*time-series*) com o objetivo de obter o perfil das flutuações do *blinking* representado por um conjunto de decaimento do mesmo ponto ao longo do tempo. O *time-series* apresenta os dados como um conjunto de medições repetitivas que mostra o perfil das curvas de decaimento em um conjunto de decaimentos distribuídas em diferentes tempos em que é feita a medição, como se pode ver na figura 4.7.

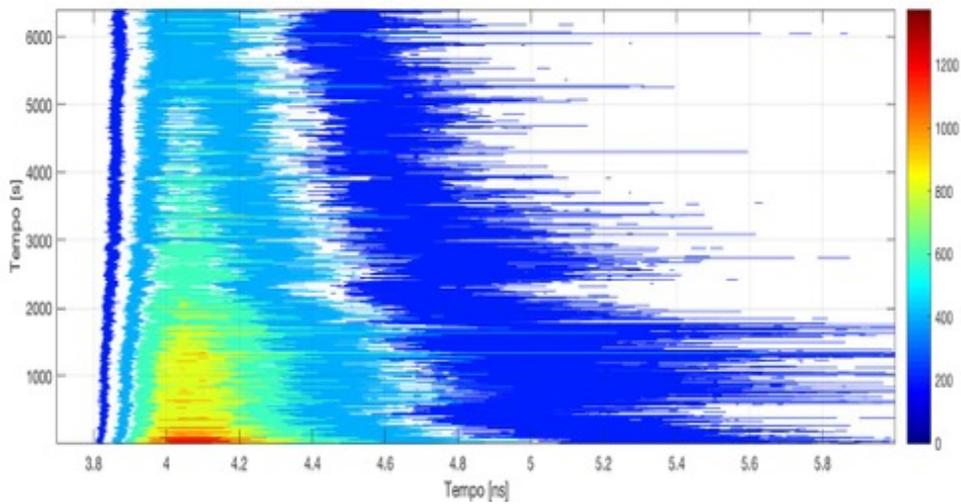
A medição em *time-series* foi realizado em 32000 *steps* gravados em 16 ficheiros (ciclos) em cada ficheiro contem 2000 decaimentos de fluorescência (*steps*), cada decaimento colecionado num tempo de 100ms, o tempo total entre um e o próximo decaimento registado é de 200ms por razões instrumentais.

Parâmetros principais <i>time-Scan</i>	
<i>Time Steps</i>	2000
Ciclos	16
<i>ADC Resolution</i>	256
<i>Time range</i> (ns)	14

**Tabela 4.1** – Paramentos para a realização do *time-series*

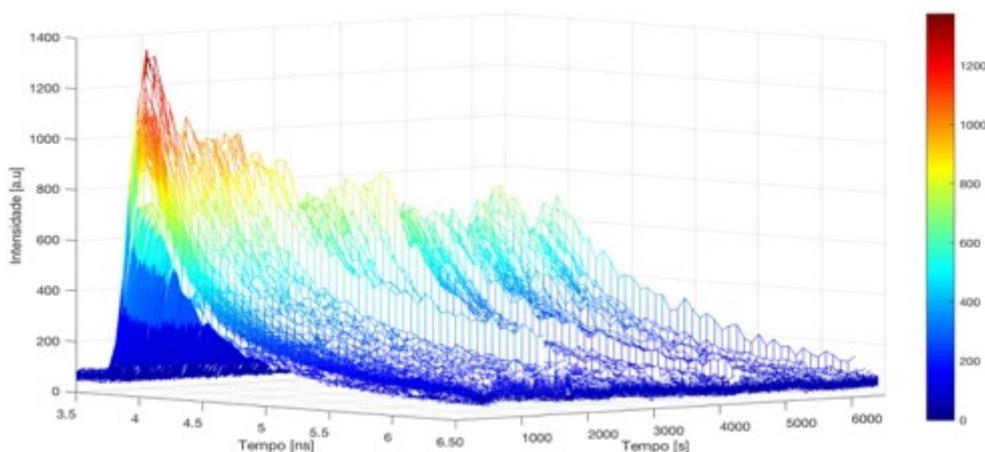
Com recurso ao Matlab (R2017b) fez-se o tratamento dos dados a fim de obter o perfil do decaimento em diferentes perspectivas do conjunto de decaimentos obtido com o modo *time-series*.

O resultado é mostrado na figura 4.6 em que podemos observar um gráfico de intensidades distribuídas em cores. As cores representam as intensidades (número de contagens, escala de cores à direita) ao longo do decaimento (tempo em nano segundos, eixo x). Nota-se de imediato o *bleaching* gradual (tempo em segundo eixo y). O gráfico mostra uma diminuição da intensidade ao longo do tempo o que caracteriza o *bleaching* da fonte emissora de fluorescência



**Figura 4.6** Perfil experimental do decaimento de fluorescência de um defeito em h-BN, representado por contornos da intensidade ao longo do tempo. A figura mostra um conjunto de 32000 decaimentos ao longo dos 6400s de aquisição

