



UFAL

INSTITUTO DE FÍSICA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
FÍSICA

**NANOTERMOMETRIA ÓPTICA COM NANOCRISTAIS DOPADOS
COM OS ÍONS ATIVOS Tm^{3+} E Ho^{3+}**

ALEXANDRO DE FARIA PEREIRA

Universidade Federal de Alagoas
Campus A. C. Simões
Tabuleiro dos Martins
57.072-900 – Maceió - AL

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS

INSTITUTO DE FÍSICA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FÍSICA

ALEXSANDRO DE FARIAS PEREIRA

**NANOTERMOMETRIA ÓPTICA COM NANOCRISTAIOS DOPADOS COM OS
ÍONS ATIVOS Tm^{3+} E Ho^{3+}**

Maceió

2016

ALEXSANDRO DE FARIAS PEREIRA

**NANOTERMOMETRIA ÓPTICA COM NANOCRISTAIS DOPADOS COM OS
ÍONS ATIVOS Tm^{3+} E Ho^{3+}**

Tese apresentada ao Instituto de Física da Universidade Federal de Alagoas, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Doutor em Física da Matéria Condensada.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Jacinto da Silva

Maceió

2016

**Catalogação na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central**

Bibliotecário Responsável: Helena Cristina Pimentel do Vale

P436n Pereira, Alexsandro de Farias.
Nanotermometria óptica com nanocristais dopados com os íons ativos Tm⁺³ e Ho³⁺
/ Alexsandro de Farias Pereira. – 2016.
150 f. : il.

Orientador: Carlos Jacinto da Silva.
Tese (doutorado em Física da Matéria Condensada) – Universidade Federal de
Alagoas. Instituto de Física. Maceió, 2016.

Bibliografia: f. 145-146.

1. Nanopartículas. 2. Nanotermometria. 3. Nanotermômetros. 4. Luminescentes.
I. Título.

CDU: 535.37



Universidade Federal de Alagoas
Instituto de Física
Programa de Pós Graduação em Física

BR 104 km 14. Campus A.C. Simões
Cidade Universitária
Tabuleiro dos Martins
57072-970 Maceió - AL, Brasil
FONE : (82) 3214-1423/FAX 3214-1645

PARECER DA BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE
TESE DE DOUTORADO

"Nanotermometria óptica com nanocristais dopados com os íons ativos Tm^{3+} e Ho^{3+} "

por

Alexsandro de Farias Pereira

A Banca Examinadora composta pelos professores Carlos Jacinto da Silva (orientador), do Instituto de Física da Universidade Federal de Alagoas, Rogéria Rocha Gonçalves, do Departamento de Química da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Andréa Simone Stucchi de Camargo Alvarez Bernardez, Instituto de Física de São Carlos da Universidade de São Paulo, Artur da Silva Gouveia Neto, do Instituto de Física da Universidade Federal de Alagoas, e Uéslen Rocha Silva, professor visitante do Instituto de Física da Universidade Federal de Alagoas consideram o candidato aprovado com grau B.

Maceió, 21 de outubro de 2016

Prof. Dr. Carlos Jacinto da Silva

Profa. Dra. Rogéria Rocha Gonçalves

Profa. Dra. Andréa Simone Stucchi de Camargo Alvarez Bernardez

Prof. Dr. Artur da Silva Gouveia Neto

Prof. Dr. Uéslen Rocha Silva

Aos meus amados pais:

Antonio Raimundo Pereira (em memória),

Delzuita Venâcio de Farias Pereira.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por mais uma graça alcançada. Pelo dom da Vida e por dar-nos sentido a ela.

Aos meus queridos e amados pais, Antonio Raimundo Pereira e Delzuita Venâcio Farias Pereira, por ter me ensinado os valores cristãos e pela dedicação em toda minha vida escolar, da alfabetização ao doutorado. Sem eles nada seria possível!

À minha amada esposa Sineide, por todo apoio e incentivo nos vários momentos que necessitei.

Às minhas irmãs, cunhados e sobrinhos por torcerem e me apoiarem nos momentos difíceis. Como também a todos os meus familiares, obrigado por todo carinho.

Ao professor Dr. Carlos Jacinto, que me orientou na realização deste trabalho, agradeço pela dedicação, paciência, confiança, disponibilidade e pelas orientações acadêmicas e humanas. Sua competência profissional e humana é um exemplo a ser seguido.

Aos professores do IF-UFAL, sobretudo aos professores Iram Marcelo, Marcos Vermelho, Evandro Gouveia, Tiago Homero, Carlos Jacinto, Solange Cavalcanti, Ítalo Oliveira, Eduardo Fonseca, que ministraram os cursos com muita responsabilidade e empenho.

Aos professores Daniel Jaque e Arthur Gouveia Neto e ao Dr. Upendra Kumar, pelas colaborações científicas neste trabalho de tese.

Aos professores Maria Tereza de Araujo, Pedro Valentim, Wagner Silva, do GFFC por todo apoio e orientação.

Aos professores da UFAL Campus Arapiraca, universidade em que fiz a graduação em Física, em especial aos professores Samuel Albuquerque e André Moura por participarem de forma efetiva na minha formação acadêmica e por me incentivarem a ingressar na pós-graduação.

A todos os meus colegas de pós-graduação, em especial Wesley Santos, Jefferson, Tasso Sales, Patricia Ysabel, Harisson, Leandro, Juarez e Leonade, obrigado pelo apoio e amizade.

Ao GFFC e ao IF por fornecerem toda a infraestrutura necessária para a realização deste trabalho.

Ao CNPq e Capes pelo apoio financeiro no projeto de pesquisa.

Enfim, aos demais professores, alunos e funcionários do Instituto de Física, que de alguma forma contribuíram para a conclusão de mais esta etapa da minha vida, meu grato e sincero muito obrigado.

RESUMO

Neste trabalho investigamos as propriedades de luminescência de nanopartículas (NPs) de Niobato de Sódio (NaNbO_3) e de Fluoreto de Lantâno (LaF_3) dopadas ou co-dopadas com diferentes íons terras-raras para potenciais aplicações em dispositivos fotônicos, em especial em bio-imagem, nanaquecedores ópticos e nanotermômetros luminescentes (NTLs) operando fora e dentro das regiões conhecidas como primeira e segunda janelas biológicas (I-JB e II-JB, respectivamente). Primeiramente investigamos as potenciais aplicações das NPs de NaNbO_3 co-dopados com $\text{Tm}^{3+}/\text{Yb}^{3+}$ como NTL de alta resolução sob excitação por três fótons. Para isso, analisamos o comportamento da razão de intensidades de fluorescência (RIF) em 480 e 486 nm do Tm^{3+} no intervalo de temperatura de 24 a 140 °C. Foi observado que a RIF apresenta um comportamento linear com a temperatura e, a partir desses dados, foi possível estimar a sensibilidade térmica desse NTL. Em seguida, foi investigado a capacidade das NPs converterem luz em calor, onde foi possível medir o aumento induzido opticamente da temperatura local na superfície das NPs. Emissão por conversão ascendente de energia em 800 nm ($^3\text{H}_4 \rightarrow ^3\text{H}_6$), sob excitação por dois-fótons, de NPs de NaNbO_3 dopadas com diferentes concentrações de Tm^{3+} (1-5 mol%) foi investigada para potenciais aplicações como NTL operando dentro das JBs e em bio-imagem fluorescentes. Para tal feito, investigamos, respectivamente, o perfil espectral da luminescência em torno de 800 nm para o intervalo de temperatura de 22-90 °C e a profundidade de penetração da excitação laser em 1319 nm. Também investigamos as potenciais aplicações da fluorescência no infravermelho de NPs de LaF_3 dopadas com diferentes concentrações de Tm^{3+} (1, 3 e 5 mol%) como NTLs de alta sensibilidade operando com emissão na II-JB e excitação na I-JB. Para isso, os valores da RIF em 1470 ($^3\text{H}_4 \rightarrow ^3\text{F}_4$) e 1230 nm ($^3\text{H}_5 \rightarrow ^3\text{H}_6$) foram analisados no intervalo de temperatura de 24 a 88 °C. Por fim, estudamos a potencial aplicação como NTL (com excitação e emissão dentro das JBs) de NPs de LaF_3 co-dopadas com $\text{Yb}^{3+}/\text{Ho}^{3+}$ baseado no perfil da emissão em torno de 1188 nm dos íons de Ho^{3+} . Em resumo, a presente tese teve como foco principal o estudo de NTLs operando nas regiões de transparência de tecidos biológicos e também na região do azul do espectro eletromagnético.

ABSTRACT

In this work, we investigated the luminescence properties of sodium niobate (NaNbO_3) and lanthanum fluoride (LaF_3) nanoparticles (NPs) doped or co-doped with different rare-earth ions for potential applications in photonic devices, in particular bio-image, optical nanoheater, and luminescence nanothermometers (LNTs) operating within and without of regions known as first and second biological windows (I-BW and II-BW, respectively). Firstly, we investigate the potential applications of $\text{Tm}^{3+}/\text{Yb}^{3+}$ codoped NaNbO_3 NPs as high-resolution LNT under three-photon excitation. For this, we analyzed the behavior of the fluorescence intensity ratio (FIR) at 480 and 486 nm (which comprise the luminescence band around 480 nm) in the temperature range of 24 to 140 °C. It was observed that the FIR shows a linear behavior with temperature and, from these data, it was possible to estimate the thermal sensitivity of the LNT. Next, we investigated the potential of the NPs to convert light into heat, where it was possible to measure the optically induced local temperature on the NPs' surface. Upconversion emission at 800 nm ($^3\text{H}_4 \rightarrow ^3\text{H}_6$) under two-photon excitation of NaNbO_3 NPs doped with different Tm^{3+} concentrations (1-5 mol%) was investigated for potential applications as LNT operating within BWs and in fluorescent bio-imaging. To this, we investigate, respectively, the luminescence spectral profile around 800 nm in the temperature range of 22-90 °C and the penetration depth of the laser excitation at 1319 nm. We also investigated the potential applications of NIR fluorescence of LaF_3 NPs doped with different Tm^{3+} concentrations (1, 3 and 5 mol%) and high sensitivity LNT operating with emission in the II-BW and excitement in the I-BW. To this end, the FIR at 1470 nm ($^3\text{H}_4 \rightarrow ^3\text{F}_4$) and 1230 nm ($^3\text{H}_5 \rightarrow ^3\text{H}_6$) were analyzed in the temperature range of 24 to 88 °C. By end, we studied the potential application as LNT (with excitation and emission within the BWs) the $\text{Yb}^{3+}/\text{Ho}^{3+}$ codoped LaF_3 NPs based on the emission profile around 1188 nm of Ho^{3+} ions. In summary, the present thesis had as primary focus the study of LNTs operating in biological tissues transparent regions and in the blue region of the electromagnetic spectrum.

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1: Intensidade de uma transição eletrônica para um conjunto de átomos em função da frequência. (a) Largura de linha em uma rede amorfa (vítreo). (b) Largura de linha em uma rede cristalina.	28
Figura 2.2: Diagrama de energia obtido por Diexe e Crosswhite para alguns íons TR em sua forma trivalente em um cristal de LaCl ₃ .	30
Figura 2.3: Diagrama simplificado de níveis de energia do Yb ³⁺ em um vidro fosfato QX/Yb.	33
Figura 2.4: Diagrama simplificado de níveis de energia com as principais transições eletrônicas do íon Tm ³⁺ .	35
Figura 2.5: Diagrama simplificado de níveis de energia com as principais transições eletrônicas do íon Ho ³⁺ .	36
Figura 2.6: Representação de seis possíveis efeitos causados pelo aumento da temperatura na luminescência. As linhas vermelhas correspondem a temperaturas mais elevadas em comparação às linhas azuis.	42
Figura 2.7: Espectros de fluorescência das nanopartículas de BaFBr:Eu ³⁺ no intervalo de temperatura 30-150 °C (de cima para baixo); sob excitação em 280 nm. Intensidade do pico de fluorescência em 388 nm (referente a transição 4f ⁶ 5d ¹ →4f ⁷ (⁸ S _{7/2})) das nanopartículas de BaFBr:Eu ³⁺ em função da temperatura, durante o aquecimento e o resfriamento.	45
Figura 2.8: Topo: Espectros de luminescência de nanopartículas de ZnS:Mn ²⁺ /Eu ³⁺ obtido para uma variação de temperatura de 30-150 °C. Parte superior esquerda: Pico da emissão em 612 nm referente a transição ⁵ D ₀ → ⁷ F ₂ do Eu ³⁺ sob excitação em 394 nm. Parte superior direita: Pico da emissão em 595 nm referente a transição ⁴ T ₁ → ⁶ A ₁ do Mn ²⁺ sob excitação em 360 nm. Inferior esquerdo: Variação da intensidade de luminescência em função da temperatura, onde o quadrado representa a emissão em 612 nm (com excitação em 394 nm) e o círculo representa a emissão em 595 nm (com excitação em 360 nm). Inferior direito: Razão entre as intensidades dos picos em 595 e 612 nm em função da temperatura.	46

Figura 2.9: Diagrama simplificado de níveis de energia que mostra as transições de interesse para a técnica razão de intensidade de fluorescência (RIF) para medir temperatura. As setas pontilhadas representam os decaimentos não radioativos, enquanto as setas solidas, simbolizadas por I_2 e I_1 , representam as intensidades das transições luminescentes para a medida da razão da intensidade de fluorescência.-----48

Figura 2.10: Célula unitária do cristal de LaF_3 . A partícula maior representa o íon La^{3+} e as pequenas representam os íons F^- .-----52

Figura 2.11: (a) Célula unitária de uma estrutura perovskita, onde no centro encontra-se o octaedro BO_6 . (b) Estrutura visualizada com vários octaedros BO_6 nos vértices.----53

Figura 2.12: (a) Processo de mistura, aquecimento e agitação da solução. (b) Solução branca obtida após o processo de mistura. (c) Centrifugação da solução branca para separar a parte sólida (precipitado) da líquida. (d) e (e) lavagem e secagem. (f) Precipitado obtido após o processo de secagem.-----56

Figura 2.13: Processo de refinamento do pó de nanopartículas de LaF_3 obtido.-----56

Figura 2.14: Etapas do processo de síntese das nanopartículas de NaNbO_3 dopadas com íons TR^{3+} . (a) Solução cristalina e homogênea obtida após uma hora das adições dos reagentes a 75 °C. (b), (c) e (d) Estágios da formação do gel, após 24, 48 e 72 horas que a solução é colocada no forno a 100 °C. e) Fase carbonizada, ao sair do forno a 400°C durante duas horas. f) Formação dos nanocristais de NaNbO_3 devido à calcinação. g) Mistura no almofariz de Ágata para formar o pó nanocristalino. h) estocagem das nanopartícula em um tubo Eppendorf.-----59

Figura 3.1: Aparato usado para os experimentos de luminescência das nanopartículas de NaNbO_3 co-dopadas com Tm/Yb.-----71

Figura 3.2: (a) e (b) Imagens de HRTEM das nanoparticulas de NaNbO_3 co-dopadas com Tm/Yb usadas neste capítulo; (c) fotografia mostrando a transparência da solução aquosa com 2 mg/ml de nanoparticulas de $\text{NaNbO}_3:\text{Tm/Yb}$. (d) Fotografia da emissão no azul da solução aquosa das nanoparticulas de $\text{NaNbO}_3:\text{Tm/Yb}$ sob excitação em 976 nm.-----72

Figura 3.3: Espectro de luminescência dos nanocristais de NaNbO_3 co-dopados com 5 mol% de Yb e 1mol% de Tm, sob excitação em 976 nm, para potencia de excitação de 100 mW e em temperatura ambiente.-----73

Figura 3.4: Esquema simplificado da representação dos processos de conversão ascendente de energia para os íons Yb^{3+} e Tm^{3+} , sob excitação em 980 nm. As setas para cima indicam excitação, as setas para baixo indicam emissão e as linhas onduladas para baixo se referem a transições não radiativas.-----74

Figura 3.5: Gráfico log-log das intensidades de emissão por conversão ascendente de energia em 480 e 800 nm em função da potencia de excitação.-----75

Figura 3.6: (a) Espectros de luminescência em torno de 480 nm para as temperaturas de 24 e 80 °C, sob excitação em 940 nm e potencia de excitação de 90 mW. (b) Razão das intensidades de fluorescência para os picos de emissões em 480 e 486 nm como função da temperatura.-----77

Figura 3.7: Detalhes da intensidade de fluorescência por conversão ascendente de energia em torno 484 para potências de excitação de 90, 280 e 560 mW, sob excitação em 940 nm e temperatura ambiente.-----81

Figura 3.8: (a) Razão da intensidade de fluorescência (RIF) dos picos 480 nm e 486 nm em função da potência de excitação e (b) correspondente variação da temperatura local induzida pela potência de excitação nas NPs de $\text{NaNbO}_3:\text{Tm/Yb}$ sob excitação em 940 nm.-----82

Figura 4.1: Aparato experimental usado nos experimentos de luminescência das nanopartículas de NaNbO_3 dopas com diferentes concentrações de Tm^{3+} .-----92

Figura 4.2: Espectros de luminescência por conversão ascendente de energia das nanopartículas de NaNbO_3 dopadas com 1 mol% de Tm^{3+} sob excitação em 1319 nm e temperatura ambiente, para três potências de excitação 300, 600 e 900 mW.-----93

Figura 4.3: Diagrama de níveis de energia simplificado para excitação e emissão por conversão ascendente de energia para sistemas dopados com íon de Tm^{3+} sob excitação em 1319 nm.-----94

Figura 4.4: Gráfico log-log da intensidade de emissão por conversão ascendente de energia em torno de 800 nm em função da potencia de excitação.-----95

Figura 4.5: Espectros de emissão por conversão ascendente de energia das nanopartículas de NaNbO_3 dopadas com 1 mol% de Tm^{3+} sob excitação laser em 1319 nm e potência de excitação de 350 mW, para três diferentes temperaturas 30, 50 e 90 °C.-----96

Figura 4.6: Área integrada da curva de emissão em torno de 800 nm (do espectro de conversão ascendente de energia) em função da temperatura, para as três concentrações de íons de Tm^{3+} (1, 3 e 5 mol%), para excitação laser em 1319 nm e potencia de bombeio de 350 mW.-----97

Figura 4.7: Espectro de emissão emitido das nanopartículas de NaNbO_3 dopadas com 1 mol% de íons de Tm^{3+} ; espectro da excitação laser em 1319 nm usado ao longo de todo este capítulo; também é incluído o coeficiente de atenuação do sangue humano (oxigenado) no intervalo espectral de 550-1470 nm. As extensões espetrais da primeira e segunda janelas biológicas também são esquematicamente indicadas.-----98

Figura 4.8: (primeira linha, da esquerda para direita) Imagens de transmissão óptica de células Hela incubadas com uma solução de NPs de $\text{CaF}_2:\text{Er}^{3+}/\text{Yb}^{3+}$, imagem de fluorescência por dois fótons, e sobreposição das duas imagens anteriores. (segunda linha, da esquerda para direita) Imagens de transmissão óptica de células Hela incubadas com uma solução de NPs de $\text{CaF}_2:\text{Tm}^{3+}/\text{Yb}^{3+}$, imagem de fluorescência por dois fótons, e sobreposição das duas imagens anteriores.-----99

Figura 4.9: Medida da intensidade de emissão em 532 nm (pontos verdes) e 790 nm (pontos vermelhos) para as NPs de CaF_2 co-dopadas com Eb/Yb e Tm/Yb , respectivamente, como função do comprimento do tecido fantasma.-----100

Figura 4.10: Espectros de emissão normalizados das NPs de NaNbO_3 dopadas com 1 mol% de Tm^{3+} , sob excitação laser em 1319 nm e potência de bombeio de 350 mW nas temperaturas de 30, 60 e 90 °C. As linhas pontilhadas são as deconvoluções com Lorentzianas dos espectros principais.-----101

Figura 4.11: Razão entre as intensidades de fluorescência (RIF) em 797 e 807 nm como função da temperatura para as nanopartículas de NaNbO ₃ dopadas com três concentrações diferentes dos íons de Tm ³⁺ (1, 3 e 5 mol%).-----	102
Figura 4.12: Sensibilidade térmica relativa em função da temperatura para as três amostras investigadas.-----	103
Figura 4.13: Temperatura local na superfície das NPs de NaNbO ₃ :1Tm induzido pelo laser de excitação, medida com a câmera térmica, em função da potência de excitação. Em detalhes são apresentadas imagens térmicas para diferentes potências de excitação.-----	104
Figura 4.14: Intensidade transmitida normalizada em 800 nm e 1319 nm em função da espessura do músculo peitoral de frango. A profundidade de penetração representada por d_i , obtido do ajuste exponencial dos dados experimentais.-----	105
Figura 5.1: Aparato experimental usado para os experimentos de luminescência das nanopartículas de LaF ₃ dopadas com diferentes concentrações de Tm ³⁺ .-----	113
Figura 5.2: (a) Espectros comparativos da luminescência das nanopartículas de LaF ₃ dopadas com 1mol% de Tm ³⁺ , sob excitação em 690 nm (em azul) e 790 nm (em vermelho), potência de bombeio de 100 mW e à temperatura ambiente. (b) Espectros de luminescência normalizados.-----	115
Figura 5.3: Diagrama simplificado dos níveis de energia do íon de Tm ³⁺ , mostrando as bandas de emissão em torno de 1470 nm e 1230 nm .-----	116
Figure 5.4: Espectros de excitação para as emissões em (superior) 1470 nm e (inferior) 1230 nm para a amostra LaF ₃ dopada com 1,0 mol% de Tm.-----	117
Figura 5.5: Espectros de luminescência no infravermelho (1100-1600 nm) das nanopartículas de niobato de sódio NaNbO ₃ dopadas com diferentes concentrações de íons de Tm ³⁺ (1, 3 e 5 mol%), sob excitação laser em 690 nm, potência de excitação de 100 mW e em temperatura ambiente.-----	119
Figura 5.6: (a) Espectros comparativos da luminescência das nanopartículas de LaF ₃ dopadas com diferentes concentrações de Tm ³⁺ (1, 3 e 5 mol%), sob excitação em 690	

nm e potência de bombeamento de 100 mW à temperatura ambiente. (b) Espectros de luminescência normalizados.-----120

Figura 5.7: Efeito da temperatura no espectro de emissão (normalizado) das nanopartículas de $\text{LaF}_3:\text{Tm}$ dopadas com as concentrações de (a) 1 mol%, (b) 3 mol% e (c) 5 mol%, sob excitação laser em 690 nm e potência de bombeamento de 100 mW, no intervalo de temperatura de 24 a 88 °C.-----122

Figura 5.8: Comportamento da taxa de relaxação por multifônon como função da temperatura para as transições (a) $^3\text{H}_5 \rightarrow ^3\text{F}_4$ e (b) $^3\text{H}_4 \rightarrow ^3\text{H}_5$ das nanopartículas de LaF_3 dopadas com íons de Tm^{3+} , para o intervalo de temperatura de 10 a 400 K.-----124

Figura 5.9: Efeito da temperatura nas intensidades de luminescência das bandas de emissão em 1230 e 1470 nm das nanopartículas de $\text{LaF}_3:\text{Tm}$ dopadas com as concentrações de (a) 1mol%, (b) 3 mol% e (c) 5mol%, sob excitação laser em 690 nm, potência de bombeio de 100 mW no intervalo de temperatura de 24 – 88 °C.-----126

Figura 5.10: Razão das intensidades 1470 e 1230 nm de fluorescência (RIF) como função da temperatura (24 a 88 °C) para as nanopartículas de LaF_3 dopadas para as três concentrações de Tm^{3+} (1, 3 e 5 mol%).-----128

Figura 5.11: Sensibilidade térmica relativa em função da temperatura para as três amostras investigadas.-----129

5.12: Sensibilidade térmica relativa e intervalo espectral de emissão de nossas NPs e para diferentes NTLs encontrados na literatura: $\text{CaWO}_4:\text{Ho/Yb}$; proteínas fluorescentes no verde (PFV); $\text{NaYF}_4:\text{Er/Yb}$; $\text{Y}_2\text{O}_3:\text{Ho/Yb}$; $\text{CaF}_2:\text{Er/Yb}$; AuNCs; $\text{CaF}_2:\text{Tm/Yb}$; $\text{NaYF}_4:\text{Nd}$; $\text{LaF}_3:\text{Nd}$; YAG:Nd; PLGA e $\text{LaF}_3:\text{Nd@Yb}$.-----130

Figura 6.1: Espectro de luminescência das nanopartículas de LaF_3 dopadas com 10 mol% de Yb^{3+} e 4 mol% Ho^{3+} sob excitação em 980 nm e temperatura ambiente.---138

Figura 6.2: Esquema simplificado da representação do processo de conversão descendente de energia (que dá origem a emissão em torno de 1188 nm), obtido a partir da transferência de energia entre os íons de Yb^{3+} e Ho^{3+} , sob excitação em 980 nm. As setas para cima e para baixo indicam respectivamente excitação e emissão e as linhas onduladas decaimento por multifônon.-----139

Figura 6.3: Espectro de excitação normalizado para a emissão em torno de 1188 nm das nanopartículas de LaF₃ co-dopadas com Yb³⁺/Ho³⁺.-----140

Figura 6.4: Espectro de emissão das nanopartículas de LaF₃ co-dopadas com os íons de Yb/Ho; espectro da excitação laser operando em 913 nm usado para aplicações em nanotermometria luminescente. Também é incluído o coeficiente de atenuação do sangue humano (oxigenado) no intervalo espectral 550-1600 nm. As extensões espetrais da primeira e segunda janelas biológicas também são esquematicamente indicadas.-----142

Figura 6.5: (a) Espectro de luminescência normalizado das NPs de LaF₃ dopadas com Yb/Ho, sob excitação em 913 nm nas temperaturas de 23, 55 e 88 °C. Mostrando em detalhe as mudanças espetrais induzidas pela a temperatura, assim como (b) a deconvolução (linhas pontilhadas) da banda de emissão centrada em 1168 nm em termos dos picos em torno de 1148 e 1188 nm.-----144

Figura 6.6: Razão das intensidades de fluorescência (RIF) em 1148 e 1188 nm como função da temperatura para as nanopartículas de LaF₃ codopadas com Yb/Ho.-----145

Figura 6.7: Sensibilidade térmica relativa da razão de intensidades de fluorescência I_{1148}/I_{1188} (RIF) em função da temperatura para o intervalo de 23-128 °C.-----146

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1: Número atômico dos elementos terras-raras, bem como as principais fontes de obtenções deles na natureza.....	25
Tabela 2.2: Elementos químicos, número atômico, configuração eletrônica neutra e trivalente e raio iônico para os lantanídeos. {Xe} corresponde à configuração eletrônica do xenônio, que é: $1s^2 2s^2 2 p^6 3s^2 3p^6 4s^2 3d^{10} 4p^6 5s^2 4d^{10} 5p^6$	27
Tabela 2.3: Reagentes usados nas sínteses nanopartículas de LaF_3	54
Tabela 2.4: Nanoparticulas de LaF_3 dopadas com TR^{3+} com suas respectivas composições químicas.....	57
Tabela 2.5: Reagentes usados nas sínteses das nanopartículas de NaNbO_3 dopadas com Tm^{3+}	58
Tabela 2.6: Nanopartítulas de NaNbO_3 dopadas com TR^{3+} e suas respectivas composições químicas.....	60
Tabela 3.1: Sensibilidade térmica para diferentes nanopartículas dopadas com diferentes íons terra-raras usadas para sensor térmico via RIF. O intervalo espectral de operação é também apresentado. Quando a temperatura não é indicada no valor da sensibilidade, é porque a sensibilidade é constante no intervalo de temperatura de operação.....	80
Tabela 5.1: Ajustes lineares (para cada concentração de Tm) da razão $R = I_{1470 \text{ nm}} / I_{1230 \text{ nm}}$ em função da temperatura, obtidos a partir dos dados experimentais.....	127

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	19
2	CONSIDERAÇÕES TEÓRICAS	24
2.1	Íons terras raras e transições eletrônicas	24
2.1.1	O íon itérbio (Yb^{3+})	32
2.1.2	O íon de túlio (Tm^{3+})	34
2.1.3	O íon de hólmlio (Ho^{3+}).....	36
2.2	Nanotermometria	37
2.2.1	Nanotermometria luminescente	40
2.2.2	Nanotermômetros Luminescentes baseados em nanopartículas dopadas com íons terra raras.	44
2.2.3	Razão de intensidade de fluorescência (RIF)	47
2.2.4	Nanomateriais de LaF_3 e de NaNbO_3	50
2.2.4.1	Nanocristais de Fluoreto de Lantânia (LaF_3)	50
2.2.4.2	Nanocristais de Niobato de Sódio (NaNbO_3).....	52
2.3	Sínteses das nanoparticulas	53
2.3.1	Sínteses de nanocristais de LaF_3 dopados com TR^{3+}	53
2.3.2	Sínteses de nanocristais de NaNbO_3 dopados com TR^{3+}	57
3.	NANOTERMOMETRIA ÓPTICA POR TRÊS-FÓTONS EM NANOCRISTAIS DE NaNbO_3 CO-DOPADOS COM $\text{Yb}^{3+}/\text{Tm}^{3+}$	69
3.1	Introdução	69
3.2	Aparato experimental	70

3.3 Resultados e discussões	71
3.4 Conclusões	83
4. NANOPARTÍCULAS DE NaNbO₃ DOPADAS COM Tm³⁺ EXCITADAS EM 1,319 µm PARA NANOTERMOMETRIA LUMINESCENTE COM ALTA PENETRAÇÃO E IMAGEAMENTO COM ALTO CONTRASTE.	88
4.1 Introdução	88
4.2 Aparato experimental	91
4.3 Resultados e Discursões	92
4.4 Conclusões	106
5. USO DAS EMISSÕES DO Tm³⁺ EM 1,22 E 1,47 µm PARA NANOTERMOMETRIA NA SEGUNDA JANELA BIOLÓGICA.....	112
5.1 Introdução	112
5.2 Aparato experimental	113
5.3 Resultados e discussões	114
5.4 Conclusão	130
6. USO DAS EMISSÕES DO Tm³⁺ EM 1,22 E 1,47 µm PARA NANOTERMOMETRIA NA SEGUNDA JANELA BIOLÓGICA.....	136
6.1 Introdução	136
6.2 Aparato experimental	137
6.3 Resultados e discussões	138
6.4 Conclusão	147
7 CONCLUSÕES FINAIS E PERSPECTIVAS	150

1. INTRODUÇÃO GERAL

A temperatura é um parâmetro fundamental cujo aferimento é primordial em uma grande variedade de áreas tais como: indústria, eletrônica, energia, biomedicina, etc. No caso particular da biomedicina a leitura precisa da temperatura é essencial uma vez que este é um dos mais críticos parâmetros que afeta a dinâmica das espécies vivas [1]. Por exemplo, quando a temperatura do corpo supera o intervalo de temperatura biológica, 34-45 °C, efeitos irreversíveis, tais como danos e alterações nas funções básicas para a vida podem ocorrer [2, 3]. Isto se dá devido à forte dependência da dinâmica celular com a temperatura. De fato, temperaturas anormais podem induzir, mudanças na polaridade e permeabilidade da membrana, desnaturação de componentes da célula (enzimas, lipídios, ácidos nucléicos, etc.), modificações na taxa de divisão celular e ativação-desativação térmica de reações intracelulares [4, 5]. Além disso, muitas doenças ou disfunções de saúde (como tumores em desenvolvimento, inflamações e problemas circulatórios) nas suas fases iniciais induzem variações relevantes na temperatura local, de modo que a detecção intra-corporal de pequenas anomalias na temperatura pode ser utilizada como procedimento eficaz para a detecção precoce de doenças [6]. Mas, sensores térmicos não só encontram aplicação em diagnóstico, mas também em procedimentos terapêuticos. Em particular, a aplicação no tratamento via hipertermia [7-10], em que células malignas são conduzidas ao nível citotóxico (acima 45°C), requer o monitoramento com alta resolução espacial da temperatura, em tempo real, a nível celular. No entanto, o monitoramento da temperatura com alta resolução espacial (sub-micrométrica) em sistemas vivos, tanto a nível celular quanto macroscópico em pequenos animais (visando aplicações *em vivo*), não é uma tarefa inviável. De fato, constitui uma área de pesquisa muito ativa e desafiadora. Entre as diferentes abordagens propostas no passado para obtenção de alta resolução de imagens térmicas de biossistemas, os resultados obtidos por nanotermômetros luminescentes são de especial interesse, por apresentarem a possibilidade de medir a temperatura com alta resolução espacial de forma não invasiva [11]. O termo nanotermômetro luminescente (NTL) refere-se à nanopartículas, com luminescência fortemente dependente da temperatura, de modo que uma análise adequada dessa luminescência pode levar a uma leitura térmica precisa com uma alta resolução espacial [12, 13].

Nos últimos anos um grande número de NTLs foram introduzidos na comunidade científica por inúmeros grupos de pesquisa, entre eles podemos destacar aqueles baseados em NPs metálicas (de ouro e prata), nanocristais semicondutores (Quantum Dots) e nanocristais dielétricos dopados com íons terras-raras [11, 12, 14-18]. Um resumo dos diferentes sistemas utilizados até agora como NTLs pode ser encontrada em [11, 12]. Entre os diferentes NTLs já demonstrados, aqueles baseados na luminescência dos íons terra-raras apresentam claras vantagens, tais como, estabilidades física e química, baixa toxicidade, linhas luminescentes estreitas e ausência de efeitos de envelhecimento, entre outros.

Na maioria dos NTLs baseados em nanopartículas dopadas com íons terras-raras, a leitura térmica torna-se possível graças à presença de linhas luminescentes simultaneamente geradas de dois níveis eletrônicos com energias próximas (separados por uma pequena diferença de energia). Quando esta diferença de energia entre os estados eletrônicos emissores ou níveis Starks são comparáveis ou menores que $k_B \times T_a = 208\text{cm}^{-1}$ (sendo k_B e T_a respectivamente, a constante de Boltzman e a temperatura ambiente), é dito que esses estados eletrônicos são níveis termicamente acoplados. Dessa forma, pequenas variações na temperatura podem produzir notáveis mudanças na redistribuição da população e consequentemente na razão entre as intensidades das diferentes emissões. Neste caso, determinação da temperatura através da análise da razão entre as intensidades de duas linhas luminescentes termicamente acopladas é possível, através da técnica conhecida como razão de intensidades de fluorescência (RIF) [19-22]. Esta possibilidade foi sucessivamente demonstrada em uma grande variedade de sistemas dopados com íons terra-raras [14, 23, 24].

Apesar de na literatura encontrarmos bons resultados *in vitro* obtidos através de NTLs que emitem na região do visível, suas aplicações em estudos *in vivo* é muito limitada devido ao seu reduzido comprimento de penetração [10, 25]. Para tentar contornar esse problema, grandes esforços foram realizados para o desenvolvimento de NTLs que trabalhem (excitação e emissão) dentro das chamadas janelas biológicas dos tecidos [26, 27]. Janelas biológicas são regiões espectrais onde os efeitos de absorção e espalhamento da luz são minimizados, ocorrendo assim uma maximização do comprimento de penetração óptica da luz.

Neste contexto a presente tese é dedicada a investigar as propriedades espectroscópicas das nanopartículas de NaNbO₃ e de LaF₃ dopadas com diferentes íons terra-raras, a fim de avaliar suas possíveis aplicações como dispositivos fotônicos, principalmente como NTLs e em bioimagem fluorescentes. Para isso, no capítulo 2 realizamos uma revisão das características gerais dos íons terra-raras, assim como de alguns íons específicos que serão usados como dopantes de nossas nanopartículas. Em seguida, são abordadas as principais características dos nanotermômetros luminescentes e da técnica RIF. Por fim, são apresentadas algumas das principais características das matrizes NaNbO₃ e de LaF₃, assim como o processo de síntese das respectivas nanopartículas.

No capítulo 3 investigamos as potenciais aplicações dos nanocrystalos de Niobato de Sódio (NaNbO₃) co-dopados com Tm/Yb como NTL de alta resolução sob excitação por três fótons. Para isso, as mudanças da forma espectral da banda de luminescência em 484 nm (¹G₄→³H₆) foram analisadas para o intervalo de temperatura de 24 a 140 °C. Já no capítulo 4, apresentaremos as potenciais aplicações da emissão por conversão ascendente de energia por excitação de dois-fótons das nanopartículas de Niobato de Sódio (NaNbO₃) dopadas com diferentes concentrações de íons de Tm³⁺ (1-5 mol%) como nanotermômetro luminescente operando dentro das janelas biológicas e em bioimagem fluorescentes. Para tal feito, serão investigados, respectivamente, o perfil espectral da luminescência em torno de 800 nm (³H₄→³H₆) para o intervalo de temperatura de 22-90 °C e a profundidade de penetração da excitação laser em 1319 nm. Em seguida no capítulo 5 realizamos um estudo sobre as potenciais aplicações da fluorescência no infravermelho de nanopartículas de LaF₃ dopadas com diferentes concentrações de Tm³⁺ (1, 3 e 5 mol%) como NTLs com alta sensibilidade operando com emissão na segunda janela biológica e excitação na primeira janela biológica. Para isso, a razão entre as intensidades em 1470 (³H₄→³F₄) e 1230 nm (³H₅→³H₆) foram analisadas no intervalo de temperatura de 24 a 88 °C. No capítulo 6, estudamos a potencial aplicação como NTL (com excitação e emissão dentro das janelas biológicas) de nanopartículas de LaF₃ co-dopadas com 10 mol% de Yb³⁺ e 4 mol% de Ho³⁺ baseado no perfil da emissão em torno de 1188 nm dos íons de Ho³⁺. Para isso, analisamos a RIF de dois subníveis Stark que compõem a banda de emissão em 1188 nm. Finalmente, no capítulo 7 apresentaremos as principais conclusões desta tese, assim como as perspectivas futuras.

REFERENCIAS

1. J. Miquel, P.R.L., K.G. Bensch, H. Atlan, *Effects of temperature on the life span, vitality and fine structure of Drosophila melanogaster*. Mech. Ageing. Dev., 1976. **5**: p. 347–370.
2. H. Minamisawa, M.-L.S., B.K. Siesjö, *The effect of mild hyperthermia and hypothermia on brain damage following 5, 10, and 15 minutes of forebrain ischemia*. Ann. Neurol. , 1990. **28**: p. 26–33.
3. L.C. Kennedy, a.e., *A new era for cancer treatment: gold-nanoparticle-mediated thermal therapies*. Small, 2011. **7**: p. 169–183.
4. D. Jaque, a.e., *Nanoparticles for photothermal therapies*. Nanoscale, 2014. **6**: p. 9494–9530.
5. P. Chakravarty, a.e., *Thermal ablation of tumor cells with anti body-functionalized single-walled carbon nanotubes*. Proc. Natl.Acad. Sci. USA 2008. **105**: p. 8697–8702.
6. A.M. Stark, S.W., *The use of thermovision in the detection of early breast cancer*. Cancer 1974. **33**: p. 1664–1670.
7. Rocha, U., et al, *Nd³⁺ doped LaF₃ nanoparticles as self-monitored photothermal agents*. Applied Physics Letters, 2014. **104**(5).
8. V.K. Tikhomirov, a.e., *Optical nanoheater based on the Yb³⁺ -Er³⁺ co-doped nanoparticles*. Opt. Expr., 2009. **17**: p. 11794–11798.
9. A. Bednarkiewicz, D.W., M. Nyk, W. Strek, , *Optically stimulated heating using Nd³⁺ doped NaYF₄ colloidal near infrared nanophosphors*. Appl.Phys. B, 2011(103): p. 847–852.
10. Maestro, L.M., et al., *Heating efficiency of multi-walled carbon nanotubes in the first and second biological windows*. Nanoscale, 2013. **5**(17): p. 7882-7889.
11. Brites, C.D., et al, *Thermometry at the nanoscale*. Nanoscale, 2012. **4**(16): p. 4799-4829.
12. Jaque, D. and F. Vetrone, *Luminescence nanothermometry*. Nanoscale, 2012. **4**(15): p. 4301-4326.
13. Fischer, L.H.H., G. S.; Wolfbeis, O. S., *Upconverting Nanoparticles for Nanoscale Thermometry*. Angewandte Chemie-International 2011. **50**(20): p. 4546-4551.

14. Kumar, K.U., et al., *Two Photon Thermal Sensing in Er³⁺/Yb³⁺ Co-Doped Nanocrystalline NaNbO₃*. Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 2013. **13**(10): p. 6841-6845.
15. N.G. Horton, a.e., *In vivo three-photon microscopy of subcortical structures within an intact mouse brain*. Nat. Photon, 2013. **7**: p. 205–209.
16. L.M. Maestro, e.a., *Nanoparticles for highly efficient multiphoton fluorescence bioimaging* Opt. Expr., 2010. **18**: p. 23544–23553.
17. S. Maiti, a.e., *Measuring sero-tonin distribution in live cells with three-photon excitation*. Science, 1997. **275**: p. 530–532.
18. X. Wang, J.Z., Y. Xuan, X. Yan, *Optical temperature sensing of NaYbF₄:Tm³⁺ @ SiO₂ core-shell micro-particles induced by infrared excitation*. Opt.Expr. , 2013. **21**: p. 21596–21606.
19. H. Berthou, C.K.J., *Optical-fiber temperature sensor based on upconversion-excited fluorescence*. Opt. Lett. , 1990. **15**: p. 1100–1102.
20. E. Maurice, a.e., *Erbium-doped silica fibers for intrinsic fiberoptic temperature sensors*. Appl.Opt. , 1995. **34**: p. 8019–8025.
21. S.A. Wade, S.F.C., G.W. Baxter, *Fluorescence intensity ratio technique for optical fiber point temperature sensing*. J. Appl. Phys., 2003. **94**: p. 4743–4756.
22. Carlos, D.S., et al., *Thermometry at the nanoscale*. 2016.
23. Fiorenzo Vetrone, e.a., *Temperature Sensing Using Fluorescent Nanothermometers*. ACS Nano, 2010. **4**(6): p. 3254-3258.
24. Oleksandr A. Savchuk, a.e., *Ho,Yb:KLu(WO₄)₂ Nanoparticles: A Versatile Material for Multiple Thermal Sensing Purposes by Luminescent Thermometry*. J. Phys. Chem. C 2015(119): p. 18546–18558.
25. Ceron, E.N., et al., *Hybrid nanostructures for high-sensitivity luminescence nanothermometry in the second biological window*. Adv Mater, 2015. **27**(32): p. 4781-7.
26. Smith, A.M.M., M. C.; Nie, S. , *Bioimaging: Second window for in vivo imaging*. Nat Nano. **4**(11): p. 710-711.
27. Rocha, U., et al, *Neodymium-Doped LaF₃ Nanoparticles for Fluorescence Bioimaging in the Second Biological Window*. Small. **10**(6): p. 1141-1154.

2. CONSIDERAÇÕES TEÓRICAS

2.1. Íons terras raras e transições eletrônicas

Os elementos terras raras (TR) segundo a convenção de IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry), consistem em um conjunto formado por dezessete elementos químicos da tabela periódica, sendo 15 deles constituídos pela família dos lantanídeos que apresentam números atômicos (Z) entre 57 (Lantânia) e 71 (Lutécio) acrescidos do Escândio ($Z = 21$) e Ítria ($Z = 39$). Nesta tese trataremos somente os íons terras raras que pertencem à família dos lantanídeos.

Historicamente a descoberta dos elementos terras raras deu-se ao final do século XVIII, quando o químico e mineralogista finlandês J. Gadolin descobriu um novo e incomum minério. Deste mineral, Gadolin conseguiu extrair uma nova “terra” (nome dado pelos cientistas da época aos óxidos metálicos) [1], que inicialmente foi denominado Yterbia em referência ao vilarejo sueco (Ytterby) onde foi encontrado, e posteriormente passou a ser chamado de Yttria. Em 1800, este novo minério passou a ser chamado de Gadolinita em homenagem a seu descobridor. Do mesmo mineral que Gadolin havia estudado anteriormente, um grupo de químicos, em 1803, ao realizar uma análise independente, descobriu um novo óxido que foi denominado Céria. Posteriormente, o químico sueco C. G. Mosander observou que Gadolinita e Céria eram constituídas de uma mistura de diferentes óxidos. Através do tratamento da Gadolinita foi possível obter os elementos Ítria, Gadolínio, Itérbio, Lutécio, Túlio e Disprósio. Já a partir da analise da Céria foi possível obter os elementos Cério, Lantânia, Samário, Európio, Praseodímio e Neodímio [2]. No entanto, somente depois da descoberta da relação entre as frequências de Raios-X e o número atômico dos elementos químicos, obtida pelo físico britânico Henry Moseley foi possível determinar que o número de elementos que constituem as terras raras eram 15 [3].

Ao contrário do que sugere o nome, os elementos “terra-raras” não são realmente raros, estando distribuídos por toda crosta terrestre. O termo “raro” deve-se a grande dificuldade de extrair os óxidos (terrás) a partir dos minerais em que são encontrados. Atualmente, os minerais mais utilizados para a extração dos elementos

terras raras são a monazita e a bastnasita. A tabela 2.1 mostra os números atômicos dos elementos terras raras e em quais minerais eles podem ser encontrados.

Tabela 2.1: Número atômico dos elementos terras-raras, bem como as principais fontes de obtenções deles na natureza.

		Elemento químico	Número Atômico (Z)	Principais Fontes de obtenção	Exemplos de mineral contendo o elemento
1		Sc (Escândio)	21	Minerais de terras raras	Thortveitita $(Sc, Y)_2Si_2O_7$
2		Y (Ítrio)	39	Minerais de terras raras	Bastnasita Ítrica YCO_3F
3	Lantânideos	La (Lantânia)	57	Monazita	Monazita – $(La, Ce, Nd)PO_4$
4		Ce (Cério)	58	Monazita	Monazita – $(La, Ce, Nd)PO_4$
5		Pr(Praseodími)	59	Monazita	Kozoita - $(Nd, La, Sm, Pr)(CO_3)(OH)$
6		Nd(Neodímio)	60	Monazita	Parasita – $Ca(Nd, Ce, La)_2(CO_3)_3F_2$
7		Pm(Promécio)	61	Não encontrado na natureza	-----
8		Sm (Samário)	62	Monazita	Françoisita – $(Nd, Y, Sm, Ce)(UO_2)_3(PO_4)_2O(OH)6(H_2O)$
9		Eu (Európio)	63	Bastnasita	Bastnasita – $(Ce, La)CO_3F$
10		Gd(Gadolínio)	64	Bastnasita	Churchita – $(Dy, Sm, Gd, Nd)(PO_4)_2(H_2O)$
11		Tb (Térbio)	65	Monazita	Bastnasita – $(Ce, La)CO_3F$
12		Dy(Disprósio)	66	Bastnasita	Agardita – $(Dy, La, Ca)Cu_6(AsO_4)_3(OH)_3(H_2O)$
13		Ho (Hólmlia)	67	Bastnasita	Bastnasita – $(Ce, La)CO_3F$
14		Er (Érbio)	68	Bastnasita	Yftisita- $(Y, Dy, Er)_4(Ti, Sn)O(SiO_4)_2(F, OH)_6$
15		Tm (Túlio)	69	Bastnasita	Bastnasita – $(Ce, La)CO_3F$
16		Yb (Itérbio)	70	Monazita	Xenotima (Yb) – $YbPO_4$
17		Lu (Lutécio)	71	Monazita	Monazita – $(La, Ce, Nd)PO_4$

Fonte: Silva, W. F., 2011[4].

O primeiro espetro de absorção dos elementos terra raras foi obtido pelo físico francês J. Becquerel no ano de 1908 [5], que utilizou sais destes elementos a baixa temperatura (por volta de 85 K). Neste espetro foi possível constatar que as linhas do espetro possuíam larguras muito estreitas, similares às observadas em átomos ou moléculas livres. Este resultado sugere que a interação que ocorre entre os íons terras raras e o campo cristalino é relativamente fraca, a tal ponto que é possível descrever (com boa aproximação) seus níveis de energia através do modelo de um átomo livre [5-7].