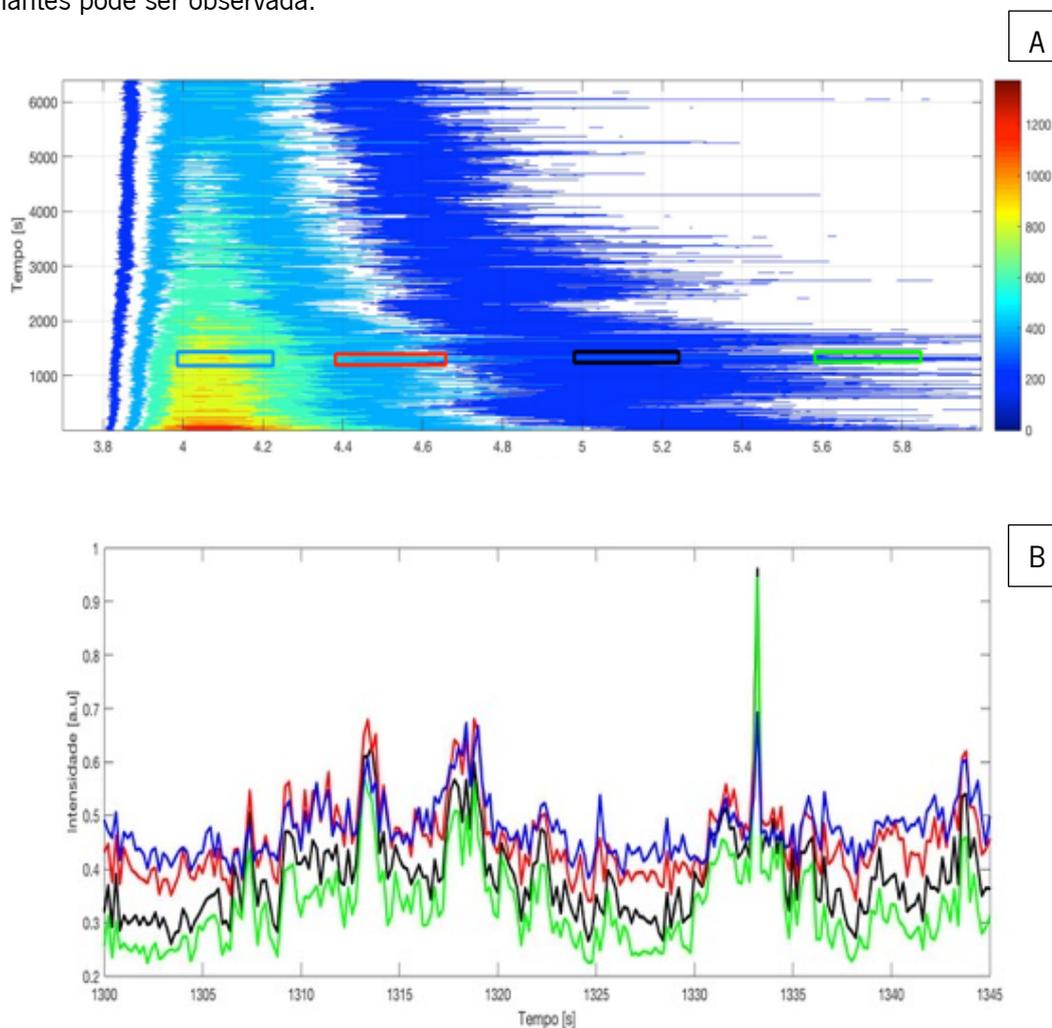
A figura 4.6 mostra os contornos da curva do decaimento numa representação bidimensional. O perfil do decaimento de fluorescência da figura 4.6 é apresentado num modelo tridimensional na figura 4.7 a partir da qual se observa a diferença entre as amplitudes dos decaimentos bem como uma melhor percepção do *bleaching* ao longo do tempo.



**Figura 4.7** Outra representação do perfil experimental do decaimento de fluorescência dos defeitos em h-BN formando um conjunto de 32000 curvas.

Na figura 4.7 são observadas flutuações das intensidades tal como para os tempos de vida como se a fonte emissora de fluorescência ligasse e desligasse ao longo do tempo. Uma representação do blinking de diferentes decaimentos é apresentando na figura 4.8. Foram

selecionados 4 intervalos de tempo em diferentes canais de detenção ao longo da medição. Embora com durações diferentes ao longo dos espectros, uma alternância entre estados escuros e brilhantes pode ser observada.

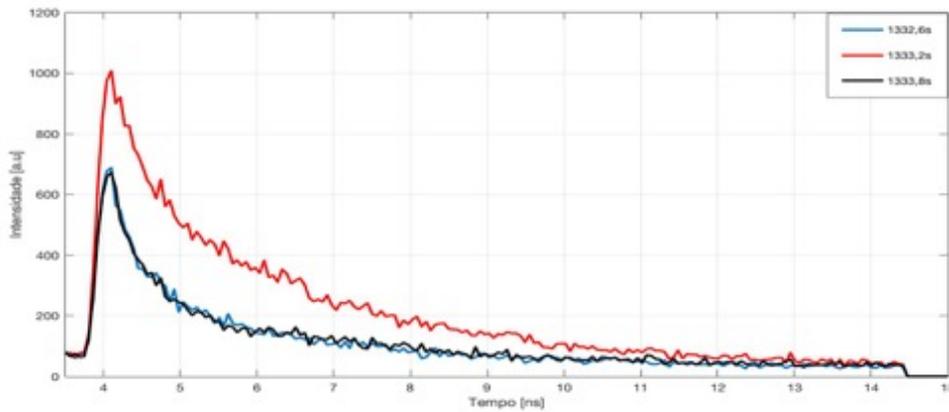


**Figura 4.8.** (A) Região da figura 4.6 que correspondem aos canais de tempo que se encontram no intervalo de: 3.98s a 4.27s azul, vermelho ao intervalo de 4.39s a 4.68s, preto ao intervalo de 4.98s a 5.27s e verde corresponde ao intervalo de 5.56s a 5.85. (B) Perfil experimental do *blinking* dos defeitos em h-BN ao longo das intensidades dos canais de tempo nos intervalos marcados.