Quando incorporados a sólidos o estado de oxidação mais comum dos íons terra rara é o trivalente (TR^{3+}), ou seja, com três elétrons de valência a menos em relação a configuração eletrônica neutra. No entanto, alguns íons podem apresentar estados de oxidação divalente (TR^{2+}) ou tetravalente (TR^{4+}). Os íons TR em seus estados neutros (com exceção do Lantânio, Cério, Gadolínio e Lutécio) podem ter suas configurações eletrônicas representadas em termos do gás nobre Xenônio ($Z=54$) $\{\text{Xe}\}$: $1s^2 2s^2 2 p^6 3s^2 3p^6 4s^2 3d^{10} 4p^6 5s^2 4d^{10} 5p^6$, através da expressão $\{\text{Xe}\} 4f^M 6s^2$, em que os valores de M variam entre 3 a 7 ou 9 a 14. Já em sua configuração eletrônica trivalente, todos os lantanídeos podem ser representados pela relação $\{\text{Xe}\} 4f^N$, onde N assume valores entre 0 e 14, uma vez que todos os TR^{3+} possuem a mesma estrutura eletrônica nas camadas $5s^2$, $5p^6$ e $6s^2$, que são camadas preenchidas. As configurações eletrônicas dos íons TR da série dos lantanídeos em seus estados de oxidação neutro e trivalente, assim como os seus raios iônicos estimados por Hüfner [5] e por Vermelho [8] são mostrados na tabela 2.2.

Uma das propriedades ópticas e eletrônicas mais importantes dos íons terras raras é a *contração lantanídea*, que faz com que as camadas $5s$ e $5p$ (que são as mais externas) blindem a camada $4f$. Devido a isso, as propriedades espectroscópicas da camada $4f$ praticamente independem do campo ligante, o que explica a pouca influência que os espetros de energia dos TR^{3+} têm com relação a matriz hospedeira. Uma outra consequência imediata da contração é a diminuição do raio iônico à medida que o número de elétrons aumenta na camada $4f$, como pode ser visto na tabela 2.2. Isto ocorre devido à maior atração dos elétrons pelo núcleo, causada pelo aumento na carga nuclear efetiva promovida pelo aumento do número de prótons, levando a uma diminuição progressiva do volume da configuração $4f^n$. O efeito da *contração*

lantanídea foi descoberto por M.G. Mayer [9] que observou que para o começo da série lantanídica tanto a energia quanto a parte espacial das funções de onda da camada $4f$ caíam rapidamente.

Tabela 2.2: Elementos químicos, número atômico, configuração eletrônica neutra e trivalente e raio iônico para os lantanídeos. {Xe} corresponde à configuração eletrônica do xenônio, que é: $1s^2 2s^2 2 p^6 3s^2 3p^6 4s^2 3d^{10} 4p^6 5s^2 4d^{10} 5p^6$.

	Elemento químico	Z	Configuração eletrônica neutra	Raio Iônico TR ³⁺ [5]	Raio Iônico TR ³⁺ [8]	TR ³⁺
1	La (Lantânio)	57	{Xe} $6s^2 4f^0 5d^1$	1,15	1,06	$4f^0$
2	Ce (Cério)	58	{Xe} $6s^2 4f^1 5d^1$	1,02	1,034	$4f^1$
3	Pr(Praseodímio)	59	{Xe} $6s^2 4f^3$	1,00	1,013	$4f^2$
4	Nd(Neodímio)	60	{Xe} $6s^2 4f^4$	0,99	0,995	$4f^3$
5	Pm(Promécio)	61	{Xe} $6s^2 4f^5$	0,98	-	$4f^4$
6	Sm (Samário)	62	{Xe} $6s^2 4f^6$	0,97	0,964	$4f^5$
7	Eu (Európio)	63	{Xe} $6s^2 4f^7$	0,97	0,950	$4f^6$
8	Gd(Gadolínio)	64	{Xe} $6s^2 4f^7 5d^1$	0,97	0,938	$4f^7$
9	Tb (Térbio)	65	{Xe} $6s^2 4f^9$	1,00	0,923	$4f^8$
10	Dy(Disprósio)	66	{Xe} $6s^2 4f^{10}$	0,99	0,908	$4f^9$
11	Ho (Hólvio)	67	{Xe} $6s^2 4f^{11}$	0,97	0,894	$4f^{10}$
12	Er (Érbio)	68	{Xe} $6s^2 4f^{12}$	0,96	0,881	$4f^{11}$
13	Tm (Túlio)	69	{Xe} $6s^2 4f^{13}$	0,95	0,870	$4f^{12}$
14	Yb (Itérbio)	70	{Xe} $6s^2 4f^{14}$	0,94	0,930	$4f^{13}$
15	Lu (Lutécio)	71	{Xe} $6s^2 4f^{14} 5d^1$	0,93	0,850	$4f^{14}$

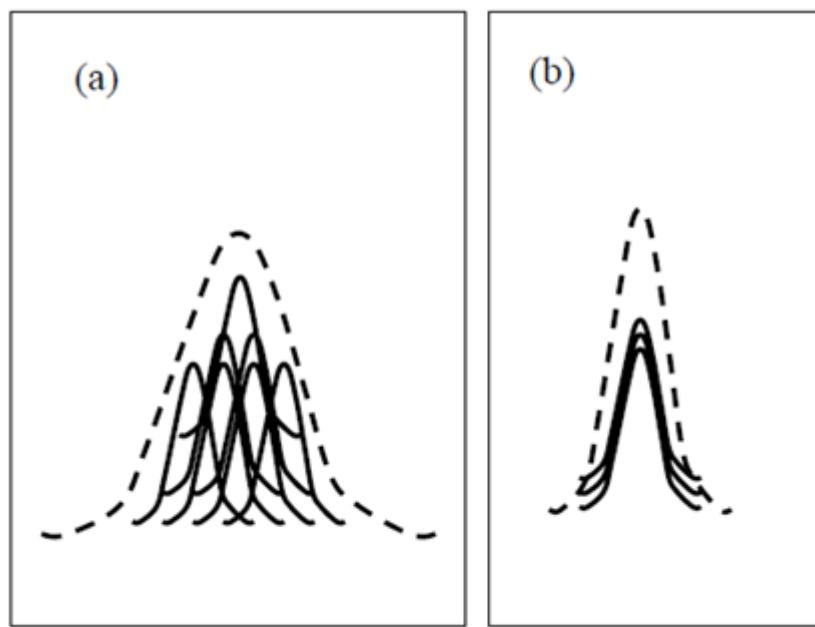
Fonte: Silva, W. F., 2011 [4].

Uma consequência imediata da blindagem da camada $4f$ é que as linhas de emissão e absorção dos íons TR não devem sofrer efeitos significantes em relação à matriz hospedeira. Pois esta blindagem impede que o campo cristalino interaja fortemente com os elétrons da camada $4f$, consequentemente, levando a uma diminuição nas perturbações sofridas pelos seus níveis de energia, o que resulta em transições eletrônicas (praticamente) discretas dentro da camada $4f$. Entretanto, quando as intensidades das transições eletrônicas são medidas experimentalmente, observa-se um

alargamento nas mesmas. Isso se deve ao fato de que, agora não estamos mais analisando o comportamento de um átomo individual, mas de vários átomos interagindo tanto entre se quanto com a sua vizinhança. Dessa forma, este alargamento vai depender diretamente do número de átomos interagido, assim como, da não uniformidade do campo cristalino da matriz hospedeira.

Como consequência disso, os íons TR, quando inseridos em matrizes amorfas (como por exemplo, um vidro), apresentam largura de linha maior do que quando incorporados a matrizes cristalinas [10]. Isso acontece, porque em uma rede amorfa cada íon sofre, de forma diferente, a perturbação do campo a sua volta, o que leva a larguras de linha ligeiramente diferentes para cada íon [11] (como pode ser observado na figura 2.1 (a)). Por outro lado, em uma rede cristalina, devido à periodicidade da rede, cada íon é afetado da mesma forma pelo campo cristalino ao seu redor, e as larguras de linha são praticamente iguais para cada íon (como pode ser observado na figura 2.1 (b)).

Figura 2.1: Intensidade de uma transição eletrônica para um conjunto de átomos em função da frequência. (a) Largura de linha em uma rede amorfa (vítreo). (b) Largura de linha em uma rede cristalina.



Fonte: Adaptada de Barreto, P. G, 2009 [12].

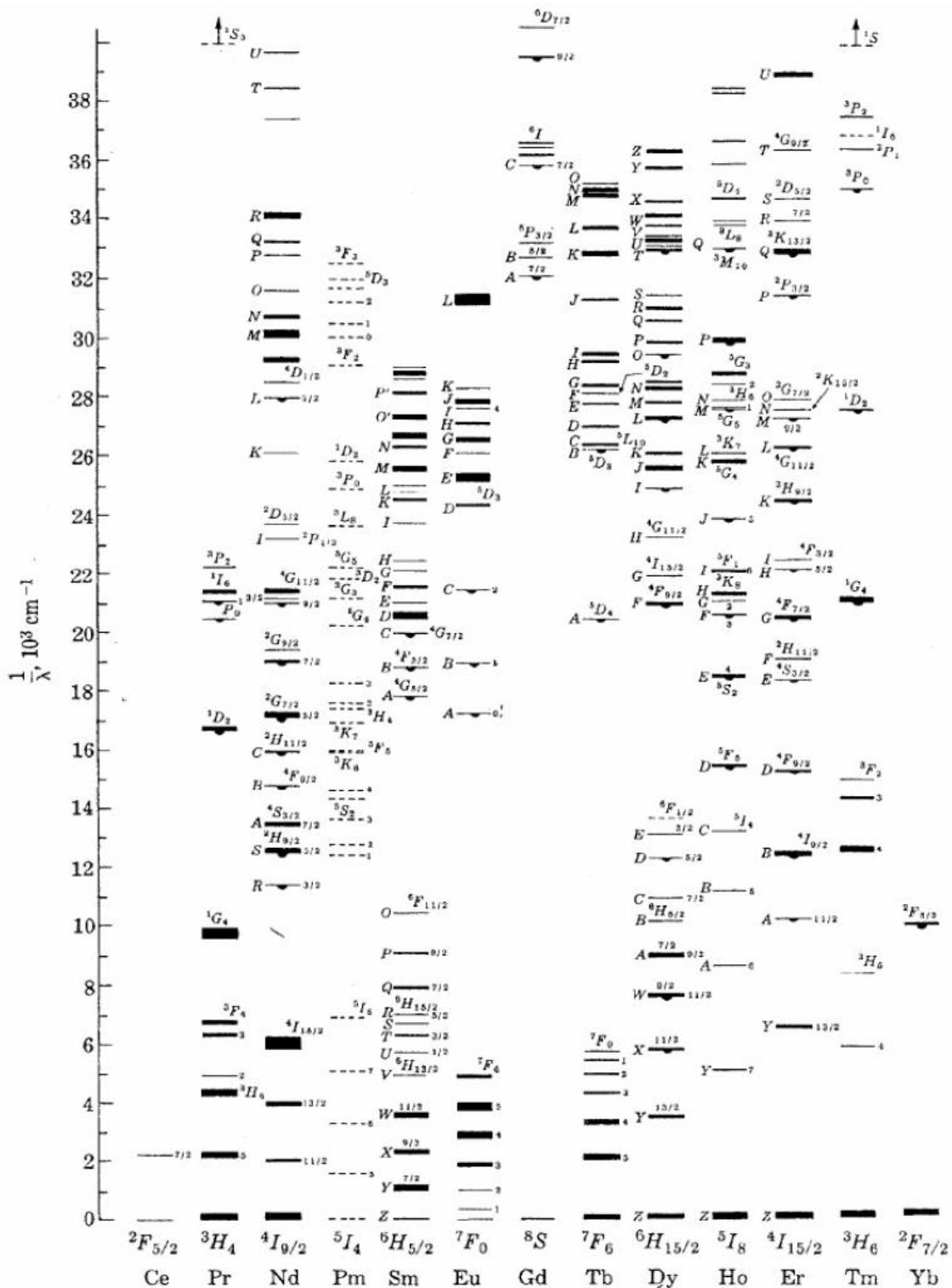
As propriedades relacionadas às transições eletrônicas que ocorrem entre os níveis de energia de certos átomos são denominadas de propriedades espectroscópicas.

Estas transições, no caso dos íons terra raras, podem ocorrer dentro da própria camada $4f$ (também conhecidas como transições do tipo $f-f$), assim como da camada $4f$ para a mais externa $5d$, dando origem a banda $4f^{n-1}5d$ [13].

O fenômeno de luminescência ocorre nos íons TR^{3+} principalmente devido às transições elétricas do tipo dipolo elétrico [14]. Entretanto, segundo a regra de Laporte [15] as únicas transições possíveis são as acompanhadas de mudanças de paridade. Dessa forma, as transições dentro da camada $4f$ seriam proibidas, a menos que aconteça uma mistura dos estados $4f^n$ com outros de paridade diferente, como por exemplo, os dos estados $4f^{n-1}5d$. Porém, no ano de 1937 Van Vleck publicou um trabalho [16] no qual propôs que as linhas de emissão dos íons TR^{3+} ocorriam provavelmente devido a transições dentro da configuração $4f^n$, aconteciam devido a um mecanismo de dipolo elétrico forçado. Mas somente em 1962 com a proposta da teoria de Judd-Ofelt [17, 18], foi possível mostrar que na verdade as transições do tipo $f-f$ via dipolo elétrico eram permitidas, desde que o íon terra rara esteja em torno de um sítio cristalográfico não centro-simétrico. Pois dessa forma, ocorre uma quebra da paridade causada pela influência da rede cristalina, uma vez que, ocorre uma mistura dos estados $4f^n$ com aqueles de paridade diferentes do campo cristalino. Nesta situação, a transição é denominada de transição por dipolo elétrico forçado [19].

No ano de 1963 Diexe e Crosswhite [20] conseguiram montar o espectro de níveis de energia da camada $4f$ dos íons terra raras trivalentes. Para isso, foi necessário considerar a influência do campo cristalino nos níveis de energia, assim como, a interação entre o momento angular orbital e de spin de cada elétron. Além disso, foi usada a regra de Hund para distribuir os níveis de energia dentro da camada em que estes elétrons estavam inseridos. O diagrama de níveis de energia dos íons TR^{3+} em um cristal de LaCl_3 obtido por Diexe e Crosswhite é mostrado na figura 2.2.

Figura 2.2: Diagrama de energia obtido por Diexe e Crosswhite para alguns íons TR em sua forma trivalente em um cristal de LaCl_3 .



Fonte: Diexe, G. H., 1963 [20].

Ao estudar a estrutura dos níveis de energia dos íons terra raras, somente as transições entre elétrons da camada $4f$ são consideradas relevantes. Isso ocorre devido à simetria esférica das demais camadas eletrônicas, o que faz seus efeitos sobre os elementos da camada $4f$ serem iguais, tornando assim suas contribuições desprezíveis para as posições relativas dos níveis de energia $4f$ [4, 7, 21]. Dessa forma, podemos expressar matematicamente a Hamiltoniana que determina a estrutura dos níveis de energia da camada $4f$ como [5]:

$$H = \overbrace{-\frac{\hbar^2}{2m_e} \sum_{i=1}^N \nabla_i^2 - \sum_{i=1}^N \frac{Z^* e^2}{r_i}}^{H_{CC}} + \overbrace{\sum_{i < j}^N \frac{e^2}{r_{ij}}}^{H_C} + \overbrace{\sum_{i=1}^N \zeta(r_i) \vec{S}_i \cdot \vec{L}_i}^{H_{SO}} \quad (2.1)$$

Em que N é o número de elétrons na camada $4f$ e assume valores entre 1 e 14; ao desprezarmos as camadas eletrônicas fechadas Z^* representa a carga blindada (efetiva) no núcleo; r_i é a distância entre o elétron i e o núcleo; já r_{ij} é a distância entre os elétrons i e j ; \vec{S}_i e \vec{L}_i são respectivamente o momento de spin e o momento angular do elétron i , enquanto que $\zeta(r_i)$ é a função de acoplamento spin-órbita, expressa por:

$$\zeta(r_i) = -\frac{\hbar^2}{2m_e c^2 r_i} \frac{dU(r_i)}{dr_i} \quad (2.2)$$

Onde $U(r_i)$ é o potencial no qual o elétron está submetido.

O tratamento mais indicado na abordagem da Hamiltoniana H pode ser feito considerando que cada elétron se move de forma independente sob a influencia de um potencial esfericamente simétrico formado pela superposição do potencial médio de todos os outros elétrons e pelo núcleo. Tal abordagem é conhecida como aproximação de campo central ou aproximação de ordem zero. Na equação 2.1 o primeiro e segundo termos da Hamiltoniana (cuja soma é simbolizada por H_{CC}) representam, respectivamente, a energia cinética dos elétrons que ocupam a camada $4f$ e a sua interação Coulombiana com o núcleo. Uma vez que os dois primeiros termos da Hamiltoniana são esfericamente simétricos, dentro da configuração dos elétrons da camada $4f$, nenhuma degenerescência é eliminada, ou seja, todos os estados desta configuração têm energias iguais. Dessa forma, a estrutura dos níveis de energia dos elétrons da camada $4f$ está diretamente relacionada aos dois últimos termos na equação 2.1. Estes termos representam, respectivamente, à interação Coulombiana mútua dos

elétrons da camada $4f$ (H_C) e sua interação spin-órbita (H_{SO}). Além disso, na aproximação de campo central estes dois termos são tratados como perturbações no sistema.

Na teoria atômica podem ser estudados dois importantes casos limites relacionados as intensidades relativas dos hamiltonianos H_C e H_{SO} . O primeiro caso acontece quando $H_C \gg H_{SO}$, que é conhecido como *acoplamento Russel-Saunders* ou *acoplamento LS*. Isso ocorre quando a interação spin-órbita é suficientemente fraca, a tal ponto que possa ser considerada somente uma pequena perturbação sobre a estrutura dos níveis de energia. O segundo caso conhecido como *esquema de acoplamento j – j* ocorre quando $H_C \ll H_{SO}$, ou seja, quando a interação spin-órbita apresenta maior intensidade em relação a interação Coulombiana . No caso dos íons terra raras existe um caso intermediário conhecido como *acoplamento intermediário* [5], em que H_C e H_{SO} possuem a mesma ordem de magnitude.

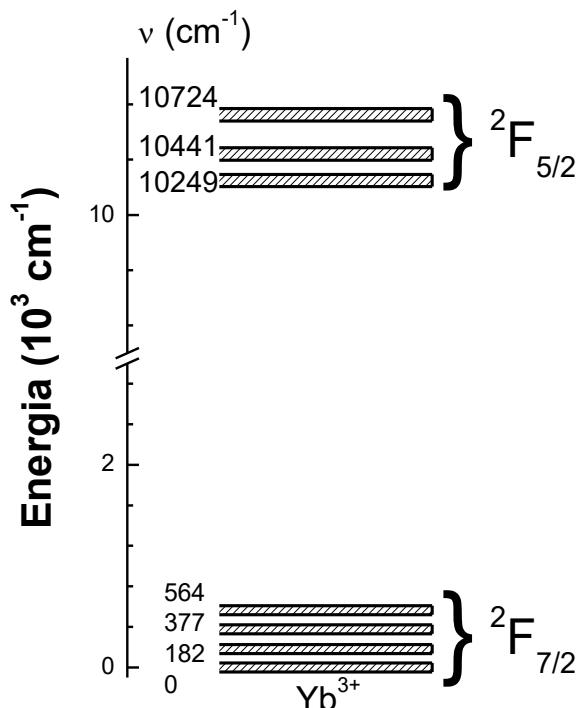
Como foi apresentado nesta seção, existem diversos parâmetros que influenciam nas propriedades espectroscópicas dos íons terra raras. Na próxima seção estudaremos estas propriedades de uma forma mais específica, para cada íon TR de interesse nesta tese.

2.1.1 O íon itérbio (Yb^{3+})

O itérbio (Yb) é um íon terra rara da série dos lantanídios, tem número atômico 70 e possui configuração eletrônica $\{\text{Xe}\}6s^24f^{14}$. Este elemento quando incorporado em matrizes vítreas ou cristalinas normalmente é encontrado no estado trivalente Yb^{3+} , ou seja, a camada $4f$ é parcialmente preenchida com 13 elétrons, sendo necessário apenas mais um elétron para completá-la. A ausência desse elétron na camada $4f$ pode ser tratado como um buraco ativo que será responsável pelas transições eletrônicas nesse íon. Entre os terras raras o íon Yb^{3+} é considerado o que apresenta a mais simples das estruturas eletrônicas, possuindo apenas dois níveis (com suas degenerescências) associadas a camada $4f$.

A figura 2.3 mostra o diagrama de níveis de energia simplificado do íon Yb^{3+} que consiste em apenas dois níveis de energia. O nível $^2\text{F}_{7/2}$ é o estado fundamental, enquanto $^2\text{F}_{5/2}$ corresponde ao estado excitado. Estes níveis encontram-se separados em energia por aproximadamente 10.000 cm^{-1} (980 nm). Como pode ser visto na figura 2.3 existe um desdobramento eletrônico nos níveis de energia. O estado fundamental desdobra-se em quatro subníveis e o estado excitado em três. Devido à essa estrutura de níveis de energia, com suas respectivas degenerescências, o íon Yb^{3+} pode ser utilizado como um sistema laser de quase três níveis. Em 1965 foi demonstrado pela primeira vez por E. Sniter [22] ação laser em uma amostra vítreia dopada com Yb^{3+} .

Figura 2.3: Diagrama simplificado de níveis de energia do Yb^{3+} em um vidro fosfato QX/Yb [23].



Fonte: Santos, W.Q., 2015 [2].

Uma importante propriedade do íon Yb^{3+} é que ele consegue transferir energia de forma muito eficiente [24], o que o torna um ótimo sensibilizador (doador) em sistemas co-dopados. Isso se deve principalmente ao fato de possuir um diagrama de níveis eletrônico bastante simplificado em relação a outros íons com um maior número de níveis de energia, evitando assim problemas como absorção de estado excitado e relaxação cruzada (entre outros). Além disso, permite um eficiente armazenamento de

energia [25] devido ao estado excitado $^2F_{5/2}$ possuir um tempo de vida relativamente longo (podendo ser da ordem de ms).

O íon Yb^{3+} possui um espectro de absorção largo (900 a 1030 nm) centrada em torno de 980 nm, que permite que ele seja facilmente excitado com laser de diodo comercial, que possibilitar baixos custos de operação.

2.1.2 O íon de túlio (Tm^{3+})

O túlio (Tm) é um íon terra rara da série dos lantanídos, tem número atômico 69 e possui configuração eletrônica $\{\text{Xe}\}6s^24f^{13}$. Na natureza, o íon de túlio é geralmente encontrado em sua forma eletrônica neutra. No entanto, quando são incorporados a uma matriz hospedeira a sua forma trivalente (Tm^{3+}) torna-se a mais estável, como consequência a configuração eletrônica da camada 4f com doze elétrons é a responsável pelas transições eletrônicas neste íon.

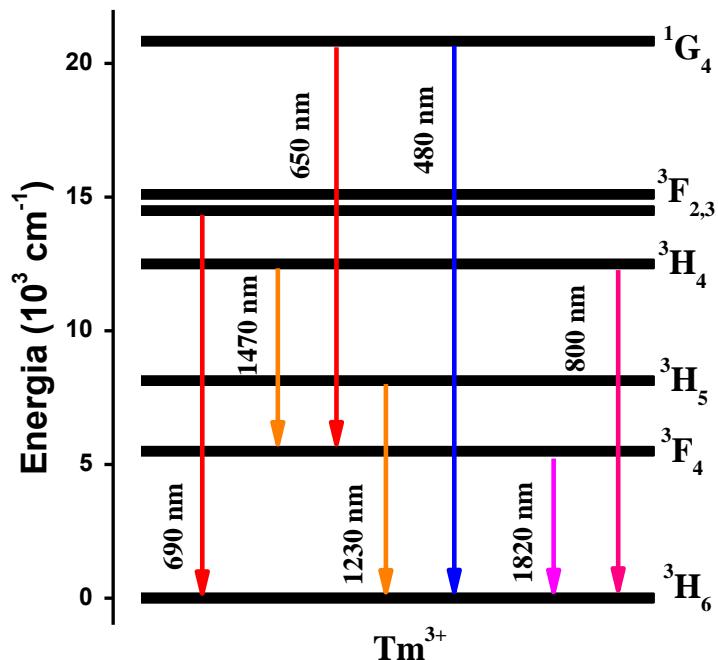
O Tm^{3+} diferentemente do Yb^{3+} possui uma estrutura de níveis de energia bem mais complexa, tendo diversas bandas de absorção que vão desde a região do ultravioleta até o infravermelho [26]. Consequentemente, o íon apresenta um grande número de emissões em diversas regiões do espectro eletromagnético. A figura 2.4 mostra a estrutura de níveis de energia, assim como algumas de suas principais transições eletrônicas.

O íon de túlio possui importantes transições eletrônicas que podem ser usadas para diversas aplicações tecnológicas a depender do meio em que é incorporado. A transição eletrônica $^3F_4 \rightarrow ^3H_6$ (1800 nm) é bastante utilizada na fabricação de laser de estado sólido, como por exemplo, no laser $\text{Tm}:YAG$ [27, 28]. Uma das principais vantagens dessa transição deve-se ao fato da mesma corresponder a uma banda de emissão larga, tornando possível a ação laser com comprimento de onda sintonizável entre 1650 a 2050 nm.

Outra emissão característica do Tm^{3+} corresponde à transição eletrônica $^1G_4 \rightarrow ^3H_6$. Esta emissão desperta grande interesse, uma vez que é possível obter luz

laser azul que é muito importante devido ao grande número de aplicações da mesma em comunicação submarina e armazenamento ótico de informação [29].

Figura 2.4: Diagrama simplificado de níveis de energia com as principais transições eletrônicas do íon Tm³⁺.



Fonte: Autor, 2016.

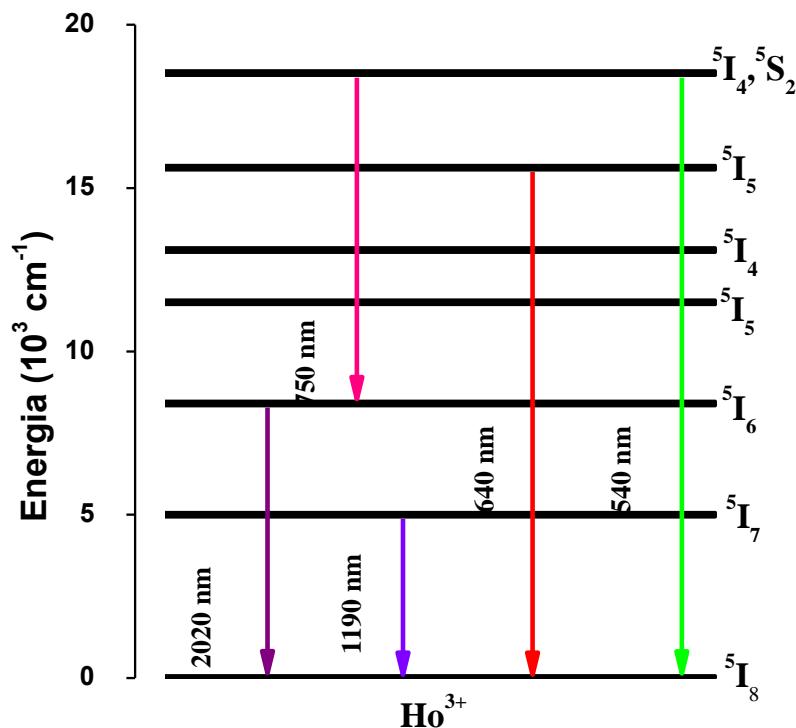
O Tm³⁺ ainda apresenta importantes emissões na região do infravermelho próximo que correspondem as transições $^3\text{H}_4 \rightarrow ^3\text{H}_6$ (800 nm), $^3\text{H}_5 \rightarrow ^3\text{H}_6$ (1230 nm) e $^3\text{H}_4 \rightarrow ^3\text{F}_4$ (1470 nm). Recentemente, foi demonstrado que nanopartículas de CaF₂:Tm podem ser utilizadas como nanotermômetros com alta resolução espacial e alta penetração [30]. Já as transições em torno de 1230 nm e 1470 nm possuem diversas aplicações em sistemas de telecomunicações, como por exemplo, amplificadores ópticos [31].

2.1.3 O íon de hólmio (Ho^{3+})

O elemento químico hólmio (Ho) é um terra rara da série dos lantanídeos, possui número atômico 67 e configuração eletrônica $\{\text{Xe}\}6s^24f^{11}$. Quando os íons de hólmio são incorporados à matrizes hospedeiras a sua forma eletrônica mais estável é a trivalente (Ho^{3+}). As transições eletrônicas neste íon ocorrem devido a configuração eletrônica da camada 4f, parcialmente preenchida com 10 elétrons.

O Ho^{3+} semelhantemente ao Tm^{3+} tem uma estrutura de níveis de energia bem complexa quando comparado ao Yb^{3+} . Assim como o Tm^{3+} , o Ho^{3+} possui um grande número de emissões em diversas regiões do espectro eletromagnético. Podemos observar na figura 2.5 a estrutura de níveis de energia do íon Ho^{3+} , assim como algumas de suas principais transições eletrônicas na região do visível e infravermelho.

Figura 2.5: Diagrama simplificado de níveis de energia com as principais transições eletrônicas do íon Ho^{3+} .



Fonte: Autor, 2016.

O íon hólmio apresenta importantes transições eletrônicas, entre estas uma que desperta grande interesse que é a $^5I_7 \rightarrow ^5I_8$ (em torno de 2020 nm) devido a sua ação laser com potenciais aplicações em radar laser e medicina (em cirurgias) [32]. O Hólmio ainda apresenta importantes emissões na região do visível do espectro eletromagnético, que correspondem às transições $^5I_4 \rightarrow ^5I_8$ (540 nm) e $^5I_5 \rightarrow ^5I_8$ (640 nm) que podem ser aplicadas na geração de luz branca. Além disso, quando o íon Ho^{3+} é incorporado a nanopartículas estas emissões podem ser usadas para bioimagens fluorescentes [33] e nanosensor de temperatura [34].

Na seção seguinte abordaremos as principais características dos nanotermômetros luminescentes baseados em nanopartículas dopadas com íons terra raras.

2.2. Nanotermometria.

A temperatura é uma variável fundamental na termodinâmica e na mecânica estatística [35]. O instrumento utilizado para medir a temperatura (ou a variação de temperatura) de um determinado sistema é chamado de termômetro. Um termômetro é um dispositivo que é capaz de medir temperatura ou um gradiente de temperatura, sendo basicamente constituído por dois elementos. O primeiro é o sensor de temperatura, que faz uso de alguma grandeza física dependente da temperatura (como, por exemplo, o volume de um gás ou líquido mantido a pressão constante, a resistência elétrica de condutores metálicos, etc). O segundo elemento converte estas variações em valores numéricos de temperatura. Os primeiros termômetros foram desenvolvidos por vários cientistas (entre eles Galileo) entre os séculos XVI e XVII. Naquela época, os termômetros eram construídos com base no princípio de que determinadas substâncias (tal como ar e água) se expandiam quando aquecidas [36].

Atualmente, o processo de determinação da temperatura é crucial em inúmeras investigações científicas e desenvolvimentos tecnológicos, representando cerca de 75% a 80% do mercado de sensores em todo o mundo [37]. No entanto, com os avanços recentes em nanotecnologia e nanomedicina surge à necessidade de uma termometria (parte da física voltada ao estudo da temperatura e dos termômetros) mais precisa e com

alta resolução espacial, apta para determinar a temperatura de sistemas no regime de micro e nano-escala (nanotermometria), em que os métodos convencionais não permitem realizar medidas.

O processo de desenvolvimento de termômetros capazes de aferir a temperatura com alta resolução espacial (neste caso chamados de nanotermômetros) tem sido um tópico de pesquisa muito desafiador [35, 38-40], pois não está relacionado somente ao processo de miniaturização, mas também da capacidade de manipular novas propriedades químicas e físicas dos materiais, que são modificadas para uma escala de comprimento tão pequena [41]. A medição da temperatura em nano-escala (nanotermometria) diz respeito à determinação da temperatura local (ou variação de temperatura) de um dado sistema com resolução espacial sub-micrométrica [35]. Tais medidas são necessárias para o completo entendimento de sistemas micrométricos e nanoestruturados, onde a dinâmica e desempenho são fortemente influenciados pela temperatura. Aplicações onde é importante ser capaz de medir a temperatura local em nano-escala podem ser divididas (em uma primeira aproximação) em três grades áreas: biomedicina, micro/nano-eletrônica e dispositivos fônicos integrados [40].

Biomedicina – Em qualquer sistema biológico a temperatura apresenta um papel de extrema importância em propriedades dinâmicas [42-44]. Por exemplo, a temperatura é um dos parâmetros críticos e fundamentais na taxa de divisão celular e crescimento dos tecidos, mudanças nas atividades metabólicas e reações enzimáticas. A temperatura também influencia de forma significativa as propriedades estruturais de biomoléculas importantes como, por exemplo, as proteínas que podem sofrer processo de desnaturação, quando suas temperaturas sobem poucos graus acima de 37 °C [45]. Dessa forma, para compreender a dinâmica de biosistemas é fundamental o monitoramento da temperatura. Além disso, o monitoramento térmico em biosistemas é de extrema importância para detecção precoce e tratamento de doenças. Uma vez que, em geral, as células cancerígenas possuem temperatura mais elevada que as células normais (devido ao seu aumento da atividade metabólica) [46, 47], o monitoramento preciso da temperatura pode ajudar de forma significativa na percepção de uma patologia e fisiologia e, por sua vez, otimizar o diagnóstico precoce em processos terapêuticos (por exemplo, tratamento hipertermal de tumores e terapia fotodinâmica) [48, 49]. Portanto, em biomedicina a nanotermometria pode desempenhar um papel fundamental no monitoramento, diagnóstico e tratamento de doenças.

Micro/nano-eletrônica – Com o processo de miniaturização dos canais de condução elétrica dos dispositivos eletrônicos, o aquecimento local (via efeito Joule) torna-se um problema fundamental. Dessa forma, qualquer alteração na resistência elétrica local desses canais podem levar ao aparecimento dos chamados “pontos quentes”, que são aumentos da temperatura em regiões bem localizadas. Assim, a fim de prevenir danos significativos na estrutura destes materiais [50], é essencial a determinação precisa da localização de tais singularidades. Todavia, o processo de determinação tanto da localização quanto da magnitude dessas singularidades térmicas, a princípio não é uma tarefa fácil, uma vez que dependem da qualidade dos circuitos e da estrutura do dispositivo. Assim, na micro/nano-eletrônica, a nanotermometria pode se tornar uma ferramenta essencial para detecção dos “pontos quentes” em circuitos integrados [51].

Dispositivos fotônicos integrados (fotodispositivos) – Uma vez que a qualidade de funcionamento destes sistemas depende das propriedades ópticas que constituem o material, a temperatura torna-se um parâmetro extremamente importante em seu desempenho. Isso ocorre, por exemplo, no processo de controle e manipulação da luz em vários dispositivos fotônicos, que são realizados através de variações submicrométricas do índice de refração, que é um parâmetro físico fortemente dependente da temperatura [51, 52]. Não é apenas o índice de refração que possui uma forte dependência com a temperatura, mas também parâmetros como a eficiência de conversão óptica de conversores não lineares [53], o ganho óptico de lasers integrados e as propriedades espectrais da estrutura do “band-gap”. Diante disso, fica claro a importância do controle preciso da temperatura no interior dos dispositivos fotônicos integrados, uma vez que qualquer variação da temperatura pode afetar diretamente o seu desempenho, ou até mesmo causar danos irreversíveis [54]. Dessa forma, a nanotermometria pode ser considerada uma ferramenta indispensável para obter a leitura das singularidades na temperatura induzidas durante o processo de funcionamento de equipamentos fotônicos integrados, sendo então primordial para o desenvolvimento de dispositivos mais confiáveis e eficientes.

Como acabamos de ver, nanosensores de temperatura possuem diversas aplicações. No entanto, infelizmente um nanotermômetro universal não existe, uma vez que diferentes aplicações exigem diferentes propriedades. Por exemplo, as propriedades necessárias que um nanotermômetro deve satisfazer para aplicações biológicas são

muito diferentes das características necessárias para imageamento térmico em dispositivos de fluidos-ópticos. Para aplicações em biosistemas, os nanotermômetros devem ser solúveis em água (para serem incorporados ao sistema analisado), biocompatíveis (não tóxicos) e muito estáveis sob a irradiação da luz. Já em fluidos-ópticos a toxicidade não é um fator crítico, mas devido às altas intensidades da radiação laser alcançadas dentro dos micro-canais, as estabilidades física e química com respeito à radiação laser tornam-se aspectos essenciais.

Nos últimos anos, motivados principalmente por suas aplicações práticas, muitos pesquisadores têm focado no desenvolvimento de técnicas capazes de medir a temperatura com resolução sub-micrométrica [55]. De modo geral, os principais métodos para a determinação da temperatura com alta resolução espacial podem ser divididos em dois: termometria de contato (quando ocorre contato direto com o meio) e termometria sem contato (também conhecido como não invasiva) [38]. Termometria de contato requer o uso de fiação elétrica, que pode produzir fortes ruídos eletromagnéticos (juntamente com perigosas faíscas) e não podem ser aplicados em ambientes corrosivos [36]. Por causa dessas limitações, a termometria sem contato foi desenvolvida [56] e, entre essas, aqueles que usam diferentes propriedades da luz constituem métodos promissores na determinação da temperatura com alta resolução espacial. No entanto, alguns destes métodos possuem limitações graves. A principal delas é que a maioria permite a medição da temperatura somente na superfície da amostra [57]. Além disso, métodos como termografia no infravermelho e termoreflectância mostram resolução espacial restrita [58, 59]. Por outro lado, espectroscopia Raman pode somente ser aplicado em materiais que mostram um efeito Raman eficiente e, portanto, é restrita a alguns poucos sistemas [60, 61].

Neste contexto, termometria luminescente (no visível e infravermelho) em nano-escala surgiu como uma alternativa para contornar muitas dessas limitações, uma vez que viabiliza maior resolução espacial em medidas da temperatura no interior de um corpo quando as nanopartículas luminescentes são interiorizadas, uso em altas temperaturas e determinação da temperatura na presença de campos eletromagnéticos intensos sem efeitos de interferências [38, 40].

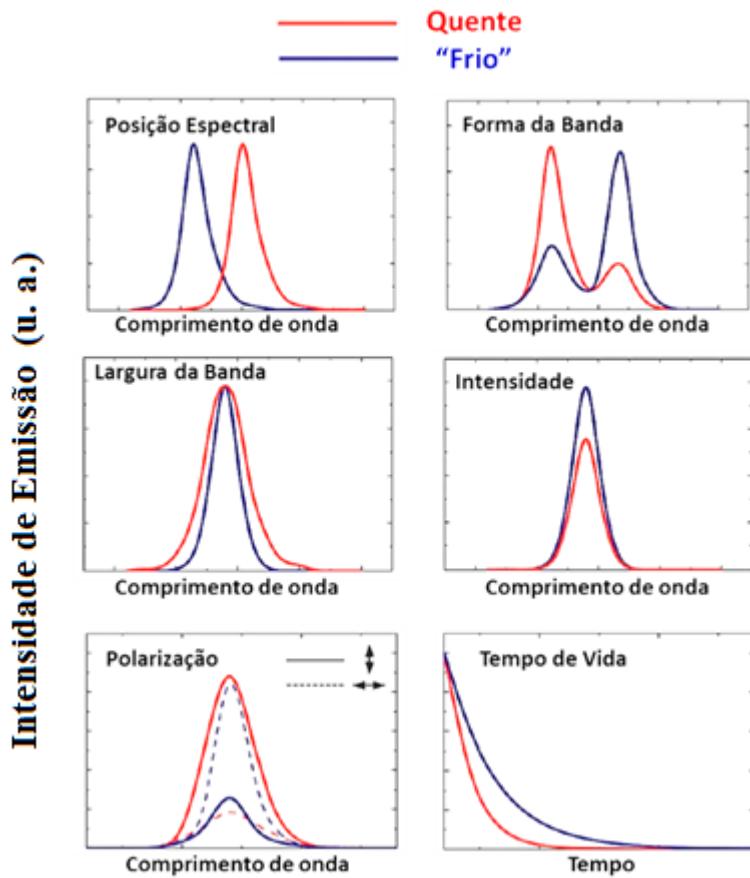
2.2.1 Nanotermometria Luminescente

Nanotermômetros luminescentes (NTLs) [38-40] são definidos como nanopartículas (com tamanho menores que 100 nm) cuja luminescência é fortemente afetada por pequenas variações da temperatura. Dessa forma, uma das propriedades espectrais da sua luminescência pode ser usada para determinar à temperatura das nanopartículas, assim como, a temperatura local do sistema em que as mesmas são incorporadas. Os NTLs podem ser classificados de acordo com o parâmetro de luminescência que é analisado para obter a leitura térmica. Os seis principais parâmetros que definem a luminescência de um dado material são: intensidade; forma da banda; posição espectral; polarização; tempo de vida e largura de banda. A figura 2.6 mostra esquematicamente como o espectro de luminescência é modificado quando cada um desses parâmetros é afetado pela temperatura. Assim, baseado em cada um destes seis parâmetros é possível definir as seguintes subclasses de NTLs [40]:

Nanotermometria Luminescente baseada na forma da banda de emissão. Neste caso, o parâmetro a ser usado para extrair a leitura térmica é a razão entre as intensidades das linhas espectrais que compõem o espectro de luminescência, assim o termo “forma da banda” está relacionado a esta razão entre as intensidades. Normalmente, as variações na razão entre as intensidades (induzidas por temperatura) ocorrem quando os estados eletrônicos responsáveis pela emissão são muito próximos em termos de energia.

Nanotermometria Luminescente baseada no tempo de vida. O tempo que a intensidade de emissão leva para decair a $1/e$ do seu valor máximo é denominado de tempo de vida (τ_f). A probabilidade de decaimento dos níveis eletrônicos, que é definida como o inverso do tempo de vida de luminescência, está relacionada a muitos parâmetros (tais com decaimentos por multifônons e processos de transferência de energia assistido ou não por fônons) que podem depender da temperatura. Dessa forma, esta dependência com temperatura torna possível a extração da leitura térmica a partir da determinação do τ_f . Nanotermometria luminescente baseada no tempo de vida tem muitas vantagens como, por exemplo, a leitura da temperatura não é afetada pela intensidade de emissão medida.

Figura 2.6: Representação de seis possíveis efeitos causados pelo aumento da temperatura na luminescência. As linhas vermelhas correspondem a temperaturas mais elevadas em comparação às linhas azuis.



Fonte: Jaque, D., 2012 [40].

Nanotermometria Luminescente baseada na posição espectral. Neste caso a temperatura pode ser medida a partir da análise da variação da posição espectral (shift espectral) das linhas emissoras, que são determinadas pela separação de energia (gap) entre os dois níveis eletrônicos relacionados ao processo de emissão. Isso acontece, porque a posição espectral de um material emissor depende de uma série de parâmetros (tais como a distância entre os átomos e índice de refração) que podem variar com a temperatura. Dessa forma, é esperado que ocorra uma dependência da variação da posição espectral das linhas de luminescência (em qualquer material emissor) com a variação da temperatura. Esta dependência é usada na *Nanotermometria Luminescente baseada na posição espectral* para converter o shift espectral em temperatura. Uma das principais vantagens dessa técnica é que a leitura da temperatura não é afetada por flutuações da intensidade da luminescência.

Nanotermometria luminescente baseada na intensidade de emissão. Quando a temperatura muda, pode ocorrer uma variação no número total de fótons emitidos por unidade de tempo, consequentemente levando à um aumento (ou diminuição) da intensidade do espectro de emissão. Estas variações na intensidade de emissão induzida pela mudança de temperatura são causadas por fatores complexos, que incluem um grande número de processos para explicá-los, tais como redistribuição de população devido a estatística de Boltzmann, mecanismos de quenching de luminescência e efeitos de processos não radiativos [36]. Assim, a *Nanotermometria luminescente baseada na intensidade de emissão* faz uso das variações da intensidade de luminescência para obter a leitura térmica.

Nanotermometria luminescente baseada na largura da banda de emissão. Neste caso o parâmetro usado para atingir a leitura de temperatura é a largura da banda de luminescência. Isso ocorre, pois a largura de várias linhas de emissões que constituem o espectro de luminescência é determinado tanto por parâmetros do material (tal como grau de desordem) quanto pela temperatura. Além disso, é bem conhecido que em certos materiais luminescentes, quando a temperatura aumenta, ocorre um aumento correspondente da densidade de fôons levando à um alargamento homogêneo do espectro de luminescência. Em geral, a magnitude do alargamento da banda de luminescência induzido pela temperatura é bem pequeno, então ele geralmente só pode ser observado em sistemas que possuem linhas de emissões estreitas.

Nanotermometria luminescente baseada na polarização. A intensidade e a forma da radiação emitida por meios anisotrópicos (meios em que certa propriedade física varia com a direção de propagação) são fortemente dependentes de sua polarização (que nesse caso é não isotrópica). Devido a isso, definiremos o parâmetro “polarização anisotrópica”, como a razão entre as intensidades de luminescência de dois estados ortogonalmente polarizados. Assim, nanotermometria luminescente baseada na polarização, usa a dependência da polarização anisotrópica com a temperatura para obter a leitura térmica.

Dessa forma, a nanotermometria luminescente, através da análise do espectro de emissão obtido do sistema estudado, fornece diversas opções para medir a temperatura em nanoescala. No entanto, é importante salientar que a sensibilidade térmica de cada NTLs varia de um sistema para outro, uma vez que deve depender da

magnitude da variação espectral induzida termicamente. Portanto, uma maior sensibilidade térmica certamente deve ser obtida em sistemas que apresentam notáveis variações em seus parâmetros de luminescência para pequenas variações de temperatura.

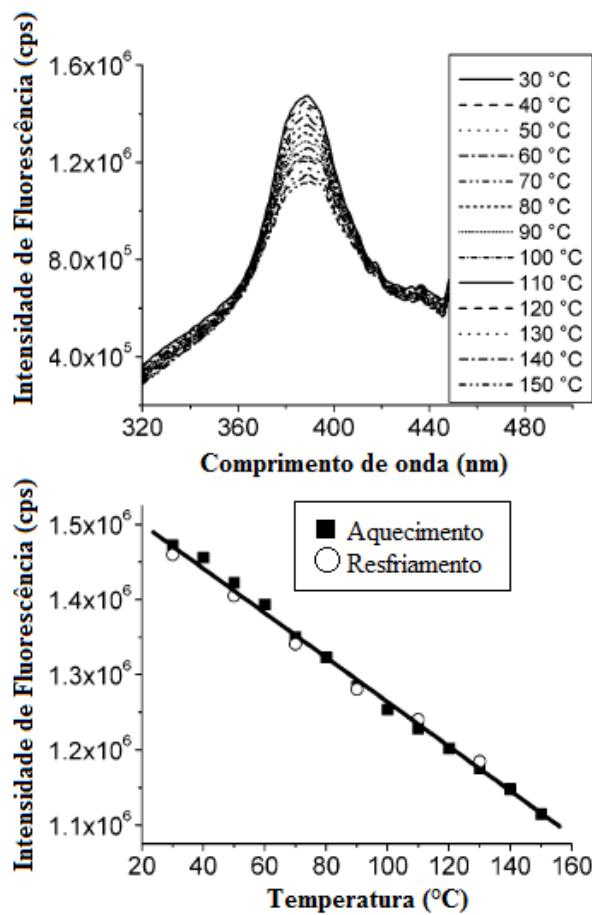
2.2.2 Nanotermômetros Luminescentes baseados em nanopartículas dopadas com íons terra raras.

Nos últimos anos, um grande número de nanopartículas luminescentes (NPLs), que incluem entre outras as nanopartículas metálicas (de ouro e prata) [62, 63], nanocristais semicondutores (*Quantum Dots - QDs*) [64] e nanopartículas dopadas com íons terra raras [65-67], vêm sendo propostos na comunidade científica como NTLs capazes de medir com precisão a temperatura de dispositivos nano-eletrônicos, sistemas óptico-fluídos, no interior de células [68], e em pequenos animais [69]. Entre todas as nanopartículas luminescentes capazes de medir a temperatura com alta resolução espacial, aquelas dopadas com íons terra raras vêm sendo bastante utilizadas como mostradores nanométricos de temperatura. Entre as principais vantagens do uso dessas nanopartículas (em relação às outras) como NTLs estão a sua superior estabilidade física e química, baixa toxicidade, linhas luminescentes estreitas e baixo efeito de envelhecimento.

Nanopartículas dopadas com íons terra-raras para nanotermômetros luminescentes foram propostas pela primeira vez, no inicio da ultima década, por Wang e colaboradores [70]. Inicialmente o trabalho focava em nanotermometria baseada em vários tipos de nanopartículas luminescentes conhecidas naquela época que incluíam: semicondutores (QDs) de Telureto de Cádmio (CdTe), de Sulfeto de Zinco (ZnS) dopadas com Mn²⁺ e co-dopadas com Mn²⁺Eu³⁺ e BaFBr dopadas com Eu³⁺. Foi observado que as nanopartículas de BaFBr:Eu³⁺ apresentavam uma banda de emissão em torno de 388 nm (correspondente a transição 4f⁶5d¹→4f⁷ (^8S_{7/2})), e que a intensidade do pico de emissão variava de forma linear e reversível com a temperatura no intervalo de 30-150 °C, como mostrado na figura 2.7. Essa dependência reversível com a temperatura foi considerada de grande importância e com potencial aplicação em, por

exemplo, biomedicina onde um sistema de alta estabilidade e repetibilidade seria essencial para monitorar os parâmetros variáveis *in vivo*.

Figura 2.7: Espectros de fluorescência das nanopartículas de BaFBr:Eu³⁺ no intervalo de temperatura 30-150 °C (de cima para baixo); sob excitação em 280 nm. Intensidade do pico de fluorescência em 388 nm (referente a transição $4f^65d^1 \rightarrow 4f^7$ (${}^8S_{7/2}$)) das nanopartículas de BaFBr:Eu³⁺ em função da temperatura, durante o aquecimento e o resfriamento.

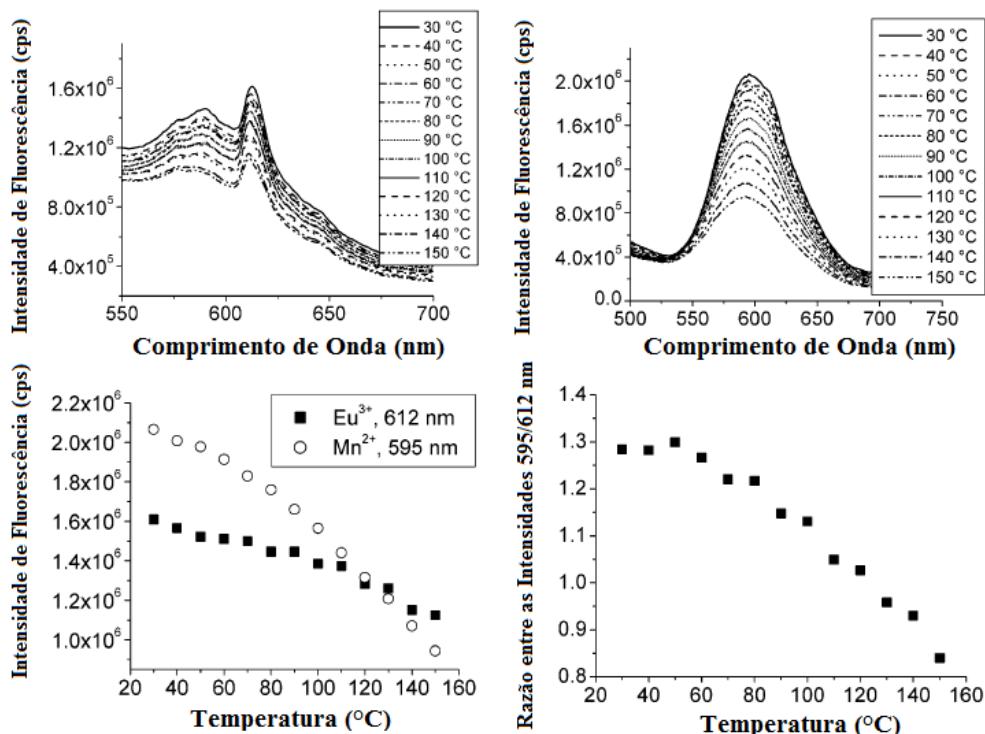


Fonte: Wang, S., 2002 [70].

Logo após, as emissões das nanopartículas de ZnS co-dopadas com Mn²⁺/Eu³⁺ foram investigadas. Estas nanopartículas apresentavam duas bandas de emissão, uma com pico de intensidade em torno de 612 nm referente a transição ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_2$ do Eu³⁺ e a segunda em torno 595 nm referente a transição ${}^4T_1 \rightarrow {}^6A_1$ do Mn²⁺. Foi observado que a razão entre os picos de intensidades destas duas bandas de emissões apresentavam uma

relação linear com a temperatura no intervalo de 30 a 140 °C, como pode ser visto na figura 2.8.

Figura 2.8: Topo: Espectros de luminescência de nanopartículas de ZnS:Mn²⁺/Eu³⁺ obtido para uma variação de temperatura de 30-150 °C. Parte superior esquerda: Pico da emissão em 612 nm referente a transição $^5D_0 \rightarrow ^7F_2$ do Eu³⁺ sob excitação em 394 nm. Parte superior direita: Pico da emissão em 595 nm referente a transição $^4T_1 \rightarrow ^6A_1$ do Mn²⁺ sob excitação em 360 nm. Inferior esquerdo: Variação da intensidade de luminescência em função da temperatura, onde o quadrado representa a emissão em 612 nm (com excitação em 394 nm) e o círculo representa a emissão em 595 nm (com excitação em 360 nm). Inferior direito: Razão entre as intensidades dos picos em 595 e 612 nm em função da temperatura.



Fonte: Wang, S., 2002 [70].

Deste então, o interesse em nanotermometria luminescente baseada na dependência com a temperatura das emissões dos íons lantanídios dopando nanopartículas tem crescido de forma significativa na ultima década, com trabalhos aplicados a outros íons e outras técnicas. Como vimos na seção anterior, os parâmetros mais comuns de luminescências que possuem uma termo dependência são: a

intensidade, a razão das intensidades, a largura da banda de emissão, a posição espectral da banda de emissão, a polarização da luz e o tempo de vida da emissão. Entretanto, devido à blindagem dos elétrons de valência nos íons terra-raras, nem todas estas opções são viáveis ou sensível o suficiente em nanopartículas dopados com terra-raras. Na próxima seção, discutiremos uma das principais técnicas usadas para extrair a leitura térmica a partir da termo-dependência das nanopartículas dopados com terra-raras.

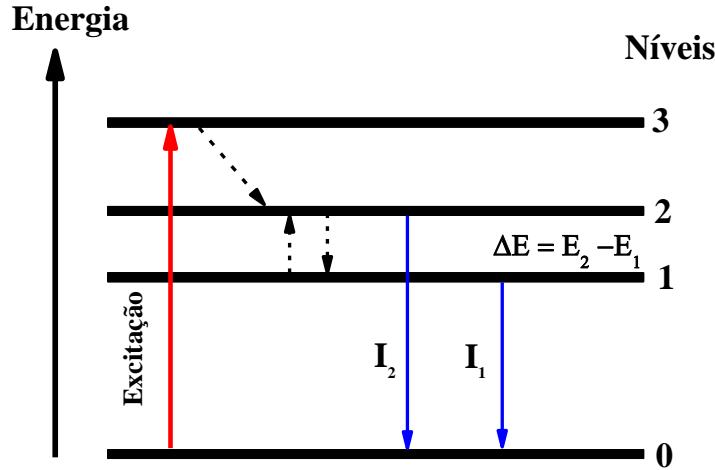
2.2.3 Razão de Intensidade de Fluorescência (RIF)

A razão entre as intensidades de fluorescência (RIF) é uma das técnicas [35] mais comuns para medir a temperatura usando materiais (como, por exemplo, vidros, cristais, fibras óticas e mais recentemente nanopartículas) dopados com íons terra-raras, tendo como base as mudanças das intensidades da luminescência, mas ao invés de usar uma única intensidade [36], usa-se a razão entre duas intensidades, ou seja, faz uso de uma segunda banda como referência, por isso essa técnica também é chamada de “*auto-referência*”. A técnica RIF foi proposta pela primeira vez em 1990 por Berthou e Jorgensen [71] usando uma fibra óptica de vidro fluoreto co-dopado com $\text{Er}^{3+}/\text{Yb}^{3+}$.

A técnica RIF é baseada na razão das intensidades entre dois diferentes níveis de energia termicamente acoplados, ou seja, ambos os níveis estão separados por um gap de energia pequeno o suficiente, de tal forma que elétrons ao absorverem energia térmica sejam promovidos ao estado de maior energia. Uma vez que ambos os níveis são estreitamente espaçados, o decaimento não radiativo do nível superior para o inferior é muito provável. Assim, ambos estados estão ligados e compartilham a mesma população de elétrons. As populações de dois níveis termicamente acoplados seguem a lei de distribuição de Boltzmann. Assumiremos agora que as duas linhas espectrais que observamos são as do nível 1 e 2, como mostrado na figura 2.9. Devido a proximidade entre os níveis 1 e 2, a população inicialmente do nível 1 é termicamente redistribuída entre os níveis. Nestas condições a população do nível de energia 2, N_2 será dada por [36, 40]:

$$N_2 = N_1 \exp\left(-\frac{\Delta E}{k_B T}\right) \quad (2.3)$$

Figura 2.9: Diagrama simplificado de níveis de energia que mostra as transições de interesse para a técnica razão de intensidade de fluorescência (RIF) para medir temperatura. As setas pontilhadas representam os decaimentos não radiativos, enquanto as setas sólidas, simbolizadas por I_2 e I_1 , representam as intensidades das transições luminescentes para a medida da razão da intensidade de fluorescência.



Fonte: Adaptado de Fan Zhang, 2015 [36].

nesta expressão, N_1 é a população do nível 1, ΔE é a separação de energia entre o estado 1 (com energia E_1) e o estado 2 (com energia E_2), k_B é a constante de Boltzmann e T é a temperatura absoluta. Como os estados 1 e 2 estão populados, ambos contribuem para o espectro total de luminescência com a presença das duas linhas de luminescência com energias diferentes. Então, as intensidades das linhas de luminescência correspondentes a de-excitacão dos estados 1 e 2 para o estado fundamental, simbolizados por I_1 e I_2 , serão dadas por [36, 38]:

$$I_1 = \varphi_1 N_1 \quad (2.4)$$

$$I_2 = \varphi_2 N_2 \quad (2.5)$$

$$\varphi_1 = g_1 \delta_1 \omega_1 \quad (2.6)$$

$$\varphi_2 = g_2 \delta_2 \omega_2 \quad (2.7)$$

Em que g é a degenerescência, δ é a seção de choque de emissão e ω é a frequência angular da transição. Assim, a razão entre as intensidades, que a partir de agora chamaremos de R , será dada por:

$$R = \frac{I_2}{I_1} = \frac{\varphi_2 N_2}{\varphi_1 N_1} = \frac{g_2 \delta_2 \omega_2}{g_1 \delta_1 \omega_1} \exp\left(-\frac{\Delta E}{k_B T}\right)$$

Ou ainda

$$R = \frac{I_2}{I_1} = B \exp\left(-\frac{\Delta E}{k_B T}\right) \quad (2.8)$$

Onde $B = \frac{g_2 \delta_2 \omega_2}{g_1 \delta_1 \omega_1}$

A equação (2.8) é usada pela técnica de RIF para obter a temperatura absoluta na qual o sistema analisado se encontra. Para isso, convencionalmente devemos tomar o logaritmo natural da equação (2.8), para obtermos uma equação linear com o inverso da temperatura. Dessa forma, teremos uma equação do tipo $\ln(R) = a + b/T$, onde $a = \ln(B)$ e $b = -\Delta E/k_B$, que por sua vez pode ser usada como equação de calibração da temperatura do sistema. Medidas de temperatura utilizando a razão entre duas bandas de emissão, ao invés de apenas um único pico de emissão, apresentam diversas vantagens. Primeiramente, a teoria por trás da técnica RIF já é relativamente bem compreendida, e assim, seu comportamento é mais fácil de prever. Além disso, o fato de nesta técnica usarmos a razão entre duas bandas reduz as flutuações nas medidas causadas pelas variações de intensidades na potencia de excitação, assim como, nas concentrações dos íons nas matrizes hospedeiras. Com essas vantagens, a técnica RIF aplicada a nanotermometria luminescente tem despertado bastante interesse na comunidade científica [65, 66, 68, 72].

Um exemplo bastante explorado na literatura de íon terra rara com estados com essas propriedades para termometria baseada em RIF é o Er^{3+} , cujos estados que emitem no verde, $^2\text{H}_{11/2}$ e $^4\text{S}_{3/2}$, são separados por um intervalo de energia que, dependendo da matriz hospedeira [73], podem variar de 350 a 900 cm^{-1} . No entanto, deve ser notado que em alguns casos é ainda possível definir uma razão entre as intensidades associadas com um único nível emissor, com dois subníveis Starks bem separados [34, 67, 74]. Neste caso os valores da separação em energia entre os subníveis Starks ΔE serão geralmente bem menores (da ordem de 100 cm^{-1}) do que os convencionais. Mais recentemente, a técnica RIF tem sido usada para níveis não termicamente acoplados,

pois basta que esses apresentem uma dependência fácil (de estimar) com a temperatura como, por exemplo, linear ou exponencial [34, 69, 75, 76].

Para avaliar a performance de um NTL é importante conhecer como a taxa com que a razão da intensidade de florescência varia para certas alterações na temperatura. Esta taxa é chamada de sensibilidade térmica, S , que é dada por:

$$S = \frac{dR}{dT} = B \exp\left(-\frac{\Delta E}{k_B T}\right) \times \frac{\Delta E}{k_B T^2} = R \times \frac{\Delta E}{k_B T^2} \quad (2.9)$$

E a sensibilidade térmica relativa, S_r , que é definida como:

$$S_r = \frac{S}{R} = \frac{\Delta E}{k_B T^2} \quad (2.10)$$

Apesar da sensibilidade térmica ser um indicativo da eficiência de um sensor de temperatura, ela não incluem alguns variáveis que podem ser relevantes em termos práticos, tais como a eficiência quântica de emissão do material e a relação sinal ruído. Para levar em conta esses fatores adicionais que podem influenciar a aplicabilidade do sensor, definiremos o parâmetro *resolução térmica* (ΔT_{\min}) que é a mínima variação de temperatura que pode ser eficientemente medida, expressa matematicamente como [35, 36]:

$$\Delta T_{\min} = \frac{\sigma_T}{S} \quad (2.11)$$

onde σ_T é o desvio padrão em certa temperatura T da inclinação da curva de sensibilidade térmica (S).

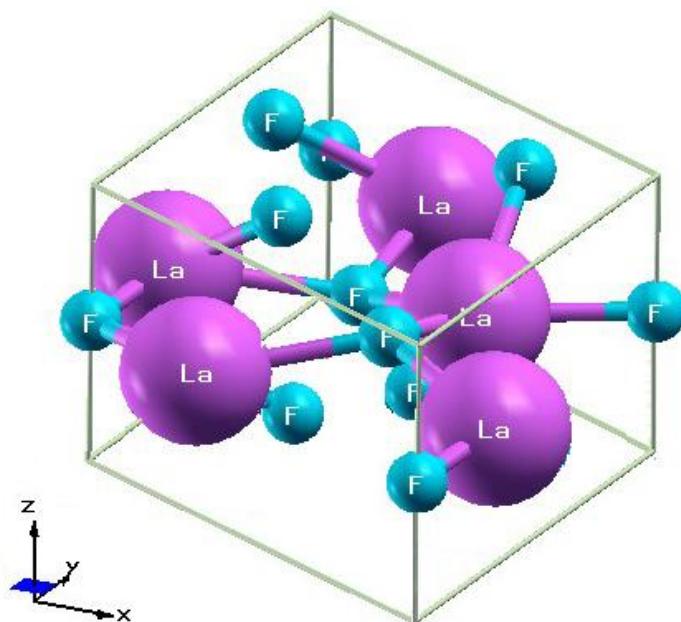
2.2.4 Nanomateriais de LaF₃ e de NaNbO₃

2.2.4.1. Nanocristais de Fluoreto de Lantânio (LaF₃)

A matriz Fluoreto de Lantânio (LaF_3) vem sendo intensamente estudada tanto em sua forma cristalina (bulk) quanto mais recentemente como nanocristais [77]. Nos últimos anos, a matriz LaF_3 dopada com íons terras raras tem despertado grande interesse na comunidade científica devido principalmente as suas potenciais aplicações, que entre outras, incluem marcadores luminescentes biológicos [78, 79], nanotermômetros luminescentes [72, 74] e bioimagens fluorescentes [80]. Todas essas possíveis aplicações de materiais a base de fluoretos (LaF_3 , CeF_3 , EuF_3 , NaYF_4 , etc.) devem-se principalmente as suas excelentes propriedades térmicas e ópticas. Além disso, os fluoretos possuem uma ampla transparência óptica, que vai desde a região do ultravioleta até o infravermelho [81, 82]. Outra propriedade importante é que os fluoretos possuem baixa energia de fônon (em torno de 500 cm^{-1}), no caso do LaF_3 , por exemplo, em torno de 400 cm^{-1} [82, 83] o que dificulta os possíveis decaimentos não radiativos.

A matriz cristalina de Fluoreto de Lantânio em condições normais de temperatura e pressão apresenta uma fase hexagonal pura com estrutura cristalina trigonal, chamada também de tysonite ($\text{P}3\text{c}1$), com parâmetros de redes $a = b = 7,160 (\pm 0,05) \text{ \AA}$ e $c = 7,36 (\pm 0,07) \text{ \AA}$, sendo, portanto um cristal uniaxial com valores de volume de célula unitária e densidade, respectivamente, de $326,764 \text{ \AA}^3$ e $5,973 \text{ g/cm}^3$ [84]. A figura 2.10 mostra uma ilustração esquemática de uma célula unitária de um cristal de LaF_3 .

Figura 2.10: Célula unitária do cristal de LaF_3 . A partícula maior representa o íon La^{3+} e as pequenas representam os íons F^- .



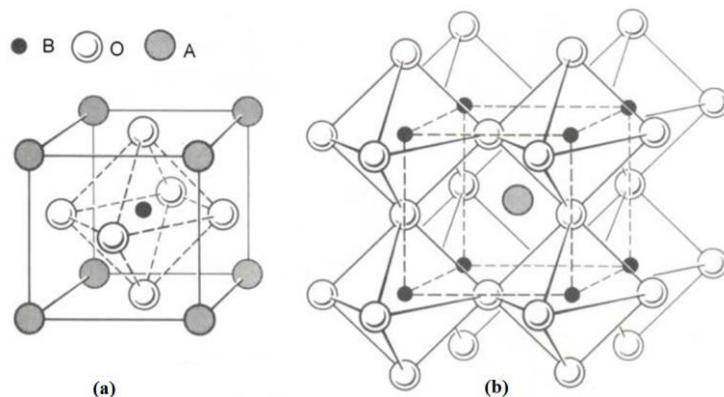
Fonte: Sales, T. O., 2015 [84].

2.2.4.2 Nanocristais de Niobato de Sódio (NaNbO_3)

Os nanocristais de Niobato de Sódio (NaNbO_3) é um nanomaterial dielétrico que é formado por estruturas do tipo *perovskita*, isto é, apresentam a forma ABO_3 [85]. Em 1839 o mineralogista russo Count Lev Aleksevich Van Perovski observou pela primeira vez este tipo de estruturas em minerais de Titanato de Cálcio (CaTiO_3), e em sua homenagem esse tipo de estrutura atômica passaram a serem chamadas de *perovskita*.

As perovskitas quimicamente mais estáveis são as que apresentam uma estrutura cúbica de face centrada [86], como pode ser observado na figura 2.11. Este tipo de estrutura é caracterizada por possuir em seus vértices cátions metálicos (A), enquanto que os centros das faces são ocupados por átomos de oxigênio; já o centro da estrutura (interstício) é ocupado por outro cátion metálico.

Figura 2.11: (a) Célula unitária de uma estrutura perovskita, onde no centro encontra-se o octaedro BO_6 . (b) Estrutura visualizada com vários octaedros BO_6 nos vértices.



Fonte: Webler, G.D., 2011 [86].

A matriz de NaNbO_3 tem despertado grande interesse na comunidade científica por apresentar propriedades físicas e químicas únicas, entre as quais podemos destacar: propriedades piezoelétricas [87], antiferroelétricas à temperatura ambiente [88] e efeitos photocatalíticos [89-91]. Além disso, niobatos alcalinos vem sendo estudados devido as suas promissoras propriedades ópticas não lineares, tais como geração de segundo harmônico [92]. Recentemente, o comportamento da citotoxicidade e degradação de cerâmicas piezoelétricas de niobato de sódio e potássio foi investigado para aplicações biomédicas [93].

Nos últimos anos íons terras raras passaram a ser incorporados aos nanocristais de niobato de sódio para diversas aplicações. Como, por exemplo, nanopartículas de NaNbO_3 dopadas com $\text{Er}^{3+}/\text{Yb}^{3+}$ ou $\text{Tm}^{3+}/\text{Yb}^{3+}$ quando excitadas em 980 nm mostram significantes emissões na região do visível [94, 95], podendo então serem usadas como marcadores luminescentes multifotônicos. Além disso, nanotermometria luminescente por dois fôtons baseada na conversão ascendente de energia na região do visível das nanopartículas de NaNbO_3 dopadas com $\text{Er}^{3+}/\text{Yb}^{3+}$ foi demonstrada [65].

2.3. Síntese das nanopartículas .

2.3.1 Sínteses de nanocristais de LaF_3 dopados com TR^{3+}

As nanopartículas de Fluoreto de Lantânia (LaF_3) dopadas com Tm^{3+} ($\text{LaF}_3:\text{Tm}$) e co-dopadas com $\text{Yb}^{3+}/\text{Ho}^{3+}$ ($\text{LaF}_3:\text{Yb/Ho}$) usadas nesta tese foram sintetizadas pelo método de co-precipitação de química úmida [77].

Os reagentes utilizados no processo de síntese das nanopartículas de LaF_3 dopadas com os íons terra raras são mostrados na tabela 2.3. Todos os reagentes foram adquiridos da empresa Sigma-Aldrich. Devido ao seu alto nível de pureza (99,9%) os mesmos foram usados diretamente sem a necessidade de purificações adicionais.

Tabela 2.3: Reagentes usados nas sínteses nanopartículas de LaF_3 .

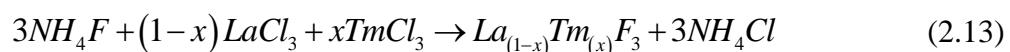
Reagente	Fórmula Química	Peso Molecular
Cloreto de lantânia	LaCl_3	245,26
Fluoreto de amônio	NH_4F	37,04
Cloreto de túlio (III)	TmCl_3	275,29
Cloreto de itérbio (III)	YbCl_3	279,40
Cloreto de hólmlio (III)	HoCl_3	271,29

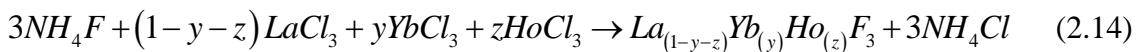
Fonte: Autor da tese

Antes de iniciar o processo de síntese devemos primeiramente identificar, em termos de massa, a quantidade de cada um dos reagentes que serão usados para a síntese de cada amostra. Para isso, foi usada a relação estequiométrica da reação química que descreve o processo de síntese das nanopartículas de LaF_3 . Essa equação pode ser expressa pela seguinte relação:



Para realizar o processo de dopagem das nanopartículas de LaF_3 com os íons terra raras é necessário substituir uma certa quantidade de Cloreto de Lantânia por Cloreto de TRs (TR = Tm, Yb e Ho). Dessa forma a equação (2.12) pode ser escrita da seguinte forma:



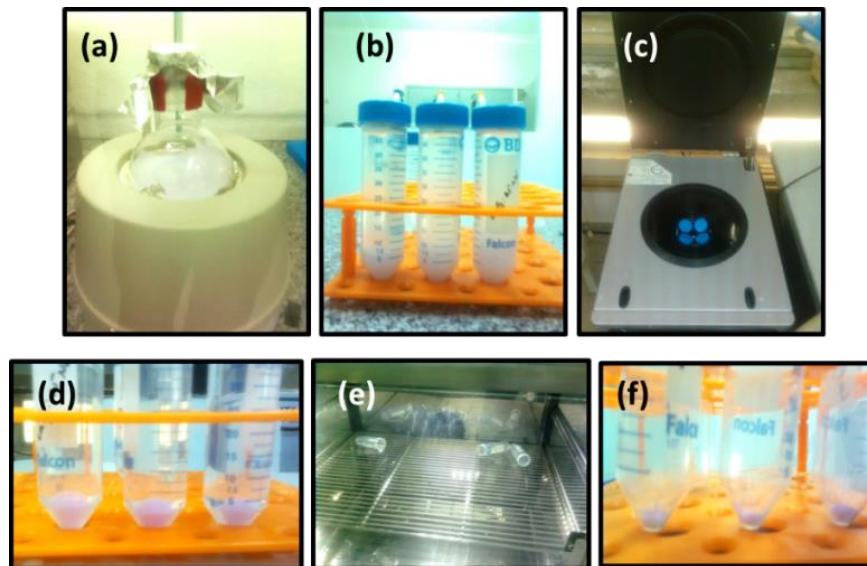


As equações (2.13) e (2.14) representam, respectivamente, relações estequiométricas da reação química que descreve o processo de síntese das nanopartículas de LaF_3 dopadas com Tm^{3+} e co-dopadas com $\text{Yb}^{3+}/\text{Ho}^{3+}$. Além disso, os parâmetros x , y e z representam as concentrações dos íons dopantes Tm^{3+} , Yb^{3+} e Ho^{3+} , em mol, respectivamente.

Através das equações (2.13) e (2.14) e do peso molecular dos reagentes (apresentados na tabela (2.3)), foi possível calcular a quantidade percentual de massa molar em gramas de cada reagente, para que ao final do processo de síntese obtivéssimos aproximadamente 300 mg de nanopartículas. Todos estes reagentes utilizados na síntese foram pesados em uma balança analítica com precisão de 0,00001g.

O processo de síntese das nanopartículas de LaF_3 dopadas com íons terras raras inicia-se colocando aproximadamente 40 ml de água Milli-Q em um balão de 250 ml com fundo redondo e um único gargalo, sob agitação magnética e aquecimento, conforme mostrado na figura 2.12 (a), e então espera-se cerca de 15 a 20 min até que a água atinja a temperatura de aproximadamente 75 °C. Em seguida, são adicionadas um a um, as quantidades estequiométricas do Fluoreto de Lantânio (LaCl_3) e dos íons terras raras em sua forma de cloretos (TmCl_3 , YbCl_3 e/ou HoCl_3). Após a adição de cada reagente foram inseridos 5 ml de água Milli-Q para lavar o gargalo do balão, e esperava-se cerca de 10 minutos (tempo necessário para que a solução torne-se homogênea) para que o próximo reagente fosse adicionado. Por último foi adicionada, gota a gota, uma solução contendo fluoreto de amônio (NH_4F), que havia sido previamente dissolvido a 5 ml de água Milli-Q sob agitação magnética e a temperatura ambiente por 5 min. Logo após, a solução foi mantida sob agitação magnética e a temperatura de 75 °C por 2 horas. Então, o aquecimento foi desligado e a mistura ficou somente sob agitação magnética por aproximadamente 50 min, tempo necessário para a solução retornar a temperatura ambiente. Ao final desse processo obtemos uma solução esbraquiçada como mostrado na figura 2.12 (b).

Figura 2.12: (a) Processo de mistura, aquecimento e agitação da solução. (b) Solução branca obtida após o processo de mistura. (c) Centrifugação da solução branca para separar a parte sólida (precipitado) da líquida. (d) e (e) lavagem e secagem. (f) Precipitado obtido após o processo de secagem.



Fonte: Rocha, U., 2014 [14]

Para obter o precipitado a partir da solução resultante, foi necessária a realização dos processos de centrifugação, conforme mostrado na figura 2.12 (c), e lavagem. Dessa forma, as amostras foram centrifugadas por duas vezes a 9000 rpm durante 10 min, em seguida a 1000 rpm por 12 min e finalmente a 11000 por 15 min. Durante este processo o precipitado foi lavado diversas vezes com água Milli-Q.

Figura 2.13: Processo de refinamento do pó de nanopartículas de LaF_3 obtido.



Fonte: Rocha, U., 2014 [14].

O precipitado obtido através do processo de centrifugação e lavagem (mostrado na figura 2.12 (d)) foi então seco em uma estufa (como mostrado na figura 2.12 (e))

por dois dias a temperatura de 60 °C. Para obter um pó de nanopartículas mais fino a partir desse precipitado (mostrado na figura 2.12 (f)) é necessário que o mesmo seja macerado em um almofariz de Ágata, como mostrado na figura 2.13. No entanto, ainda é necessário que seja realizado um tratamento térmico para que essas nanopartículas apresentem luminescência eficiente. O tratamento térmico foi realizado em atmosfera aberta, em um forno da EDG modelo 3000 com potência fixa de 70%. As amostras foram colocadas em cadinhos de porcelana e em seguida inseridas no forno a 500 °C durante 3 horas. Finalizado o tratamento térmico as nanopartículas de LaF_3 foram armazenadas em tubos de ensaio tipo Eppendorf.

A Tabela 2.4 mostra todas as nanopartículas de LaF_3 dopadas com íons terras raras usadas nessa tese.

Tabela 2.4: Nanopartículas de LaF_3 dopadas com TR^{3+} com suas respectivas composições químicas.

Amostra	Composição Química
LaF_3 : 1Tm	$\text{La}_{0,99}\text{Tm}_{0,01}\text{F}_3$
LaF_3 : 3Tm	$\text{La}_{0,97}\text{Tm}_{0,03}\text{F}_3$
LaF_3 : 5Tm	$\text{La}_{0,95}\text{Tm}_{0,05}\text{F}_3$
LaF_3 : 10Yb/4Ho	$\text{La}_{0,86}\text{Yb}_{0,1}\text{Ho}_{0,04}\text{F}_3$

Fonte: Autor da tese.

2.3.2 Sínteses de nanocristais de NaNbO_3 dopados com TR^{3+}

As nanopartículas de Niobato de Sódio (NaNbO_3) dopadas com Tm^{3+} ($\text{NaNbO}_3:\text{Tm}$) e co-dopadas com $\text{Tm}^{3+}/\text{Yb}^{3+}$ ($\text{NaNbO}_3:\text{Tm/Yb}$) usadas nesta tese foram sintetizadas utilizando o método sol-gel de Pechini como descrito em [95]. Este método conhecido também como método de precursores poliméricos [96], vem sendo bastante empregado no desenvolvimento de nanopartículas dopadas com íons terras raras [97, 98]. Entre as principais vantagens desse método podemos citar a baixa temperatura de cristalização e excelente homogeneidade dos íons usados na síntese [99].

Os reagentes usados nas sínteses das nanopartículas de NaNbO₃ dopados com terras raras são mostrados na tabela 2.5. O processo de síntese inicia-se colocando aproximadamente 10 ml de água Milli-Q em um bêquer, depois o bêquer contendo a água é posto sobre uma placa aquecedora com agitação magnética. Quando a água atinge uma temperatura de aproximadamente 75 °C são adicionados quantidades estequiométricas de ácido cítrico, oxalato de amônio e nióbio e o carbonato de sódio. Após a adição de cada composto, esperou-se cerca de 10 minutos (tempo necessário para que a solução tornasse homogênea) para que o próximo reagente fosse adicionado. Em seguida, os íons terras raras em sua forma de nitrato (nitrato de tório e/ou nitrato de itérbio) foram adicionados. Após a solução tornar-se novamente homogênea foi adicionada a quantidade necessária de etileno glicol. Então a solução resultante foi deixada em agitação e a temperatura de 75 °C por cerca de 1 hora. Dessa última etapa obtivemos uma solução cristalina e homogênea que foi colocada em um cadinho de porcelana, como mostrado na figura 2.13.

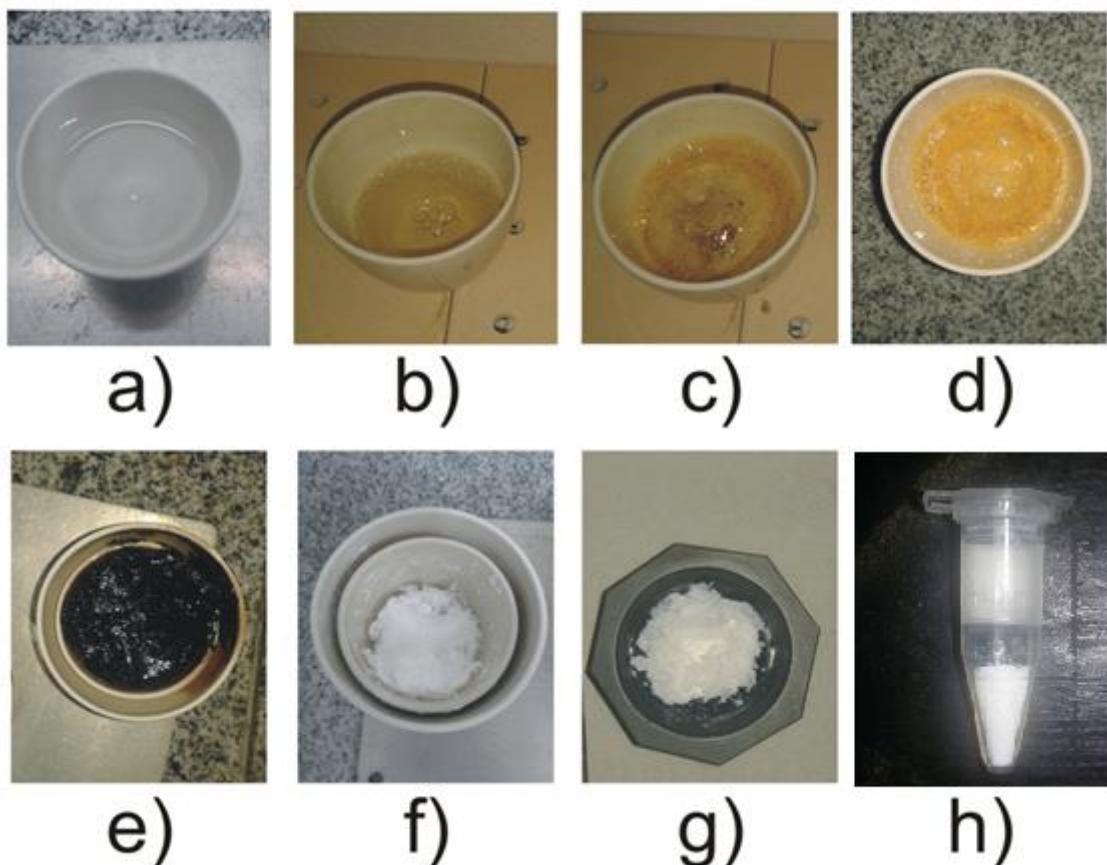
Tabela 2.5: Reagentes usados nas sínteses das nanopartículas de NaNbO₃ dopadas com Tm³⁺.

Reagente	Fórmula	Fornecedor	Pureza
Ácido cítrico	C ₆ H ₈ O ₇	Sigma-Aldrich	99,5%
Oxalato de amônio e nióbio	C ₄ H ₄ NNbO ₉ .xH ₂ O	Sigma-Aldrich	99,99%
Carbonato de sódio	Na ₂ CO ₃	Sigma-Aldrich	99,999%
Nitrato penta-hidratado de tório (III)	Tm(NO ₃) ₃ .5H ₂ O	Sigma-Aldrich	99,9%
Nitrato penta-hidratado de itérbio (III)	Yb(NO ₃) ₃ .5H ₂ O	Sigma-Aldrich	99,999%
Etileno glicol	C ₂ H ₆ O ₂	Sigma-Aldrich	99+%

Fonte: Autor da tese

Para que o gel seja formado a partir da solução obtida na etapa anterior, os cadinhos contendo as soluções foram colocados em um forno a aproximadamente 100 °C por 3 dias. Nesta etapa, ocorre de forma lenta a eliminação de uma parte da composição orgânica presente na solução. Os aspectos visuais da transformação da solução em gel são mostrados nas figuras 2.14 (b), (c) e (d) que correspondem respectivamente aos tempos de forno de 24, 48 e 72 horas. Como podemos ver na figura 2.14 (d), ao final desta etapa obtemos como resultado um gel amarelado.

Figura 2.14: Etapas do processo de síntese das nanopartículas de NaNbO_3 dopadas com íons TR^{3+} . (a) Solução cristalina e homogênea obtida após uma hora das adições dos reagentes a 75 °C. (b), (c) e (d) Estágios da formação do gel, após 24, 48 e 72 horas que a solução é colocada no forno a 100 °C. e) Fase carbonizada, ao sair do forno a 400°C após 2 horas. f) Formação dos nanocristais de NaNbO_3 devido à calcinação. g) Mistura no almofariz de ágata para formar o pó nanocrystalino. h) Estocagem das nanopartícula em um tubo Eppendorf.

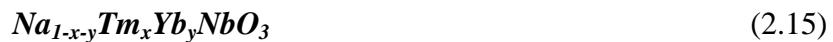


Fonte: Adaptado de J. F. Silva, 2013 [99].

Em seguida, o gel é colocado em um forno à 400 °C por 2 horas para que seja evaporados todos os compostos orgânicos. Esta etapa deve ser realizada no interior de uma capela de exaustão, pois no processo de eliminação dos compostos orgânicos são liberados do interior do forno gases tóxicos. Ao final desse processo, como podemos ver na figura 2.14 (e), o gel é inteiramente transformado em um composto carbonizado de cor preta. Para finalizar a síntese das nanopartículas de NaNbO_3 o composto carbonizado (obtido na etapa anterior) é colocado no forno a 800 °C por 3 horas, para que ocorra o processo de calcinação das nanopartículas. O resultado desta última etapa é mostrado na figura 2.14 (f) e nela vemos um aglomerado de nanopartículas que

possuem forma similar a uma esponja muito branca. É necessário então que este aglomerado seja refinado em um almofariz de ágata, como pode ser visto na figura 2.14 (g). Ao final desse processo obtemos as nanopartículas de NaNbO_3 dopadas com terras raras, que podem ser estocadas em tubos de ensaio tipo Eppendorf como mostrado na figura 2.14 (h).

No processo de síntese descrito acima os íons terra raras (Tm^{3+} e/ou Yb^{3+}) foram incorporados à matriz NaNbO_3 em porcentagem de mol em relação ao sódio (Na). Assim, por exemplo, se desejarmos adicionar 1 mol% de Tm^{3+} à matriz, devemos subtrair 1% (0,01) dos 100% do sódio, então vamos obter 99% de sódio (0,99) e 1% de túlio (0,01). Dessa forma, a equação estequiométrica que rege o processo de dopagem ou co-dopagem das nanopartículas de NaNbO_3 pode ser escrita como [99]:



em que x e y representam valores percentuais de mol dos íons de Tm^{3+} e Yb^{3+} , respectivamente, com relação ao Na. Então, por exemplo, nas amostras apenas dopadas com túlio teremos $y = 0$.

As quantidades de reagentes utilizados na síntese das nanopartículas descritas acima foram: 0,1 mol de ácido cítrico, 0,1 mol etileno glicol e 0,0004 mol de oxalato de nióbio de amônio para formação da fase polimérica.

A tabela 2.6 mostra todas as nanopartículas sintetizadas pelo método descrito acima.

Tabela 2.6: Nanopartículas de NaNbO_3 dopadas TR^{3+} e suas respectivas composições químicas.

Amostra	Composição Química
$\text{NaNbO}_3: 1\text{Tm}^{3+}$	$\text{Na}_{0,99}\text{Tm}_{0,01}\text{NbO}_3$
$\text{NaNbO}_3: 3\text{Tm}^{3+}$	$\text{Na}_{0,97}\text{Tm}_{0,03}\text{NbO}_3$
$\text{NaNbO}_3: 5\text{Tm}^{3+}$	$\text{Na}_{0,95}\text{Tm}_{0,05}\text{NbO}_3$
$\text{NaNbO}_3: 1\text{Tm}^{3+}/5\text{Yb}^{3+}$	$\text{Na}_{0,94}\text{Tm}_{0,01}\text{Yb}_{0,05}\text{NbO}_3$

Fonte: Autor da tese.

As concentrações de íons terra-raras usados aqui foram escolhidas para otimizar a fase estrutural cristalina pura (ortorrômbica pura) e a conversão ascendente de energia como foi previamente investigado em [94, 97].

REFERENCIAS

1. Moeler, T., *The Chemistry of the Lanthanides*, ed. R.P. Corp. 1963, New York.
2. Santos, W.Q., *VIABILIDADE DE SISTEMAS DOPADOS E CO-DOPADOS COM Yb³⁺ E Nd³⁺ PARA APLICAÇÕES FOTÔNICAS: LASERS E TERMOMETRIA ÓPTICA*, in UFAL - Instituto de Física. 2015.
3. Tasso, O.S., *INFLUÊNCIA DE TRATAMENTO TÉRMICO NAS PROPRIEDADES ESTRUTURAIS E ÓPTICAS DE NANOCRISTAIS DE LaF₃ CO-DOPADOS COM Yb^{3+}/Er³⁺}*, in UFAL - Instituto de Física. 2015.
4. Silva, W.F., *Controle Óptico e Térmico das Propriedades Ópticas e Mecânicas de Materiais Fotônicos*, in UFAL - Instituto de Física. 2011.
5. Hüfner, S., *Optical Spectra of Transparent Rare Earth Compounds*. 1978, New York: Academic Press.
6. Digonnet, a.c.W.J.M., *Optical and Electronic Properties of Rare Earth Ions in Glass*. 1993: Editora Physics SW 110.
7. Jacinto, C., *EFEITO TÉRMICO E GERAÇÃO DE LUZ VISÍVEL EM AMOSTRAS VÍTREAS EXCITADAS POR RADIAÇÃO NO INFRAVERMELHO*, in UFAL - Instituto de Física. 2002.
8. Vermelho, M.V.D., *A Study on the Feasibility of a Silica-on- Silicon Blue Upconversion Laser Fabricated by Flame Hydrolysis Deposition*, in University of Glasgow. 1999: Glasgow.
9. Mayer, M.G., Phys. Rev., 1941(60): p. 184.
10. Jacinto, C., *Caracterização termo-óptical de materiais lasers usando a técnica de lente térmica*, in IFSC/USP: São Carlos. 2006.
11. Svelto, O., *Principles of Laser*, ed. 4. 1998: Springer.
12. Barreto, P.G., *Dissertação de Mestrado*, in Instituto de Física. 2009, Universidade Federal Fluminense.
13. Brill, G.B.a.A., Philips Tech. Rev., 1970. **31**: p. 304.
14. Rocha, U., *NANOPARTICULAS MULTIFUNCIONAIS DE FLUORETO DE LANTÂNIO DOPADAS COM Nd³⁺ COMO AGENTES DE CONTRASTES E TERAPÊUTICOS*, in UFAL - Instituto de Física. 2014.
15. Sakurai, J.J., *Mecânica Quântica Moderna*, ed. e. 2. 2013, Porto Alegre.
16. VLECK, J.V., *The Journal of Physical Chemistry*, 1937. **41** (1): p. 67-80.

17. Judd, B.R., *Optical Absorption Intensities of Rare-Earth Ions*. Physical Review, 1962. **127**((3)): p. 750-&.
18. Ofelt, G.S., *Intensities of Crystal Spectra of Rare-Earth Ions*. Journal of Chemical Physics, 1962. **37**((3)): p. 511-&.
19. Wyborne, B.G., *Spectroscopic Properties of Rare Earths*. 1965, New York: John Wiley & Sons.
20. Dixe, G.H.C., H.M., *The Spectra of the Doubly and Triply Ionized Rare Earths*. Applied Optics, 1963. **2**(7): p. 675-685.
21. Santos, P.V., *EFEITOS TÉRMICOS SOBRE CONVERSÃO ASCENDENTE DE ENERGIA EM VIDROS ESPECIAIS DOPADOS COM ÍONS TERRAS-RARAS*, in *UFAL - Instituto de Física*. 2003.
22. Snitzer, E., *Laser Emission of Yb³⁺ at 1.06mu in Nd-Yb-Doped Glass*. Journal of the Optical Society of America, 1965. **55**(11): p. 1575-&.
23. Lei, G., et al., *Spectroscopic evaluation of Yb³⁺ doped glasses for optical refrigeration*. IEEE Journal of Quantum Electronics, 1998. **34**(10): p. 1839-1845.
24. Chenais, S., et al., *Thermal lensing in diode-pumped ytterbium lasers - Part I: Theoretical analysis and wavefront measurements*. IEEE Journal of Quantum Electronics, 2004. **40**(9): p. 1217-1234.
25. Santos, W.Q., et al., *Cooperative Upconversion, Radiation Trapping, and Self-Quenching Effects in Highly Yb³⁺-Doped Oxyfluoride Glasses*. Science of Advanced Materials, 2013. **5**(12): p. 1948-1953.
26. Digonnet, M.J.F., *Rare-Earth-Doped Fiber Lasers and Amplifiers*, ed. M. Dekker. Vol. 2. 2001.
27. Wu, C.T., et al, *Diode-pumped single frequency Tm:YAG laser at room temperature*. Laser Physics Letters, 2008. **5**(11): p. 793-796.
28. Wu, J.F., et al, *2 um lasing from highly thulium doped tellurite glass microsphere*. Applied Physics Letters, 2005. **87**(21): p. 211118.
29. Smart, R.G., et al., *Continuous Wave Oscillation of Tm³⁺ Doped Fluorozirconate Fiber Lasers at around 1.47-um, 1.9-um and 2.3-um When Pumped at 790 nm*. Optics Communications, 1991. **82**(5-6): p. 563-570.
30. Dong, N.N., et al., *NIR-to-NIR Two-Photon Excited CaF2: Tm³⁺,Yb³⁺ Nanoparticles: Multifunctional Nanoprobes for Highly Penetrating Fluorescence Bio-Imaging*. ACS Nano, 2011. **5**(11): p. 8665-8671.
31. Yang, Z.Y., L. Luo, and W. Chen, *The 1.23 and 1.47 mm emissions from Tm³⁺ in chalcogenide glasses*. Journal of Applied Physics, 2006. **99**(7).

32. Yaoyao Ma, a.e., *Efficient 2.05 nm emission of Ho³⁺/Yb³⁺/Er³⁺ triply doped fluorotellurite glasses*. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2014(122): p. 711–714.
33. Dan Wang, a.e., *808 nm driven Nd³⁺-sensitized upconversion nanostructures for photodynamic therapy and simultaneous fluorescence imaging*. Nanoscale, 2015. **7**: p. 190–197.
34. Oleksandr A. Savchuk, a.e., *Ho,Yb:KLu(WO₄)₂ Nanoparticles: A Versatile Material for Multiple Thermal Sensing Purposes by Luminescent Thermometry*. J. Phys. Chem. C 2015(119): p. 18546–18558.
35. Carlos, D.S., et al., *Thermometry at the nanoscale*. 2016.
36. Zhang, F., *Photon Upconversion Nanomaterials*. 2015.
37. Carlos D. S., e.a., *A Luminescent Molecular Thermometer for Long-Term Absolute Temperature Measurements at the Nanoscale*. Advanced materials, 2010. **22**: p. 4499–4504.
38. Brites, C.D., et al, *Thermometry at the nanoscale*. Nanoscale, 2012. **4**(16): p. 4799-4829.
39. Fischer, L.H.H., G. S.; Wolfbeis, O. S., *Upconverting Nanoparticles for Nanoscale Thermometry*. Angewandte Chemie-International 2011. **50**(20): p. 4546-4551.
40. Jaque, D. and F. Vetrone, *Luminescence nanothermometry*. Nanoscale, 2012. **4**(15): p. 4301-4326.
41. Lee, J.K., N. A., *Termometry Design at the Nanoscale*. Nanotoday 2007. **2**: p. 48 - 51.
42. Itoh, Y.e.a., *Combining anti-tumor drugs with mild hyperthermia increases the cytotoxic effects of drugs on human leukemia cells in vitro*. Mol. Med. Rep. , 2009. **2**: p. 411–415.
43. Zohar, O.e.a., *Thermal Imaging of Receptor-Activated Heat Production in Single Cells*. Biophys. J. . **74**: p. 82–89.
44. Suzuki, M.T., V.; Oyama, K.; Ishiwata, S. , *Microscopic Detection of Thermogenesis in a Single HeLa Cell*. Biophys. J. , 2007. **92**: p. L46–L48.
45. G. N. Somero, A., Rev. Physiol., 1995. **57**: p. 43–68.
46. C. Gota, e.a., *Hydrophilic fluorescent nanogel thermometer for intracellular thermometry*. J. Am. Chem. Soc., 2009. **131**: p. 2766–2767.
47. K. Okabe, e.a., *Intracellular temperature mapping with a fluorescent polymeric thermometer and fluorescence lifetime imaging microscopy*. Nat. Commun, 2012. **3**: p. 705.