Na figura 4.8, independentemente da intensidade e intervalo de tempo, o gráfico mostra um padrão do *blinking* para os 4 intervalos apresentados.

Uma apresentação das flutuações das intensidades para comparação do sinal do decaimento entre estados brilhantes e escuros do *blinking*, é mostrado na figura 4.9.

Com uma variedade de possibilidade de caimentos ao longo do tempo para analisar, em alguns tempos de aquisição observou-se decaimentos com amplitudes muito elevadas, tal como mostra a figura 4.7. Sendo assim, escolheu-se uma região do tempo que contém estes decaimentos interessantes para que possam ser analisados e obter seus parâmetros em comparação com outros decaimentos próximos de menor intensidade. Entretanto, foram selecionados três decaimentos com o intervalo de 0,6s um do outro.



**Figura 4.9** Flutuações dos perfis de decaimento ao longo dos tempos de aquisição 1332.6s, 1333.2s, 1333.8s.

Determinou-se o tempo de decaimento das curvas apresentadas na figura 4.9., a partir de um ajuste a uma função de decaimento exponencial. Sendo que os decaimentos que representam os estados escuros têm a mesma amplitude, selecionou-se apenas um deles para a comparação com o decaimento que representa estados brilhantes cuja amplitude é elevada.

Com o programa PicoQuant FluorFit, foi usado o algoritmo dos mínimos quadrados não lineares (*Non-Linear Least Squares*) para a realização do ajuste relativamente aos decaimentos corresponde a 1333.2s e 1332.6s da figura 4.8.

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^n w_i [y(t_i) - Y(t_i)]^2 \quad (4.1)$$

O ajuste dos mínimos quadrados produz um conjunto de pontos calculados, que descrevem os dados experimentais. Os valores calculados são otimizados de modo a obter um valor minimizado de  $\chi^2$ , dos desvios da função de ajuste,  $Y(t_i)$  e dos dados experimentais,  $y(t_i)$ , para todos os canais de dados.  $w_i$  é o fator de ponderação dos dados no  $i$ -ésimo canal de  $n$  canais totais [29]. Para modelos multi-exponenciais, conforme a equação (4.2), a minimização de  $\chi^2$  é

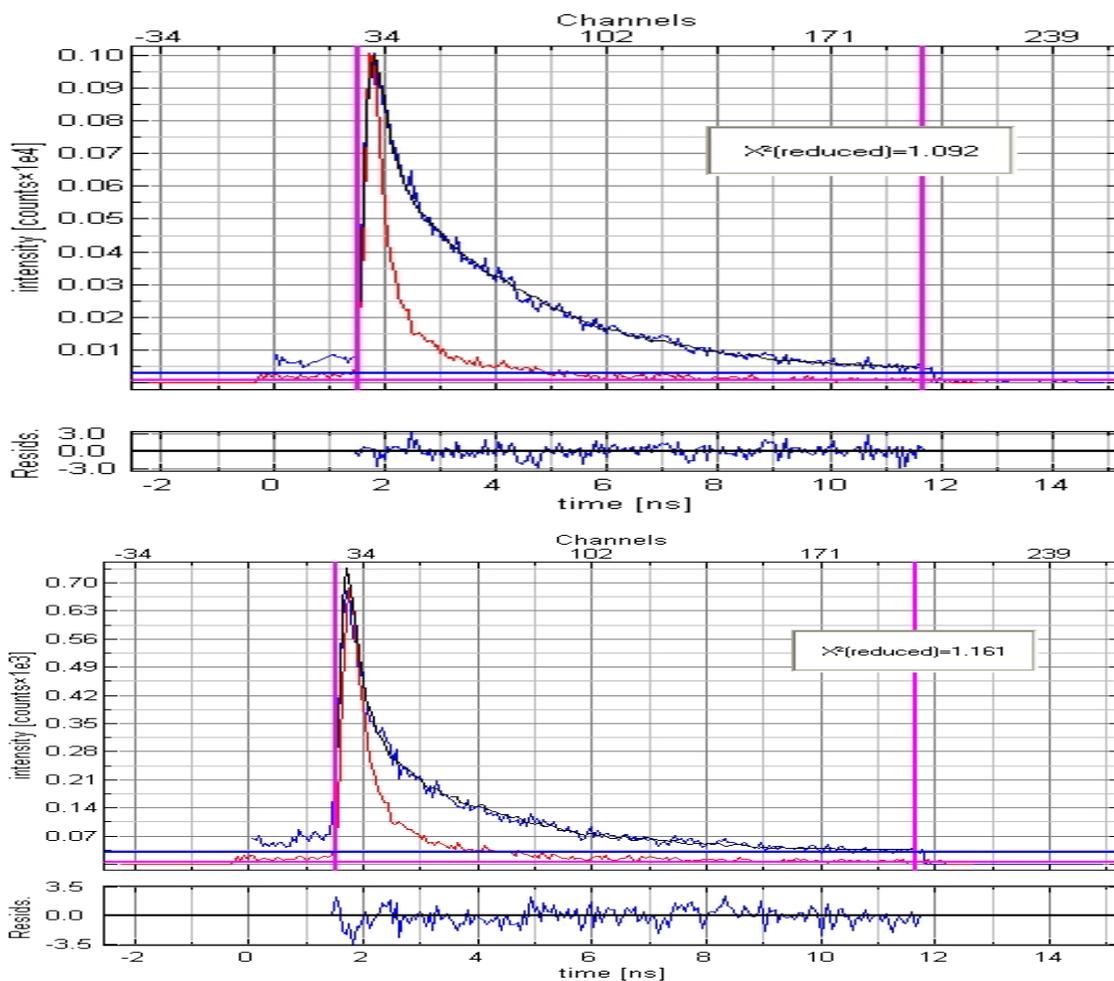
feita em relação ao parâmetro de decaimento em si, ou em ambos, no parâmetro de decaimento e no fator pré exponencial  $a_i$ .