48. Hernandez, K.M.M.a.M., *Molecular thermometry*. Pediatr. Res., 2010. **67**: p. 469–475.
49. J.M. Yang, H.Y.a.L.W.L., *Quantum Dot Nano Thermometers Reveal Heterogeneous Local Thermogenesis in Living Cells*. ACS Nano, 2011. **5**: p. 5067–5071.
50. Reda, S., *Thermal and Power Characterization of Real Computing Devices*. IEEE Trans. Eng., 2011: p. 76 - 87.
51. Volz, S., *Thermal Nanosystems and Nanomaterials*. Springer: Topics in Applied Physics 2009: p. 118.
52. Jundt, D.H., *Temperature-dependent Sellmeier Equation for the Index of Refraction, ne, in Congruent Lithium Niobate*. Opt. Lett., 1997. **22**: p. 1553 - 1555.
53. Romero, J.J.e.a., *Diffuse Multiself-Frequency Conversion Processes in the Blue and Green by Quasicylindrical Ferroelectric Domains in Nd³⁺:Sr_{0.6}Ba_{0.4}(NbO₃)₂ Laser Crystal*. Appl. Phys. Lett., 2001. **78**: p. 1961 - 1963.
54. Nenna, G.e.a., *A Study on Thermal Degradation of Organic LEDs Using IR Imaging*. Macromol. Symp., 2007. **247**: p. 326 – 332.
55. Kotov, J.L.a.N.A., Nano Today, 2007. **2**: p. 48–51.
56. Geddes, C.D.L., J. R., *Reviews in Fluorescence*, ed. K. Academic/. 2004, New York.
57. Khalid, A.H.K., K., *Thermographic Phosphors for High Temperature Measurements: Principles, Current State of the Art and Recent Applications*. Sensors, 2008. **8**: p. 5673–5744.
58. Christofferson, J.S., A. , *Thermoreflectance Based Thermal Microscope*. Rev. Sci. Instrum., 2005. **76**: p. 024903.
59. Beechem, T.e.a., *Simultaneous Mapping of Temperature and Stress in Microdevices using Micro-Raman Spectroscopy*. Rev. Sci. Instrum., 2007. **78**: p. 061301.
60. Childs, P.R.N.G., J. R.; Long, C. A. , *Review of Temperature Measurement*. Rev. Sci. Instrum., 2000. **71**: p. 2959–2978.
61. Baffou, G.e.a., *Thermal Imaging of Nanostructures by Quantitative Optical Phase Analysis*. ACS Nano 2012. **6**: p. 2452–2458.
62. L. Shang, F.S., N. Azadfar, G. U. Nienhaus, Angew. Chem.-Int., 2013. **52**: p. 11154.
63. D. Jaque, B.d.R., E. M. Rodríguez, L. M. Maestro, P. Haro-González, J. G. Solé, Nanomedicine, 2014. **9**: p. 1047.

64. L. M. Maestro, e.a., *Nanoparticles for highly efficient multiphoton fluorescence bioimaging*. Opt. Expr. , 2010. **18**: p. 23544–23553.
65. Kumar, K.U., et al., *Two Photon Thermal Sensing in Er³⁺/Yb³⁺ Co-Doped Nanocrystalline NaNbO₃*. Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 2013. **13**(10): p. 6841-6845.
66. Pereira, A.F., et al., *Yb³⁺/Tm³⁺ co-doped NaNbO₃ nanocrystals as three-photon-excited luminescent nanothermometers*. Sensors and Actuators B-Chemical, 2015. **213**: p. 65-71.
67. Ning-Ning Dong, e.a., *NIR-to-NIR Two-Photon Excited CaF₂: Tm³⁺,Yb³⁺ Nanoparticles: Multifunctional Nanoprobes for Highly Penetrating Fluorescence Bio-Imaging*. ACS Nano, 2011. **5**(11): p. 8665-8671.
68. Fiorenzo Vetrone, e.a., *Temperature Sensing Using Fluorescent Nanothermometers*. ACS Nano, 2010. **4**(6): p. 3254-3258.
69. Ximenes, E.C., et al, *Unveiling in Vivo Subcutaneous Thermal Dynamics by Infrared Luminescent Nanothermometers*. Nano Letters, 2016. **16**(3): p. 1695-1703.
70. S. Wang, S.W., W. Chen, *Nanoparticle Luminescence Thermometry*. J. Phys. Chem. B 2002. **106**: p. 11203-11209.
71. Berthou, H.a.C.K.J. and 1102., *Optical-Fiber Temperature Sensor Based on Upconversion-Excited Fluorescence*. Optics Letters, 1990. **15**(19): p. 1100-1102.
72. Rocha, U., et al, *Nd³⁺ doped LaF₃ nanoparticles as self-monitored photo-thermal agents*. Applied Physics Letters, 2014. **104**(5).
73. M. Quintanilla, a.e., *Temperature Sensing with Up-Converting Submicron-Sized LiNbO₃:Er³⁺/Yb³⁺ Particles*. Applied Physics Express, 2011. **4**(2): p. 022601.
74. Rocha, U., et al, *Subtissue Thermal Sensing Based on Neodymium-Doped LaF₃ Nanoparticles*. Acs Nano. **7**(2): p. 1188-1199.
75. Ceron, E.N., et al., *Hybrid nanostructures for high-sensitivity luminescence nanothermometry in the second biological window*. Adv Mater, 2015. **27**(32): p. 4781-7.
76. Pinol, R., et al., *Joining time-resolved thermometry and magnetic-induced heating in a single nanoparticle unveils intriguing thermal properties*. ACS Nano, 2015. **9**(3): p. 3134-42.
77. POMA NUÑEZ, P.Y., *Sínteses e Caracterizações Óptica e Estrutural de Nanopartículas de LaF₃:Yb³⁺/Ho³⁺ e LaF₃:Yb³⁺/Tm³⁺ e Cerâmicas Transparentes de Y₂O₃:Eu³⁺ e Y₂O₃:Tm³⁺*, in UFAL - Instituto de Física. 2015.

78. Wang, F.Z., Y.; Fan, X.; Wang, M., *One-pot synthesis of chitosan/ LaF₃:Eu³⁺ nanocrystals for bioapplications*. Nanotechnology, 2006. **17**(5): p. 1527-1532.
79. Xue Bai, a.e., *Concentration-controlled emission in LaF₃:Yb³⁺/Tm³⁺ nanocrystals: switching from UV to NIR regions*. J. Mater. Chem., 2012. **22**: p. 24698–24704.
80. Rocha, U., et al, *Neodymium-Doped LaF₃ Nanoparticles for Fluorescence Bioimaging in the Second Biological Window*. Small. **10**(6): p. 1141-1154.
81. Jacobsohn, L.G., et al, *Preparation and Characterization of Rare Earth Doped Fluoride Nanoparticles*. Materials, 2010. **3**(3): p. 2053.
82. Armelao, L., et al, *Luminescent Properties od Eu-Doped Lanthanum Oxyfluride Sol-Gel Thin Films*. J. Phys. Chem., 2009(113): p. 14429-14434.
83. Singh, A.K., et al, *Photon avalanche upconversion and pump power studies in LaF₃:Er³⁺/Tb³⁺ phosphor*. Applied Physics B, 2011. **104**(4): p. 1035-1041.
84. Sales, T.O., *INFLUÊNCIA DE TRATAMENTO TÉRMICO NAS PROPRIEDADES ESTRUTURAIS E ÓPTICAS DE NANOCRISTALIS DE LaF₃ CO-DOPADOS COM Yb³⁺/Er³⁺*, in UFAL - Instituto de Física. 2015.
85. Fernandes, J.D.G., et al., *Low-temperature synthesis of single-phase crystalline LaNiO₃ perovskite via Pechini method*. Materials Letters, 2002. **52**(1-2): p. 122-125.
86. Webler, G.D., *Influência de Impurezas Sobre a Luminescência de Nanofósforos de Titanato de Bário Dopados com Érbio*, in UFAL - Instituto de Física. 2011.
87. Cheng, L.Q., et al., *Piezoelectricity of lead-free (K, Na)NbO₃ nanoscale single crystals*. Journal of Materials Chemistry C, 2014. **2**(43): p. 9091-9098.
88. Xu, Y.H., et al., *Antiferroelectricity induced by electric field in NaNbO₃-based lead-free ceramics*. Applied Physics Letters, 2014. **104**(5).
89. Katsumata, K., et al., *Effect of surface microstructures on photo-induced hydrophilicity of NaNbO₃ thin films by sol-gel process*. Materials Science and Engineering B-Advanced Functional Solid-State Materials, 2010. **173**(1-3): p. 267-270.
90. Chen, S.F., et al., *Fabrication, characterization and mechanism of a novel Z-scheme photocatalyst NaNbO₃/WO₃ with enhanced photocatalytic activity*. Dalton Transactions, 2013. **42**(30): p. 10759-10768.
91. J.W. Liu, G.C., Z.H. Li, Z.G. Zhang, *Hydrothermal synthesis and photocatalytic properties of ATaO₍₃₎ and ANbO₍₃₎ (A = Na and K)*,. 2007. **32**: p. 2269–2272.
92. Rodriguez, E.M., et al., *Non-linear niobate nanocrystals for two-photon imaging*. Optical Materials, 2011. **33**(3): p. 258-266.

93. Yu, S.W., et al., *Cytotoxicity and degradation behavior of potassium sodium niobate piezoelectric ceramics*. Ceramics International, 2012. **38**(4): p. 2845-2850.
94. K.U. Kumar, W.F.S., K.V. Krishnaiah, C.K. Jayasankar, C. Jacinto, *Three-and two-photon upconversion luminescence switching in Tm^{3+}/Yb^{3+} - codoped sodium niobate nanophosphor*. J. Nanophotonics, 2014. **8**: p. 083093-1 - 083093-9.
95. Kumar, K.U., et al., *Synthesis, Structural Properties and Upconversion Emission of Er^{3+} and Er^{3+}/Yb^{3+} Doped Nanocrystalline $NaNbO_3$* . Science of Advanced Materials, 2012. **4**(5-6): p. 584-590.
96. Mera, J., et al., *La_{0.7}Sr_{0.3}MnO₃ Nanoparticles Synthesized via the (Pechini) Polymeric Precursor Method*. Journal of Superconductivity and Novel Magnetism, 2013. **26**(7): p. 2553-2556.
97. Kumar, K.U., et al., *Multicolor Upconversion Emission and Color Tunability in $Tm^{3+}/Er^{3+}/Yb^{3+}$ Tr-Doped $NaNbO_3$ Nanocrystals*. Materials Express, 2012. **2**(4): p. 294-302.
98. Pin, S., et al., *Structural investigation and luminescence of nanocrystalline lanthanide doped $NaNbO_3$ and Na(0.5)K(0.5)NbO(3)*. Journal of Solid State Chemistry, 2012. **196**: p. 1-10.
99. Silva, J.F., *Sínteses e caracterizações de $NaNbO_3$ dopados e co-dopados com Er^{3+} e Yb^{3+}* , in *UFAL-Instituto de Física*. 2015.

3. NANOTERMOMETRIA ÓPTICA POR TRÊS-FÓTONS EM NANOCRISTAIOS DE NaNbO₃ CO-DOPADOS COM Yb³⁺/Tm³⁺

3.1 Introdução

Na literatura é possível encontrar diversos NTLs baseados em NPs dopadas com íons terras-raras. No entanto, provavelmente os sistemas co-dopados com Er/Yb é um dos mais populares. Nestes sistemas a termo-sensibilidade da emissão do Er³⁺ (na região do verde) é produzida após a transferência de energia do íon Yb³⁺ para o Er³⁺ via um processo de dois fótons (2P) [1-3]. O fato da luminescência obtida por processos de excitação multifotônico levar a leitura térmica é especialmente interessante, uma vez que, abre a possibilidade de imagens térmicas fluorescentes com resolução espacial superior, quando comparados aos NTLs obtidos usando excitação por um fóton (como no caso de NPs dopadas com Nd³⁺) [4, 5]. NTLs por 2P já foram também demonstrados com emissão no infravermelho Yb/Tm apresentando excelentes resultados [6-8].

Como mencionado acima, a principal vantagem de excitação por 2P sobre a excitação por um fóton está (em princípio) na melhoria substancial da resolução espacial devido à natureza de segunda ordem do processo de excitação e a utilização de menores comprimentos de onda de emissão [7]. Dessa forma a melhoria na resolução poderia, portanto, ser obtida se a termo-sensibilidade da luminescência pudesse ser excitada sob um processo de excitação por três fótons (3P). De fato, tem sido relatado que imagens com alta resolução e alta penetração em neurônios vivos podem ser obtidas usando nanoprovetas luminescentes sob excitação por 3P [9]. Além disso, S. Maiti e colaboradores [10], demonstraram que microscopia por 3P pode ser utilizada para obter imagens com alta resolução da distribuição de serotonina dentro de células vivas. Já Caillat e colaboradores [4], forneceram evidências experimentais sobre o potencial uso de conversão ascendente de energia por absorção de multi-fótons de nanocristais dopados com íons terra-raras para microscopia sub-difrativa. Nos últimos anos, vários sensores térmicos baseados na emissão de sistemas dopados com íons terras-raras excitados por 3P, foram propostos na literatura. Nestes casos, foram usados principalmente sistemas luminescentes co-dopados com os íons Yb/Tm e Yb/Ho [11-

[16]. Em alguns casos, sensor térmico via RIF com alta resolução foi demonstrado, mas somente usando materiais convencionais (como, por exemplo: cerâmicas, vidros e cristais), que impossibilita que sejam diluídos em soluções aquosas, limitando assim as potenciais aplicações. Neste ponto, o trabalho publicado por X. Wang e colaboradores [6] merece menção especial. Os autores demonstraram a capacidade da emissão obtida por excitação por 3P dos nanocristais de NaYbF₄ dopados com íons de Tm³⁺, com sensibilidade significativa em baixas e altas temperaturas (100 e 700 K), mas com sensibilidade quase nula em torno da temperatura ambiente [6], o que limita para eventos ocorrendo em temperatura ambiente, tais como, em sistemas biológicos.

Neste capítulo, apresentamos NTLs excitado por 3P baseado na sensibilidade térmica da emissão em torno de 484 nm (que corresponde a transição $^1G_4 \rightarrow ^3H_6$ dos íons de Tm³⁺) das nanopartículas de NaNbO₃ co-dopados com íons de Tm/Yb, para o intervalo de temperatura de 24 a 140 °C . O potencial uso dessas mudanças espectrais para sensor térmico será demonstrado e a sensibilidade térmica obtida será comparada a outros NTLs previamente relatados. Além disso, o aquecimento local induzido opticamente em NaNbO₃ co-dopados com íons de Tm/Yb foi também investigado

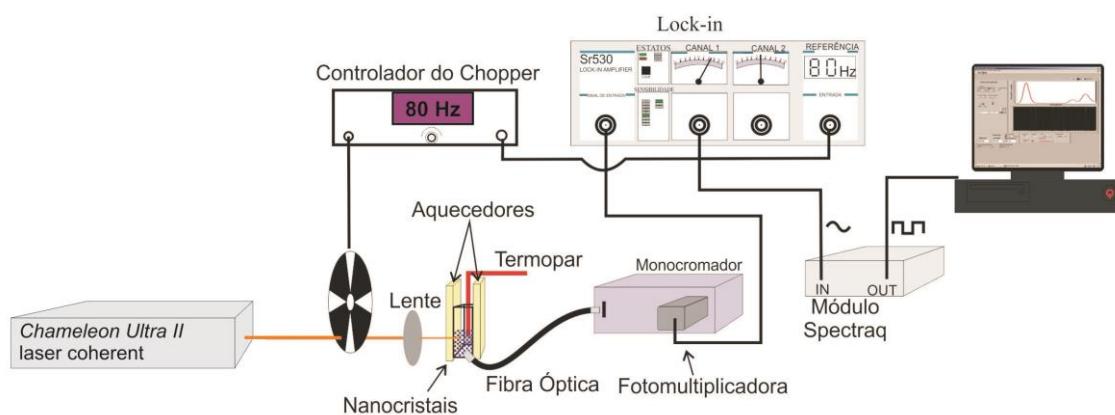
3.2 Aparato experimental

Os experimentos de luminescência foram realizados com os nanocristais de NaNbO₃ co-dopadas com 5 mol% de Yb e 1 mol% de Tm³⁺, para isso, os nanocristais foram colocados no interior de uma cubeta de quartzo com 1,0x1,0 cm de lado (janela de transparência de 200 a 3300 nm), e pressionado em uma de suas faces internas com uma espátula. O aparato experimental usado para obter os espectros de luminescência é mostrado na figura 3.1. Para obter os espectros de emissão de nossa amostra foi usado como fonte excitação um laser sintonizável (690-1080 nm) de femtosegundo (fs) de Ti:Safira (Coherent, modelo Chameleon Ultra II) com taxa de repetição de 80 MHz (praticamente operando no regime cw) sintonizado entre 940-980 nm.

Para focalizar o feixe laser na superfície da amostra foi usado uma lente com distância focal de 5 cm . Para modular o sinal do laser foi utilizado um Chopper, SR540 (Stanford Research System) com frequência controlada que no momento operava em 80 Hz,

conectado a um amplificador “Lock-in” (Stanford Research modelo SR530) para ser usado como sinal de referência. Os sinais da luminescência emitida pelos nanocristais foi coletado por meio de uma fibra óptica e em seguida foram dispersos por um monocromador Scientech de única grade modelo 9057, com resolução de 0,1 nm, e detectado por uma foto-multiplicadora modelo S-20 cuja curva de resposta está compreendida entre 300 e 1100 nm. Os sinais detectados na fotomultiplicadora foram amplificado através do “Lock-in” e convertido em um sinal digital para o computador. Para realizar o processo de aquecimento nas nossas nanopartículas, de forma controlada, foi usado um forno feito com pastilhas *peltier* e um termopar acoplado a um multímetro para determinar a temperatura do sistema.

Figura 3.1: Aparato usado para os experimentos de luminescência das nanopartículas de NaNbO_3 co-dopadas com Tm/Yb.



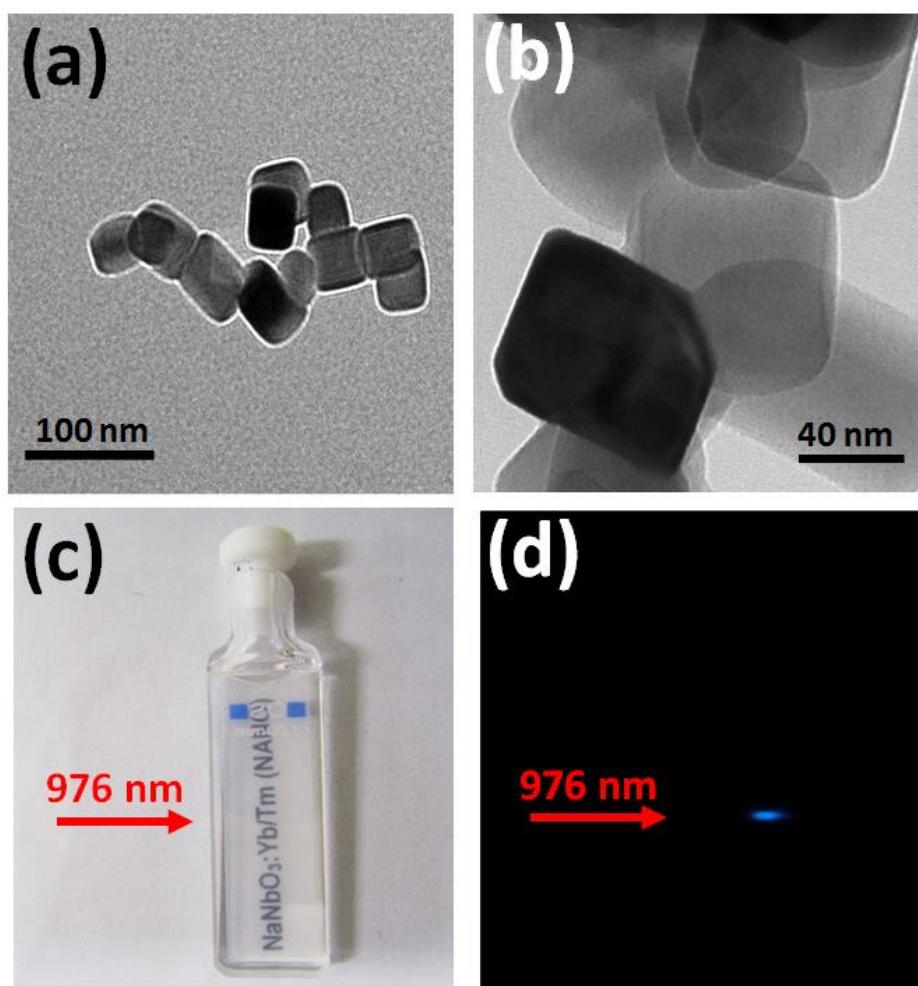
Fonte: Autor da tese, 2016.

3.3 Resultados e discussões

As imagens em alta resolução de microscopia de transmissão eletrônica (HRTEM) das nanopartículas de $\text{NaNbO}_3:\text{Tm/Yb}$ discutidas ao longo deste capítulo são mostradas na figura 3.2 (a) e (b). As nanopartículas de $\text{NaNbO}_3:\text{Tm/Yb}$ possuem uma geometria cúbica com dimensões médias de 70 nm e distribuição de tamanho de ± 10 nm, como recentemente publicado [17-19]. Além disso, quando dispersas em água destilada, as NPs apresentam excelentes propriedades de dispersão, que são essenciais

para bioaplicações. A figura 3.2 (c) mostra uma fotografia que evidencia a alta transparência da solução aquosa das NPs de $\text{NaNbO}_3:\text{Tm/Yb}$ com a concentração em massa de 2mg/ml. Quando excitada opticamente sob luz laser em 976 nm a solução produz um brilho azul luminescente que pode ser facilmente observado a olho nú mesmo em condições normais de iluminação ambiente, como pode ser visto na figura 3.2 (d).

Figura 3.2: (a) e (b) Imagens de HRTEM das nanoparticulas de NaNbO_3 co-dopadas com Tm/Yb usadas neste capítulo; (c) fotografia mostrando a transparência da solução aquosa com 2 mg/ml de nanoparticulas de $\text{NaNbO}_3:\text{Tm/Yb}$. (d) Fotografia da emissão no azul da solução aquosa das nanoparticulas de $\text{NaNbO}_3:\text{Tm/Yb}$ sob excitação em 976 nm.

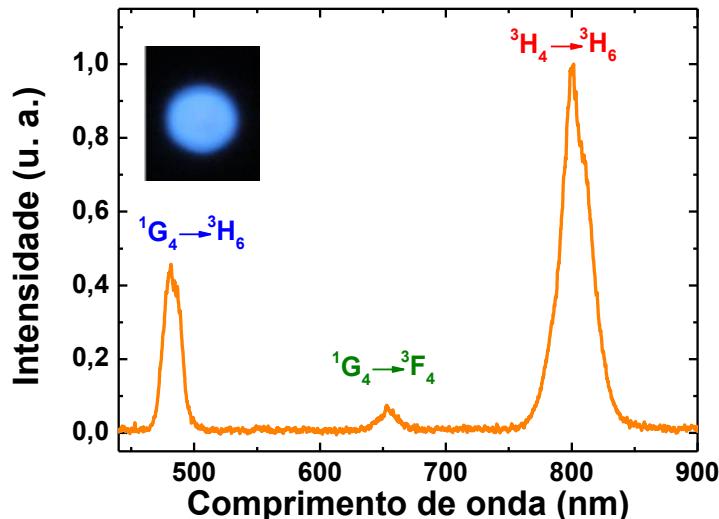


Fonte: Autor da tese, 2016.

O espectro de emissão por conversão ascendente de energia das nanoparticulas de NaNbO_3 co-dopadas com 5 mol% de Yb^{3+} e 1 mol% de Tm^{3+} para potêcia de bombeio de 100 mW, e excitação em 980 nm à temperatura ambiente é mostrado na

figura 3.3. O espectro de luminescência é constituído por três bandas de emissão centradas em 484, 650 e 800 nm, todas elas geradas pelo íon Tm³⁺ após ser excitado via transferência de energia do íon Yb³⁺ ($\text{Yb}^{3+} \rightarrow \text{Tm}^{3+}$). As bandas de luminescências em 480 e 800 nm são atribuídas as transições eletrônicas $^1\text{G}_4 \rightarrow ^3\text{H}_6$ e $^1\text{H}_4 \rightarrow ^3\text{H}_6$, respectivamente, onde $^3\text{H}_6$ é o estado fundamental dos íons de Tm³⁺. A emissão em 650 nm é atribuída a transição $^2\text{F}_{2,3} \rightarrow ^3\text{H}_6$ ou $^1\text{G}_4 \rightarrow ^3\text{F}_4$. Como já foi descrito anteriormente na literatura [11, 17, 20], em sistemas co-dopados com Tm/Yb os níveis de energia do Túlio $^3\text{H}_4$ e $^1\text{G}_4$ são populados através da absorção de dois e três fótons absorvidos do íon Yb³⁺, respectivamente, como será demonstrado a seguir.

Figura 3.3: Espectro de luminescência dos nanocristais de NaNbO_3 co-dopados com 5 mol% de Yb e 1mol% de Tm, sob excitação em 976 nm, para potencia de excitação de 100 mW e em temperatura ambiente.

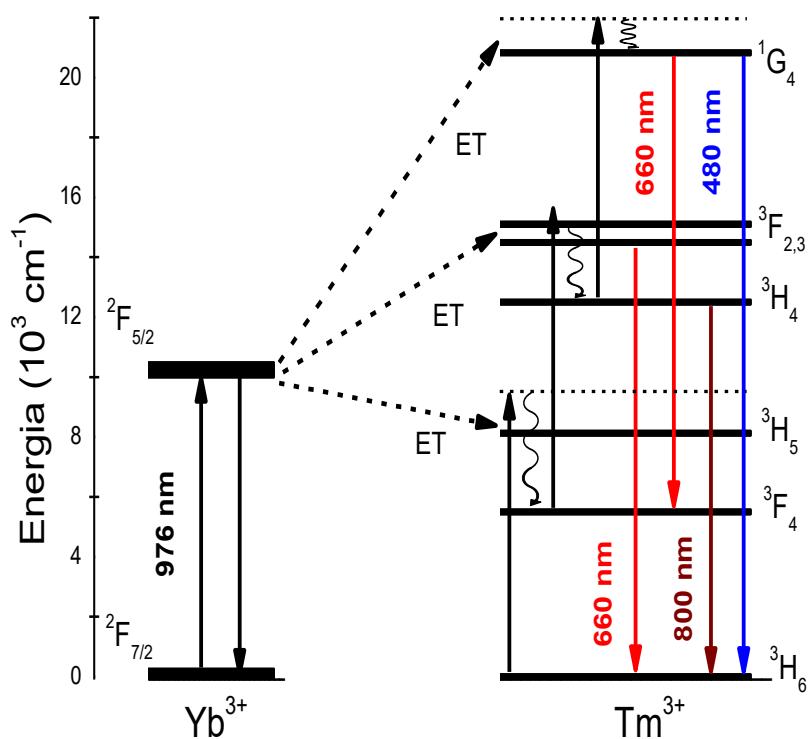


Fonte: Autor da tese, 2016.

Para entender melhor o espectro de emissão mostrado na figura 3.3 vamos descrever um pouco do processo de conversão acedente por transferência de energia. O mecanismo mais provável de população dos níveis de energia dos íons de Tm³⁺ ocorre por transferência de energia proveniente dos íons de Yb³⁺. Um diagrama de níveis de energia simplificado ilustrando os passos necessários para popular os níveis emissores é mostrado na figura 3.4. Inicialmente, um fóton do laser de bombeio em 976 nm é absorvido por um íon de Yb³⁺, promovendo-o para o estado excitado $^2\text{F}_{5/2}$. Então o íon de Yb³⁺ relaxa para o seu estado fundamental $^2\text{F}_{7/2}$ transferindo a sua energia de forma

não ressonante para um íon de Tm^{3+} , o que faz com que esse íon seja promovido ao estado excitado 3H_5 .

Figura 3.4: Esquema simplificado da representação dos processos de conversão ascendente de energia para os íons Yb^{3+} e Tm^{3+} , sob excitação em 980 nm. As setas para cima indicam excitação, as setas para baixo indicam emissão e as linhas onduladas para baixo se referem a transições não radiativas.

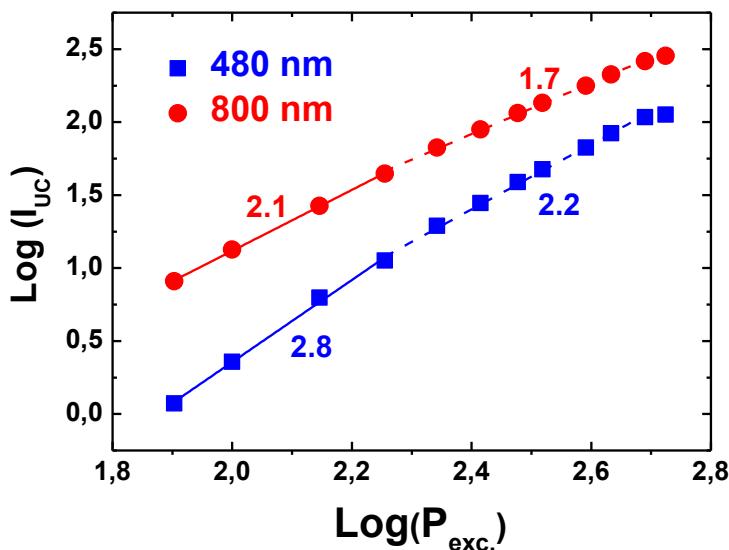


Fonte: Autor da tese, 2016.

Considerando que a matriz hospedeira seja capaz de absorver a energia excedente, o íon de Tm^{3+} no estado 3H_5 relaxa não radiativamente para o estado metaestável 3F_4 [21]. Do nível 3F_4 um segundo processo de transferência de energia não ressonante ocorre do íon de Yb^{3+} para o íon de Tm^{3+} , promovendo-o para o nível $^3F_{2,3}$, sendo necessário que a matriz hospedeira absorva novamente a energia excedente da excitação e também aquela para relaxar de forma não radiativa do nível $^3F_{2,3}$ para o nível meta estável 3H_4 . A partir desse estado, o íon de Tm^{3+} pode decair radiativamente para o estado fundamental (3H_6), gerando a banda de emissão (por conversão ascendente de energia por absorção de dois fótons) em torno de 800 nm, como pode ser visto na figura

3.4. Assim como, pode também ocorrer uma terceira transferência de energia do Yb³⁺ para o Tm³⁺, promovendo o íon de Tm³⁺ do nível ³H₄ para o nível ¹G₄, de onde o íon de Tm³⁺ decai radiativamente para o estado fundamental ³H₆ gerando a banda de emissão (por conversão ascendente de energia por absorção de 3 P) no azul centrada em torno de 484 nm.

Figura 3.5: Gráfico log-log das intensidades de emissão por conversão ascendente de energia em 480 e 800 nm em função da potencia de excitação.



Fonte: Autor da tese, 2016.

Isto é ainda mais evidenciado na figura 3.5 que mostra um gráfico log-log da intensidade de fluorescência gerada em 484 e 800 nm como função da potência de excitação (P_{exc}). Para processos de conversão ascendente de energia, em regime de baixa potencia (não saturados), a intensidade de emissão é proporcional P_{exc}^n [22], onde n é o número de fótons absorvidos por fóton emitido por conversão ascendente de energia. Assim, para o regime de baixa potência de excitação é esperado que n assuma os valores 3 e 2 para as emissões 484 e 800 nm, respectivamente. Este é, de fato, o que foi observado experimentalmente na figura 3.5. Em particular, a terceira ordem da emissão 480 nm com o valor de n experimentalmente obtido (2,8) é muito próximo daquele esperado (3). Em ambos os casos, potencias de excitação com o valor elevado levam a uma redução no valor de n como consequênci da saturação da população do estado excitado do íon de itérbio como era, de facto, esperado [23-25].

Uma vez que a excitação por 3P que da origem a luminescência no azul (centrada em 484 nm) gerada pelas nanopartículas de NaNbO₃: Tm/Yb foi evidenciada, seu potencial uso para nanotermômetro luminescente foi sistematicamente estudado. A figura 3.6 (a) mostra em detalhes a distribuição espectral da emissão no azul gerada pelas NPs NaNbO₃: Tm/Yb para duas temperaturas diferentes (24 e 80 °C).

Como pode ser observada, a forma da banda de emissão no azul é fortemente dependente da temperatura. Em uma primeira análise a banda de emissão no azul obtida por excitação de 3P das nanopartículas NaNbO₃: Tm/Yb pode ser descrita como sendo constituída por duas linhas luminescentes centradas em 480 e 486 nm. Estas duas bandas correspondem a duas diferentes transições radiativas entre os diferentes níveis Stark em que ambos níveis ¹G₄ e ³H₆ são decompostos. Devido a pequena diferença de energia entre os níveis Stark, essas transições são termicamente acopladas e como já foi explicado no capítulo 2, espera-se que pequenas variações de temperatura induzam grandes mudanças na sua intensidade relativa emitida como uma consequência da redistribuição de população dos níveis emissores. Podemos ver na figura 3.6 (a) que isso de fato foi observado, pois a temperatura ambiente as intensidades emitidas em 480 e 486 nm são praticamente idênticas e o aumento da temperatura até 80 °C causa uma notável redução na intensidade de emissão em 486 nm (I_{486}) em relação aquela em 480 nm (I_{480}), ou seja, um apreciável aumento na razão entre as duas intensidades (I_{480}/I_{486}). Como os níveis de energia emissores são termicamente acoplados, é esperado que esta razão entre as intensidades seja governada pela distribuição de Boltzmann [26]:

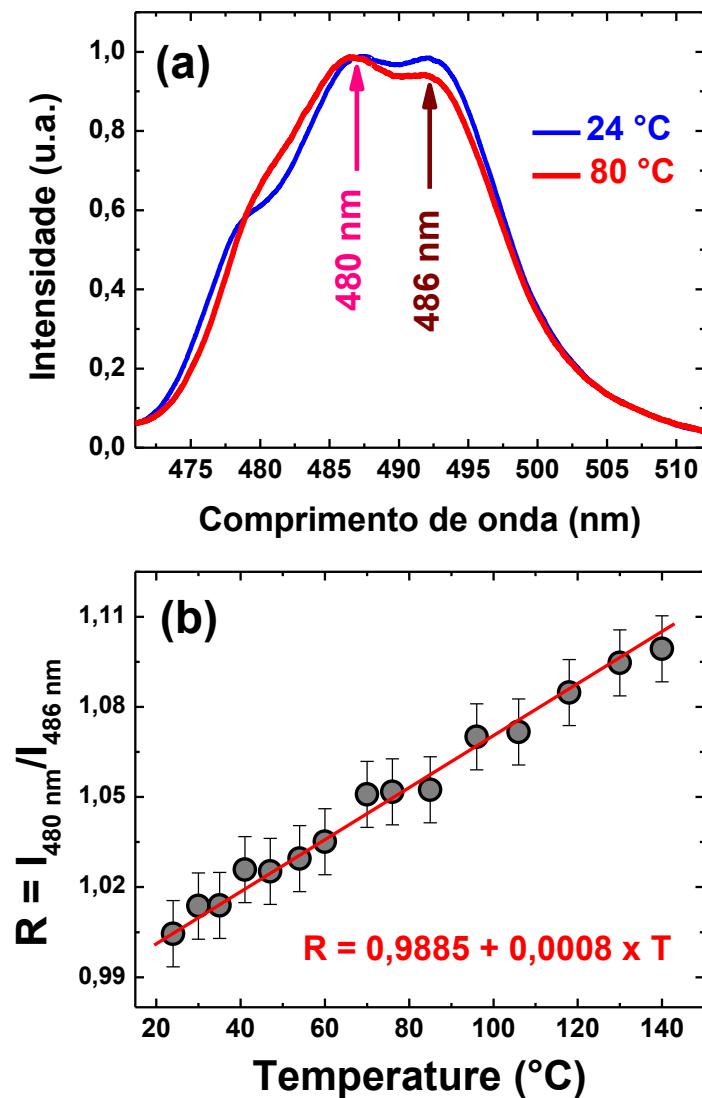
$$R = \frac{I_{480}}{I_{486}} = C \cdot \exp\left(-\frac{\Delta E}{k_B T}\right) \quad (3.1)$$

onde I_{480} e I_{486} são as intensidades emitidas em 480 e 486 nm, respectivamente. Na equação (3.1), C é uma constante cujo valor depende de uma grande variedade de fatores geométricos assim como propriedades intrínsecas do nível emissor (tal como degenerescência, taxa de emissão espontânea, energia do fóton do estado emissor na matriz hospedeira e eficiência quântica de luminescência) [27], ΔE é a energia de separação entre dois níveis Stark do estado ¹G₄, k_B é a constante de Boltzmann e T é a temperatura absoluta.

A razão das intensidades (I_{480}/I_{486}) obtidas para diferentes temperaturas (inclusive incluindo a região biológica de temperatura de 34 a 45 °C) é mostrada na

figura 3.6 (b). Neste ponto é importante destacar que o aquecimento local induzido pela excitação laser em torno de 976 nm é esperado devido ao coeficiente de absorção da água, o que limitaria as aplicações biomédicas potenciais de nossas nanopartículas.

Figura 3.6: (a) Espectros de luminescência em torno de 480 nm para as temperaturas de 24 e 80 °C, sob excitação em 940 nm e potência de excitação de 90 mW. (b) Razão das intensidades de fluorescência para os picos de emissões em 480 e 486 nm como função da temperatura.



Fonte: Autor da tese, 2016.

Para contornar esta limitação reduzimos o comprimento de onda de excitação para 940 nm, dessa forma saímos do pico de absorção da água e consequentemente diminui-se o aquecimento local induzido pela excitação laser. Além disso, a potência do laser utilizado durante as experiências de calibração foi ajustada para ser de apenas 90 mW, e a cintura do laser foi estimada em 20 μm . Sob essas condições nós verificamos experimentalmente, usando uma câmera térmica que, o aquecimento induzido pelo laser não foi maior que 2 $^{\circ}\text{C}$. As barras de erro na Figura 3.6 (b) foram estimadas pela medida de várias vezes em cada ponto/temperatura e análise do desvio padrão dos valores obtidos experimentalmente. Uma observação importante para aplicações práticas é que a curva de calibração incluída na Figura 3.6 (b) foi obtida pela medida direta do pico da intensidade de fluorescência sem a aplicação de qualquer deconvolução espectral. Este facto faz as medidas da temperatura mais rápidas e simples, uma vez que, a análise espectral não é necessária. Neste ponto, devemos mencionar que a curva de calibração também foi medida através da realização da deconvolução espectral dos espectros de luminescência, e que o resultado obtido foi similar à incluída na Figura 3.6 (b).

A partir dos dados experimentais da figura 3.6 (b) foi realizado um ajuste com a equação (3.1), que resultou em uma intervalo de energia de 65 cm^{-1} . Isto pode ser comparado com a diferença de energia entre as duas linhas analisadas (perto de 370 cm^{-1}) resultando em um valor muito reduzido. Esta diferença sugere que o nível fundamental ${}^3\text{H}_6$ para cada transição é diferente, ou seja, as linhas emissoras em 480 e 486 nm são geradas por diferentes subníveis Starks do estado ${}^1\text{G}_4$ que decaem para diferentes subníveis Starks do estado fundamental ${}^3\text{H}_6$. Observamos também que, na variação de temperatura observada nesse trabalho ($24\text{--}140 \text{ }^{\circ}\text{C}$), a RIF em uma primeira análise, aproxima-se a um comportamento linearmente com a temperatura. Isto proporciona uma sensibilidade térmica quase constante (independente da temperatura) e torna a determinação da temperatura bastante simples. Dos dados experimentais contidos na figura 3.6 (b) foi possível estimar a sensibilidade térmica de nossas NPs de $\text{NaNbO}_3:\text{Tm/Yb}$ excitada por 3P, em aproximadamente $0,08 \% \text{ }^{\circ}\text{C}^{-1}$. Esta sensibilidade pode agora ser comparada a de outros sensores térmicos luminescentes excitados por 3P previamente relatadas.

A sensibilidade térmica de nossas NPs é comparável a sensibilidade térmica relatada para emissão no azul (obtida através de três fótons de excitação) de vitro-cerâmicas co-dopadas com Ho/Yb (perto de $0,07 \% \text{ }^{\circ}\text{C}^{-1}$ para temperatura ambiente)

[14], e ligeiramente maior do que a apresentada a temperatura ambiente por fósforos de CaWO₄ co-dopados com Ho/Yb (perto de 0,06 % °C⁻¹) [15] e menor (mas da mesma ordem de grandeza) da apresentado pelo sensor Y₂O₃ co-dopado com Zn:Ho:Yb (cerca de 0,23 % °C⁻¹) [12]. No entanto, como relatado na introdução, este ultimo sistema mencionado apesar de se mostrar como um bom sensor térmico via excitação por 3P, não se apresenta dispersivo em água como nossas nanopartículas, reduzindo drasticamente suas potenciais aplicações como nanosensor térmico para bio-sistemas. A sensibilidade térmica das NPs de NaNbO₃:Tm/Yb pode também ser comparado aquelas tipicamente obtidas usando excitação por 2P como, por exemplo, NPs co-dopadas com Er/Yb (que pode ser tão grande quanto 1 % °C⁻¹) [23, 28], sendo quase uma ordem de magnitude menor. Assim, quando comparado com NTLs baseado em NPs co-dopadas com os íons Er/Yb, o NTL com excitação por 3P NaNbO₃:Tm/Yb tem uma menor sensibilidade térmica, mas por outro lado, elas oferecem a possibilidade de medir a temperatura com uma maior resolução espacial.

Na tabela 3.1 apresentamos um resumo, para efeito de comparação, de alguns dos parâmetros mais importantes no desempenho dos NTLs operando sob excitação por 1P, 2P e 3P. Nessa tabela incluímos a sensibilidade térmica a temperatura ambiente (quando possível), o intervalo de operação de temperatura, o tipo de sensor e o intervalo de operação dos comprimentos de onda de excitação e emissão. Além disso, a tabela mostra (como mencionado anteriormente) que NTLs excitados por 1P e 2P apresentam, em princípio, uma maior sensibilidade do que aqueles excitados por 3P. Entretanto, entre todos os NTLs excitados por 3P, aquele baseado em nossos nanocristais co-dopados com Tm³⁺/Yb³⁺ mostra um desempenho satisfatório. O sistema Y₂O₃:Tm/Yb [11] fornece uma melhor sensibilidade térmica, mas ele se encontra na forma de pó e sua temperatura máxima de operação foi a temperatura ambiente, reduzindo drasticamente suas potenciais aplicações como nanosensor térmico para bio-sistemas. Neste ponto é importante mencionar que temos focado nossa atenção na transição eletrônica ¹G₄ → ³H₆ porque foi a transição que mostrou a maior sensibilidade, mantendo a terceira ordem do processo de excitação.

Tabela 3.1: Sensibilidade térmica para diferentes nanopartículas dopadas com diferentes íons terras raras usados para sensor térmico via RIF. O intervalo espectral de operação é também apresentado. Quando a temperatura não é indicada no valor da sensibilidade, é porque a sensibilidade é constante no intervalo de temperatura de operação.

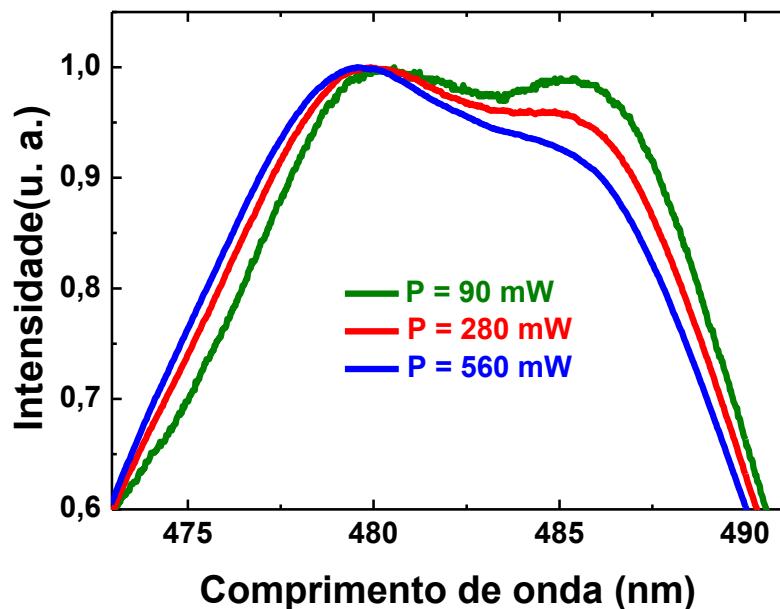
	Nanotermômetro	Sensibilidade (% $^{\circ}\text{C}^{-1}$)	Temperatura de operação	Tipo de sensor	λ_{exc} (nm)	λ_{em} (nm)	Ref.
1P NTL	LaF ₃ :Nd	0,26	10-60°C	FIR	800	900	[29]
	YAG:Nd	0,15	10-70°C	FIR	800	940	[30]
	NaYF ₄ :Nd	0,08@27°C	0-150°C	FIR	830	870	[31]
2P NTL	NaYF ₄ :Er/Yb	1,2	20-60°C	FIR	920	545,525	[2]
	NaNbO ₃ : Er/Yb	0,51	20-200°C	FIR	920-1060	530,550	[3]
	AG:Er-Mo:Yb	0,45@127°C	27-627°C	FIR	980	522,546	[32]
	Y ₂ SiO ₅ :Er/Yb (pó)	0,5	27-327°C	FIR	975	530,555	[33]
	NaGdF ₄ :Tm/Yb@Tb/Eu	1,2	-148-27°C	FIR	980	545,615	[34]
	CaF ₂ :Tm/Yb	0,25	25-50°C	FIR	920	790	[8]
	Y ₂ O ₃ :Ho/Yb (pó)	2,0@27°C	-173-27°C	FIR	980	530,750	[11]
3P NTL	NaNbO ₃ :Tm/Yb	0,08	20-140 °C	FIR	940	475,490	Este trabalho
	Y ₂ O ₃ :Tm/Yb (pó)	5,0@27°C	-173-27°C	FIR	980	450,815	[11]
	NaYbF ₄ :Tm@SiO ₂	0,054@157°C	127-427°C	FIR	980	450,478	[6]
	Y ₂ O ₃ :Ho/Yb/Zn	0,23@127°C	27-377°C	FIR	980	465,491	[12]
	CaWO ₄ : Ho/Yb	0,18@127°C	27-627°C	FIR	980	450,490	[15]

Fonte: Autor da tese, 2016.

Como uma prova de conceito, um simples experimento foi realizado para demonstrar a potencial aplicação de nossas nanopartículas de NaNbO₃:Tm/Yb como nanotermômetros luminescentes de alta resolução. A termo-sensibilidade da emissão (obtida pela absorção de 3P) foi usada para determinar, em tempo real, o aquecimento local nas nanopartículas de NaNbO₃:Tm/Yb induzido pelo laser operando em 940 nm (ao variar a potência de excitação), procedimento semelhante ao usado por Tikhomirov e colaboradores [35], onde excitação por 2P foi usado em NPs co-dopadas com íons de

Er/Yb. Para isso, a amostra em pó foi pressionada a uma das fases internas de uma cubeta. O laser operando em 940 nm foi focalizado na amostra por uma única lente (com distância focal de 5 cm), o que proporcionou um raio do laser na amostra em torno de 20 μm . Então a potência do laser foi sucessivamente elevada e a luminescência por 3P foi registrada e analisada para determinar o aumento local da temperatura causado pelas diferentes transições não radiativas. A emissão no azul das NPs de $\text{NaNbO}_3:\text{Tm/Yb}$ obtida para três diferentes potências de excitação (90, 280 e 560 mW), são mostradas em detalhes na figura 3.7. Todos os espectros de emissão foram normalizados, de modo que as alterações induzidas pelo aumento da potência se tornam mais evidentes. Dessa forma, é possível observar um claro aumento na razão entre as intensidades I_{480}/I_{486} quando a potencia de bombeio é elevada, isso significa que está ocorrendo um aumento significativo de temperatura no foco do laser (onde o laser incide na amostra). Portanto, a emissão por 3P de nossas nanopartículas não apenas evidencia o aquecimento local induzido pelo laser, mas também oferece a oportunidade para estimar a sua magnitude.

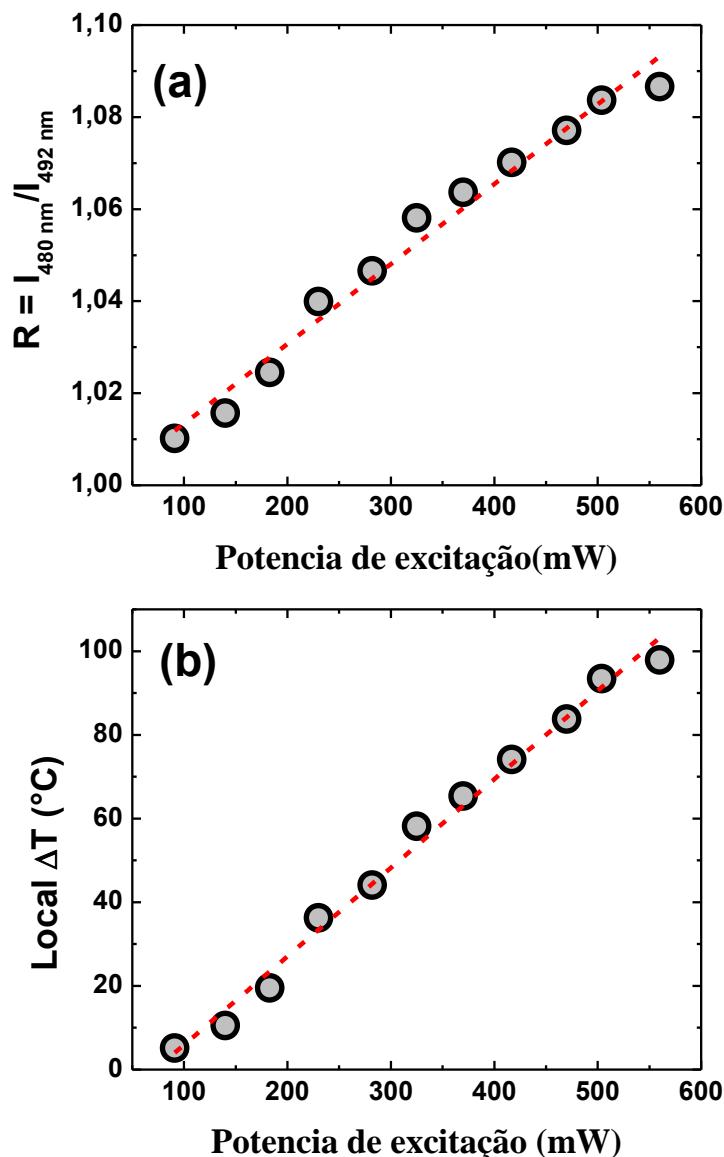
Figura 3.7: Detalhes da intensidade de fluorescência por conversão ascendente de energia em torno 484 para potências de excitação de 90, 280 e 560 mW, sob excitação em 940 nm e temperatura ambiente.



Fonte: Autor da tese, 2016.

A figura 3.8 (a) mostra a razão entre as intensidades I_{480}/I_{486} das emissões obtidas para diferentes potências de bombeio, revelando um comportamento (a principio) linear. Então, usando a curva de calibração dos dados experimentais mostrados na figura 3.6 (b), nós calculamos, para cada potência de bombeio, a temperatura local na amostra (onde o laser incidia) e os resultados obtidos são mostrados na figura 3.8 (b).

Figura 3.8: (a) Razão da intensidade de fluorescência (RIF) dos picos 480 nm e 486 nm em função da potência de excitação e (b) correspondente variação da temperatura local induzida pela potência de excitação nas NPs de NaNbO₃:Tm/Yb sob excitação em 940 nm.



Fonte: Autor da tese, 2016.

Assim, verificou-se que a temperatura local na amostra aumenta linearmente com a potência de bombeio, como era de fato esperado. Nas condições de nosso experimento, obtemos uma taxa de aquecimento induzido pelo laser de 0,2 °C/mW, que é bem menor do que a apresentada por V.K. Tikhomirov e colaboradores para nanopartículas co-dopadas Er/Yb (perto de 2 °C/mW) [35]. Esta grande diferença pode ser explicada pelas diferentes probabilidades não radiativas (que afeta a carga térmica das NPs) e também nos experimentos realizados por V.K. Tikhomirov e colaboradores usavam excitação laser em 975 nm, onde a absorção óptica do Yb é máxima.

Portanto, os dados apresentados nas figuras 3.6, 3.7 e 3.8 não só confirmam a capacidade das nanopartículas de NaNbO_3 para nanosensor térmico , mas também apontam a sua possível aplicação como agente fototérmico capaz de simultaneamente converter luz-para-calor e remotamente fazer a leitura térmica.

3.4 Conclusão

Em resumo, neste capítulo demostramos a potencial aplicação da emissão em torno de 484 nm (gerada a partir de processo de excitação por três fótons) das NPs de NaNbO_3 co-dopadas com íons de Yb/Tm como NTL via RIF. Para isso, foi investigado o efeito da temperatura na banda de emissão em torno de 484 nm para o intervalo de temperatura de 24 a 140 °C. Assim, foi possível observar que a temperatura induz uma redistribuição na população entre os níveis Starks do estado eletrônico $^1\text{G}_4$ dos íons de Tm^{3+} , causando relevantes mudanças na intensidade nas linhas luminescentes em torno de 480 e 486 nm que constituem a banda de emissão em 484 nm. Em seguida, foi investigado o comportamento da razão entre as intensidades em 480 e 486 nm para o intervalo de temperatura de 24 a 140 °C. Foi observado, que a razão entre as I_{480} e I_{486} apresentou um comportamento linear com a temperatura. A partir dos dados experimentais foi realizado um ajuste linear da razão entre as I_{480} e I_{486} em função da temperatura, o que nós levou a uma sensibilidade térmica constante de 0,08 % $^{\circ}\text{C}^{-1}$. Em seguida, esta sensibilidade térmica foi comparada a de outros sensores térmicos luminescentes presentes na literatura. Logo após, foi investigado o aquecimento local induzido opticamente na superfície de nossas NPs. Portanto, os resultados apresentados

neste capítulo validam a capacidade das NPs de NaNbO₃ co-dopados com íons de Tm/Yb como NTL via RIF, mas também aponta a sua possível aplicação como agente fototérmico capaz de simultaneamente converter luz-para-calor e remotamente fazer a leitura térmica.

REFERENCIAS

1. D. Jaque, a.e., *Fluorescent nano-particles for multi-photon thermal sensing*. *J. Lumin.*, 2013. **133**: p. 249–253.
2. Fiorenzo Vetrone, e.a., *Temperature Sensing Using Fluorescent Nanothermometers*. *ACS Nano*, 2010. **4**(6): p. 3254-3258.
3. Kumar, K.U., et al., *Two Photon Thermal Sensing in Er³⁺/Yb³⁺ Co-Doped Nanocrystalline NaNbO₃*. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 2013. **13**(10): p. 6841-6845.
4. L. Caillat, a.e., *Multiphotonupconversion in rare earth doped nanocrystals for sub-diffractive microscopy*. *Appl. Phys. Lett.*, 2013. **102**: p. 143114.
5. Rocha, U., et al, *Subtissue Thermal Sensing Based on Neodymium-Doped LaF₃ Nanoparticles*. *Acs Nano*. **7**(2): p. 1188-1199.
6. X. Wang, J.Z., Y. Xuan, X. Yan, *Optical temperature sensing of NaYbF₄:Tm³⁺ @ SiO₂ core-shell micro-particles induced by infrared excitation*. *Opt.Expr.* , 2013. **21**: p. 21596–21606.
7. D.Y. Li, a.e., *Optical temperaturesensor through infrared excited blue upconversion emission in Tm³⁺/Yb³⁺codoped Y₂O₃*. *Opt. Commun.* , 2012. **285**: p. 1925–1928.
8. Dong, N.N., et al., *NIR-to-NIR two-photon excited CaF₂:Tm³⁺,Yb³⁺ nanoparticles: multifunctional nanoprobes for highly penetrating fluorescence bio-imaging*. *ACS Nano*, 2011. **5**(11): p. 8665-71.
9. N.G. Horton, a.e., *In vivo three-photon microscopy of subcortical structures within an intactmouse brain*. *Nat. Photon*, 2013. **7**: p. 205–209
10. S. Maiti, a.e., *Measuring sero-tonin distribution in live cells with three-photon excitation*. *Science*, 1997. **275**: p. 530–532.
11. V. Lojpur, a.e., *Y₂O₃:Yb,T mand Y₂O₃:Yb,Ho powders for low-temperature thermometry based on up-conversion fluorescence*. *Ceram. Int.* , 2013. **39**: p. 1129–1134.
12. A. Pandey, V.K.R., *Improved luminescence and temperature sensing performance of Ho³⁺-Yb³⁺-Zn²⁺:Y₂O₃phosphor*. *Dalton Trans.* , 2013. **42**: p. 11005–11011.

13. F. Song, a.e., *Upconversion blue emission dependence on the pump mechanism for Tm³⁺-heavy-doped NaY(WO₄)₍₂₎ crystal.*, Appl. Phys. B. , 2007. **86**: p. 653–660.
14. W. Xu, X.G., L. Zheng, Z. Zhang, W. Cao, *Short-wavelength upconversion emissions in Ho³⁺/Yb³⁺codoped glass ceramic and the optical thermometry behavior.* Opt. Expr. , 2012. **20**: p. 18127–18137.
15. W. Xu, a.e., *Optical temperature sensing through the upconversion luminescence from Ho³⁺/Yb³⁺ codoped CaWO₄.* Sens. Actuators B-Chem., 2013. **188**: p. 1096–1100.
16. P.V. dos Santos, a.e., *Efficient energy upconversion emission in Tm³⁺/Yb³⁺-codoped TeO₂-based optical glasses excited at 1.064 μm.* J. Appl. Phys. , 2001. **90**: p. 6550–6552.
17. K.U. Kumar, W.F.S., K.V. Krishnaiah, C.K. Jayasankar, C. Jacinto, *Three-and two-photon upconversion luminescence switching in Tm³⁺/Yb³⁺- codoped sodium niobate nanophosphor.* J. Nanophotonics, 2014. **8**: p. 083093-1 - 083093-9.
18. Kumar, K.U., et al., *Synthesis, Structural Properties and Upconversion Emission of Er³⁺ and Er³⁺/Yb³⁺ Doped Nanocrystalline NaNbO₃.* Science of Advanced Materials, 2012. **4**(5-6): p. 584-590.
19. Kumar, K.U., et al., *Multicolor Upconversion Emission and Color Tunability in Tm³⁺/Er³⁺/Yb³⁺ Tr-Doped NaNbO₃ Nanocrystals.* Materials Express, 2012. **2**(4): p. 294-302.
20. W. Xu, a.e., *An optical temperature sensor based on the upconversion luminescence from Tm³⁺/Yb³⁺ codoped oxyfluoride glass ceramic.* Sens. Actuators B-Chem. , 2012. **173**: p. 250–253.
21. Silva, W.F., *Controle Óptico e Térmico das Propriedades Ópticas e Mecânicas de Materiais Fotônicos*, in UFAL - Instituto de Física. 2011.
22. Zhang, F., *Photon Upconversion Nanomaterials*. 2015.
23. L.M. Maestro, e.a., *Nanoparticles for highly efficient multiphoton fluorescence bioimaging* Opt. Expr., 2010. **18**: p. 23544–23553.
24. M. Pollnau, a.e., *Power dependenceof upconversion luminescence in lanthanide and transition-metal-ion systems.* Phys. Rev. B, 2000. **61**: p. 3337–3346.

25. C. Jacinto, e.a., *Pump-power-controlled luminescence switching in Yb^{3+}/Tm^{3+} codoped water-free low silica calcium aluminosilicate glasses.*, Appl.Phys. Lett. , 2007. **91**: p. 071102.
26. E. Saidi, e.a., *Scanning thermal imaging by near-field fluorescence spectroscopy*. Nanotechnology, 2009. **20**: p. 115703.
27. S.F. León-Luis, e.a., *Role of the host matrix on the thermal sensitivity of Er^{3+} luminescence in optical temperature sensors*. Sens. Actuators B: Chem. , 2012. **174**: p. 176–186.
28. Jaque, D. and F. Vetrone, *Luminescence nanothermometry*. Nanoscale, 2012. **4**(15): p. 4301-4326.
29. E. Carrasco, e.a., *Intratumoral thermal reading during photo-thermal therapy by multifuncional fluorescent nanoparticles*. Adv. Funct. Mater. , 2014.
30. A. Benayas, e.a., *Nd:YAG near-infrared luminescent nanothermometers*. Adv.Opt. Mater. , 2015.
31. D. Wawrzynczyk, e.a., *Neodymium(iii) doped fluoride nanoparticles as non-contact optical temperature sensors*. Nanoscale, 2012. **4**: p. 6959–6961.
32. B. Dong, e.a., *Temperature sensing and in vivo imaging by molybdenum sensitized visible upconversion luminescence of rare-earth oxides*. Adv. Mater. , 2012. **24**: p. 1987–1993.
33. N. Rakov, G.S.M., *Three-photon upconversion and optical thermometry characterization of $Er^{3+}:Yb^{3+}$ co-doped yttrium silicate powders*. Sens. Actuators B-Chem. , 2012. **164**: p. 96–100.
34. S. Zheng, e.a., *Lanthanide-doped $NaGdF_4$ core-shell nanoparticles for non-contact self-referencing temperature sensors*. Nanoscale, 2014. **6**: p. 5675–5679.
35. V.K. Tikhomirov, a.e., *Optical nanoheater based on the Yb^{3+} - Er^{3+} co-doped nanoparticles*. Opt. Expr., 2009. **17**: p. 11794–11798.

4. NANOPARTÍCULAS DE NaNbO₃ DOPADAS COM Tm³⁺ EXCITADAS EM 1,319 μm PARA NANOTERMOMETRIA LUMINESCENTE COM ALTA PENETRAÇÃO E IMAGEAMENTO COM ALTO CONTRASTE.

Neste capítulo apresentamos as potenciais aplicações da emissão por conversão ascendente de energia por excitação de dois-fótons das nanopartículas de Niobato de Sódio (NaNbO₃) dopadas com diferentes concentrações de Tm³⁺ (1-5 mol%) com emissão em 800 nm e excitação em 1319 nm operando, respectivamente, dentro da primeira e segunda janelas biológicas para nanotermometria luminescente e bio-imagens com alta resolução espacial e alta penetração. O perfil espectral de luminescência por conversão ascendente de energia em torno de 800 nm (³H₄→³H₆) será analisado em detalhes no intervalo de temperatura de 22-90 °C. A redistribuição de população dos subníveis Stark termicamente acoplados demostrou ser promissora para aplicações em nanotermometria luminescente via RIF. Além disso, a profundidade de penetração em tecido *ex vivo* usando o comprimento de onda em 1319 nm também será investigada com o intuído de obtermos bioimagens com maior profundidade e alto contraste.

4.1 INTRODUÇÃO

Avanços tecnológicos baseados em nanopartículas luminescentes (NPLs) têm sido objeto de intenso estudo nas últimas décadas e isso se deve principalmente ao seu grande potencial de aplicabilidade em biofotônica moderna [1-3]. Dentre as suas principais aplicações, podemos destacar nanotermômetros luminescentes (NTLs) [4-8], bio-imagens com alta resolução e em hipertermia para diagnóstico e terapia de doenças [1, 9-13]. Os NTLs têm sido principalmente usados em biomedicina para determinar a temperatura de muitos sistemas, sendo de particular interesse na medicina (tal como em células vivas) [7, 14, 15], bem como, em controle de temperatura em tempo real no tratamento de tumores cancerígenos em pequenos animais através de hipertermia [8, 16-18].

Considerando os diferentes NTLs já demonstrados na literatura [4, 5], podemos destacar aqueles baseados na emissão por conversão ascendente de energia (upconversion) de nanopartículas (UCNPs) [19-22] dopadas com íons terra raras, assim como, aqueles por conversão descendente de energia (downconversion) de nanopartículas (DCNPs) [8, 15]. Geralmente, NTLs baseados em UCNPs utilizam absorções sucessivas e/ou transferência de energia (TE) de fótons no infravermelho próximo (NIR) para promover a população eletrônica para estados excitados mais elevados, que eventualmente levam a emissão de fótons com maior energia que podem estar localizados na região do ultravioleta, visível e NIR [19, 22-26]. O processo de excitação por absorção de multi-fótons, em princípio, leva a resoluções espectrais e espaciais maiores [1, 9, 27-29]. No entanto, apesar dos bons resultados obtidos até agora, as aplicações práticas de NTLs baseados em UCNPs são severamente limitadas em sistemas biológicos, porque a grande maioria dos NTLs baseados em UCNPs operam na região do visível do espectro eletromagnético. A luz emitida nesta região de comprimento de onda exibe uma profundidade de penetração reduzida em tecidos biológicos, devido à combinação de efeitos de espalhamento (devido a não homogeneidade do tecido) e a absorção da luz (causados pelos diferentes componentes presentes nos tecidos reais tal como o sangue) pelos tecidos humanos [10, 30].

A fim de superar estes obstáculos técnicos, esforços vêm sendo feitos com o intuito de desenvolver NPLs que operam dentro das chamadas “janelas biológicas” (JBs) dos tecidos humanos [9, 16, 30]. As JBs são regiões espectrais onde os tecidos humanos são parcialmente transparentes, isso significa dizer que, luz com esses comprimentos de onda podem alcançar maiores profundidades de penetração nos tecidos (que compõem o corpo humano) [10, 15, 31]. Tradicionalmente, as JBs são divididas em duas: a primeira JB (I- JB, que se estende de 650 até aproximadamente 940 nm) e a segunda JB (II- JB, que se estende de 1000 a 1400 nm). Estas duas JBs são separadas pelo pico de absorção da água em 980 nm (que é o mesmo pico de absorção do Yb, que é o principal íon usado como sensibilizador) que limita o comprimento de penetração da luz nos tecidos. Este maior comprimento de penetração nos tecidos na I- JB é causada por uma absorção desprezível dos componentes tipicamente presentes nos tecidos, tais como a água e hemoglobina. Já na II-JB, o maior comprimento de penetração nos tecidos é causada pela redução do coeficiente de espalhamento associado com esses maiores comprimento de onda [30, 32]. Por isso, um marcador

fotoluminescente ideal aplicado em imagens *em vitro* e *em vivo* deve ter uma alta eficiência quântica de fotoluminescência; uma faixa espectral adequada de 650-940 ou 1000-1400 nm para os comprimentos de onda de emissão/excitação para minimizar espalhamento e fornecer um maior comprimento de penetração da luz nos tecidos; e uma grande distância espectral entre a emissão e excitação para minimizar efeitos de fundo devido ao espalhamento da fonte de excitação [11, 33].

Mais recentemente, muitos grupos de pesquisas têm explorado o íon Nd³⁺ como sensibilizador devido à sua principal banda de absorção em torno de 800 nm que se encontra dentro da I-JB. Essa ideia é muito interessante tanto para DCNPs operando na I-JB [11, 15, 34] e na II-JB [8, 10, 28, 35] quanto para UCNPs atuando na região do visível [7, 13, 36, 37]. Por outro lado, NIR-para-NIR (com excitação e emissão no NIR) UCNPs para bioimagens *in vivo* já foi demonstrado em animal (corpo inteiro), mas somente usando o íon Yb³⁺ como sensibilizador [22, 38, 39], limitando a resolução da imagem devido à absorção da água e também limitando o comprimento de penetração no tecido. Nestes trabalhos citados, o íon de Tm³⁺ é usado como ativador, utilizando a emissão ($^3\text{H}_4 \rightarrow ^3\text{H}_6$) no NIR dentro da “janela de transmissão óptica”. Por outro lado, a emissão do íon de Tm³⁺ no NIR é geralmente acompanhada de competitivas luminescências por conversão ascendente de energia no azul e no ultravioleta, e esta limitação na seletividade da emissão impede o progresso de aplicações em multiplexados. De fato, seletividade de emissões ainda é um desafio.

Para resolver este problema uma série de estratégias têm sido desenvolvidas, que incluem o controle da concentração dos íons terra raras [40], uso de potência de bombeio como um controlador [41, 42], incorporação de níveis de energia extrínsecos de outros lantanídios ou íons de metais de transições e manipulação da transferência de energia pela introdução de aceitadores dentro da nanopartícula em posições específicas [40, 43]. Entretanto, diversos efeitos podem ocorrer quando se utiliza as abordagens acima mencionadas. Por exemplo, a concentração em excesso de íons pode levar a supressão da luminescência reduzindo a emissão por conversão ascendente de energia; embora a manipulação em multicascas (multi-shell) para favorecer ou desfavorecer uma emissão específica seja muito interessante, este é um processo de fabricação tedioso que exige uma grande quantidade de testes para obter um resultado efetivo; controlador de potência poderia não ser eficaz para várias aplicações específicas, principalmente em

bio-sistema; etc. Por isso, uma eficiente modulação da seletividade da conversão ascendente de energia ainda requer grande esforço da comunidade científica.

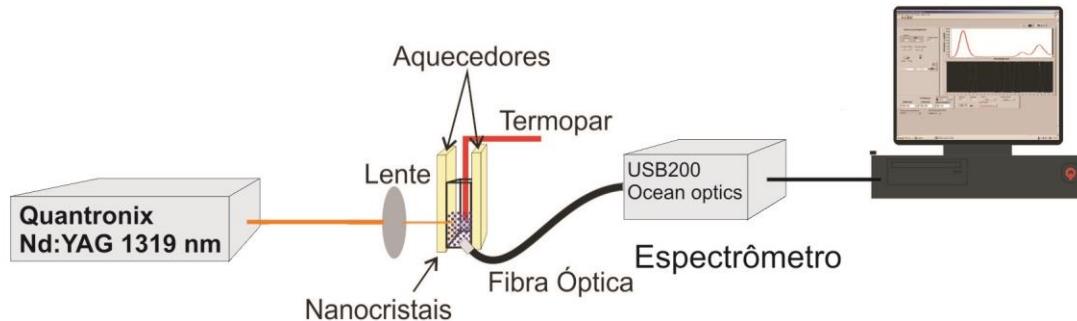
Dessa forma, neste capítulo nos discutiremos sobre conversão ascendente de energia por excitação de dois-fótons (2P) de nanopartículas de Niobato de Sódio (NaNbO_3) dopadas somente com o íon de Tm^{3+} ($\text{Na}_{(1-0.01.x)}\text{Tm}_{(0.01.x)}\text{NbO}_3$, onde $x = 1, 3$ e 5 mol\%), que daqui por diante simbolizaremos por NPs $\text{NaNbO}_3:x\text{Tm}$) abordando muitos das questões discutidas anteriormente.

4.2 APARATO EXPERIMENTAL

O aparato experimental usado na aquisição dos espectros de luminescência é mostrado na figura 4.1. Os experimentos de fluorescência foram realizados nas nanopartículas (em pó) de NaNbO_3 dopadas com o íon Tm^{3+} , em três concentrações diferentes 1, 3 e 5 mol%. As medidas de fotoluminescência foram realizadas no intervalo entre 450 e 860 nm. A fonte de excitação foi um laser de Nd:YAG (Quantronix modelo 416-2L) operando em 1,319 μm no regime cw. O laser operava com potência máxima de 1,5 W. Para controlar a potencia de bombeio foi usando um polarizador. Para focalizar o feixe sobre a superfície da amostra foi utilizado uma lente com 5 cm de distancia focal e neste regime o raio do feixe na amostra foi estimado em aproximadamente 40 μm .

O sinal de luminescência foi coletado diretamente da amostra por meio de uma fibra óptica conectada a um espetrômetro (modelo USP200, da empresa Ocean Optics), que ao ser conectado a um computador mostrava o sinal de luminescência em tempo real. Para investigar as mudanças induzidas pela temperatura na luminescência no NIR das amostras de $\text{NaNbO}_3:\text{Tm}$, a nanopartículas em pó foram colocadas em um forno feito com pastilhas *peltier* (o controlador de temperatura funciona entre a temperatura ambiente até aproximadamente 200 °C com uma estabilidade de temperatura estimada em 1°C) e um termopar acoplado a um multímetro para determinar a temperatura do sistema.

Figura 4.1: Aparato experimental usado nos experimentos de luminescência das nanopartículas de NaNbO_3 dopas com diferentes concentrações de Tm^{3+} .

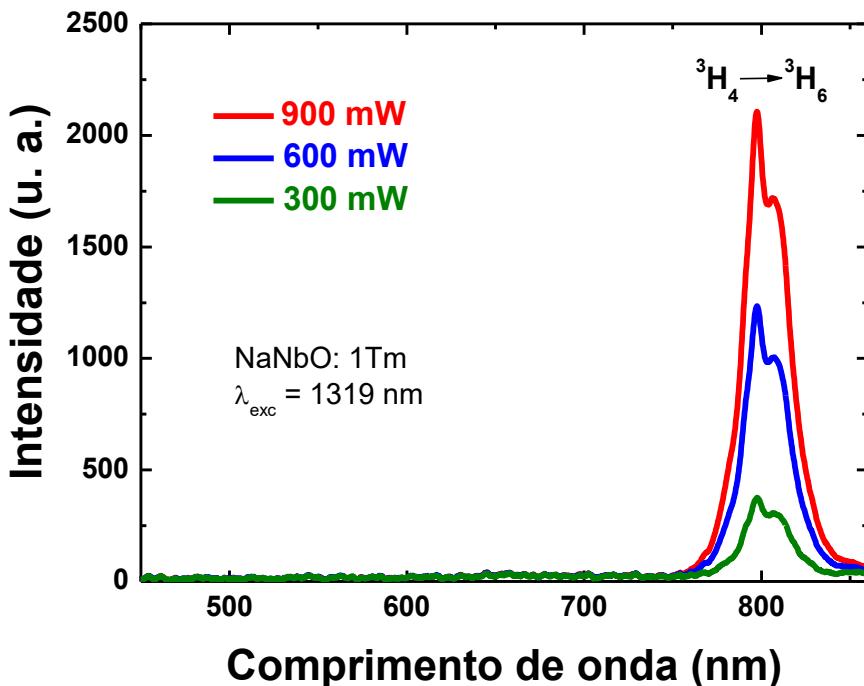


Fonte: Autor da tese, 2016.

4.3 RESULTADOS E DISCUSÕES

A figura 4.2 (a) mostra, para temperatura ambiente, espectros típicos de luminescência por conversão ascendente de energia por excitação por 2P das nanopartículas de NaNbO_3 dopadas com 1 mol% de íons Tm^{3+} sob excitação de laser cw de Nd:YAG operando em 1319 nm, para três diferentes potências de excitação 300, 600 e 900 mW. Nota-se na figura 4.2 (a), que o sinal de luminescência medido consiste de uma única banda de emissão (localizada na região do NIR do espectro eletromagnético) centrada em torno de 800 nm, que é atribuída à transição eletrônica $^3\text{H}_4 \rightarrow ^3\text{H}_6$ característica do íon de Tm^{3+} [45].

Figura 4.2: Espectros de luminescência por conversão ascendente de energia das nanopartículas de NaNbO_3 dopadas com 1 mol% de Tm^{3+} sob excitação em 1319 nm e temperatura ambiente, para três potências de excitação 300, 600 e 900 mW.

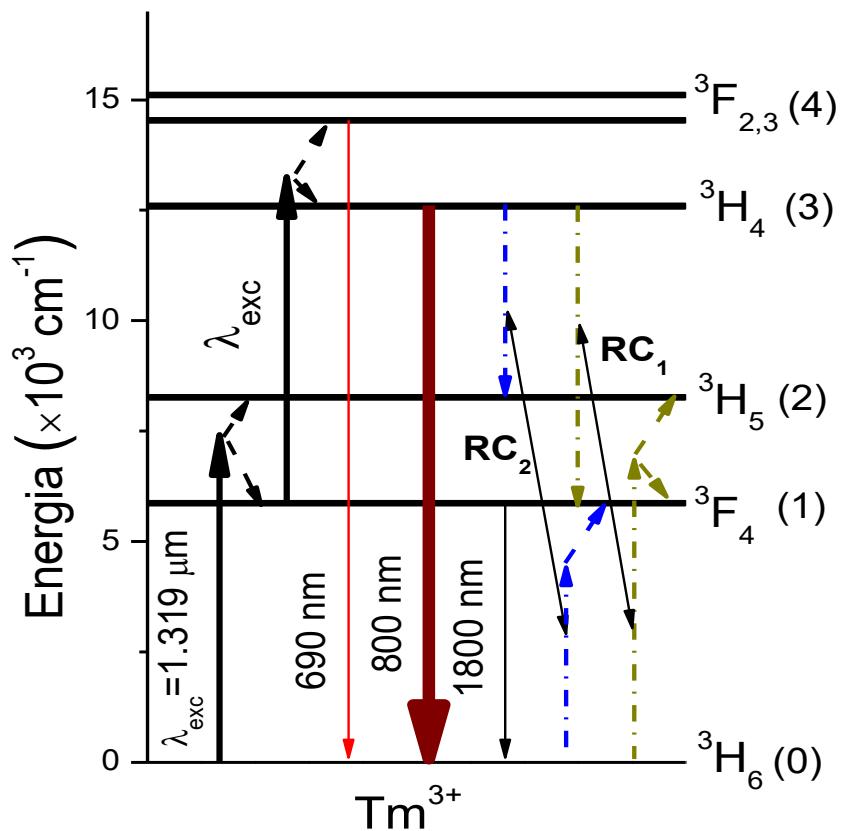


Fonte: Autor da tese, 2016.

O mecanismo mais provável de população dos níveis de energia dos íons de Tm^{3+} que dão origem a banda de emissão em torno de 800 nm mostrada na figura 4.2, já foi explicado por Gouveia-Neto e colaboradores [45], é importante mencionar aqui que este mecanismo envolve a absorção sequencial de 2P assistida por processos de multi-fônons Stokes e anti-Stokes. Inicialmente, um íon de Tm^{3+} no estado fundamental $^3\text{H}_6$ absorve um fóton do laser de bombeio em 1319 nm, e é promovido ao estado excitado $^3\text{F}_4$ (por processos Stokes, ou seja, doando fônons para a rede) ou para o estado excitado $^3\text{H}_5$ (por processos anti-Stokes, ou seja, recebendo fônons da rede) e em seguida decai de forma não radiativa para o nível $^3\text{F}_4$. A partir desse nível, o íon de Tm^{3+} absorve um segundo fóton de bombeio e por absorção de estado excitado ele é conduzido para o nível $^3\text{H}_4$ (por processos Stokes) ou ao nível $^3\text{F}_{2,3}$ (por processos anti-Stokes). A partir do estado excitado $^3\text{H}_4$, o íon de Tm^{3+} decai radiativamente para o estado fundamental $^3\text{H}_6$ gerando luminescência por conversão de energia por absorção de dois fôtons (2P) em torno de 800 nm, como pode ser visto na figura 4.2. Já do nível $^3\text{F}_{2,3}$, o íon de Tm^{3+} podem decair radiativamente para o estado fundamental $^3\text{H}_6$, dando origem a banda de

emissão em 690 nm. No entanto, em nossas NPs a banda de emissão em 690 é desprezível, não sendo assim detectada nos espectros mostrados na figura 4.2.

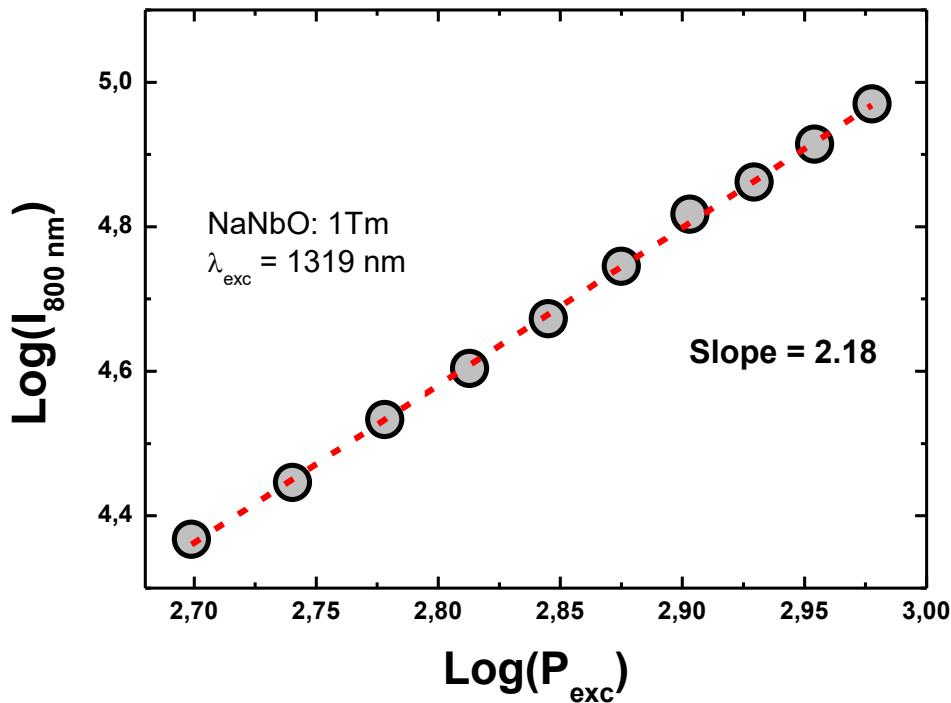
Figura 4.3: Diagrama de níveis de energia simplificado para excitação e emissão por conversão ascendente de energia para sistemas dopados com íon de Tm^{3+} sob excitação em 1319 nm.



Fonte: Gouveia-Neto, A. S., 2015 [45].

A dependência da luminescência em relação a potência de excitação foi investigada experimentalmente e os resultados podem ser observados na figura 4.4, onde se apresenta o gráfico log-log da intensidade de fluorescência gerada em 800 nm como função da potência de excitação (P_{exc}). Os resultados obtidos indicam de fato à segunda ordem do processo que dá origem a emissão em 800 nm, uma vez que o valor da inclinação obtida experimentalmente (~2,18) está muito próximo do valor esperado 2 [19, 45, 46].

Figura 4.4: Gráfico log-log da intensidade de emissão por conversão ascendente de energia em torno de 800 nm em função da potencia de excitação.

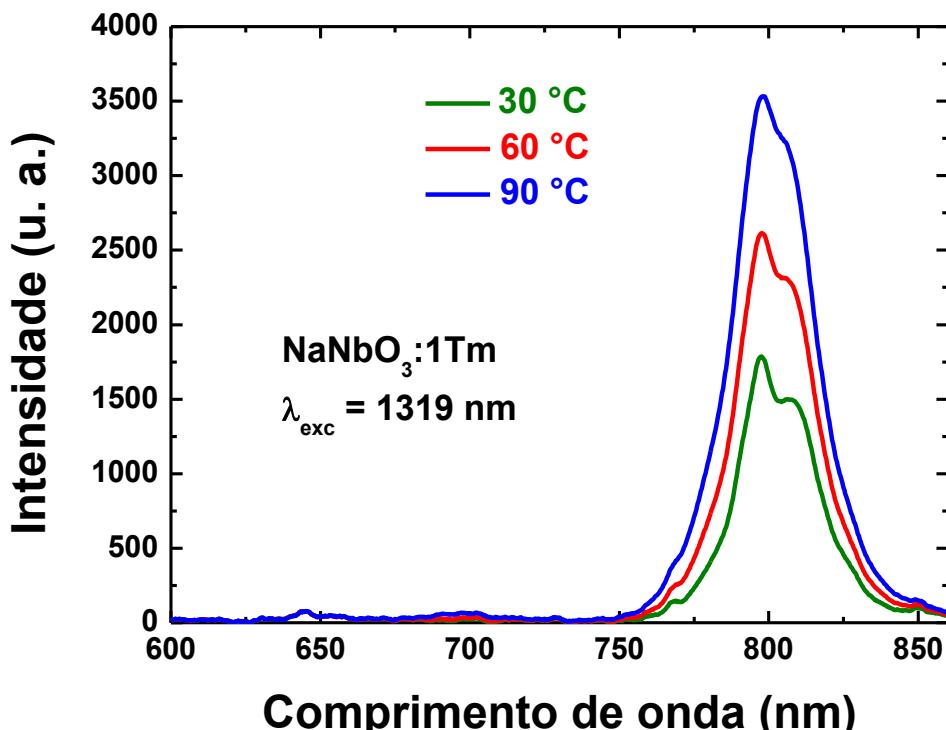


Fonte: Autor da tese, 2016.

Em trabalhos anteriores, foi investigado o processo de excitação assistido por fônon quando sob excitação em 1064 nm, de vários sistemas dopados com íons terras-raras, mas geralmente usando o íon de Yb^{3+} como sensibilizador [42, 47, 48]. Com o intuito de avaliar a eficácia da participação de fônon ópticos na emissão gerada no NIR, a dependência da intensidade de luminescência com a temperatura na amostra foi investigada experimentalmente e os resultados obtidos são mostrados na figura 4.5 para três temperaturas diferentes 30, 60 e 90 °C. Como pode ser observado na figura 4.5 existe um aumento notável na intensidade de emissão em torno de 800 nm com o aumento da temperatura. Este resultado já era esperado, uma vez que, de acordo com o modelo proposto para explicar o mecanismo de excitação da emissão gerada por conversão ascendente de energia em torno de 800 nm, este requer a participação fônon ópticos através de absorção Stokes ou anti-Stokes assistida por multi-fônon para o estado fundamental e excitado. É importante notar ainda que, nenhuma outra intensidade de emissão apreciável surge com o aumento da temperatura, sendo

detectado apenas traços das bandas de emissão em torno de 650 e 700 nm. Estas emissões são geralmente obtidas por meio das transições eletrônicas $^1G_4 \rightarrow ^3F_4$ (por 3 fótons de bombeio) e $^3F_{2,3} \rightarrow ^3H_6$ (por 2 fótons de bombeio), respectivamente.

Figura 4.5: Espectros de emissão por conversão ascendente de energia das nanopartículas de NaNbO_3 dopadas com 1 mol% de Tm^{3+} sob excitação laser em 1319 nm e potência de excitação de 350 mW, para três diferentes temperaturas 30, 50 e 90 °C.

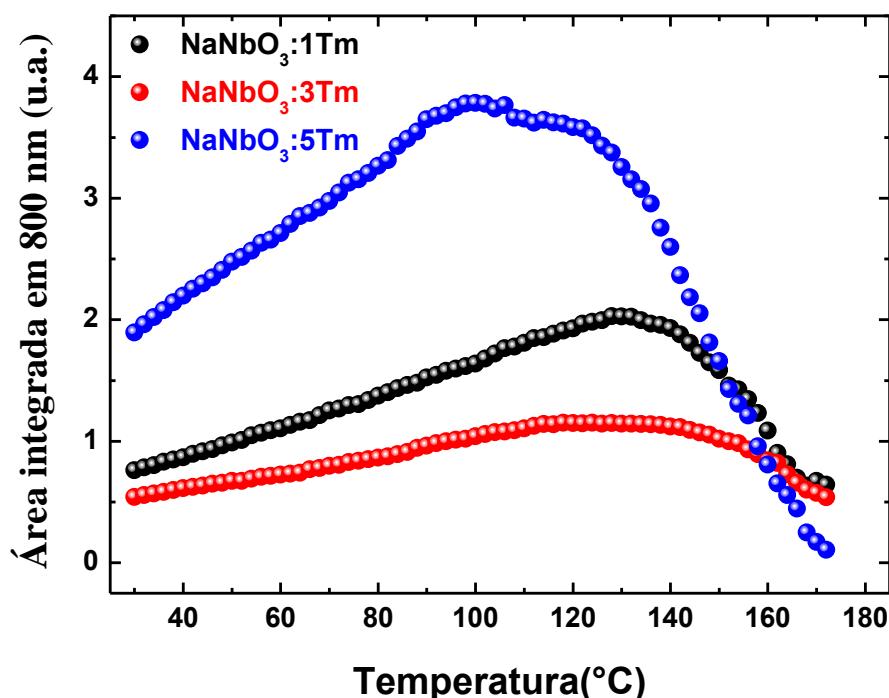


Fonte: Autor da tese, 2016.

A dependência da intensidade de emissão (área integrada sob a curva) em 800 nm das nanopartículas de $\text{NaNbO}_3:\text{xTm}$ (para $x = 1, 3$ e 5 mol\%) em função da temperatura das amostras no intervalo de 30 a 172 °C foram investigadas experimentalmente e os resultados, para as três concentrações, são mostrados na figura 4.6. Ao contrário dos resultados recentemente publicados [45], pode ser facilmente notado que a dependência do sinal medido da emissão com a temperatura depende da concentração de íons de Tm^{3+} usada neste trabalho. Aumentando a temperatura, a intensidade de emissão aumenta até que em uma temperatura específica (que depende da concentração de íons de Tm^{3+}) ela começa a diminuir. Estes valores máximos em

temperatura diferentes para cada concentração é uma indicação da participação de processos de relaxação cruzada (RC) assistida por multi-fônon que se torna mais expressivo para temperaturas mais elevadas. Os processos de RC são indicados na figura 4.3, e enquanto a RC_1 ($^3H_4, ^3H_6 \rightarrow ^3F_4, ^3F_4$) é um processo Stokes, a RC_2 ($^3H_4, ^3H_6 \rightarrow ^3H_5, ^3F_4$) é um processo anti-Stokes e ela deve aumentar com o aumento da temperatura, levando a uma redução da emissão em 800 nm. De fato, a emissão em 800 nm da amostra com 5 mol% de Tm^{3+} inicia a sua redução com a temperatura em torno de 100 °C e vai a praticamente a zero em aproximadamente 172 °C.

Figura 4.6: Área integrada da curva de emissão em torno de 800 nm (do espectro de conversão ascendente de energia) em função da temperatura, para as três concentrações de íons de Tm^{3+} (1, 3 e 5 mol%), para excitação laser em 1319 nm e potência de bombeio de 350 mW.

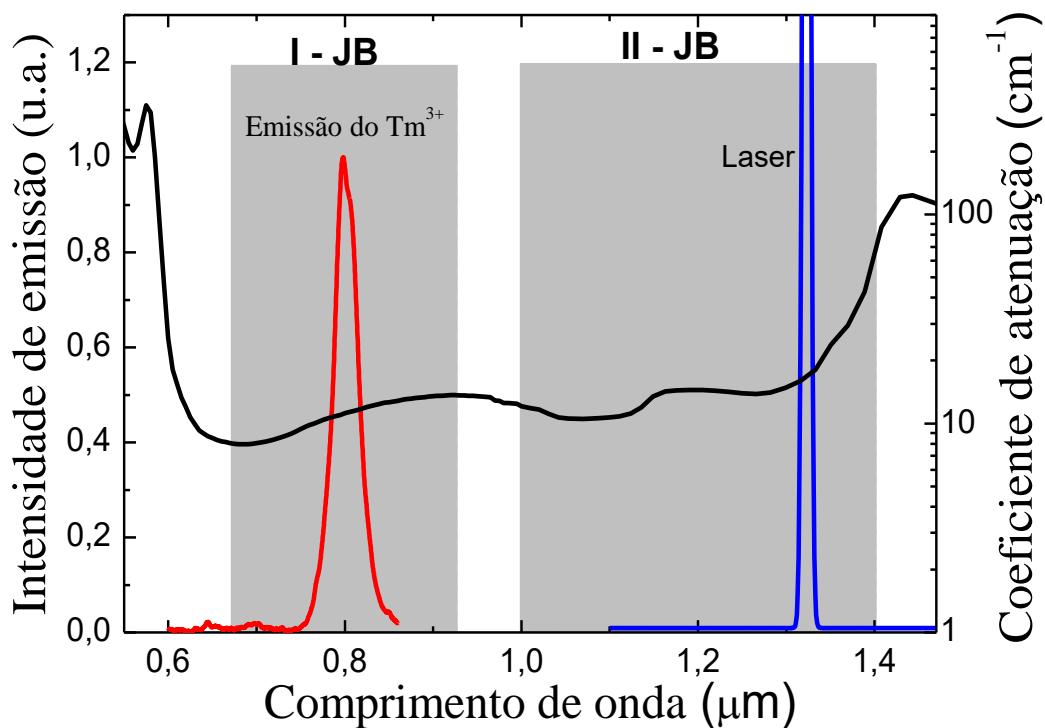


Fonte: Autor da tese, 2016.

A figura 4.7 apresenta esquematicamente as extensões espectrais da primeira e segunda janelas biológicas as quais são limitadas pela dispersão da hemoglobina e absorção da melanina por luz com pequenos comprimentos de onda, além da absorção da água para comprimentos de onda longos (estes três componentes estão representados

através do coeficiente de atenuação do sangue humano oxigenado no intervalo espectral 550-1600 nm). Além disso, também é mostrado a banda de emissão em torno de 800 nm (que se encontra dentro da I-JB) das NPs de LaF₃ dopadas com 1 mol% de Tm³⁺ e a excitação laser em 1319 nm (que se encontra dentro da II-JB) usada ao longo desse capítulo. É importante comentar que a emissão em 800 nm é facilmente detectada no regime de baixa potência de excitação (por exemplo, 150 mW) usando um sistema de detecção sem qualquer amplificador de sinal.

Figura 4.7: Espectro de emissão emitido das nanopartículas de NaNbO₃ dopadas com 1 mol% de íons de Tm³⁺; espectro da excitação laser em 1319 nm usado ao longo de todo este capítulo; também é incluído o coeficiente de atenuação do sangue humano (oxigenado) no intervalo espectral de 550-1470 nm. As extensões espetrais da primeira e segunda janelas biológicas também são esquematicamente indicadas.

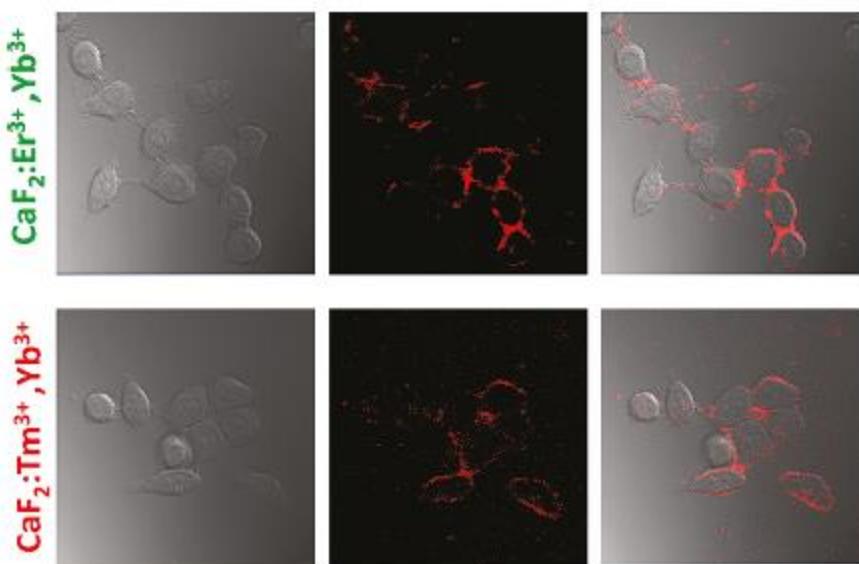


Fonte: Autor da tese, 2016.