$$I(t) = \sum_i a_i e^{\left(\frac{-t}{\tau_i}\right)} \quad (4.2)$$

Onde  $\tau_i$  é o tempo de vida do  $i$ -ésimo componente e  $a_i$  é a sua amplitude.

Esse algoritmo encontra o melhor ajuste para o dado experimental tendo encontrado o menor valor de chi-quadrado ( $\chi^2$ ).

O ajuste foi feito a partir da desconvolução do sinal medido pelo detetor de maneira a separar o IRF do decaimento da fluorescência e obter assim um melhor ajuste dos parâmetros do decaimento mais próximos do real decaimento da fluorescência.



**Figura 4.10** A figura apresenta o decaimento 1333.2s acima e o decaimento 1332.6s abaixo da figura 4.9 ajustado a função de decaimento de acordo com a equação (4.2)

Devido à baixa magnitude dos resíduos que se obteve e pelo baixo valor de  $\chi^2$  que se encontra muito próximo de 1 para os resultados apresentados, podemos considerar termos alcançado um bom ajuste dos dados experimentais em que a curva azul são os dados experimentais do decaimento de fluorescência, a curva preta é a função de ajuste e a curva vermelha é a função de resposta do instrumento (IRF).

As comparações dos parâmetros obtidos com os dois ajustes são apresentadas na tabela 4.2

	$\tau_1$ (ns)	$\tau_2$ (ns)	$a_1$ rel(%)	$a_2$ rel(%)	$\tau_m$ (ns)
Decaimento 1333.2s	0.080	1.969	90.5	9.5	1.440
Decaimento 1332.6s	0.007	1.637	98.2	1.8	1.338

Tabela 4.2 – Resultado dos dados experimentais dos ajustes realizados na figura 4.5 e 4.6

Onde  $\tau_m$  representa o tempo médio que os fluoróforos permanecem no estado excitado [30]

$$\tau_m = \frac{\sum_i a_i \cdot \tau_i^2}{\sum_i a_i \cdot \tau_i} \quad (4.3)$$

### 4.1 Annealing

A grande quantidade de *spots* emissores de fluorescência, sua extensão, estrutura aparente e a forte manifestação do *bleaching* gradual que nos fez questionar a natureza desses, levounos a realização do *annealing* a 500°C na amostra em alto vácuo. Realizou-se o *annealing* com o objetivo de limpar a amostra de possíveis impurezas que se encontravam na superfície da amostra [31]. E também tentaremos um annealing com azoto com o objetivo de aumentar o número de defeitos emissores de fótons singulares na amostra [32], eliminando assim a possibilidade de confundir impurezas fluorescentes com verdadeiros defeitos atômicos emissores de fótons singulares.

Uma comparação em FLIM da amostra antes e depois do *annealing* é apresentada na figura 4.

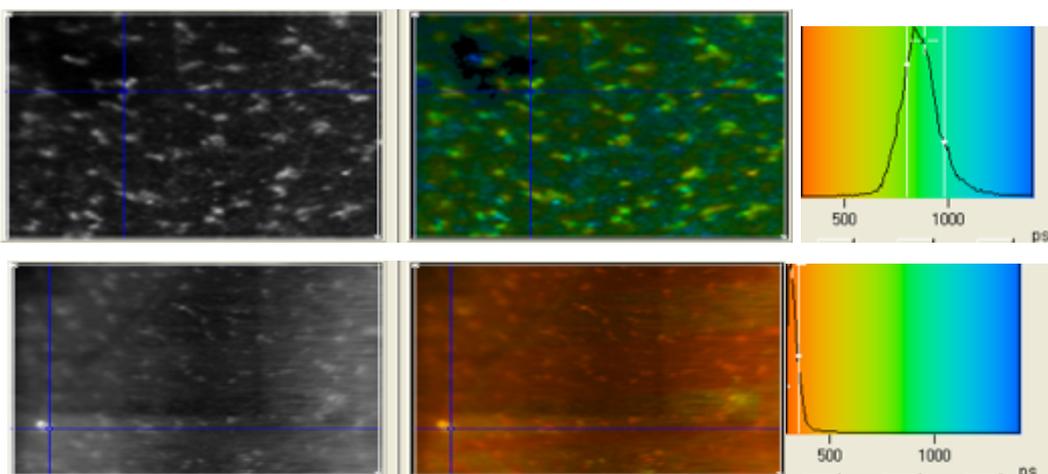
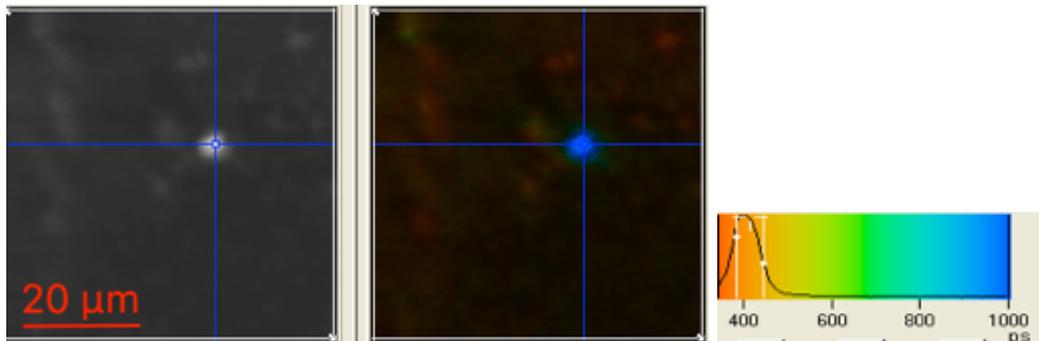