A alta eficiência da emissão por conversão ascendente de energia dessas NPs, juntamente com grande separação espectral (próximo de 520 nm) entre os comprimentos de onda de emissão e excitação e principalmente pela excitação dentro da II-JB e o processo excitação de 2P, por tudo isso, espera-se que sejam obtidas bio-imagens fluorescentes com alto contraste usando as NPs de NaNbO₃:Tm. É interessante

reportar que nenhum sinal foi detectado usando nanopartículas de LaF_3 dopadas com íons de Tm^{3+} sob excitação laser em 1319 nm, devido principalmente a baixa energia de fôtons da matriz LaF_3 (normalmente menor que 400 cm^{-1}) [49, 50], que tornaria necessário um grande número de fôtons para completar o processo de excitação.

Figura 4.8: (primeira linha, da esquerda para direita) Imagens de transmissão óptica de células Hela incubadas com uma solução de NPs de $\text{CaF}_2:\text{Er}^{3+}/\text{Yb}^{3+}$, imagem de fluorescência por dois fótons, e sobreposição das duas imagens anteriores. (segunda linha, da esquerda para direita) Imagens de transmissão óptica de células Hela incubadas com uma solução de NPs de $\text{CaF}_2:\text{Tm}^{3+}/\text{Yb}^{3+}$, imagem de fluorescência por dois fótons, e sobreposição das duas imagens anteriores.

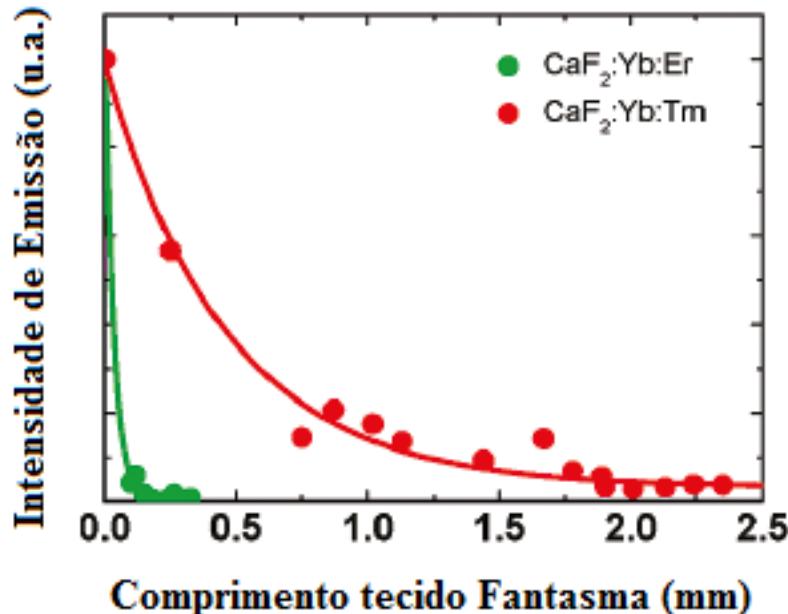


Fonte: Dong, N. N., 2011 [22].

A figura 4.8 mostra bio-imagens fluorescentes (por fótons de excitação) in vitro obtidas por Dong e colaboradores [22] a partir de células Hela incubadas com solução de NPs de CaF_2 co-dopadas com íons de Er/Yb e Tm/Yb, usando excitação em 920 nm. De fato foi observado que as bio-imagens in vitro obtidas a partir das NPs de CaF_2 dopadas com Tm/Yb apresentam uma maior resolução espacial em comparação com as obtidas a partir da emissão no verde (532 nm) das NPs de CaF_2 dopadas com Er/Yb, devido principalmente pelo uso da emissão em torno de 790 nm dos íons de Tm^{3+} encontrando-se dentro da I-JB, possuindo assim um comprimento de penetração muito maior do que o apresentado pela emissão em 532 nm (como mostrado na figura 4.9). Infelizmente não temos microscópio confocal com comprimento de onda de excitação em 1319 nm, por isso, não foi possível fazer quaisquer imagens. Porém, é importante

ressaltar que, para o conhecimento do autor desta tese, que estes são os primeiros resultados que englobam excitação por 2P de NPs cuja emissão encontra-se dentro da I-JB e com excitação dentro da II-JB.

Figura 4.9: Medida da intensidade de emissão em 532 nm (pontos verdes) e 790 nm (pontos vermelhos) para as NPs de CaF_2 co-dopadas com Er/Yb e Tm/Yb, respectivamente, como função do comprimento do tecido fantasma.



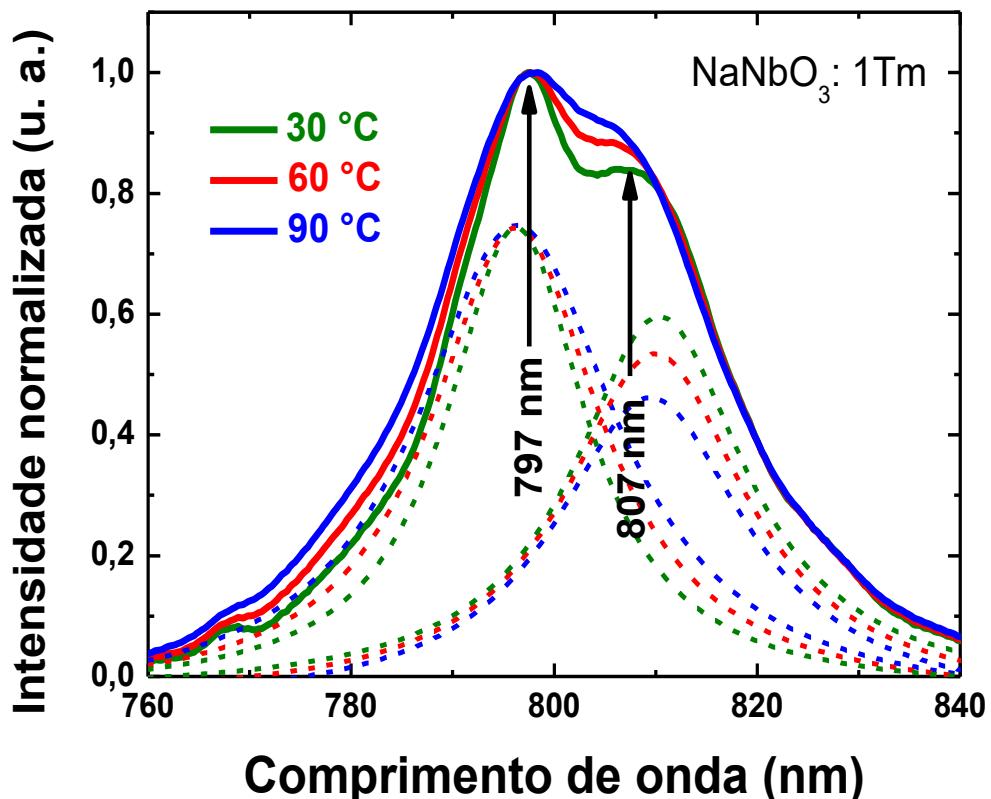
Fonte: Dong, N. N., 2011 [22].

No capítulo 3 desta tese, apresentamos à sensibilidade térmica da emissão por conversão ascendente de energia em torno de 484 nm (azul), proveniente de excitação por três fótons, das NPs de $\text{NaNbO}_3:\text{Yb/Tm}$ para NTL com alta resolução espacial [19]. Mas, uma vez que a excitação por 2P em 1319 nm (localizada dentro da II-JB) gerando emissão em 800 nm (localizado dentro da I-JB) por conversão ascendente de energia a partir das NPs de $\text{NaNbO}_3:\text{Tm}$ foi evidenciado, seu potencial uso como nanotermômetro luminescente será sistematicamente testado.

A figura 4.10 mostra em detalhes a intensidade de emissão normalizada gerada pelas NPs de NaNbO_3 dopadas com 1 mol% de íons de Tm^{3+} para três temperaturas: 30, 60 e 90 °C. Pode-se observar claramente que o perfil espectral da emissão é fortemente dependente da temperatura. Numa primeira análise da emissão em 800 nm por conversão ascendente de energia das NPs de $\text{NaNbO}_3:\text{Tm}$, pode-se afirmar que ela é constituída por duas bandas luminescentes centradas em torno de 797 e 807 nm. Estas

duas linhas de fluorescência correspondem a duas diferentes transições radiativas entre diferentes subníveis de energia Starks, pertencentes ao estado excitado ${}^3\text{H}_4$ do íon de Tm^{3+} , para o estado fundamental. Devido à pequena separação (em energia) entre esses subníveis Starks (somente algumas dezenas de cm^{-1}), eles são termicamente acoplados. Neste caso, pequenas variações de temperatura podem produzir mudanças notáveis nas intensidades relativas delas, como consequência da redistribuição da população destes subníveis.

Figura 4.10: Espectros de emissão normalizados das NPs de NaNbO_3 dopadas com 1 mol% de Tm^{3+} , sob excitação laser em 1319 nm e potência de bombeio de 350 mW nas temperaturas de 30, 60 e 90 °C. As linhas pontilhadas são as deconvoluções com Lorentzianas dos espectros principais.

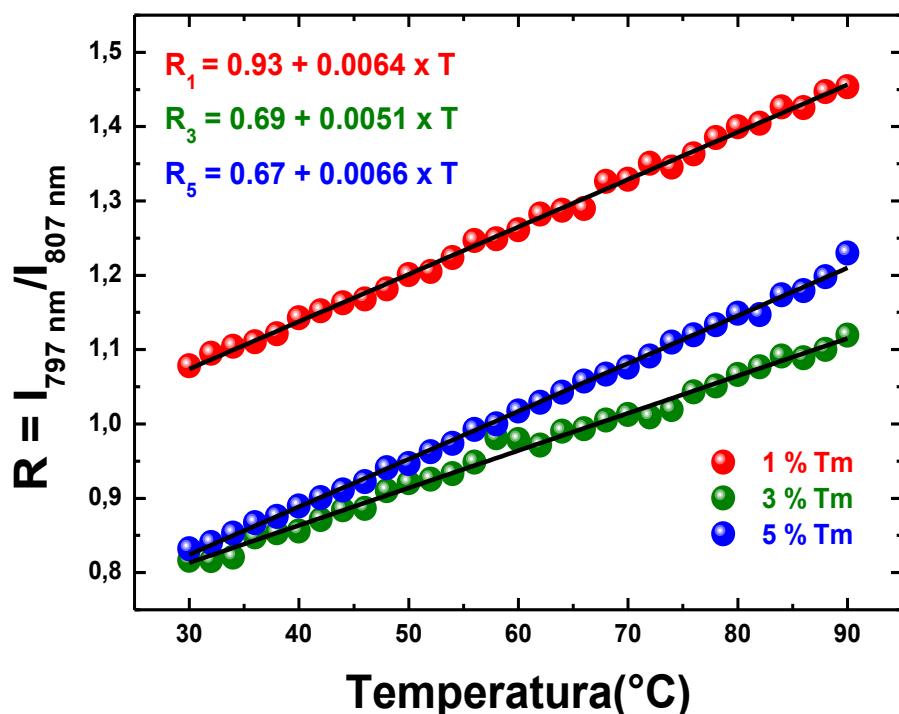


Fonte: Autor da tese, 2016.

Os espectros apresentados na figura 4.8 revelam que em temperatura ambiente o pico centrado em torno de 807 nm é notavelmente menor do que aquele em 797 nm. Entretanto, com o aumento da temperatura até 90 °C o pico de emissão em 807 nm aumenta consideravelmente em comparação ao pico em 797 nm. Porém, como podemos

observar nos espectros de deconvolução (linhas pontilhadas) apresentados na figura 4.8, enquanto a intensidade de emissão (neste caso a área sob a curva de deconvolução do pico em 797 nm) em 797 nm (I_{797}) aumenta com a temperatura a intensidade de emissão (neste caso a área sob a curva de deconvolução do pico em 807 nm) em 807 nm (I_{807}) diminui, assim, ocorre um aumento significativo na razão entre as intensidades (I_{797}/I_{807}) de fluorescência (RIF), como é mostrado na figura 4.11 para as três amostras com diferentes concentrações dos íons de Tm^{3+} .

Figura 4.11: Razão entre as intensidades de fluorescência (RIF) em 797 e 807 nm como função da temperatura para as nanopartículas de NaNbO_3 dopadas com três concentrações diferentes dos íons de Tm^{3+} (1, 3 e 5 mol%).

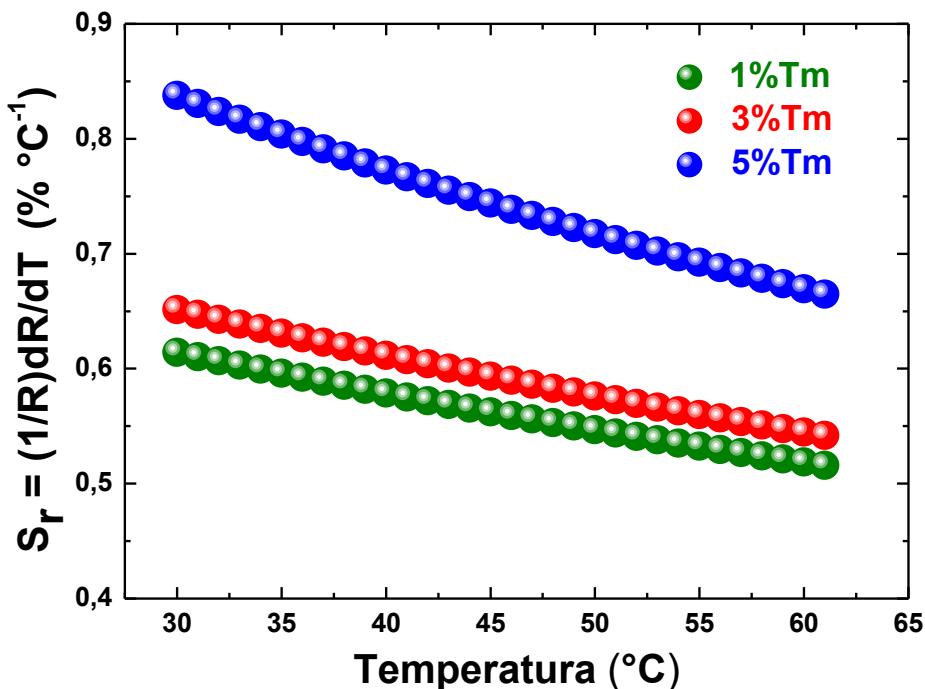


Fonte: Autor da tese, 2016.

Para o intervalo de temperatura investigado apresentado na figura 4.11, foi observado que as razões entre as intensidades de fluorescência (I_{797}/I_{807}) cresce linearmente com a temperatura. As intensidades foram determinadas pelo cálculo da área sob a curva de deconvolução (curvas com linhas pontilhadas) para cada pico de intensidade de emissão (797 e 807 nm), como mostrado na figura (4.10). Dessa forma, a dependência linear da razão das intensidades com a temperatura fornece uma

sensibilidade térmica praticamente independente da temperatura, tornando fácil a leitura da temperatura a partir do sensor térmico. As linhas solidas (de cor preta) mostradas na figura 4.11 são ajustes lineares dos dados obtidos experimentalmente, a partir das quais as sensibilidades térmicas de 0.64 , 0.51 e $0.66\% \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$ foram obtidas para as amostras dopadas com 1 , 3 e 5 mol% de Tm^{3+} , respectivamente.

Figura 4.12: Sensibilidade térmica relativa em função da temperatura para as três amostras investigadas.

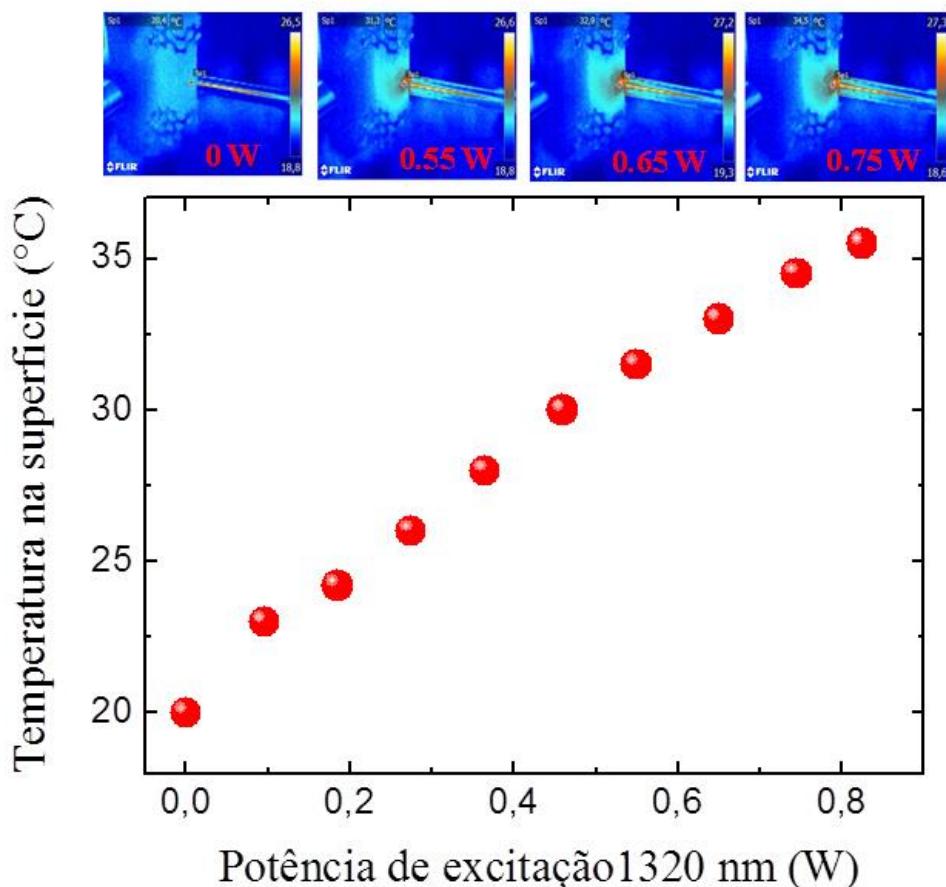


Fonte: Autor da tese, 2016.

A figura 4.12 mostra a sensibilidade térmica relativa (S_r) (também definida no capítulo 2, a partir da equação 2.10) para a razão entre as intensidades de emissão ($R = I_{797}/I_{807}$) para as amostras (1 , 3 e 5 mol% de Tm^{3+}) em função da temperatura. Como pode-se observar na figura 4.10, S_r é praticamente constante tanto em relação à temperatura quanto em relação à concentração de íons de Tm^{3+} usada para dopar as nanopartículas, apresentando um valor médio de $0,75\% \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$ para a amostra dopada com 5 mol% de Tm^{3+} no intervalo de temperatura de 30 - 60 $^\circ\text{C}$, que é maior que o obtido para NPs de $\text{NaNbO}_3:\text{Er/Yb}$ [20] e mais da metade do apresentado pelas NPs de $\text{NaYF}_4:\text{Er/Yb}$ [14], que foi apresentado como um dos NTLs mais sensíveis, entretanto operando na região do visível.

A eficiência do aquecimento local induzido pela potência de excitação laser foi também investigado diretamente nos nanocristais (em pó). Neste caso, foi usado a amostra $\text{NaNbO}_3:1\text{Tm}$, uma câmera térmica (FLIR E40) para medir a temperatura da superfície na amostra, um laser cw operando em 1319 nm para induzir o aquecimento na superfície da amostra, uma lente de distância focal de 5 cm para focalizar o laser sobre a amostra. A figura 4.13 mostram os resultados obtidos e como pode ser observado, quando a potencia de excitação variou de 0 a 800 mW, a temperatura local sobre a amostra variou aproximadamente 15 °C, indicando que o sistema é um possível candidato para hipertermia, entretanto, não muito eficiente. Os resultados apresentados nas figuras 4.5, 4.6, 4.8, 4.9 e 4.10, foram, portanto, todos previamente corrigidos por 8 °C por que a potência de excitação usada foi de 350 mW.

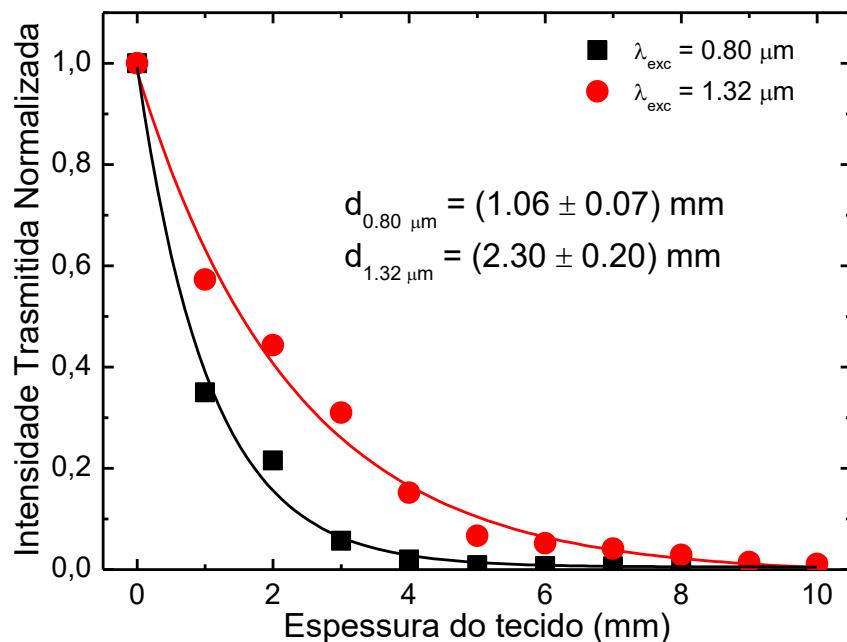
Figura 4.13: Temperatura local na superfície das NPs de $\text{NaNbO}_3:1\text{Tm}$ induzido pelo laser de excitação, medida com a câmera térmica, em função da potência de excitação. Em detalhes são apresentadas imagens térmicas para diferentes potências de excitação.



Fonte: Autor da tese, 2016.

Para avaliar os efeitos da absorção e espalhamento da luz na profundidade de penetração óptica em tecidos biológicos, realizamos um experimento de transmitância em ex vivo, usando o músculo peitoral de frango (MPF). Para isso, preparamos várias lâminas contendo MPF com diferentes espessuras, e então medimos a transmitância da luz laser (sem focalizar) em 800 nm (dentro da I-JB) e 1319 nm (dentro da II-JB). Os resultados obtidos são mostrados na figura 4.14, como pode ser observado a intensidade da luz transmitida em 800 nm decai expressivamente mais rápido do que a em 1319 nm, isso ocorre principalmente devido efeito de redução do coeficiente de espalhamento da luz (associado a sua maior magnitude, ou seja, quanto maior menor serão os efeitos de espalhamento) [29].

Figura 4.14: Intensidade transmitida normalizada em 800 nm e 1319 nm em função da espessura do músculo peitoral de frango. A profundidade de penetração representada por d_i , obtido do ajuste exponencial dos dados experimentais.



Fonte: Autor da tese, 2016.

As linhas solidas na figura 4.12 são ajustes exponenciais aos dados experimentais, a partir dos quais foi possível estimar os comprimentos de penetração como sendo 2,3 mm e 1,06 mm para 1319 nm e 800 nm, respectivamente. De fato, experimentos de bio-imagens usando comprimento de onda de excitação em 1280 nm e

comparando com bombeio em 775 nm revelaram melhorias na resolução de imagem e profundidade de penetração com excitação na II-JB [29]. Combinando os resultados obtidos para 800 nm e 1319 nm, pode-se afirmar que a profundidade de penetração, tão longa quanto, 3 mm é possível de ser alcançado e este valor é duas vezes maior do que os obtidos usando potencia de excitação e emissão em 920 e 800 nm [22], respectivamente.

4.4 CONCLUSÃO

Em síntese, neste capítulo investigamos as potenciais bioaplicações das nanopartículas de NaNbO_3 dopadas com diferentes concentrações de Tm (1, 3 e 5 mol%) como NTL e em bio-imagens fluorescentes. Através dos espectros de emissão ,obtidos sob excitação em 1319 nm, observamos que somente uma banda de emissão em 800 nm é gerada na região do visível-NIR. Verificamos que a intensidade da banda de emissão em 800 nm duplica quando a temperatura da amostra variou de 30 a 90 °C. Além disso, este aumento da intensidade de emissão vem acompanhado de uma redistribuição da população dos subníveis Starks termicamente acoplados de duas diferentes linhas espectrais que compõem a banda de emissão em 800nm. Para as três amostras analisadas a razão entre as intensidades em 797 e 807 nm mostraram um comportamento linear com a temperatura para o intervalo de 24 a 90 °C, o que justifica a sua possível aplicação como NTL. E como, a emissão e excitação de nossas NPs se encontram dentro da primeira e segunda janelas biológicas, respectivamente, existe grande possibilidade de obtermos NTL e bio-imagens fluorescentes com grande resolução espacial e uma maior profundidade de penetração, uma vez que efeitos como espalhamento e autofluorescência são minimizados. Além disso, com base no experimento de penetração realizado, foi possível observar claramente que essa configuração proporciona uma maior profundidade de penetração e, de fato, profundidade de penetração tão grandes quanto 3 mm são potencialmente geradas. Portanto, as NPs de NaNbO_3 dopados com íons de Tm^{3+} surgem como excelente nanomostrador multifuncional para imagens fluorescentes com alto contraste e penetração, e nanotermômetro luminescente com alta sensibilidade térmica para bioaplicações.

REFERENCIAS

1. Jaque, D.e.a., *Inorganic nanoparticles for optical bioimaging*. Adv. Opt and Phot., 2016. **8**(1): p. 1-103.
2. Jaque, D.J., C., *Luminescent nanoprobes for thermal bio-sensing: Towards controlled photo-thermal therapies*. Journal of Luminescence 2016. **169**: p. 394-399.
3. Prasad, P.N., *Introduction to nanomedicine and nanobioengineering*. 2012, John Wiley & Sons, Inc: New Jersey.
4. Brites, C.D., et al, *Thermometry at the nanoscale*. Nanoscale, 2012. **4**(16): p. 4799-4829.
5. Jaque, D. and F. Vetrone, *Luminescence nanothermometry*. Nanoscale, 2012. **4**(15): p. 4301-4326.
6. Fischer, L.H.H., G. S.; Wolfbeis, O. S., *Upconverting Nanoparticles for Nanoscale Thermometry*. Angewandte Chemie-International 2011. **50**(20): p. 4546-4551.
7. Ximenes, E.C., et al., *Self-monitored photothermal nanoparticles based on core-shell engineering*. Nanoscale. **8**(5): p. 3057-3066.
8. Ximenes, E.C., et al, *Unveiling in Vivo Subcutaneous Thermal Dynamics by Infrared Luminescent Nanothermometers*. Nano Letters, 2016. **16**(3): p. 1695-1703.
9. Quek, C.H.L., K. W. , *Near-Infrared Fluorescent Nanoprobes for in Vivo Optical Imaging*. Nanomaterials 2012. **2**: p. 92-112.
10. Rocha, U., et al, *Neodymium-Doped LaF₃ Nanoparticles for Fluorescence Bioimaging in the Second Biological Window*. Small. **10**(6): p. 1141-1154.
11. Chen, G., et al., *Core/shell NaGdF₄:Nd³⁺/NaGdF₄ nanocrystals with efficient near-infrared to near-infrared downconversion photoluminescence for bioimaging applications*. ACS Nano, 2012. **6**(4): p. 2969-2977.
12. Hemmer, E., et al., *Upconverting and NIR emitting rare earth based nanostructures for NIR-bioimaging*. Nanoscale, 2013. **5**(23): p. 11339-11361.

13. Wang, Y.F., et al., *Nd³⁺Sensitized Upconversion Nanophosphors: Efficient In Vivo Bioimaging Probes with Minimized Heating Effect*. Acs Nano, 2013. **7**(8): p. 7200-7206.
14. Fiorenzo Vetrone, e.a., *Temperature Sensing Using Fluorescent Nanothermometers*. ACS Nano, 2010. **4**(6): p. 3254-3258.
15. Rocha, U., et al, *Subtissue Thermal Sensing Based on Neodymium-Doped LaF₃ Nanoparticles*. Acs Nano. **7**(2): p. 1188-1199.
16. Maestro, L.M., et al., *Heating efficiency of multi-walled carbon nanotubes in the first and second biological windows*. Nanoscale, 2013. **5**(17): p. 7882-7889.
17. Haro-Gonzalez, P., et al., *Quantum Dot-Based Thermal Spectroscopy and Imaging of Optically Trapped Microspheres and Single Cells*. Small, 2013. **9**(12): p. 2162-2170.
18. Carrasco, E., et al., *Intratumoral Thermal Reading During Photo-Thermal Therapy by Multifunctional Fluorescent Nanoparticles*. Advanced Functional Materials 2015. **25**(4): p. 615-626.
19. Pereira, A.F., et al., *Yb³⁺/Tm³⁺ co-doped NaNbO₃ nanocrystals as three-photon-excited luminescent nanothermometers*. Sensors and Actuators B-Chemical, 2015. **213**: p. 65-71.
20. Kumar, K.U., et al., *Two Photon Thermal Sensing in Er^{3+}/Yb³⁺ Co-Doped Nanocrystalline NaNbO₃}*. Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 2013. **13**(10): p. 6841-6845.
21. Savchuk, O.A., et al., *Ho,Yb:KLu(WO₄)₍₂₎ Nanoparticles: A Versatile Material for Multiple Thermal Sensing Purposes by Luminescent Thermometry*. J Phys Chem C 2015. **119**(32): p. 18546-18558.
22. Dong, N.N., et al., *NIR-to-NIR two-photon excited CaF₂:Tm³⁺,Yb³⁺ nanoparticles: multifunctional nanoprobe for highly penetrating fluorescence bio-imaging*. ACS Nano, 2011. **5**(11): p. 8665-71.
23. Mai, H.X.Z., Y. W.; Sun, L. D.; Yan, C. H., *Highly efficient multicolor upconversion emissions and their mechanisms of monodisperse NaYF₄ : Yb,Er core and core/shell structured nanocrystals*. J Phys Chem C 2007. **111**(37): p. 13721-13729.
24. Niu, N., et al., *Tunable multicolor and bright white emission of one-dimensional NaLuF₄:Yb₃₊,Ln(3+) (Ln = Er, Tm, Ho, Er/Tm,Tm/Ho) microstructures*. J Mater Chem, 2012. **22**(21): p. 10889-10899.

25. Jayakumar, M.K.G.I., N. M.; Zhang, Y., *Remote activation of biomolecules in deep tissues using near-infrared-to-UV upconversion nanotransducers*. P Natl Acad Sci USA, 2012. **109**(22): p. 8483-8488.
26. Xue Bai, a.e., *Concentration-controlled emission in LaF₃:Yb³⁺/Tm³⁺ nanocrystals: switching from UV to NIR regions*. J. Mater. Chem., 2012. **22**: p. 24698–24704.
27. Denk, W.S., J. H.; Webb, W. W., *2-Photon Laser Scanning Fluorescence Microscopy*. Science, 1990. **248**(4951): p. 73-76.
28. Ceron, E.N., et al., *Hybrid Nanostructures for High-Sensitivity Luminescence Nanothermometry in the Second Biological Window*. Advanced Materials, 2015. **27**(32): p. 4781-4787.
29. Kobat, D., et al., *Deep tissue multiphoton microscopy using longer wavelength excitation*. Optics Express, 2009. **17**(16): p. 13354-13364.
30. Smith, A.M.M., M. C.; Nie, S. , *Bioimaging: Second window for in vivo imaging*. Nat Nano. **4**(11): p. 710-711.
31. Hu, J., et al., *Nanocomposite-Based Photodynamic Therapy Strategies for Deep Tumor Treatment*. Small 2015. **11**(44): p. 5860-5887.
32. Konig, K., *Multiphoton microscopy in life sciences*. J Microsc-Oxford 2000, 2000. **200**: p. 83-104.
33. Cui, X.G., H.; Hou, C.; Gao, F.; Wei, W.; Peng, , *Enhanced near infrared luminescence efficiency of ligand-free LaF₃:Nd/LaF₃ core/shell nanocrystals in solvent dispersion*. J. Lumin., 2014. **154**: p. 155-159.
34. Wawrzynczyk, D.B., A.; Nyk, M.; Strek, W.; Samoc, M. , *Neodymium(III) doped fluoride nanoparticles as non-contact optical temperature sensors*. Nanoscale 2012. **4**(22): p. 6959-6961.
35. Villa, I., et al., *1.3 mm emitting SrF₂:Nd₃₊ nanoparticles for high contrast in vivo imaging in the second biological window*. Nano Res., 2015. **8**(2): p. 649-665.
36. Marciniaik, L., et al., *A broadening temperature sensitivity range with a core-shell YbEr@YbNd double ratiometric optical nanothermometer*. Nanoscale, 2016. **8**(9): p. 5037-5042.
37. Chen, G., et al., *Ultrasmall Monodisperse NaYF₄:Yb³⁺/Tm³⁺ Nanocrystals with Enhanced Near-Infrared to Near-Infrared Upconversion Photoluminescence*. Acs Nano, 2010. **4**(6): p. 3163-3168.

38. Suo, H., et al., *Thermometric and optical heating bi-functional properties of upconversion phosphor Ba₅Gd₈Zn₄O₂₁:Yb³⁺/Tm³⁺*. J Mater Chem C, 2015. **3**(28): p. 7379-7385.
39. Nyk, M., et al., *High Contrast in Vitro and in Vivo Photoluminescence Bioimaging Using Near Infrared to Near Infrared UpConversion in Tm³⁺ and Yb³⁺ Doped Fluoride Nanophosphors*. Nano Letters 2008. **8**(11): p. 3834-3838.
40. Martín-Rodríguez, R., et al., *Upconversion Dynamics in Er³⁺Doped Gd₂O₂S: Influence of Excitation Power, Er₃₊ Concentration, and Defects*. Advanced Optical Materials 2015. **3**(4): p. 558-567.
41. Jacinto, C., et al., *Pump-power-controlled luminescence switching in Yb³⁺/Tm³⁺ codoped water-free low silica calcium aluminosilicate glasses*. Applied Physics Letters, 2007. **91**(7): p. 071102.
42. Silva, W.F., et al., *Color tunability with temperature and pump intensity in Yb³⁺/Tm³⁺ codoped aluminosilicate glass under anti-Stokes excitation*. Journal of Chemical Physics 2010. **133**(3): p. 034507.
43. Zhou, L., et al., *Single-band upconversion nanoprobes for multiplexed simultaneous in situ molecular mapping of cancer biomarkers*. Nat Commun 2015. **6**: p. 6938.
44. Rodriguez, E.M., et al., *Non-linear niobate nanocrystals for two-photon imaging*. Optical Materials, 2011. **33**(3): p. 258-266.
45. Gouveia-Neto, A.S., et al., *1.319 mm excited intense 800 nm frequency upconversion emission in Tm³⁺ doped fluorogermanate glass*. Applied Physics Letters 2015. **107**(21).
46. K.U. Kumar, W.F.S., K.V. Krishnaiah, C.K. Jayasankar, C. Jacinto, *Three-and two-photon upconversion luminescence switching in Tm³⁺/Yb³⁺- codoped sodium niobate nanophosphor*. J. Nanophotonics, 2014. **8**: p. 083093-1 - 083093-9.
47. Jacinto, C.d.A., M. T.; Gouveia, E. A.; Gouveia-Neto, A. S. , *Thermal effect on multiphonon-assisted anti-Stokes excited upconversion fluorescence emission in Yb³⁺ sensitized Er³⁺doped optical fiber*. Applied Physics B-Lasers and Optics, 2000. **70**(2): p. 185-188.
48. Jacinto, C.d.A., M. T.; Gouveia, E. A.; Gouveia-Neto, A. S., *Fourfold output power enhancement and threshold reduction through thermal effects in an*

- Er³⁺/Yb³⁺-codoped optical fiber laser excited at 1.064 mm.* Optics Letters 1999. **24**(18): p. 1287-1289.
49. POMA NUÑEZ, P.Y., *Sínteses e Caracterizações Óptica e Estrutural de Nanopartículas de LaF₃:Yb³⁺/Ho³⁺ e LaF₃:Yb³⁺/Tm³⁺ e Cerâmicas Transparentes de Y₂O₃:Eu³⁺ e Y₂O₃:Tm³⁺*, in UFAL - Instituto de Física. 2015.
50. Tasso, O.S., *INFLUÊNCIA DE TRATAMENTO TÉRMICO NAS PROPRIEDADES ESTRUTURAIS E ÓPTICAS DE NANOCRISTAIS DE LaF₃ CO-DOPADOS COM Yb³⁺/Er³⁺*, in UFAL - Instituto de Física. 2015.

5. USO DAS EMISSÕES DO Tm³⁺ EM 1,23 E 1,47 μm PARA NANOTERMOMETRIA NA SEGUNDA JANELA BIOLÓGICA.

5.1 INTRODUÇÃO

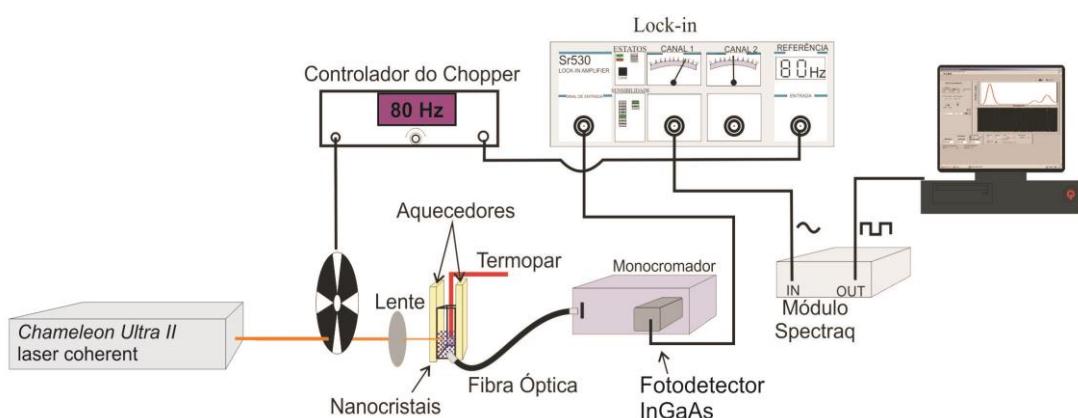
Como foi visto no capítulo 2, uma das principais formas para obter a leitura da temperatura a partir dos NTLs baseados em nanopartículas dopadas com íons terras raras, é através da técnica denominada de razão das intensidades de fluorescência (RIF). Neste caso, a determinação da temperatura é obtida através da análise da razão entre as intensidades de emissões de dois estados eletrônicos termicamente acoplados (TC). No entanto, nos últimos anos esta técnica tem sido usada em diversos outros tipos de nano sistemas que não possuem níveis TC, como por exemplo, as bandas de emissão originadas de níveis não TC de um único íon terra rara [10, 11]; as bandas de emissão originadas de dois diferentes íons terra raras [12, 13]; e até entre bandas de emissão de nano sistemas híbridos formados por quantum dots e nanopartículas dopadas com íons terras raras [14]. Porém, vale ressaltar que em nenhum destes casos, a Eq. (2.8) (apresentada no capítulo 2) que é usada para relacionar a razão entre as intensidades e a temperatura é válido. Sendo assim, é necessário encontrar uma nova relação, que pode ser obtida através de ajustes (lineares ou exponenciais) dos dados experimentais.

Neste capítulo investigamos as aplicações potenciais da fluorescência no infravermelho por conversão descendente de energia de nanopartículas de LaF₃ dopadas com diferentes concentrações de Tm³⁺ (1, 3 e 5 mol%) como NTLs com alta sensibilidade operando com emissão na segunda janela biológica e excitação na primeira janela biológica, baseado na RIF de duas emissões no infravermelho do íons de Tm³⁺: $^3\text{H}_5 \rightarrow ^3\text{H}_6$ e $^3\text{H}_4 \rightarrow ^3\text{F}_4$, que levam as emissões em torno de 1230 e 1470 nm, respectivamente, quando excitado em 690 nm (dentro da primeira janela biológica) no intervalo de temperatura 24 a 88 °C. Os potenciais resultados serão apresentados e discutidos.

5.2 APARATO EXPERIMENTAL

O aparato experimental usado para os experimentos de luminescência neste capítulo é mostrado na figura 5.1. Os experimentos de fluorescência foram realizados nas nanopartículas (em pó) de LaF_3 dopadas com diferentes concentrações de íons de Tm^{3+} (1, 3 e 5 mol%). As medidas de luminescência foram realizadas na região do infravermelho do espectro eletromagnético (1100 – 1600 nm). As amostras foram opticamente excitadas por um laser de Ti:Safira de femtosegundos (Coherent, modelo Chameleon Ultra II), sintonizável (680-1080 nm), com taxa de repetição de 80 MHz (praticamente operando no regime cw), operando em 690 nm. Para focalizar o feixe laser na superfície da amostra, foi usado uma lente com distância focal de 5 cm. Como sinal de referência foi utilizado um Chopper da Stanford Research System, modelo SR540, com frequência de ~80 Hz, conectado a um amplificador “Lock-in” (Stanford Research modelo, SR530).

Figura 5.1: Aparato experimental usado para os experimentos de luminescência das nanopartículas de LaF_3 dopadas com diferentes concentrações de Tm^{3+} .



Fonte: Autor da tese, 2016.

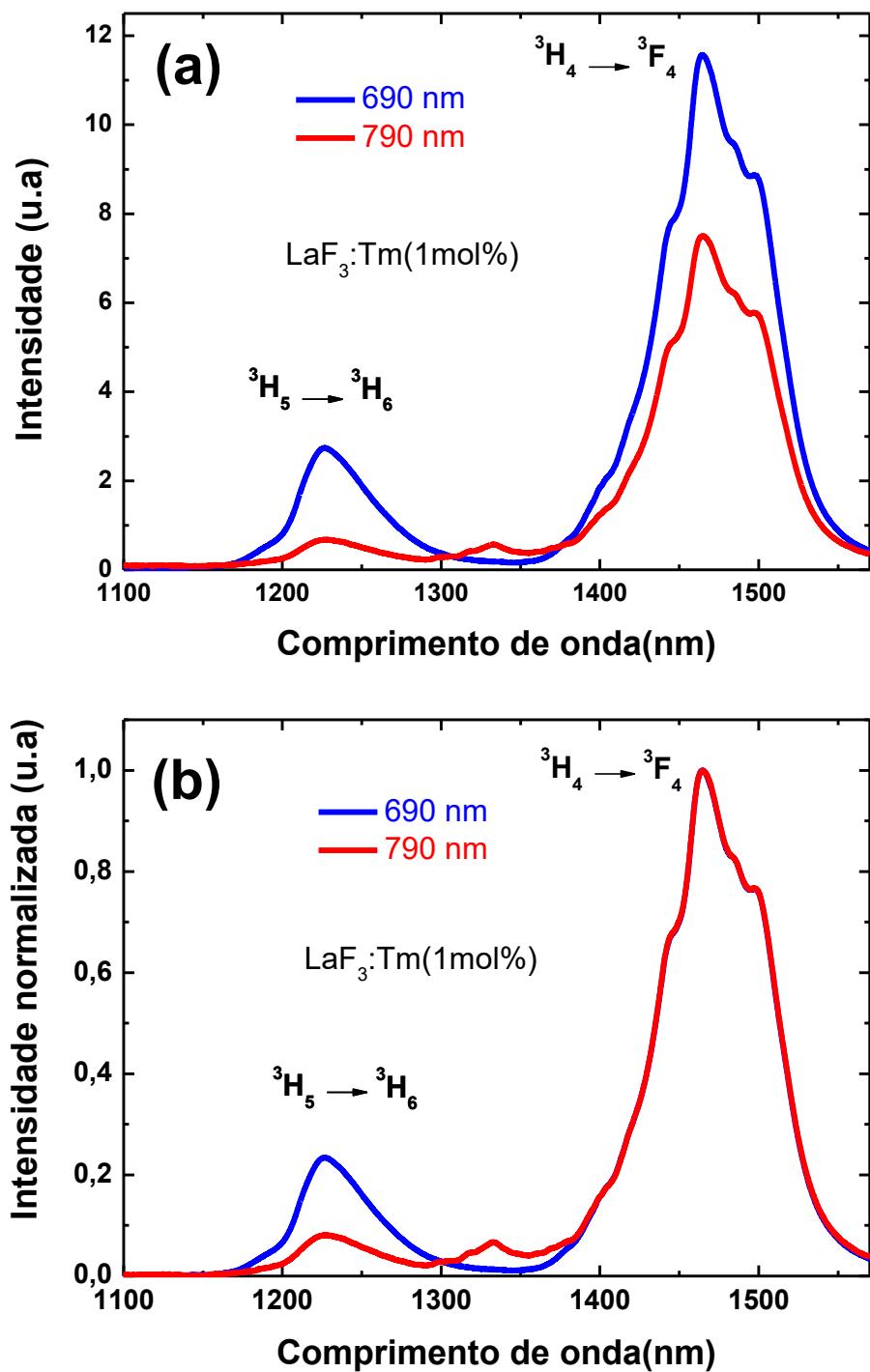
A fluorescência gerada pelas nanopartículas foi coletada usando uma fibra óptica conectada a um monocromador (da empresa Scientech, modelo 9057, com resolução de 0,1 nm) e detectada por um fotodetector de InGaAs (com sensibilidade no intervalo espectral de 800-1600 nm). O sinal medido no detector foi amplificado por um “Lock-in” e convertido em sinal digital para o computador. Para investigar as

modificações induzidas pela temperatura na luminescência no infravermelho, as nanopartículas de $\text{LaF}_3:\text{Tm}$ em pó foram colocadas em um controlador de temperatura caseiro (feito com pastilhas *peltier*) operando entre a temperatura ambiente até 88 °C, com uma estabilidade térmica estimada em 1 °C. Um termopar acoplado a um multímetro foi usado para determinar a temperatura do sistema.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A figura 5.2 mostra espectros de emissão (comparativos) por conversão descendente de energia das nanopartículas de LaF_3 dopadas com 1 mol% de Tm^{3+} , para os comprimentos de onda de excitação laser em 690 e 790 nm, potência de bombeio de 100 mW e à temperatura ambiente. Como pode ser observado, os espectros de luminescência consistem de duas bandas de emissão na região do infravermelho próximo (1100-1600 nm) do espectro eletromagnético com picos de emissão em torno de 1230 nm e 1470 nm. As transições eletrônicas entre os níveis de energia do íon de Tm^{3+} [15, 16], que dão origem a essas emissões, são $^3\text{H}_5 \rightarrow ^3\text{H}_6$ e $^3\text{H}_4 \rightarrow ^3\text{F}_4$, respectivamente, onde $^3\text{H}_6$ é o estado fundamental dos íons de Tm. Na figura 5.2 (a) podemos facilmente notar que as nanopartículas excitadas em 690 nm apresentam maior intensidade de emissão (emissão em 1230 e 1470 nm) em relação à excitação em 790 nm. Enquanto que, na figura 5.2 (b) podemos observar que a emissão em torno de 1230 nm aumenta consideravelmente em relação à emissão em torno de 1470 nm quando o comprimento de onda de excitação é alterado de 790 nm para 690 nm. Para entender esse comportamento analisaremos agora os mecanismos responsáveis por popular os níveis emissores.