Figura 4.11 Comparação antes e depois do *annealing* em FLIM das imagens de intensidade e de fluorescencia da amostra em regiões não idênticas. Acima a imagem FLIM de 50  $\mu\text{m}$  antes do *annealing*, por baixo de imagem de 50  $\mu\text{m}$  depois do *annealing* e à direita de cada imagem temos a sua distribuição do tempo de vida em cores.

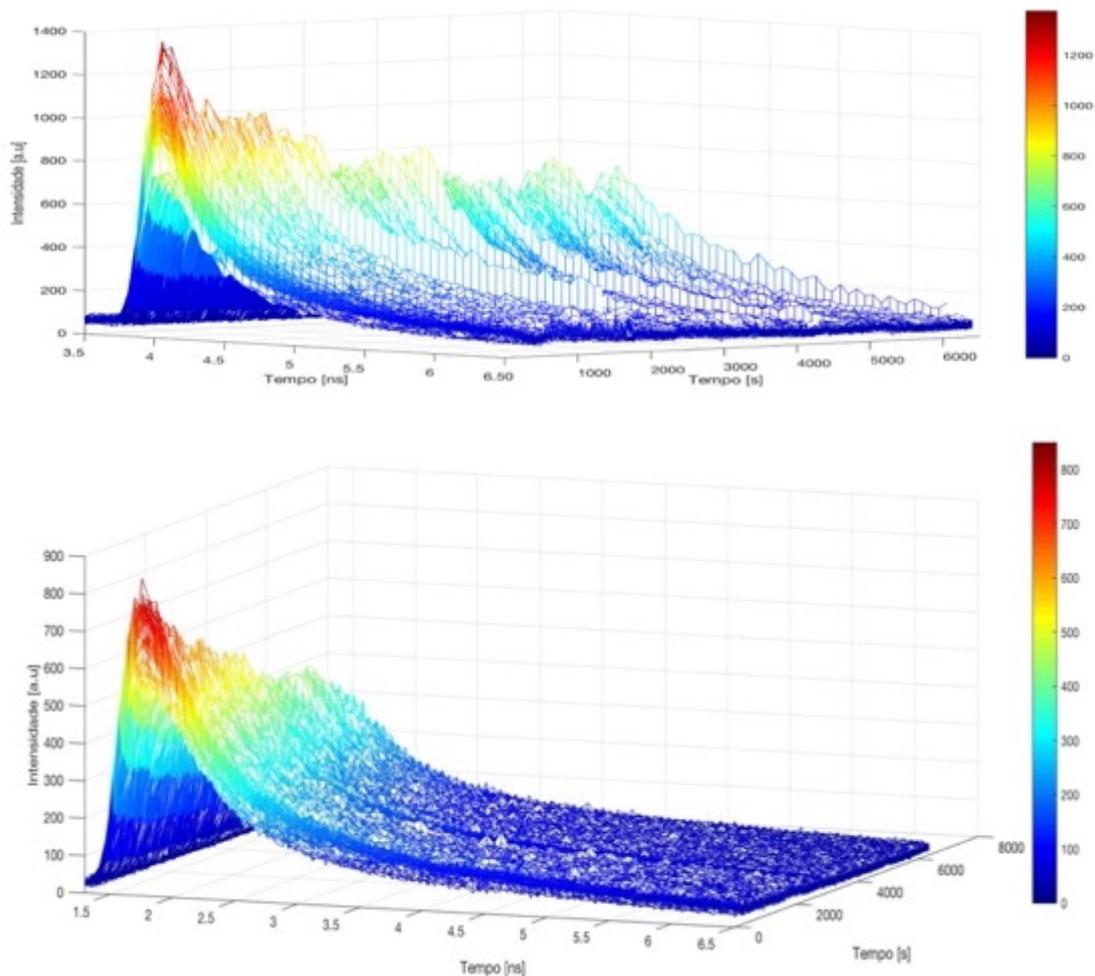
A figura 4.11 mostra imagens de intensidade e tempo de vida (em código de cores) antes e depois do *annealing*. Para uma comparação melhor, o código de cores após as imagens FLIM foram definidas para 300ps como valor mínimo e 1400ps como valor máximo para cada imagem. Quer dizer que na imagem de intensidade (à esquerda) depois do *annealing*, nenhum ponto que ali aparece amite fotões com tempo de vida acima dos 300ps, o que se comprova pelo gráfico das distribuições de tempos de vida de cada imagem em cores.

Antes do *annealing* para o FLIM, um *spot* relativamente brilhante com um tempo de vida mais longo que o *back ground* foi selecionado. Entretanto, depois do *annealing*, apenas poucos *spots* com tempos de vida consideráveis foram vistos. A figura 4.12 mostra um *spot* com tempo a volta de 1000ps detetado após o *annealing*, cujos parâmetros de medição serão apresentados.



**Figura 4.12** Imagem de FLIM da amostra de h-BN depois do *annealing*. A direita imagem de tempo de vida de fluorescência, a esquerda imagem de intensidade de fluorescência e ao lado sua distribuição do tempo de vida em cores.

O perfil de decaimento da figura 4.12 mostra uma curva de intensidade com baixa intensidade em relação à medição antes *annealing*



**Figura 4.13** Perfil experimental do decaimento de fluorescência do *spot* representativo da amostra antes do *annealing* por cima, e outro *spot* representativo da amostra depois do *annealing* por baixo.

Como os perfis dos decaimentos depois do *annealing* exceto o *bleaching* gradual que se observa em todos os casos são todos uniformes sem nenhuma flutuação ao longo do tempo diferente dos perfis observados antes do *annealing*, selecionou-se apenas um decaimento do conjunto de decaimentos observados para obter-se uma comparação entre os dois casos.

A escolha dos decaimentos apresentado na figura 4.14 não teve nenhum outro requisito especial tendo em conta o argumento acima apresentado.

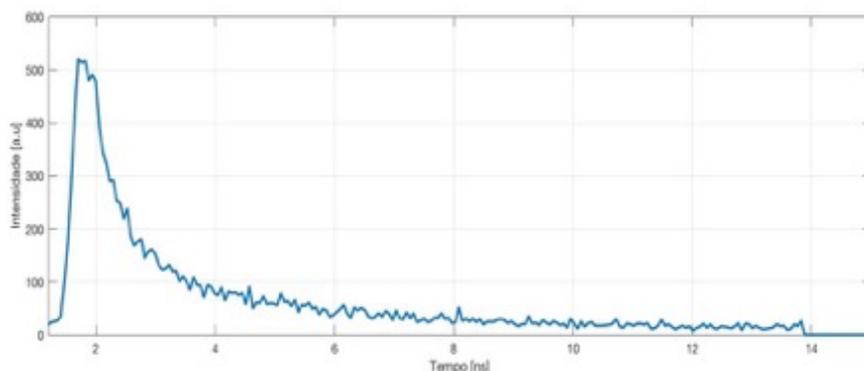


Figura 4.14 Perfil de decaimento de fluorescência do tempo de aquisição 1333.2s da figura 4.13 depois do *annealing*

A partir do decaimento 1333.2s apresentado na figura 4.14 como representação dos decaimentos depois do *annealing* extraiu-se os parâmetros do tempo de vida da fluorescência para que este por sua vez fosse comparado com os tempos de vida obtidos antes.

Para tal, um ajuste a função de decaimento exponencial dada pela equação (4.2) foi realizado, tal como nos casos anteriores conforme mostra a figura 4.15.

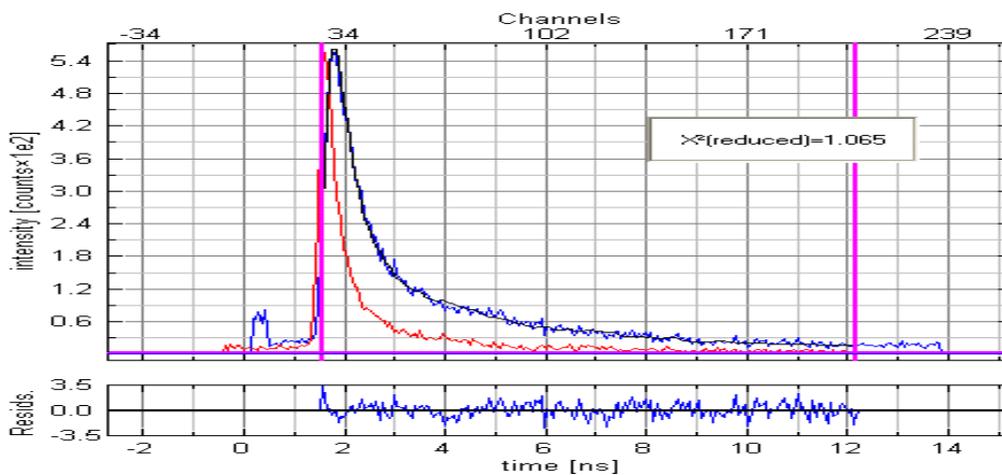


Figura 4.15 Perfil do decaimento de fluorescência após o *annealing* ajustado a equação (4.2).