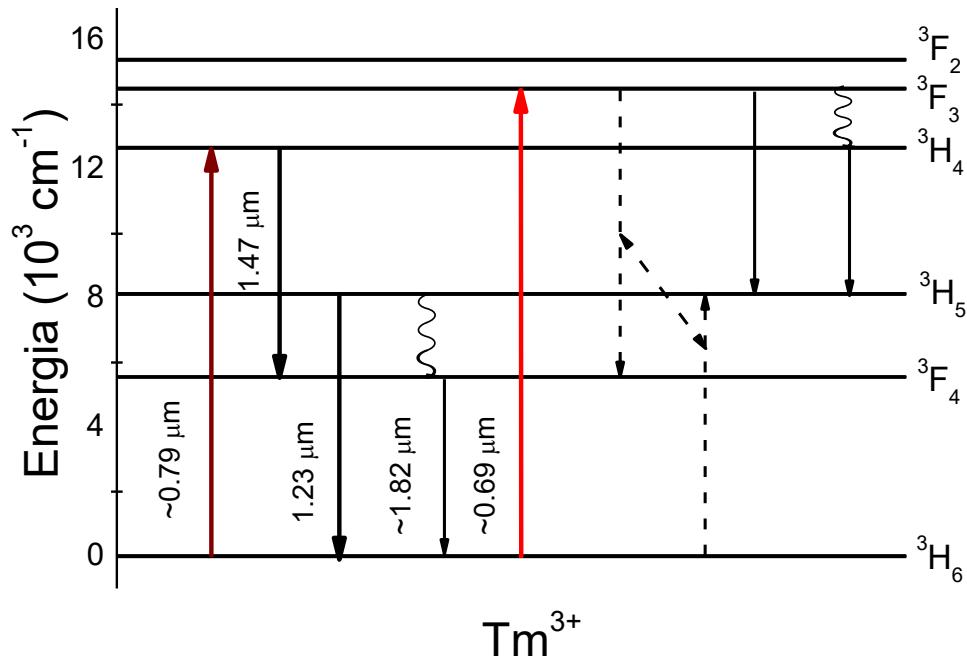
Figura 5.2: (a) Espectros comparativos da luminescência das nanopartículas de LaF_3 , dopadas com 1mol% de Tm^{3+} , sob excitação em 690 nm (em azul) e 790 nm (em vermelho), potência de bombeio de 100 mW e à temperatura ambiente. (b) Espectros de luminescência normalizados.



Fonte: Autor da tese, 2016.

Os mecanismos mais prováveis para popular os níveis emissores (responsáveis pelos espectros de luminescência mostrados na figura 5.2) dos íons de Tm^{3+} são apresentados no diagrama simplificado de níveis de energia, o qual é mostrado na figura 5.3. Como podemos observar, originalmente um íon de Tm^{3+} em seu estado fundamental 3H_6 , sob excitação laser em 790 nm, absorve um fóton de bombeio e como consequência é promovido para o nível 3H_4 . A partir deste nível, o íon de Tm^{3+} pode radiativamente decair para o nível 3F_4 gerando fluorescência por conversão descendente de energia em torno de 1470 nm, ou decair não-radiativamente para o nível 3H_5 e em seguida decair radiativamente para o estado fundamental dando origem a emissão em 1230 nm.

Figura 5.3: Diagrama simplificado dos níveis de energia do íon de Tm^{3+} , mostrando as bandas de emissão em torno de 1470 nm e 1230 nm .

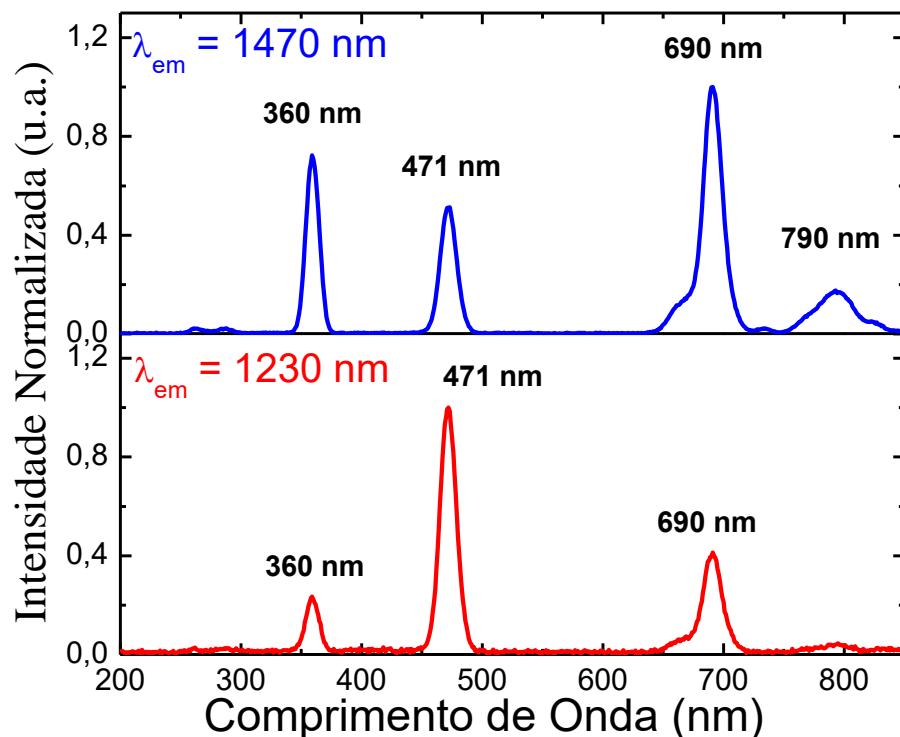


Fonte: Yang, Z. Y., 2006 [16].

Quando sob excitação laser em 690 nm, um íon de Tm^{3+} inicialmente em seu estado fundamental (3H_6) absorve um fóton de bombeamento e é promovido para o nível 3F_3 . Deste nível, por decaimento não-radiativo o nível 3H_4 é populado facilmente, pois o gap de energia entre eles (3F_3 e 3H_4) é relativamente pequeno. Ainda do nível 3F_3 , dependendo da concentração de íons de Tm^{3+} , pode ocorrer transferência de energia via relaxação cruzada, populando o nível 3H_5 por meio da transição $^3F_3, ^3H_6 \rightarrow ^3F_4, ^3H_5$,

como mostrado na figura 5.3. A partir do nível ${}^3\text{H}_5$ o íon de Tm^{3+} decai radiativamente para o nível fundamental ${}^3\text{H}_6$ gerando fluorescência em torno de 1230 nm, enquanto do nível ${}^3\text{H}_4$, o íon de Tm^{3+} decai radiativamente para o nível ${}^3\text{F}_4$ dando origem a banda de emissão em torno de 1470 nm.

Figure 5.4: Espectros de excitação para as emissões em (superior) 1470 nm e (inferior) 1230 nm para a amostra LaF_3 dopada com 1,0 mol% de Tm.



Fonte: Autor da tese, 2016.

Uma vez que discutimos os mecanismos mais prováveis para popular os níveis emissores responsáveis pelas bandas de emissão em torno de 1230 e 1470 nm, podemos agora explicar o comportamento apresentado pelos espectros de emissão mostrados na figura 5.2 baseado no diagrama de níveis de energia visto na figura 5.3. Quando a excitação laser em 790 nm foi usada, a intensidade de fluorescência em 1230 nm é consideravelmente menor que aquela em 1470 nm, pois o nível emissor não é efetivamente populado devido ao decaimento não-radiativa ineficiente do nível ${}^3\text{H}_4$ para ${}^3\text{H}_5$, que se deve principalmente a baixa energia de fônon da matriz LaF_3 (menor que 400 cm^{-1}) [17-20]. Por outro lado, quando a excitação laser em 690 nm foi usada, a intensidade da banda de emissão em torno de 1230 nm aumenta significativamente em

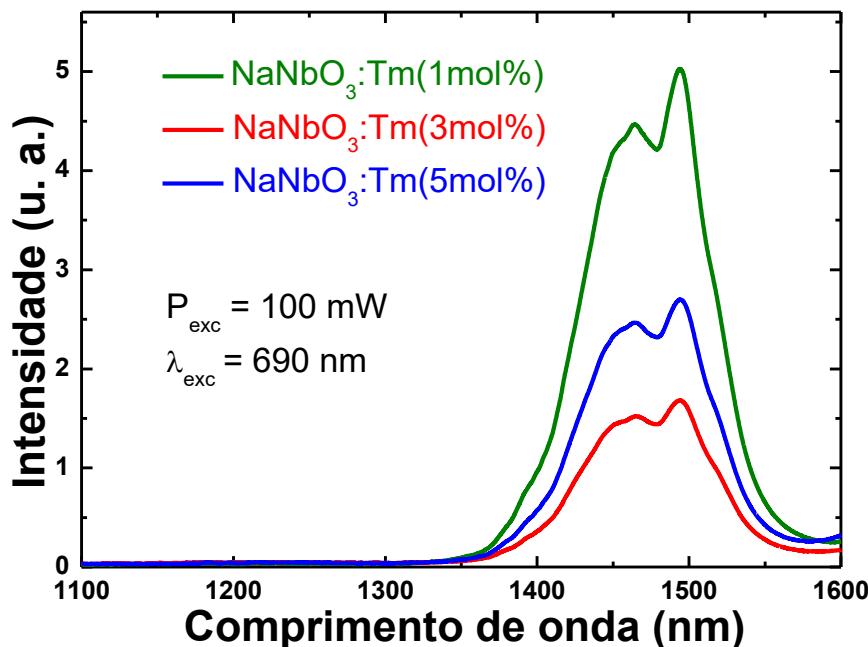
relação à emissão em 1470 nm, uma vez que o nível $^3\text{H}_5$ pode ser populado mais eficientemente devido à transição $^3\text{F}_3 \rightarrow ^3\text{H}_5$ e principalmente devido à relaxação cruzada [16]. Na Figura 5.4 apresentamos os espectros de excitação para as emissões em (a) 1470 e (b) 1230 nm. Como pode ser observado, excitação em 790 nm é muito inefficiente para gerar a emissão em 1230 nm, enquanto 690 nm gera eficientemente as duas.

Em um processo de relaxação cruzada (também chamado de "self-quenching") um íon (chamado de doador) decai de um estado excitado superior transferindo parte de sua energia para um íon próximo (do mesmo tipo e chamado de aceitador), que pode inicialmente se encontrar no estado fundamental ou em outro nível. Ao final teremos os dois íons em estados excitados intermediários [19, 21].

Na figura 5.3 apresentamos o processo de relaxação cruzada (representado pelas setas pontilhadas) responsável pelo aumento relativo da emissão em 1230 nm (em relação a emissão em 1470) quando o comprimento de onda de excitação é alterado de 790 para 690 nm. É importante frisar que a transição $^3\text{H}_5 \rightarrow ^3\text{H}_6$, que corresponde à emissão em 1230 nm dos íons de Tm^{3+} , dependente fortemente da matriz hospedeira, uma vez que, se a matriz possuir energia de fônon relativamente alta, pode ocorrer um favorecimento do decaimento por multifônon (DMF) do nível $^3\text{H}_5$ para o $^3\text{F}_4$ (como mostrado na figura 5.3), levando à diminuição da população do respectivo nível e, consequentemente, à redução da emissão em 1230 nm. Esse efeito é ilustrado experimentalmente a seguir.

A figura 5.5 apresenta espectros de luminescência, no intervalo de 1100 a 1600 nm, de nanopartículas de Niobato de Sódio (NaNbO_3) dopadas com 1, 3 e 5 mol% de íons de Tm^{3+} , em temperatura ambiente quando excitadas em 690 nm. Como podemos observar (diferentemente dos espectros apresentados na figura 5.1 para as nanopartículas de LaF_3 dopadas com Tm^{3+}), as nanopartículas de NaNbO_3 dopadas com Tm^{3+} não apresentam a banda de emissão em 1230 nm. Isso se deve principalmente à energia de fônon alta da matriz NaNbO_3 , que é em torno de 800 cm^{-1} [22, 23], fazendo com que o DMF do nível $^3\text{H}_5$ para o $^3\text{F}_4$ seja mais efetivo do que a transição radiativa $^3\text{H}_5 \rightarrow ^3\text{H}_6$.

Figura 5.5: Espectros de luminescência no infravermelho (1100-1600 nm) das nanopartículas de niobato de sódio NaNbO_3 dopadas com diferentes concentrações de íons de Tm^{3+} (1, 3 e 5 mol%), sob excitação laser em 690 nm, potência de excitação de 100 mW e em temperatura ambiente.

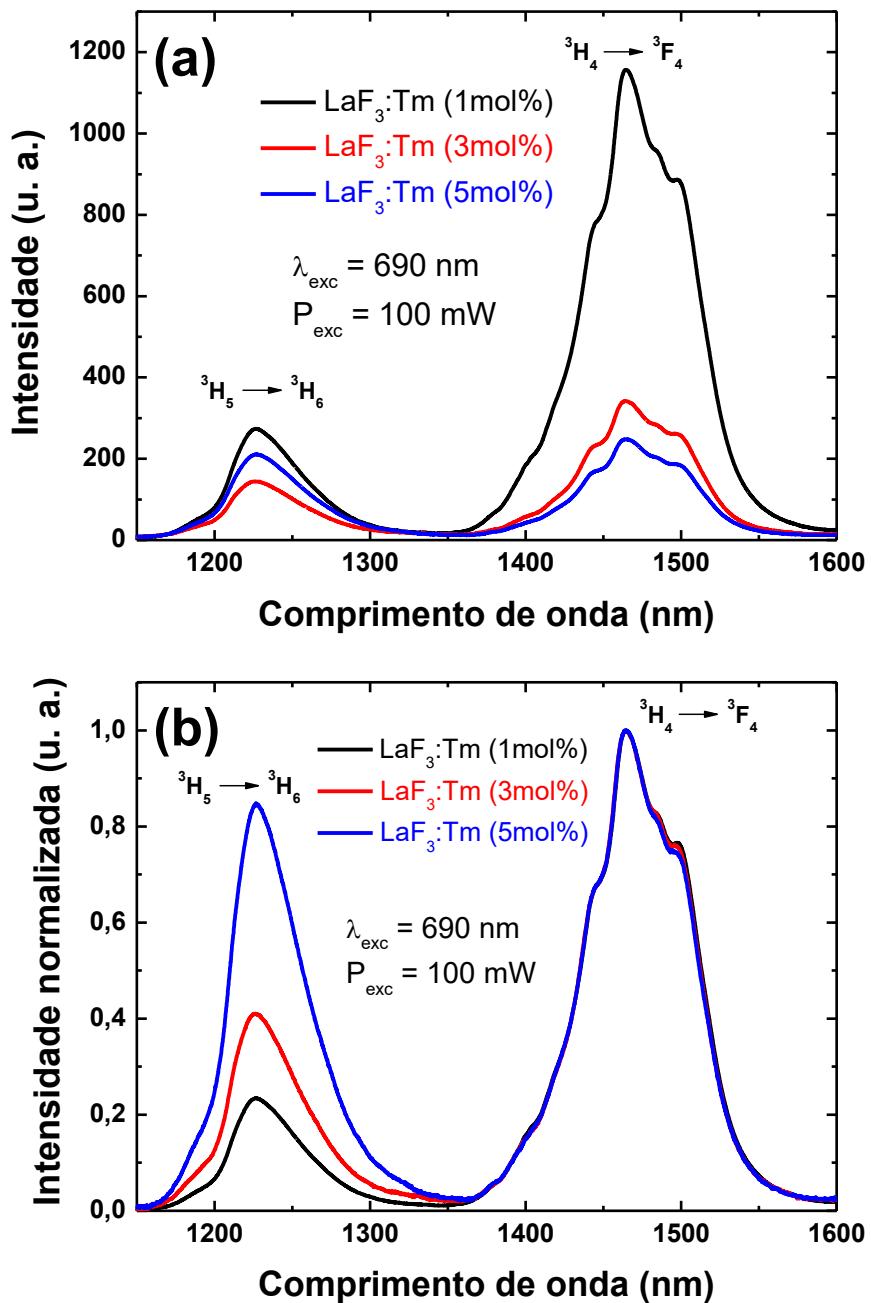


Fonte: Autor da tese, 2016.

Agora que o comportamento e surgimento das bandas de emissão em 1230 e 1470 nm das nanopartículas de LaF_3 dopadas com Tm^{3+} já foram testados e explicados, para os dois comprimentos de excitação laser (690 e 790 nm), iremos usar a partir deste momento somente o comprimento de excitação laser em 690 nm, pois como foi discutido, é o que maximiza a emissão de nossas nanopartículas. A seguir, estudaremos o efeito do aumento da concentração nas emissões em 1230 e 1470 nm das nanopartículas de LaF_3 dopadas com íons Tm^{3+} .

A figura 5.6 mostra espectros de luminescência típicos das nanopartículas de LaF_3 dopadas com três diferentes concentrações (1, 3 e 5 mol%) de Tm^{3+} , para excitação em 690 nm e temperatura ambiente. Na figura 5.6 (a) observamos que as nanopartículas dopadas com 1 mol% de Tm^{3+} são as que apresentam maior intensidade de emissão, quando comparadas as outras concentrações, tanto na banda de emissão centrada em 1230 nm quanto na de 1470 nm. Já a figura 5.6 (b) apresenta os espectros de emissão normalizados para evidenciar a mudança induzida da banda de emissão em torno de 1230 nm, em relação à de 1470 nm, com o aumento da concentração de Tm^{3+} .

Figura 5.6: (a) Espectros comparativos da luminescência das nanopartículas de LaF_3 dopadas com diferentes concentrações de Tm^{3+} (1, 3 e 5 mol%), sob excitação em 690 nm e potência de bombeamento de 100 mW à temperatura ambiente. (b) Espectros de luminescência normalizados.



Fonte: Autor da tese, 2016.

As mudanças espectrais induzidas pelo aumento da concentração de íons de Tm^{3+} podem ser facilmente explicadas através do processo de relaxação cruzada ${}^3\text{F}_3$,

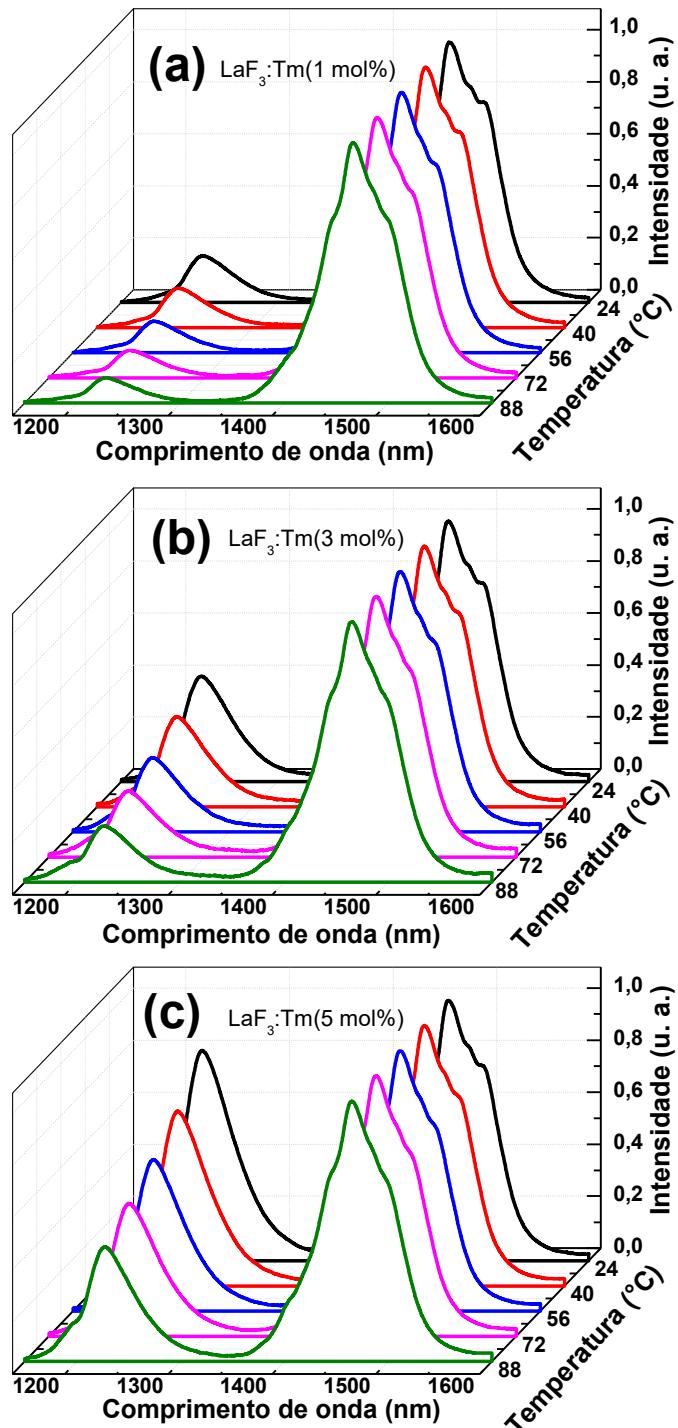
$^3H_6 \rightarrow ^3F_6$, 3H_5 [16, 24], mostrado na figura 5.3. Como o nível 3H_5 é principalmente populado por relaxação cruzada, conforme a concentração de íons de Tm^{3+} aumenta, ocorre um aumento significativo da intensidade de emissão em 1230 nm, pois, à medida que a concentração de íons aumenta ocorre uma diminuição da distância entre eles, favorecendo o processo de transferência de energia [21, 25]. Além disso, devido à esse aumento do processo de transferência de energia via relaxação cruzada, ocorre um notável decréscimo da população do nível 3F_3 e como consequência uma diminuição a intensidade de emissão (em 1470 nm) com o aumento da concentração, como mostrado na figura 5.6(b).

Essas bandas de emissão (mostradas na figura 5.6) das nanopartículas de LaF_3 dopadas com íons de Tm^{3+} , obtidas usando excitação laser em 690 nm, apresentam potencial aplicações em biofotônica [26, 27], pois a excitação laser e as bandas de emissão estão localizadas respectivamente na *primeira e segunda janelas biológicas* [6, 8, 28]. Entre as principais possíveis aplicações estão bio-imagens fluorescentes com alta resolução espacial [7, 29] e possivelmente nanotermometria luminescente [1, 2]. Como comentado no capítulo 2, hoje ainda existe uma grande procura por nanotermômetros luminescentes altamente sensíveis e operando na segunda janela biológica. Portanto, a seguir investigaremos o potencial das emissões observadas para nanotermometria

A figura 5.7 mostra espectros de luminescência normalizados (em 1470nm) das nanopartículas de LaF_3 dopadas com íons de Tm^{+3} para diferentes temperaturas (variando de 24 até 88 °C). Como podemos observar, para as três concentrações de Tm ocorreu uma diminuição sequencial da intensidade de emissão em 1230 nm (em relação à de 1470 nm), no intervalo de temperatura de 24 a 88 °C.

Uma possível explicação para essa diminuição da intensidade de emissão em 1230 nm pode ser obtida através de uma análise do diagrama simplificado de níveis de energia apresentado na figura 5.3. O aumento da temperatura pode favorecer o DMF do nível emissor 3H_5 para o nível 3F_4 , diminuindo assim a população do nível 3H_5 e consequentemente levando a uma diminuição da intensidade de emissão em 1230 nm.

Figura 5.7: Efeito da temperatura no espectro de emissão (normalizado) das nanopartículas de $\text{LaF}_3:\text{Tm}$ dopadas com as concentrações de (a) 1 mol%, (b) 3 mol% e (c) 5 mol%, sob excitação laser em 690 nm e potência de bombeamento de 100 mW, no intervalo de temperatura de 24 a 88 °C.



Fonte: Autor da tese, 2016.

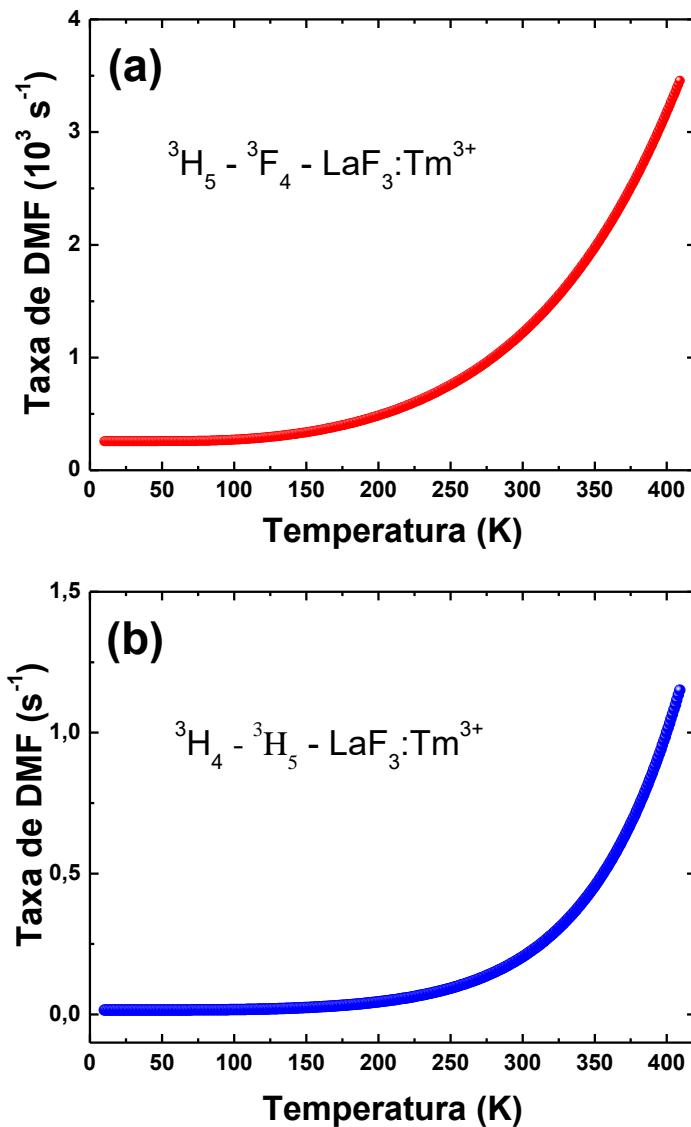
Uma forma de comprovar isso teoricamente é realizando um estudo do comportamento da taxa de DMF em função da temperatura para cada uma das possíveis transições que resultam nas emissões em 1230 e 1470 nm, pois é bem conhecido na literatura que um dos fatores que determina a diminuição da intensidade de emissão com a temperatura é o DMF [30-32]. Vários estudos têm mostrado que a taxa de DMF (W_p) pode ser descrita pela lei do *gap* de energia através da seguinte relação [33]:

$$W_p(T) = Ce^{-\alpha\Delta E} \left[\frac{\exp(\hbar\omega_p/kT)}{\exp(\hbar\omega_p/kT)-1} \right]^p \quad (5.1)$$

onde $W_p(T)$ é a taxa de relaxação por multifônons na temperatura (T), p é o número de fônonos envolvidos no processo para completar o *gap* de energia ΔE e $\hbar\omega_p$ é a energia de média de fônonos da matriz ou o modo de fônonos efetivo, $\alpha = -\ln \varepsilon / \hbar\omega_p$ é uma constante que depende da natureza de fônonos da rede hospedeira e da força de acoplamento elétron-fônon, onde ε explica a natureza exata do acoplamento e C é uma constante que depende da densidade de fônonos da matriz. Para a matriz LaF₃, é bem conhecido da literatura que os parâmetros acima relatados têm os seguintes valores [32, 34, 35]: $C = 6,6 \times 10^8 \text{ s}^{-1}$, $\alpha = -5,6 \times 10^{-3} \text{ cm}$, $\hbar\omega_p = 350 \text{ cm}^{-1}$, $\Delta E_{^3H_5 \rightarrow ^3F_4} = 2635 \text{ cm}^{-1}$ e $\Delta E_{^3H_4 \rightarrow ^3H_5} = 4370 \text{ cm}^{-1}$. Dessa forma, os números de fônonos ($p = \Delta E / \hbar\omega_p$) envolvidos nas transições não radioativas $^3H_5 \rightarrow ^3F_4$ e $^3H_4 \rightarrow ^3H_5$ são respectivamente da ordem de 7 e 11.

A partir da equação 5.1 (com os parâmetros mencionados acima para a matriz LaF₃) foram feitos os gráficos das taxas de DMF (W_p), para as transições $^3H_5 \rightarrow ^3F_4$ e $^3H_4 \rightarrow ^3H_5$, como função da temperatura (para o intervalo de 10 a 400 K) e os resultados são mostrados na figura 5.8. Como podemos observar em ambas as transições, com a elevação da temperatura ocorre um aumento significativo nos valores de W_p . Observamos que W_p para a transição $^3H_5 \rightarrow ^3F_4$ possui os valores de aproximadamente $1,16 \times 10^3 \text{ s}^{-1}$ e $2,19 \times 10^3 \text{ s}^{-1}$, respectivamente, para as temperaturas de 297 K e 361 K (figura 5.8 (a)).

Figura 5.8: Comportamento da taxa de relaxação por multifônonos como função da temperatura para as transições (a) ${}^3\text{H}_5 \rightarrow {}^3\text{F}_4$ e (b) ${}^3\text{H}_4 \rightarrow {}^3\text{H}_5$ das nanopartículas de LaF_3 dopadas com íons de Tm^{3+} , para o intervalo de temperatura de 10 a 400 K.



Fonte: Autor da tese, 2016.

Para a transição ${}^3\text{H}_4 \rightarrow {}^3\text{H}_5$ os valores de $0,19 \text{ s}^{-1}$ e $0,54 \text{ s}^{-1}$ para as temperaturas de 297 K e 361 K foram calculados para W_p (figura 5.8 (b)). Comparando estes resultados, podemos facilmente observar que W_p para a transição a ${}^3\text{H}_5 \rightarrow {}^3\text{F}_4$ é cerca de 10000 vezes maior que para a transição ${}^3\text{H}_4 \rightarrow {}^3\text{H}_5$. Isso acontece devido à necessidade de muitos mais fônonos para a transição ${}^3\text{H}_4 \rightarrow {}^3\text{H}_5$. Na prática isso significa que a emissão em 1230 nm é mais fortemente afetada pela temperatura que a 1470 nm. Complementarmente, o DMF eficiente no gap de energia pequeno da transição ${}^3\text{F}_3 -$

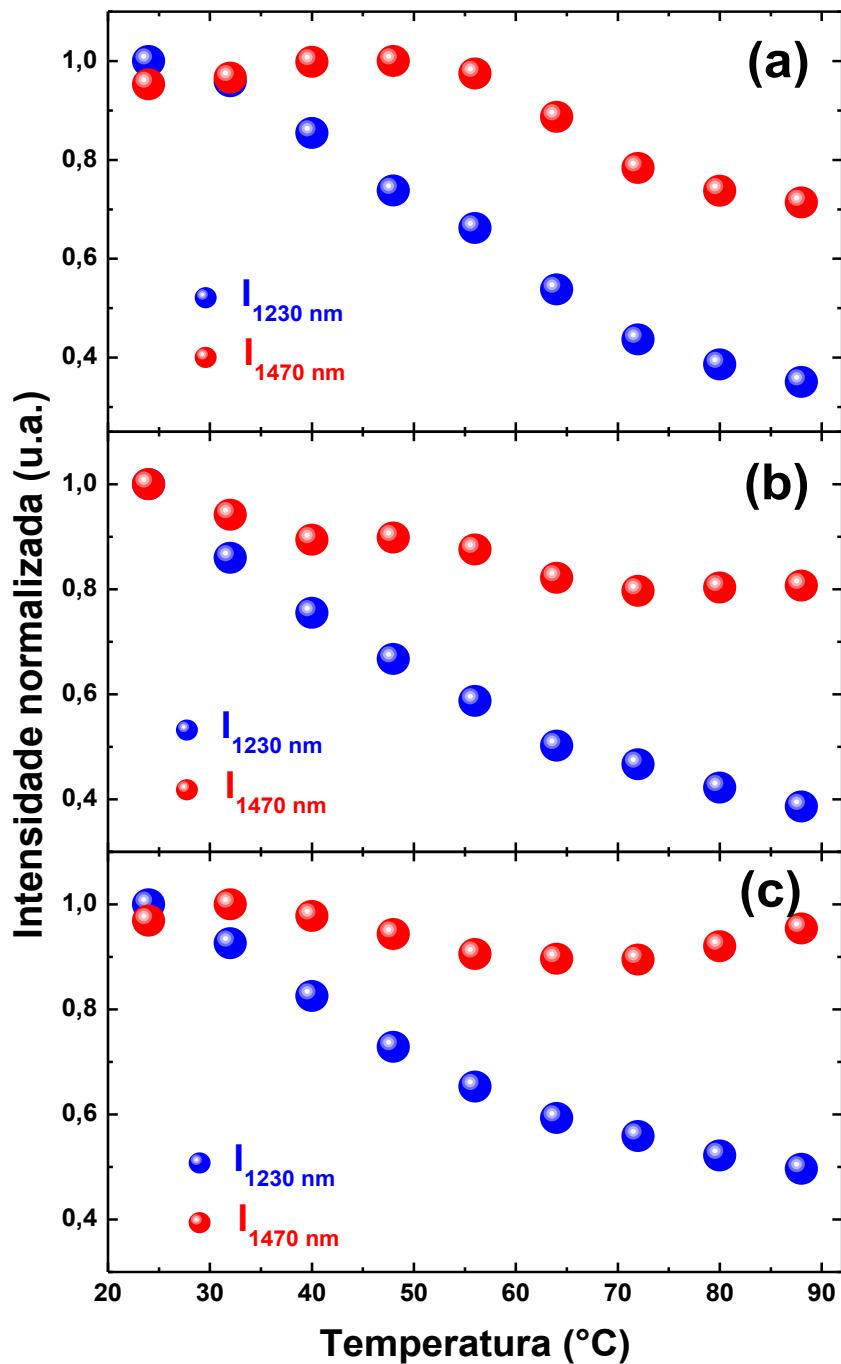
$^3\text{H}_4$ favorece a emissão do nível $^3\text{H}_4$ em 1470 nm, o que também reduz a população do nível $^3\text{H}_5$ que emite em 1230 nm.

Uma vez observado a diminuição relativa da intensidade de emissão em 1230 nm com a temperatura, checaremos a possibilidade de usar o método da razão de intensidades de fluorescências (RIF) para obter a leitura térmica a partir dos espectros de emissão de nossas nanopartículas.

No Capítulo 2, apresentamos um estudo sobre a RIF [3, 36, 37] de dois níveis de energia termicamente acoplados, em que suas populações podem ser descritas em termos da distribuição de população de Boltzmann, sendo a informação da temperatura na qual o sistema está em equilíbrio térmico obtida a partir dessa RIF dos dois níveis termicamente acoplados. Ao contrário da abordagem realizada no Capítulo 2, em que os níveis estudados eram termicamente acoplados, os níveis de energia $^3\text{H}_5$ e $^3\text{H}_4$ (responsáveis pelas emissões em 1230 e 1470 nm, respectivamente) do Tm^{3+} , não são termicamente acoplados entre si, de modo que, neste caso, suas populações não podem ser descritas em termos da distribuição de população de Boltzmann. Desta forma, é importante salientar que, a razão entre as intensidades de fluorescência $^3\text{H}_5 \rightarrow ^3\text{H}_6$ (1230 nm) e $^3\text{H}_4 \rightarrow ^3\text{F}_4$ (1470 nm) dos íons de Tm^{3+} não podem ser relacionadas pela Eq. (2.8) do capítulo 2. No entanto, mesmo se estes níveis não sejam termicamente acoplados, se conseguirmos obter um comportamento linear ou outro conhecido dessa RIF com a temperatura, seremos capazes de obter a leitura térmica a partir dos espectros de emissão, como já demonstrado anteriormente em diferentes tipos de nanopartículas [11, 14, 38].

A partir deste momento definiremos para este capítulo $R = I_{1470 \text{ nm}}/I_{1230 \text{ nm}}$ como sendo a RIF das bandas de emissão centradas em torno de 1470 nm (I_{1470}) e 1230 nm (I_{1230}). A figura 5.9 apresenta as intensidades de fluorescência normalizadas das bandas de emissão das nanopartículas de LaF_3 dopadas com 1, 3 e 5 mol% de Tm, como função da temperatura.

Figura 5.9: Efeito da temperatura nas intensidades de luminescência das bandas de emissão em 1230 e 1470 nm das nanopartículas de $\text{LaF}_3:\text{Tm}$ dopadas com as concentrações de (a) 1 mol%, (b) 3 mol% e (c) 5 mol%, sob excitação laser em 690 nm, potência de bombeio de 100 mW no intervalo de temperatura de 24 – 88 °C.



Fonte: Autor da tese, 2016.

Como podemos observar, para cada uma das concentrações de Tm^{3+} a intensidade de emissão em 1230 nm decresce significativamente com o aumento da temperatura, reduzindo para ~40% em 88 °C de seu valor inicial. Além disso, esse decréscimo ocorre praticamente de forma linear com o aumento da temperatura. Por outro lado, a intensidade de emissão em 1470 nm apesar de também decrescer com a temperatura, sua diminuição acontece de forma mais suave, alcançando ~80% de seu valor inicial em 88 °C. Dessa forma, é esperado que a razão $R = I_{1470\text{ nm}}/I_{1230\text{ nm}}$ cresça de forma significativa com o aumento da temperatura (no intervalo investigado de 20 a 90 °C). Após obter os valores das intensidades $I_{1230\text{ nm}}$ e $I_{1470\text{ nm}}$, foram calculados os valores de R versus temperatura.

Tabela 5.1: Ajustes lineares (para cada uma das concentrações de Tm) da razão $R = I_{1470\text{ nm}}/I_{1230\text{ nm}}$ em função da temperatura, obtidos a partir dos dados experimentais.

$R = I_{1470\text{ nm}}/I_{1230\text{ nm}}$	Ajustes lineares	Amostra
R_1	$3,2 + 0,119T$	$\text{LaF}_3:\text{Tm}(1\text{mol}\%)$
R_3	$1,5 + 0,046T$	$\text{LaF}_3:\text{Tm}(3\text{mol}\%)$
R_5	$0,8 + 0,019T$	$\text{LaF}_3:\text{Tm}(5\text{mol}\%)$

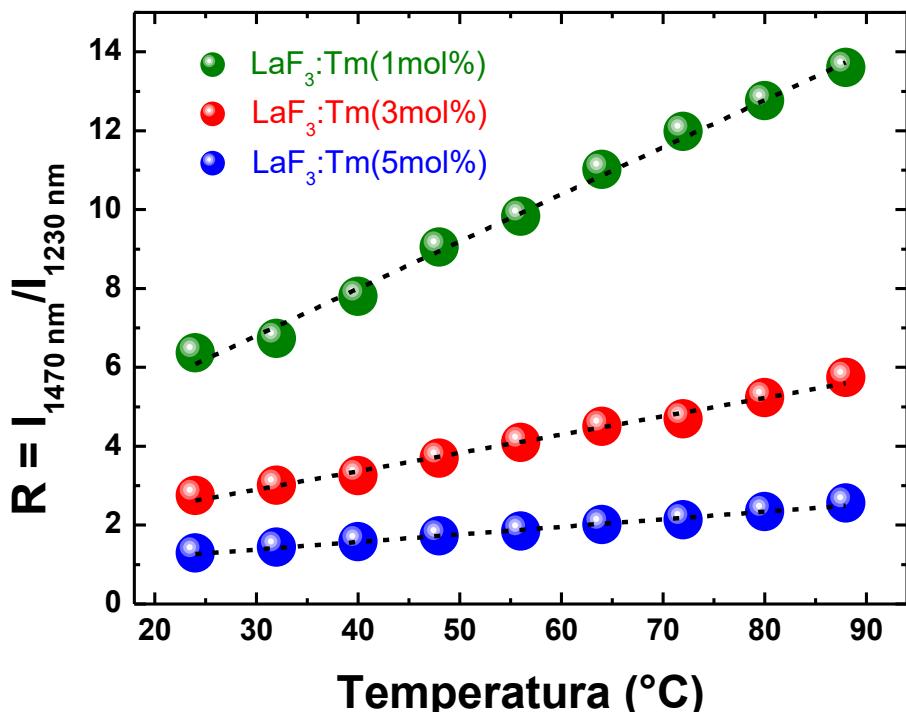
Fonte: Autor da tese, 2016.

O comportamento da razão $R = I_{1470\text{ nm}}/I_{1230\text{ nm}}$ (para cada uma das três concentrações de Tm) em função da temperatura é mostrado na figura 5.10. Como é possível observar, no intervalo de temperatura analisado, a razão R (para as três concentrações) aumenta linearmente com a temperatura. As linhas pontilhadas mostradas na figura 5.9 são ajustes lineares dos dados experimentais. Com esses ajustes lineares encontramos as relações de $R = I_{1470\text{ nm}}/I_{1230\text{ nm}}$ com a temperatura do sistema de forma direta. Estes ajustes lineares são mostradas na tabela 5.1.

O comportamento linear de R com a temperatura, apresentado na figura 5.10, é de grande importância para aplicações em nanotermômetros luminescentes, pois fornece uma relação simples entre R e a temperatura, tornando assim relativamente fácil a leitura da temperatura a partir do nanosensor térmico. A partir da Eq. (2.9) a do capítulo 2, que define sensibilidade térmica ($S = dR/dT$), e das equações obtidas para R versus T, fomos capazes de estimar as sensibilidades térmicas de 0,119, 0,046 e 0,019 °C⁻¹, respectivamente, para as nanopartículas dopadas com 1, 3 e 5 mol% de Tm^{3+} . Assim,

neste caso para o intervalo de temperatura analisado (24 a 88 °C) a sensibilidade térmicas medida a parte da razão $R = I_{1470 \text{ nm}}/I_{1230 \text{ nm}}$ são constantes e independe da temperatura.

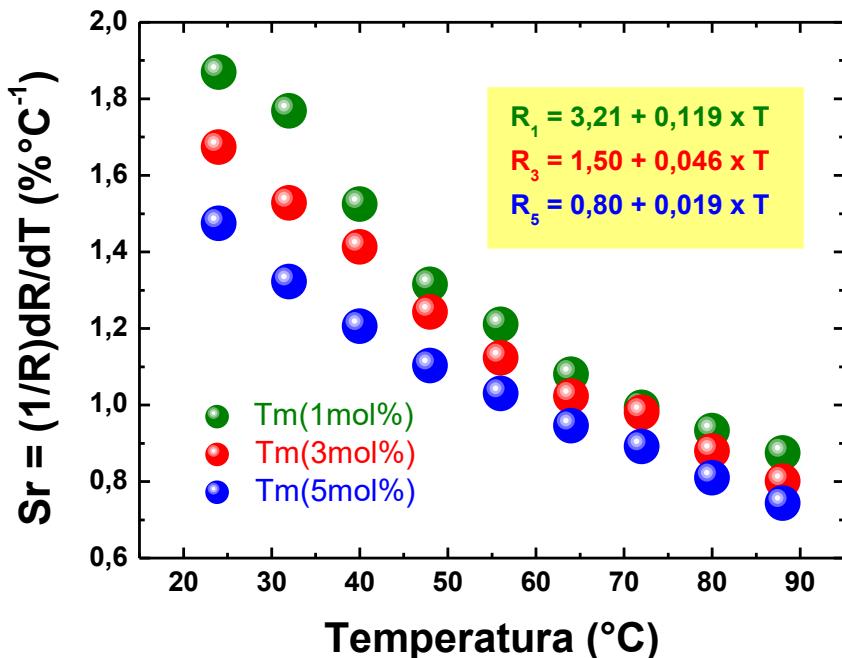
Figura 5.10: Razão das intensidades 1470 e 1230 nm de fluorescência (RIF) como função da temperatura (24 a 88 °C) para as nanopartículas de LaF_3 dopadas para as três concentrações de Tm^{3+} (1, 3 e 5 mol%).



Fonte: Autor da tese, 2016.

A sensibilidade térmica relativa (S_r), definida no capítulo 2 através da Eq. (2.10), é mostrada na figura 5.11. Como podemos observar, para as três concentrações de Tm, a sensibilidade térmica relativa vai diminuindo conforme a temperatura aumenta, possuindo valores, em temperatura de 24 °C, de aproximadamente 1,9; 1,7 e 1,5 % °C⁻¹ para as amostras dopadas com 1, 3 e 5 mol% de Tm^{3+} , respectivamente. Logo, a amostra que apresenta a maior sensibilidade térmica relativa é aquela dopada com 1 mol% de Tm. Esta sensibilidade térmica pode agora ser comparada a de outros sensores térmicos luminescentes encontrados na literatura.

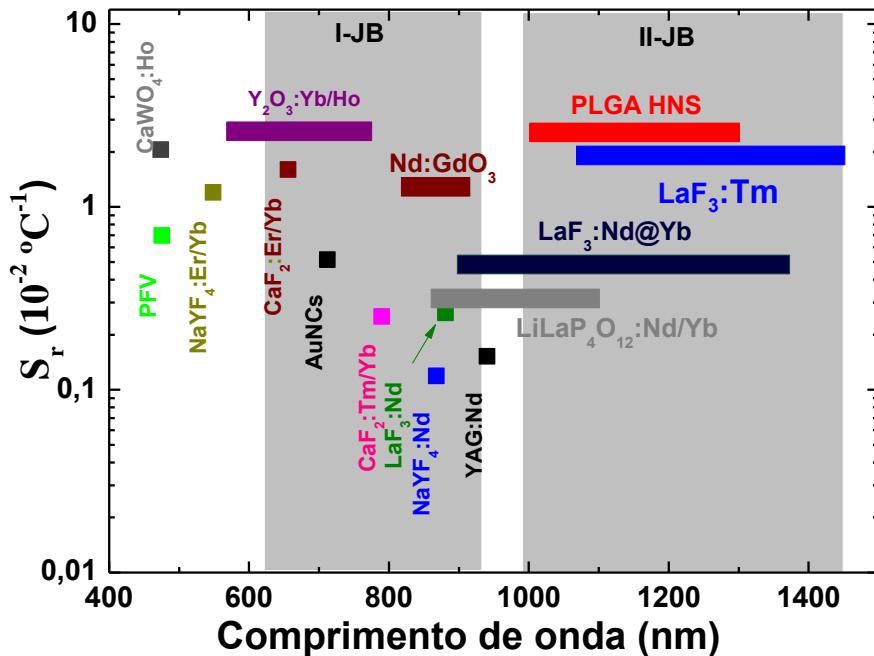
Figura 5.11: Sensibilidade térmica relativa em função da temperatura para as três amostras investigadas.



Fonte: Autor da tese, 2016.

A sensibilidade térmica de nossas nanopartículas é cerca de uma ordem de grandeza maior que a apresentada por Rocha e colaboradores (cerca de $0,23\text{ \% }^{\circ}\text{C}^{-1}$ no intervalo de temperatura de $10\text{-}60\text{ }^{\circ}\text{C}$) [39] para a banda de emissão em torno de 880 nm (correspondente a transição eletrônica ${}^3\text{F}_{3/2}\rightarrow{}^4\text{I}_{9/2}$ do íon de Nd) das nanopartículas de LaF_3 dopadas com Nd^{3+} e sob excitação em 808 nm . Além disso, apresenta também a mesma ordem de grandeza de outros NTLs que operam na segunda janela biológica, como por exemplo, a apresentada por Cerón e colaboradores (cerca de $2,5\text{ \% }^{\circ}\text{C}^{-1}$ em $30\text{ }^{\circ}\text{C}$) [14] de uma nanoestrutura híbrida formada por nanopartículas de $\text{NaGdF}_4:\text{Nd}^{3+}$ e Quantum Dots (PbS/CdS/ZnS), onde foi analisado a razão entre a banda de emissão do Nd em trono de 1060 nm (devido a transição ${}^3\text{F}_{3/2}\rightarrow{}^4\text{I}_{11/2}$) e a em 1300 nm dos Quantum Dots (PbS/CdS/ZnS), e sob excitação em 800 nm . A figura 5.12 mostra a sensibilidade térmica relativa e o intervalo espectral de emissão de nossas NPs de LaF_3 dopadas com Tm e a de alguns dos principais NTLs propostos na literatura. Como pode ser observado, as nossas NPs estão entre aquelas que possuem uma maior sensibilidade térmica. Portanto, podemos dizer que as nossas nanopartículas de LaF_3 dopadas com íons de Tm^{3+} se apresentam como promissores NTLs operando com excitação na primeira janela biológica e emissão na segunda janela biológica.

5.12: Sensibilidade térmica relativa e intervalo espectral de emissão de nossas NPs e para diferentes NTLs encontrados na literatura: CaWO₄:Ho/Yb [40]; proteínas fluorescentes no verde (PFV) [41]; NaYF₄:Er/Yb [5]; Y₂O₃:Ho/Yb [42]; CaF₂:Er/Yb [9]; AuNCs [43]; CaF₂:Tm/Yb [9]; NaYF₄:Nd [44]; LaF₃:Nd [39]; YAG:Nd [45]; PLGA [14] e LaF₃:Nd@Yb [12].



Fonte: Adaptado de Ceron e colaboradores, 2015 [14].