A comparação dentre os parâmetros dos decaimentos sobre os quais se fez o ajuste é apresentado na tabela 4.3

	$\tau_1$ (ns)	$\tau_2$ (ns)	$a_1$ rel(%)	$a_2$ rel(%)	$\tau_m$ (ns)
Decaimento 1333.2s	0.080	1.969	90.5	9.5	1.440
Decaimento 1332.6s	0.007	1.637	98.2	1.8	1.338
Depois do <i>annealing</i>	0.185	3.087	96.6	3.4	1.249

Tabela 4.3 Resultado dos dados experimentais dos ajustes realizados antes e depois do *annealing*

Os resultados dos ajuste mostram, embora a intensidade do decaimento analisado após o *annealing* seja duas ordens de grandeza menor que o decaimento 1333.2s e uma ordem de grande menor que o decaimento 1332.6s antes do annealing, ele possui um tempo de vida cujo valor se encontra próximo dos tempos de vida dos decaimentos antes do *annealing* com os quais é comparados.



# 5 Conclusão

---

A capacidade do h-BN de hospedar defeitos atômicos que funcionam como pontos emissores de fótons é uma propriedade de aplicabilidade promissora. Com o intuito de estudar o fenômeno de emissão de fótons por defeitos presente na rede periódica de nitreto de boro hexagonal realizou-se essa investigação baseada na análise do tempo de vida de fluorescência, das propriedades da emissão como flutuações da intensidade dos luminóforos.

Embora a natureza dos defeitos atômicos em nitreto de boro hexagonal seja ainda assunto de muito debate, a sua presença em redes periódicas e a possibilidade de estes funcionarem como fonte de fótons individuais motiva estudos para melhor compreensão das suas propriedades e possíveis aplicações.

A natureza das fontes emissoras de fótons de fluorescência observadas na amostra de h-BN deve merecer especial atenção, pois muitos dos pontos emissores de fótons de fluorescência observados durante o trabalho embora apresentassem um decaimento fluorescente com tempo de vida, são de natureza duvidosa por não apresentarem as principais propriedades principais que caracterizam um defeito atômico de h-BN tal como forte *manifestação do blinking* ou por exemplo um *bleaching* repentino durante a medição e não gradual.

Os resultados depois do *annealing* mostraram uma densidade de fontes emissoras de fluorescência. Tais fontes apresentaram baixa intensidade em relação a *spots* fluorescentes observados antes do *annealing*, mas seu valor de tempo de vida ainda se encontra próximo dos resultados obtidos antes. Tendo em conta as diferenças no que diz respeito a densidade de pontos emissores de fluorescência na amostra em comparação nas imagens antes e depois do *annealing*, pode-se dizer que muitos dos pontos observados antes do *annealing* não eram de defeitos emissores de fluorescência principalmente por apresentarem *bleaching* gradual. Segundo a literatura os defeitos atômicos em h-BN são estáveis ao longo das medições. Sendo assim, o processo de *annealing* da amostra pode ser considerado um passo importante para garantir que os pontos emissores detetados tratam-se de reais defeitos atômicos.

Em síntese, os resultados apresentados baseados na análise FLIM com recurso a técnica de *Time Correlated Single Photon Counting* mostraram:

- Grande densidade de fontes emissoras de fótons de fluorescência por unidade de área nas análises FLIM feitas antes do *annealing*;
- Dentre os vários pontos emissores de fótons observados durante o FLIM, poucos pontos apresentaram tempos de vida superiores a 1000ps, pelos resultados mostrados através do mapa de distribuição de tempo de vida em cores;
- Uma forte manifestação de *bleaching* em todos os pontos emissores de fótons de fluorescência e em alguns casos constatou-se o desaparecimento total do tempo de vida;
- Baixa densidade de pontos emissores de fluorescência depois do *annealing*.

Portanto, a pesquisa apresentada é um estudo em andamento pois os resultados adquiridos até ao momento mostram que o trabalho carece de continuidade para uma melhor discussão e principalmente para uma melhor compreensão da natureza das fontes emissoras de fluorescência para poder distingui-los com mais clareza de outras partículas presentes na superfície da amostra que também emitem fluorescência, tais como possíveis impurezas localizadas na superfície da amostra. Pelos resultados apresentados não se pode dizer de forma cabal que os *spots* apresentados, quer antes ou depois do *annealing* tem origem em reais defeitos atômicos de nitreto de boro hexagonal.



## 6 Bibliografia

---

- [1] K. S. Novoselov, A. Mishchenko, A. Carvalho, and A. H. Castro Neto, "2D materials and van der Waals heterostructures," *Science (80-. )*, vol. 353, no. 6298, 2016.
- [2] F. Xiao, *Hexagonal boron nitride nanosheets synthesis and applications*. Wollongong: University of Wollongong. PhD Thesis, 2016.
- [3] R. R. Nair *et al.*, "Fine structure constant defines visual transparency of graphene," *Science (80-. )*, vol. 320, no. 5881, p. 1308, 2008.
- [4] I. D. Marinescu, W. B. Rowe, B. Dimitrov, and I. Inasaki, "Abrasives and Abrasive Tools," *Tribol. Abras. Mach. Process.*, pp. 369–455, 2004.
- [5] C. Kittel, "Introdução à Física do Estado Sólido." 8 ed, 2016.
- [6] Y. Liu, N. O. Weiss, X. Duan, H. C. Cheng, Y. Huang, and X. Duan, "Van der Waals heterostructures and devices," *Nat. Rev. Mater.*, vol. 1, no. 9, 2016.
- [7] M. G. Silly *et al.*, "Luminescence properties of hexagonal boron nitride: Cathodoluminescence and photoluminescence spectroscopy measurements," *Phys. Rev*, vol. 75, no. 8, pp. 1–5.
- [8] G. Leckenby, "Hexagonal boron Nitride vacancies as an enhanced single photon source," *Phys. Rev*, vol. 2, no. 2011, pp. 1–4, 2017.
- [9] R. M. Ribeiro and N. M. R. Peres, "Stability of boron nitride bilayers: Ground-state energies, interlayer distances, and tight-binding description," *Phys. Rev. B - Condens. Matter Mater. Phys.*, vol. 83, no. 23, pp. 1–6, 2011.
- [10] C. C. B. Q. M. de Oliveira, *Estudo de nanoestruturas de Nitreto de Boro Hexagonal por Microscopia de Varredura por Sonda*. Minas Gerais: Universidade Federal de Minas Gerais. Tese de Doutorado, 2012.
- [11] R. Geick, C. H. Perry, and G. Rupprecht, "Normal modes in hexagonal boron nitride," *Phys. Rev.*, vol. 146, no. 2, p. 5, 1966.
- [12] A. Zunger, A. Katzir, and A. Halperin, "Optical properties of hexagonal boron nitride," *Phys. Rev. B*, vol. 13, no. 12, pp. 5560–5573, 1976.
- [13] K. Zhang, Y. Feng, F. Wang, Z. Yang, and J. Wang, "Two dimensional hexagonal boron nitride (2D-hBN): Synthesis, properties and applications," *J. Mater. Chem. C*, vol. 5, no. 46, pp. 11992–12022, 2017.
- [14] S. C. Zilio, *Óptica Moderna*. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo, 2009.
- [15] U. Noomnarm and R. M. Clegg, "Fluorescence lifetimes: Fundamentals and

- interpretations," *Photosynth. Res.*, vol. 101, no. 2–3, pp. 181–194, 2009.
- [16] B. Valeur, "Espectroscopia de absorção e de fluorescência," *Fluoresc. Mol.*, p. 18, 2005.
- [17] W. Becker, "The bh TCSPC Handbook," *Scanning*, no. 800, pp. 1–566, 2010.
- [18] E. B. Van Munster and T. W. J. Gadella, "Fluorescence Lifetime Imaging Microscopy (FLIM)," *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.*, vol. 95, pp. 143–175, 2005.
- [19] S. A. Tawfik *et al.*, "First-principles investigation of quantum emission from hBN defects," *Nanoscale*, vol. 9, no. 36, pp. 13575–13582, 2017.
- [20] G. Grosso, B. Lienhard, D. K. Efetov, and P. Jarillo-herrero, "Tunable and high purity single photon emission from atomic defects in hexagonal boron nitride," *Nat. Commun.*, vol. 8, no. 1, pp. 1–8, 2017.
- [21] T. T. Tran, *Quantum Emission from Hexagonal Boron Nitride*. Sydney: University of Technology Sydney, 2018.
- [22] A. M. Stoneham, "The theory of defects in solids," *Contemp. Phys.*, vol. 20, no. 5, pp. 535–545, 1979.
- [23] G. I. López-Morales, N. V. Proscia, G. E. López, C. A. Meriles, and V. M. Menon, "Toward the Identification of Atomic Defects in Hexagonal Boron Nitride: X-Ray Photoelectron Spectroscopy and First-Principles Calculations," *ArXiv*, vol. 1, pp. 1–5, 2018.
- [24] T. T. Tran, K. Bray, M. J. Ford, M. Toth, and I. Aharonovich, "Quantum emission from hexagonal boron nitride monolayers," *Nat. Nanotechnol.*, vol. 11, no. 1, pp. 37–41, 2016.
- [25] N. R. Jungwirth and G. D. Fuchs, "Optical Absorption and Emission Mechanisms of Single Defects in Hexagonal Boron Nitride," *Phys. Rev. Lett.*, vol. 119, no. 5, 2017.
- [26] Coherent Inc, *Operator's Manual The Coherent Mira Optima 900-F Laser*. .
- [27] . Ahmed, S. Thankiah, S. Machan, R. Hof, M. Clayton, A. Wright, G. Sibarita, J. Korte, T. Herrmann, *Fluorescence Microscopy Practical Manual*. Berlin: PicoQuant GmbH, 2016.
- [28] F. Liebold, *Steuerung und Implementierung einer Fluorescence Lifetime Imaging Apparatur*. Jena: University of Applied Sciences Jena. Tese de pre graduação, 2006.
- [29] S. Morucci, P. Noirard, and J. C. Grossetie, "Fast fitting of multi-exponential decay curves," *Opt. Commun.*, vol. 134, no. 1–6, pp. 25–30, 1997.
- [30] P. GmbH, *Fluorescence Decay Data Analysis Software*, 3.2. Berlin.
- [31] A. G. F. Garcia *et al.*, "Correction to Effective Cleaning of Hexagonal Boron Nitride for Graphene Devices," *Nano Lett.*, vol. 13, no. 5, pp. 2314–2314, 2013.
- [32] A. W. Schell, M. Svedendahl, and R. Quidant, "Quantum Emitters in Hexagonal Boron

Nitride Have Spectrally Tunable Quantum Efficiency," *Adv. Mater.*, vol. 30, no. 14, pp. 1–5, 2018.