5.4 CONCLUSÕES

Em resumo, neste capítulo investigamos a dependência com a temperatura da luminescência no infravermelho das NPs de LaF₃ dopadas com diferentes concentrações de Tm (1, 3 e 5 mol%). Para isso, avaliamos o comportamento da RIF das emissões em 1470 nm (³H₄ → ³F₄) e 1230 nm (³H₅ → ³H₆) com a temperatura, tendo como objetivo explorar sua possível aplicação como nanosensor de temperatura aplicáveis em sistemas biológicos. Em todas as concentrações estudadas, foi observado que as RIF das emissões em 1470 e 1230 nm apresentaram um comportamento linear com a temperatura no intervalo de 24 a 88 °C, que é uma característica importante para NTLs em geral.

Através de ajustes lineares aos dados experimentais foi possível estimar a sensibilidade térmica relativa a temperatura ambiente de nossas NPs em 1,9; 1,7 e 1,5 % $^{\circ}\text{C}^{-1}$, respectivamente, para as concentrações de 1, 3 e 5 mol% de Tm³⁺. Ao comparar estes valores com alguns dos principais NTLs propostos na literatura foi observado que nossas NPs estão entre os mais sensíveis a mudanças de temperatura.

Portanto, devido ao fato das emissões em 1230 e 1470 nm das NPs de LaF₃ dopadas com Tm³⁺ estarem dentro da região espectral da segunda janela biológica, e a principal banda de absorção (que maximiza essas emissões) em 690 nm dos íons de Tm³⁺ estar localizada dentro da primeira janela biológica, juntamente com a boa sensibilidade térmica apresentada pela a razão entre as intensidades das bandas de emissão em 1470 e 1230 nm, as NPs de LaF₃ dopadas com Tm³⁺ se apresentam como promissores nanotermômetros luminescentes baseados na técnica RIF com grande potencial para aplicações em sistemas biológicos.

REFERENCIAS

1. Jaque, D. and F. Vetrone, *Luminescence nanothermometry*. Nanoscale, 2012. **4**(15): p. 4301-4326.
2. Brites, C.D., et al, *Thermometry at the nanoscale*. Nanoscale, 2012. **4**(16): p. 4799-4829.
3. Carlos, D.S., et al., *Thermometry at the nanoscale*. 2016.
4. Fischer, L.H.H., G. S.; Wolfbeis, O. S., *Upconverting Nanoparticles for Nanoscale Thermometry*. Angewandte Chemie-International 2011. **50**(20): p. 4546-4551.
5. Fiorenzo Vetrone, e.a., *Temperature Sensing Using Fluorescent Nanothermometers*. ACS Nano, 2010. **4**(6): p. 3254-3258.
6. Smith, A.M.M., M. C.; Nie, S. , *Bioimaging: Second window for in vivo imaging*. Nat Nano. **4**(11): p. 710-711.
7. Rocha, U., et al, *Neodymium-Doped LaF₃ Nanoparticles for Fluorescence Bioimaging in the Second Biological Window*. Small. **10**(6): p. 1141-1154.
8. Maestro, L.M., et al., *Heating efficiency of multi-walled carbon nanotubes in the first and second biological windows*. Nanoscale, 2013. **5**(17): p. 7882-7889.
9. Dong, N.N., et al., *NIR-to-NIR two-photon excited CaF₂:Tm³⁺,Yb³⁺ nanoparticles: multifunctional nanoprobes for highly penetrating fluorescence bio-imaging*. ACS Nano, 2011. **5**(11): p. 8665-71.
10. X. Wang, J.Z., Y. Xuan, X. Yan, *Optical temperature sensing of NaYbF₄:Tm³⁺ @ SiO₂ core-shell micro-particles induced by infrared excitation*. Opt.Expr. , 2013. **21**: p. 21596–21606.
11. Oleksandr A. Savchuk, a.e., *Ho,Yb:KLu(WO₄)₂ Nanoparticles: A Versatile Material for Multiple Thermal Sensing Purposes by Luminescent Thermometry*. J. Phys. Chem. C 2015(119): p. 18546–18558.
12. Ximenes, E.C., et al, *Unveiling in Vivo Subcutaneous Thermal Dynamics by Infrared Luminescent Nanothermometers*. Nano Letters, 2016. **16**(3): p. 1695-1703.
13. Pinol, R., et al., *Joining time-resolved thermometry and magnetic-induced heating in a single nanoparticle unveils intriguing thermal properties*. ACS Nano, 2015. **9**(3): p. 3134-42.

14. Ceron, E.N., et al., *Hybrid nanostructures for high-sensitivity luminescence nanothermometry in the second biological window*. Adv Mater, 2015. **27**(32): p. 4781-7.
15. Xue Bai, a.e., *Concentration-controlled emission in LaF₃:Yb³⁺/Tm³⁺ nanocrystals: switching from UV to NIR regions*. J. Mater. Chem., 2012. **22**: p. 24698–24704.
16. Yang, Z.Y., L. Luo, and W. Chen, *The 1.23 and 1.47 nm emissions from Tm³⁺ in chalcogenide glasses*. Journal of Applied Physics, 2006. **99**(7).
17. Armelao, L., et al., *Luminescent Properties od Eu-Doped Lanthanum Oxyfluoride Sol-Gel Thin Films*. J. Phys. Chem., 2009. **113**: p. 14429-14434.
18. Singh, A.K., et al, *Photon avalanche upconversion and pump power studies in LaF₃:Er³⁺/Tb³⁺ phosphor*. Applied Physics B, 2011. **104**(4): p. 1035-1041.
19. POMA NUÑEZ, P.Y., *Sínteses e Caracterizações Óptica e Estrutural de Nanopartículas de LaF₃:Yb³⁺/Ho³⁺ e LaF₃:Yb³⁺/Tm³⁺ e Cerâmicas Transparentes de Y₂O₃:Eu³⁺ e Y₂O₃:Tm³⁺*, in UFAL - Instituto de Física. 2015.
20. Tasso, O.S., *INFLUÊNCIA DE TRATAMENTO TÉRMICO NAS PROPRIEDADES ESTRUTURAIS E ÓPTICAS DE NANOCRISTAIS DE LaF₃ CO-DOPADOS COM Yb³⁺/Er³⁺*, in UFAL - Instituto de Física. 2015.
21. Santos, W.Q., *VIABILIDADE DE SISTEMAS DOPADOS E CO-DOPADOS COM Yb³⁺ E Nd³⁺ PARA APLICAÇÕES FOTÔNICAS: LASERS E TERMOMETRIA ÓPTICA*, in UFAL - Instituto de Física. 2015.
22. Kumar, K.U., et al., *Synthesis, Structural Properties and Upconversion Emission of Er³⁺ and Er³⁺/Yb³⁺ Doped Nanocrystalline NaNbO₃*. Science of Advanced Materials, 2012. **4**(5-6): p. 584-590.
23. Silva, J.F., *Sínteses e caracterizações de NaNbO₃ dopados e co-dopados com Er³⁺ e Yb³⁺*, in UFAL-Instituto de Física. 2015.
24. K. Kadono, e.a., *Judd-Ofelt analysis and luminescence property of Tm³⁺ in Ga₂S₃-GeS₂-La₂S₃ glasses*. Journal of Non-Crystalline Solids, 2000. **274**: p. 75-80.
25. Santos, W.Q., et al., *Cooperative Upconversion, Radiation Trapping, and Self-Quenching Effects in Highly Yb³⁺-Doped Oxyfluoride Glasses*. Science of Advanced Materials, 2013. **5**(12): p. 1948-1953.

26. Jaque, D.e.a., *Inorganic nanoparticles for optical bioimaging*. Adv. Opt and Phot., 2016. **8**(1): p. 1-103.
27. Jaque, D.J., C., *Luminescent nanoprobes for thermal bio-sensing: Towards controlled photo-thermal therapies*. Journal of Luminescence 2016. **169**: p. 394-399.
28. Quek, C.H.L., K. W. , *Near-Infrared Fluorescent Nanoprobes for in Vivo Optical Imaging*. Nanomaterials 2012. **2**: p. 92-112.
29. Kobat, D., et al., *Deep tissue multiphoton microscopy using longer wavelength excitation*. Optics Express, 2009. **17**(16): p. 13354-13364.
30. C.J. Da Silva, M.T.D.A., E.A. Gouveia, A.S. Gouveia-Neto,, Appl. Phys. B, 2015. **70**: p. 185-188.
31. F. Auzel, *Multiphonon-assisted anti-Stokes and Stokes fluorescence of triply ionized rare-earth ions*. Phys. Rev. B 1976. **13**: p. 2809-2817.
32. J.B. Gruber, R.P.L., C.A. Morrison, , *Absorption spectrum, energy levels, and crystal-field parameters of $Tm^{3+}:LaCl_3$* . J. Chem. Phys., 1981. **74**: p. 2705-2709.
33. W.S. Tsang, e.a., *Evidence of the influence of phonon density on Tm^{3+} upconversion luminescence in tellurite and germanate glasses*. Appl. Phys. B, 2002. **91**: p. 1871-1874.
34. Dangli Gao, e.a., *Spectral tuning via multi-phonon-assisted stokes and anti-stokes excitations in $LaF_3: Tm^{3+}$ nanoparticles*. Journal of Alloys and Compounds 2016. **678**: p. 212-218.
35. L.A. Riseberg, H.W.M., *Multiphonon Orbit-Lattice Relaxation in $LaBr_3$, $LaCl_3$, and LaF_3* . Phys. Rev. Lett., 1967. **19**: p. 1423-1426.
36. Zhang, F., *Photon Upconversion Nanomaterials*. 2015.
37. Berthou, H.a.C.K.J. and 1102., *Optical-Fiber Temperature Sensor Based on Upconversion-Excited Fluorescence*. Optics Letters, 1990. **15**(19): p. 1100-1102.
38. Ximenes, E.C., et al., *Self-monitored photothermal nanoparticles based on core-shell engineering*. Nanoscale. **8**(5): p. 3057-3066.
39. Rocha, U., et al, *Subtissue Thermal Sensing Based on Neodymium-Doped LaF_3 Nanoparticles*. Acs Nano. **7**(2): p. 1188-1199.
40. W. Xu, a.e., *Optical temperature sensing through the upconversion luminescence from Ho^{3+}/Yb^{3+} codoped $CaWO_4$* . Sens. Actuators B-Chem., 2013. **188**: p. 1096–1100.

41. J. S. Donner, e.a., ACS Nano, 2013. **7**(8666).
42. V. Lojpur, a.e., *$Y_2O_3:Yb,T$ and $Y_2O_3:Yb,Ho$ powders for low-temperature thermometry based on up-conversion fluorescence.* Ceram. Int. , 2013. **39**: p. 1129–1134.
43. L. Shang , e.a., *Intracellular thermometry by using fluorescent gold nanoclusters.* Angew. Chem. Int. Ed. , 2013. **52**: p. 11154.
44. D. Wawrzynczyk, e.a., *Neodymium(iii) doped fluoride nanoparticles as non-contact optical temperature sensors.* Nanoscale, 2012. **4**: p. 6959–6961.
45. A. Benayas, e.a., *Nd:YAG near-infrared luminescent nanothermometers.* Adv.Opt. Mater. , 2015.

6. NANOTERMOTRIA ÓPTICA NA SEGUNDA JANELA BIOLÓGICA USANDO NANOCRISTAIOS DE LaF_3 CO-DOPADOS COM $\text{Yb}^{3+}/\text{Ho}^{3+}$

6.1 INTRODUÇÃO

Com os avanços no domínio da nanotecnologia (obtidos nas últimas décadas) têm sido disseminados uma grande variedade de novos campos de pesquisa em nanociência. Entre estes, podemos destacar a nanotermometria (que visa a determinação da temperatura com alta resolução espacial) aplicada a sistemas biológicos, pois abre a possibilidade da utilização de nanoestruturas atuarem como nanotermômetros capazes de realizar o monitoramento da temperatura com alta resolução espacial e em tempo real tanto a nível celular (que é de extrema importância, como, por exemplo, em terapias via hipertermia) [1, 2], assim como de forma subcutânea (que tem sido proposta como uma poderosa ferramenta para estudar a dinâmica de tecidos durante experimentos em vivo) [3, 4].

Entre os diversos nanotermômetros propostos na comunidade científica, podemos destacar (para aplicações em sistemas biológicos) os nanotermômetros luminescentes (NTLs) [5-7], por apresentarem a possibilidade de medir a temperatura com alta resolução espacial de forma não invasiva. Como já foi apresentado no capítulo 2, NTLs são definidos como nanopartículas luminescentes (NPLs) cujas propriedades espectrais mudam significativamente com pequenas variações na temperatura. Dessa forma, a temperatura atual destas NPs (assim como a temperatura atual dos sistemas em que elas são incorporadas) pode ser determinada a partir da análise de um dos parâmetros de luminescência (tempo de vida, intensidade, razão entre intensidade e etc.). Geralmente NTLs, usados tanto para o monitoramento da temperatura intracelular quanto de forma subcutânea, fazem uso da técnica denominada de “razão de intensidade de fluorescência” (RIF) [6, 8-10], sendo a leitura térmica obtida através da razão entre as intensidades de duas diferentes linhas espectrais.

Apesar de encontrarmos facilmente na literatura um grande número de NTLs baseados em diversos tipos de NPLs (NPs semicondutoras, NPs metálicas, NPs dopadas com íons terras raras, etc.), somente alguns deles realmente apresentam potencial para

aplicação em *in vivo*. Isto se deve principalmente ao fato de que a grande maioria dos NTLs propostos na literatura opera (excitação e emissão) dentro da região do visível. Neste caso as aplicações para estudos em *in vivo* é muito limitada devido à redução da profundidade de penetração da luz desta região do espectro eletromagnético nos tecidos biológicos. Para contornar essa limitação, como foi visto no capítulo 4, tem se intensificado nos últimos anos a procura de NPLs que operem nas regiões espectrais denominadas de primeira (I-JB, 650-950 nm) e segunda (II-JB, 1000-1400 nm) janelas biológicas (JB) [11-13]. Nestas regiões espectrais, tanto o espalhamento quanto a absorção (pelos diversos componentes que constituem os tecidos) são minimizados, ocorrendo assim uma maximização da profundidade de penetração nos tecidos [14]. No caso específico de NPLs que operam com excitação na I-JB e emissão na II-JB, essas são de extrema importância, pois abrem a possibilidade de NTLs com maior profundidade de penetração ótica, assim como na detecção térmica em *in vivo* com maior resolução espacial, como já foi demonstrado em bioimagens fluorescentes [1, 4, 14, 15].

Neste capítulo estudamos a dependência térmica da conversão descendente de energia localizada (1100-1300 nm) na II-JB de NPs de Fluoreto de Lantânia (LaF_3) codopadas com 10 mol% de Yb^{3+} e 4 mol% de Ho^{3+} , sob excitação na I-JB (em 913 nm); e analisamos a sua possível aplicação como nanotermômetro luminescente baseado na dependência térmica da emissão em torno de 1188 nm, obtida via processos transferência de energia entre os íons de Yb e Ho. Para isso, analisamos a razão entre as intensidades de fluorescência de dois subníveis Starks que compõem a banda de emissão em 1188 nm.

6.2 APARATO EXPERIMENTAL

Os espectros de luminescência e excitação foram realizados nas nanopartículas (em pó) de LaF_3 dopadas com 10 mol% de Yb e 4 mol% de Ho. As medidas de luminescência foram realizadas na região do infravermelho do espectro eletromagnético (1100-1300 nm), enquanto o espectro de excitação para a emissão em 1188 nm foi obtido variando o comprimento de onda de excitação de 850-1050 nm. Tanto os

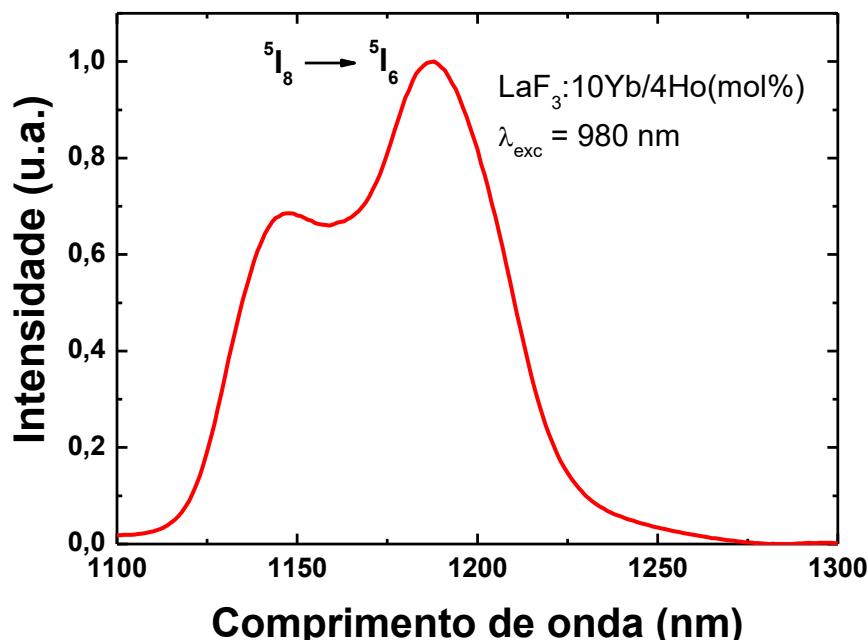
espectros de emissão quanto de excitação foram obtidos utilizando um Fluorímetro (modelo NanoLog UV-VIS-NIR, Horiba).

Para investigar as modificações induzidas pela temperatura no espectro de luminescência das nanopartículas de LaF_3 co-dopadas com os íons de Yb e Ho foi utilizado um controlador de temperatura caseiro (feito com pastilhas *peltier*) operando entre a temperatura ambiente até 130 °C, com uma estabilidade térmica estimada em torno de 1 °C e um termopar acoplado a um multímetro para determinar a temperatura do sistema.

6.3 RESULTADOS E DISCUSÕES

O espectro de luminescência no infravermelho próximo (1100-1300 nm) por conversão descendente de energia das nanopartículas de LaF_3 co-dopadas com 10 mol% de Yb^{3+} e 4 mol% de Ho^{3+} sob excitada convencional em 980 nm [16, 17] à temperatura ambiente é mostrado na figura 6.1

Figura 6.1: Espectro de luminescência das nanopartículas de LaF_3 dopadas com 10 mol% de Yb^{3+} e 4 mol% Ho^{3+} sob excitação em 980 nm e temperatura ambiente.



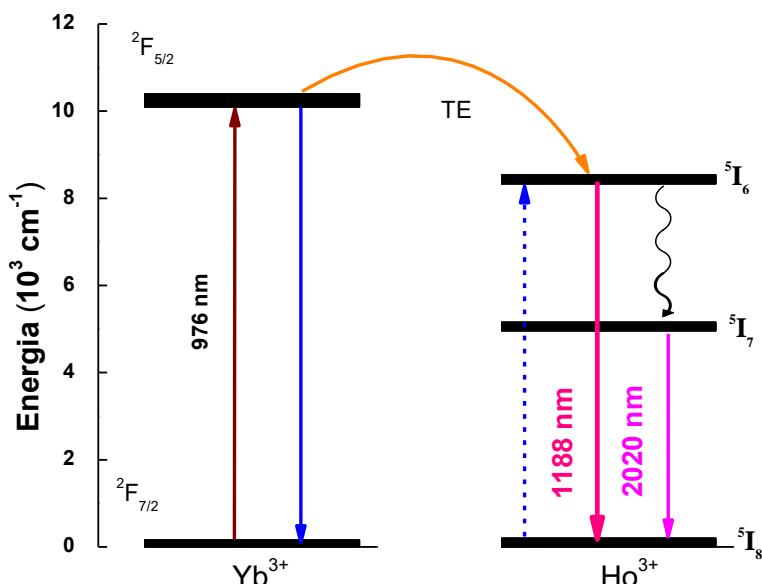
Fonte: Autor da tese, 2016.

Como pode ser observado o espectro de emissão nessa região consiste de uma única banda de emissão centrada em torno de 1188 nm, que é característica do íon de

Ho^{3+} [16, 18] logo após ser excitado via processo de transferência de energia do íon Yb^{3+} ($\text{Yb}^{3+} \rightarrow \text{Ho}^{3+}$). Esta banda de emissão é atribuída à transição eletrônica $^5\text{I}_8 \rightarrow ^5\text{I}_6$, em que o nível $^5\text{I}_8$ corresponde ao estado fundamental do íon de Ho^{3+} .

O mecanismo mais provável para popular o nível emissor (que dá origem a banda de emissão por conversão descendente de energia mostrada na figura 6.1) dos íons de Ho^{3+} é por transferência de energia provenientes dos íons de Yb^{3+} . Um diagrama de níveis de energia simplificado ilustrando os passos necessários para popular o nível emissor pode ser observado na figura 6.2. Inicialmente, um fóton de bombeio em 980 nm é absorvido por um íon de Yb^{3+} , sendo promovido do estado fundamental ($^2\text{F}_{7/2}$) ao estado excitado ($^2\text{F}_{5/2}$). Em seguida, o íon de Yb^{3+} relaxa retornando para seu estado fundamental e transferindo a sua energia de forma não ressonante para um íon de Ho^{3+} , fazendo com que esse íon possa ser promovido a partir do nível fundamental ($^5\text{I}_8$) ao estado excitado $^5\text{I}_6$. A partir desse estado, o íon de Ho^{3+} pode decair radiativamente para o estado fundamental, dando origem à banda de emissão (por conversão descendente de energia) em torno de 1188 nm.

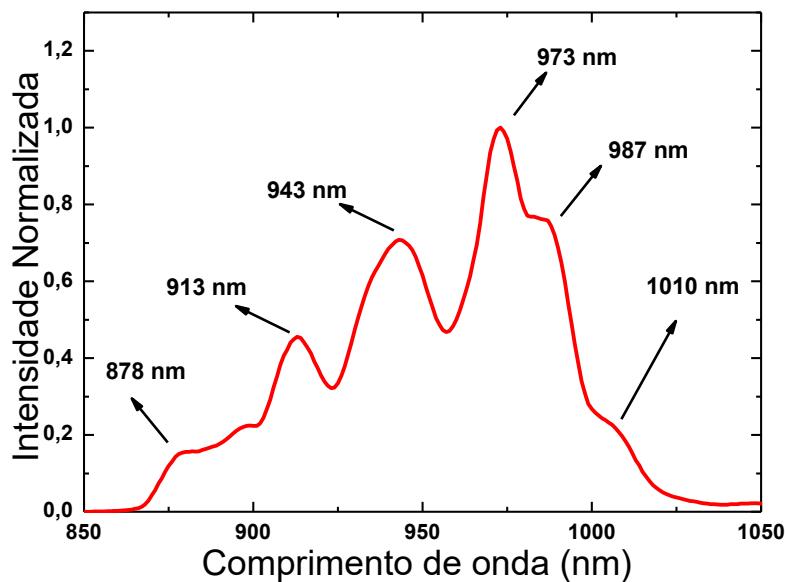
Figura 6.2: Esquema simplificado da representação do processo de conversão descendente de energia (que dá origem a emissão em torno de 1188 nm), obtido a partir da transferência de energia entre os íons de Yb^{3+} e Ho^{3+} , sob excitação em 980 nm. As setas para cima e para baixo indicam respectivamente excitação e emissão e as linhas onduladas decaimento por multifôtons.



Fonte: Autor da tese, 2016.

Como pode ser observado no espectro de luminescência mostrado na figura 6.1, as NPs de LaF_3 co-dopadas com os íons Yb/Ho apresentam uma banda de emissão em torno de 1188 nm. Esta emissão por sua vez, possui uma série de aplicações potenciais importantes em sistemas biológicos, uma vez que a mesma se encontra em uma região espectral muito importante denominada de janelas biológicas (JBs). Dessa forma a banda de emissão em torno de 1168 nm apresentada na figura 6.2 encontra-se dentro da II-JB. No entanto, esta emissão foi obtida através de uma fonte de excitação operando em 980 nm (que se deve ao pico de absorção dos íons de Yb^{3+}). Mas, como é bem conhecido na literatura [19, 20], a água possui um pico de absorção neste comprimento de onda, o que limitaria possíveis aplicações de nossas NPs em sistemas biológicos. Para tentar contornar este problema foi investigado outros possíveis comprimentos de onda para excitar nossas amostras. Para isso, foi feito um espectro de excitação na região de 850 a 1050 nm para a emissão em torno de 1188 nm das NPs de LaF_3 co-dopadas com Yb/Ho. O espectro de excitação obtido é mostrado na figura 6.3. Como pode ser observado, os principais picos de excitação que maximizam a emissão em torno de 1188 nm são em 1010, 987, 973, 943, 913 e 878 nm.

Figura 6.3: Espectro de excitação normalizado para a emissão em torno de 1188 nm das nanopartículas de LaF_3 co-dopadas com $\text{Yb}^{3+}/\text{Ho}^{3+}$.



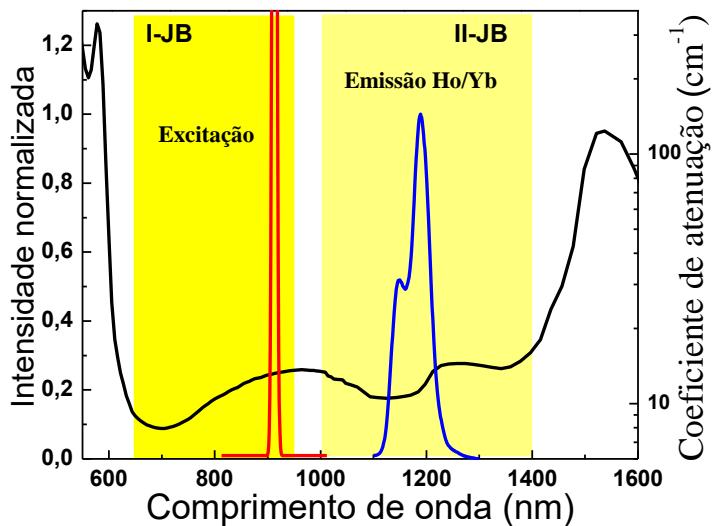
Fonte: Autor da tese, 2016.

Como pode ser observado, os dois maiores picos de excitação (973 e 987 nm), como mencionado anteriormente, encontram-se fora da janela biológica e exatamente

dentro de uma das bandas principais de absorção da água. Por outro lado, as bandas em 943 e 913 nm não são comparativamente tão pequenas e podem ser usadas como regiões para excitação. De fato, essas são muito interessantes para serem utilizadas, inclusive 900 nm. Observando que o espectro da figura 6.3 está normalizado, a intensidade de emissão em 1188 nm obtida usando excitação em 878 e 1010 nm correspondem a ~18 e ~22 %, respectivamente, em relação a obtida com excitação ressonante com o Yb³⁺ (973 nm). Com similar análise, a excitação em 913 nm corresponde a 46 %. Portanto, todas essas excitações podem ser usadas e são muito interessantes do ponto de vista de bio-aplicações. A partir desse momento usaremos como excitação de nossas NPs de LaF₃:Yb/Ho o comprimento de onda de 913 nm. Vale mencionar ainda que encontra-se na literatura [2, 21] trabalhos sobre nanotermômetros luminescentes, com ótimos resultados em sistemas biológicos, a partir de NPs dopadas com íons TRs e co-dopadas com Yb³⁺ sob excitação em 920 nm.

As extensões espetrais (em destaque) da primeira e segunda janelas biológicas as quais são limitadas pela dispersão da hemoglobina e absorção da melanina por luz com pequenos comprimentos de onda, além da absorção da água para comprimentos de onda longos (estes três componentes estão representados através do coeficiente de atenuação do sangue humano no intervalo espectral 550-1600 nm), são mostrados esquematicamente na figura 6.4. Além disso, é possível observar a banda de emissão em torno de 1188 nm (que se encontra dentro da II-JB) das nanopartículas de LaF₃ co-dopadas com os íons de Yb/Ho, quando excitadas em 913 nm (que se encontra dentro da I-JB) que também é mostrado na figura 6.4. Assim, nossas NPs fazem parte de um grupo seletivo de nanomateriais [1, 14] que operam dentro das janelas biológicas, ou seja, com excitação e emissão respectivamente dentro da I-JB e II-JB (em nosso caso específico), sendo desta forma possível obter nanotermômetros luminescentes com maior profundidade de penetração para aplicação em vivo.

Figura 6.4: Espectro de emissão das nanopartículas de LaF_3 co-dopadas com os íons de Yb/Ho; espectro da excitação laser operando em 913 nm usado para aplicações em nanotermometria luminescente. Também é incluído o coeficiente de atenuação do sangue humano (oxigenado) no intervalo espectral 550-1600 nm. As extensões espetrais da primeira e segunda janelas biológicas também são esquematicamente indicadas.



Fonte: Autor da tese, 2016.

Uma vez que a emissão, por conversão descendente de energia, em torno de 1188 nm (dentro da II-JB) das NPs de LaF_3 codopadas com os íons de Yb/Ho sob excitação em 913 nm (dentro da I-JB) foi demonstrado, seu potencial uso como nanotermômetro luminescente será sistematicamente estudado. Para isso, foi realizada uma série de medidas do espectro de luminescência de nossas NPs variando a temperatura no intervalo de 23-128 °C.

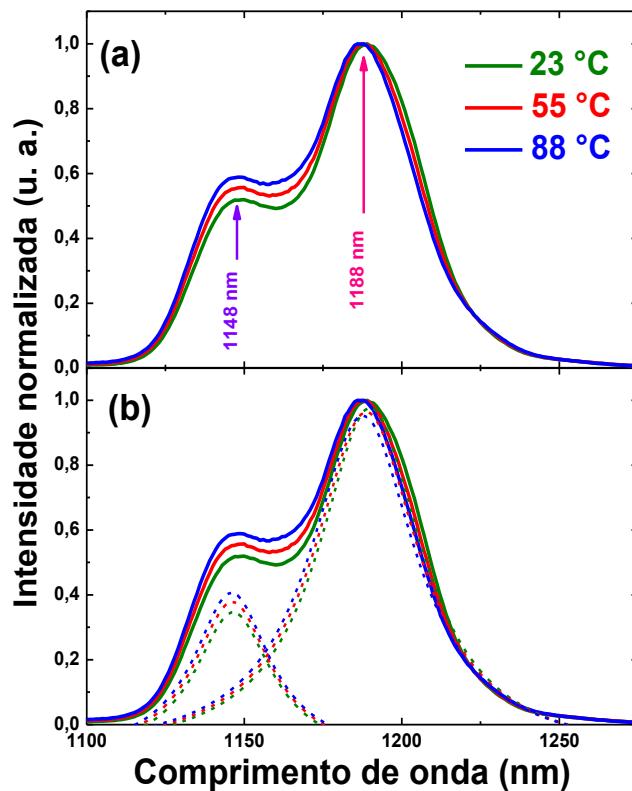
A distribuição espectral (1100-1300 nm) da emissão em 1188 nm das NPs de LaF_3 dopadas com 10 mol% Yb^{3+} e 4 mol% Ho^{3+} são mostradas em detalhes na figura 6.5 (a), para as temperaturas de 23, 55 e 88 °C. Todos os espectros de emissão apresentados na figura 6.5 (a) foram normalizados, de modo que as alterações induzidas pelo aumento da temperatura se tornam mais evidentes. Dessa forma, podemos observar que o perfil espectral da banda de luminescência em torno de 1168 nm é fortemente influenciado pela temperatura. Em uma primeira análise, a banda de luminescência em torno de 1168 nm pode ser descrita como sendo constituída por duas linhas luminescentes com picos centrados em 1148 e 1188 nm. Estas duas linhas

luminescentes estão relacionadas a duas diferentes transições radiativas entre os diferentes níveis Stark que compõem os níveis eletrônicos 5I_8 (estado excitado) e 5I_6 (estado fundamental) dos íons de Ho^{3+} . Dessa forma, como foi discutido no capítulo 2, a separação em energia entre subníveis Stark é muito pequena (apenas algumas dezenas de cm^{-1}) e, portanto, eles encontram-se termicamente acoplados. Assim, como anteriormente postulado [9, 10, 22, 23], quando a temperatura é modificada a população destes estados termicamente acoplados sofre uma forte redistribuição.

Como consequência desta redistribuição de população, as intensidades relativas das bandas de fluorescências geradas desses estados são modificadas. Isto nos possibilita usar a razão entre as intensidades desses dois picos para determinar a temperatura, através da técnica (apresentada no capítulo 2) conhecida como razão da intensidade de fluorescência (RIF). A técnica RIF consiste na medida da dependência térmica das intensidades de fluorescência que surgir a partir dos dois diferentes níveis eletrônicos que são termicamente acoplados e do cálculo da razão entre elas [6, 8, 24].

Na figura 6.5 (a) podemos ver que realmente ocorre uma redistribuição da população, induzida pelo aumento da temperatura, entre os diferentes níveis Stark que constituem a banda de emissão em torno de 1168 nm. Em temperatura ambiente (neste caso 23 °C) a altura do pico de intensidade em 1148 nm é cerca de 51% da altura do pico em 1188 nm, e com a elevação da temperatura até 88 °C ocorre um apreciável crescimento da intensidade da emissão em 1148 nm (I_{1148}) em relação àquela em 1188 nm (I_{1188}), ou seja, ocorre um considerável aumento na RIF (I_{1148}/I_{1188}).

Figura 6.5: (a) Espectro de luminescência normalizado das NPs de LaF_3 dopadas com Yb/Ho, sob excitação em 913 nm nas temperaturas de 23, 55 e 88 °C. Mostrando em detalhe as mudanças espectrais induzidas pela temperatura, assim como (b) a deconvolução (linhas pontilhadas) da banda de emissão centrada em 1168 nm em termos dos picos em torno de 1148 e 1188 nm.

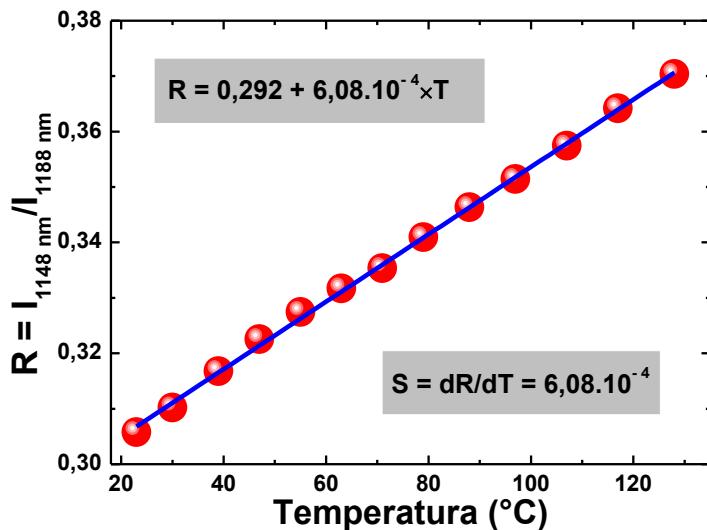


Fonte: Autor da tese, 2016.

Para usar a técnica RIF devemos calcular o valor das intensidades de emissão dos níveis ou subníveis termicamente acoplados. Para isso devemos primeiramente calcular os valores das intensidades das emissões em torno de 1148 nm (I_{1148}) e 1188 nm (I_{1188}), para então depois obter o comportamento da razão I_{1148}/I_{1188} . A figura 6.5 (b) mostra o procedimento adotado para determinar o valor das intensidades de emissão para três temperaturas (23, 55 e 88 °C). Inicialmente foi realizado um processo de deconvolução da banda de emissão, centrada em 1168 nm, em duas bandas (linhas pontilhadas na figura 6.6 (b)) centradas em torno de 1148 e 1188 nm. Dessa forma, as intensidades de emissão I_{1148} e I_{1188} , foram calculadas a partir da área sub as curvas de deconvolução em torno desses picos (1148 e 1188 nm). Analisando as curvas normalizadas, podemos observar na figura 6.5 (b) que a intensidade da emissão em I_{1148}

(representada pela curva de deconvolução centrada em 1148 nm) cresce sequencialmente com o aumento da temperatura.

Figura 6.6: Razão das intensidades de fluorescência (RIF) em 1148 e 1188 nm como função da temperatura para as nanopartículas de LaF₃ codopadas com Yb/Ho.



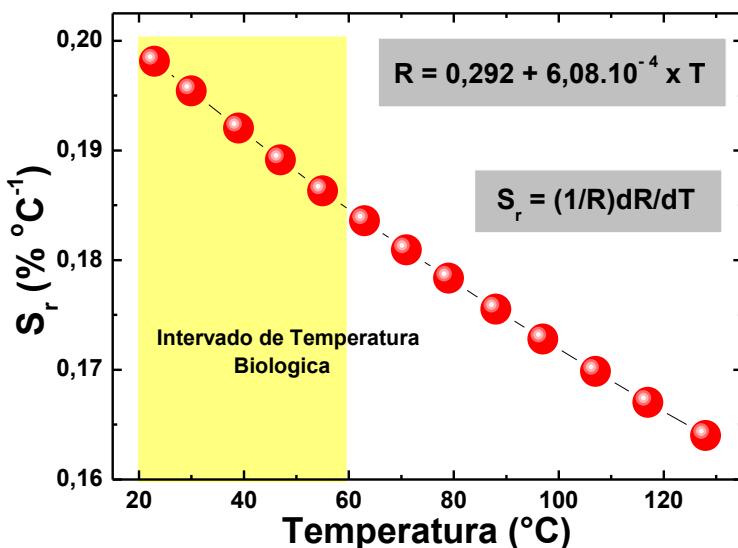
Fonte: Autor da tese, 2016.

Na Figura 6.6 apresentamos a RIF (I_{1148}/I_{1188}) das NPs de LaF₃ codopadas com Yb/Ho em função da temperatura, no intervalo de 20 a 130 °C. Para esse intervalo de temperatura, foi observado que a RIF exibe um comportamento linear (representado pelos pontos vermelhos) e, portanto, a ideia de um sensor térmico fica ainda mais simples. Tal comportamento linear de R com T nos leva a uma sensibilidade térmica constante de $dR/dT = 6,08 \times 10^{-4} \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$, obtida a partir do ajuste linear dos dados experimentais, representado pela linha sólida (azul) mostrada na figura 6.6. Essa é a sensibilidade do sensor, mas na literatura é convencionalmente usado e, de fato, mais interessante usar a sensibilidade relativa dada por $S_r = (1/R).dR/dT$. Essa é apresentada na figura 6.7 a partir dos dados experimentais. Como podemos observar, a sensibilidade térmica relativa é aproximadamente constante com a temperatura, tendo um valor médio de 0,19 % $^\circ\text{C}^{-1}$ no intervalo de temperatura biológica (20 a 60 °C).

A sensibilidade térmica relativa obtida de nossas nanopartículas é comparável à apresentada por Dong e colaboradores (cerca de 0,25 % $^\circ\text{C}^{-1}$ no intervalo de temperatura de 25-50 °C) [21] para a banda de emissão em torno de 800 nm (correspondente a transição eletrônica $^3\text{H}_4 \rightarrow ^3\text{H}_6$ do íon de Tm) das nanopartículas de CaF₂ codopadas com Yb/Tm e sob excitação em 920 nm, e metade do valor obtido por Oleksandr e

colaboradores ($0,385\% \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$ em $24\text{ }^\circ\text{C}$) [17] para a emissão no vermelho (correspondente a transição eletrônica $^5\text{F}_5 \rightarrow ^5\text{I}_8$ do íon de Ho) de NPs de KLu(WO₄)₂ codopadas com Yb/Ho e sob excitação em 980 nm. Entretanto, este primeiro sistema opera totalmente dentro da I-BW (emissão em 800nm e excitação em 920 nm) e o segundo totalmente fora das janelas biológicas, enquanto o nosso sensor operar com excitação na I-JB (excitação 913 nm) e emissão na II-JB (emissão em 1188 nm). Como já é bem conhecido na literatura [15], comprimentos de ondas localizados na II-JB geralmente apresentam maior penetração em tecidos biológicos e menor espalhamento em relação àqueles que se encontram na I-JB. Portanto, nosso nanosensor apresenta-se como um excelente candidato para sistemas biológicos.

Figura 6.7: Sensibilidade térmica relativa da razão de intensidades de fluorescência I_{1148}/I_{1188} (RIF) em função da temperatura para o intervalo de $23\text{-}128\text{ }^\circ\text{C}$.



Fonte: Autor da tese, 2016.

A sensibilidade térmica de nossas NPs também é praticamente equivalente a proposta por Rocha e colaboradores (cerca de $0,23\% \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$ no intervalo de temperatura de $10\text{-}60\text{ }^\circ\text{C}$) [3] para NPs de LaF₃ dopadas com Nd³⁺ que opera dentro da I-JB (excitação em 800 nm e emissão em torno de 880 nm), que um dos nanotermômetros luminescentes mais citados na literatura por apresentar excelentes resultados. Dessa forma, podemos dizer que as NPs de LaF₃ co-dopadas com Yb/Ho se apresentam como nanotermômetros luminescentes promissores para aplicações em sistemas biológicos.

6.4 CONCLUSÃO

Em resumo, neste capítulo analisamos a dependência com a temperatura da emissão por conversão descendente de energia de nanopartículas de LaF_3 codopadas com 10 mol% de Yb^{3+} e 4 mol% de Ho^{3+} sob excitação em 913 nm, com o intuito de usá-las como nanotermômetros luminescentes operando dentro das janelas biológicas. Foi observado que a temperatura induz uma redistribuição de população entre os níveis Stark do estado eletrônico $^5\text{I}_6$ dos íons de Ho^{3+} causando relevantes mudanças na intensidade relativa de duas diferentes linhas luminescentes que constituem a banda de emissão em torno de 1188 nm. A razão entre as intensidades de fluorescência (RIF) entre dois subníveis Stark (do estado eletrônico $^5\text{I}_6$ do íon de Ho^{3+}) termicamente acoplados, com emissão em 1148 e 1188 nm, mostrou um comportamento linear com o aumento da temperatura. A sensibilidade térmica relativa de nossas NPs foi determinada, apresentando um valor médio de $0,19\text{ \% }^{\circ}\text{C}^{-1}$ no intervalo de temperatura biológica ($20\text{ - }60\text{ }^{\circ}\text{C}$). Esta sensibilidade térmica relativa obtida foi comparada com alguns dos principais nanosensores luminescentes de temperatura presentes na literatura e o nosso se demonstrou uma excelente opção como nanotermômetro luminescente para aplicações em bio-sistemas, uma vez que a excitação usado foi exatamente na I-JB e a emissão gerada fortemente está na II-JB, exatamente no mínimo de absorção de sangue oxigenado, possibilitando maior comprimento de penetração e menos espalhamentos em tecidos biológicos.

REFERENCIAS

1. Ceron, E.N., et al., *Hybrid nanostructures for high-sensitivity luminescence nanothermometry in the second biological window*. Adv Mater, 2015. **27**(32): p. 4781-7.
2. Fiorenzo Vetrone, e.a., *Temperature Sensing Using Fluorescent Nanothermometers*. ACS Nano, 2010. **4**(6): p. 3254-3258.
3. Rocha, U., et al, *Subtissue Thermal Sensing Based on Neodymium-Doped LaF₃ Nanoparticles*. Acs Nano. **7**(2): p. 1188-1199.
4. Ximendes, E.C., et al, *Unveiling in Vivo Subcutaneous Thermal Dynamics by Infrared Luminescent Nanothermometers*. Nano Letters, 2016. **16**(3): p. 1695-1703.
5. Jaque, D. and F. Vetrone, *Luminescence nanothermometry*. Nanoscale, 2012. **4**(15): p. 4301-4326.
6. Carlos, D.S., et al., *Thermometry at the nanoscale*. 2016.
7. Fischer, L.H.H., G. S.; Wolfbeis, O. S., *Upconverting Nanoparticles for Nanoscale Thermometry*. Angewandte Chemie-International 2011. **50**(20): p. 4546-4551.
8. Zhang, F., *Photon Upconversion Nanomaterials*. 2015.
9. H. Berthou, C.K.J., *Optical-fiber temperature sensor based on upconversion-excited fluorescence*. Opt. Lett. , 1990. **15**: p. 1100–1102.
10. S.A. Wade, S.F.C., G.W. Baxter, *Fluorescence intensity ratio technique for optical fiber point temperature sensing*. J. Appl. Phys., 2003. **94**: p. 4743–4756.
11. Quek, C.H.L., K. W. , *Near-Infrared Fluorescent Nanoprobes for in Vivo Optical Imaging*. Nanomaterials 2012. **2**: p. 92-112.
12. Maestro, L.M., et al., *Heating efficiency of multi-walled carbon nanotubes in the first and second biological windows*. Nanoscale, 2013. **5**(17): p. 7882-7889.
13. Smith, A.M.M., M. C.; Nie, S. , *Bioimaging: Second window for in vivo imaging*. Nat Nano. **4**(11): p. 710-711.
14. Rocha, U., et al, *Neodymium-Doped LaF₃ Nanoparticles for Fluorescence Bioimaging in the Second Biological Window*. Small. **10**(6): p. 1141-1154.
15. Kobat, D., et al., *Deep tissue multiphoton microscopy using longer wavelength excitation*. Optics Express, 2009. **17**(16): p. 13354-13364.

16. Sathravada Balaji, e.a., *Efficient ~2.0 μm emission from Ho³⁺ doped tellurite glass sensitized by Yb³⁺ ions: Judd-Ofelt analysis and energy transfer mechanism*. OPTICAL MATERIALS EXPRESS, 2011. **1**(2): p. 138-150.
17. Oleksandr A. Savchuk, a.e., *Ho,Yb:KLu(WO₄)₂ Nanoparticles: A Versatile Material for Multiple Thermal Sensing Purposes by Luminescent Thermometry*. J. Phys. Chem. C 2015(119): p. 18546–18558.
18. POMA NUÑEZ, P.Y., *Sínteses e Caracterizações Óptica e Estrutural de Nanopartículas de LaF₃:Yb³⁺/Ho³⁺ e LaF₃:Yb³⁺/Tm³⁺ e Cerâmicas Transparentes de Y₂O₃:Eu³⁺ e Y₂O₃:Tm³⁺*, in UFAL - Instituto de Física. 2015.
19. Dan Wang, a.e., *808 nm driven Nd³⁺-sensitized upconversion nanostructures for photodynamic therapy and simultaneous fluorescence imaging*. Nanoscale, 2015. **7**: p. 190–197.
20. Ye-Fu Wang, e.a., *Nd³⁺ Sensitized Upconversion Nanophosphors: Efficient In Vivo Bioimaging Probes with Minimized Heating Effect*. ACS Nano, 2013. **7**(8): p. 7200–7206.
21. Dong, N.N., et al., *NIR-to-NIR two-photon excited CaF₂:Tm³⁺,Yb³⁺ nanoparticles: multifunctional nanoprobes for highly penetrating fluorescence bio-imaging*. ACS Nano, 2011. **5**(11): p. 8665-71.
22. D. Jaque, a.e., *Fluorescent nano-particles for multi-photon thermal sensing*. J. Lumin., 2013. **133**: p. 249–253.
23. E. Maurice, a.e., *Erbium-doped silica fibers for intrinsic fiberoptic temperature sensors*. Appl.Opt. , 1995. **34**: p. 8019–8025.
24. S. A. Wade, S.F.C., G. W. Baxter,, *Fluorescence Intensity Ratio Technique for Optical Fiber Point Temperature Sensing*. J. Appl. Phys., 2003. **98**(8): p. 4743-4756.

7. CONCLUSÕES FINAIS E PERPECTIVAS

Os propósitos desta tese foram investigar as propriedades de luminescência de nanopartículas (NPs) de Niobato de Sódio (NaNbO_3) e de Fluoreto de Lantâno (LaF_3) dopadas ou co-dopadas com diferentes íons terras-raras (que emitem principalmente na região do infravermelho do espectro eletromagnético) para potenciais aplicações em dispositivos fotônicos, em especial em bio-imagem, nanoaquecedores ópticos e nanotermômetros luminescentes (NTLs) operando fora e dentro das regiões conhecidas como primeira e segunda janelas biológicas (I-JB e II-JB, respectivamente) dos tecidos humanos.

Inicialmente, no capítulo 3 investigamos as potenciais aplicações das NPs NaNbO_3 co-dopadas com $\text{Tm}^{3+}/\text{Yb}^{3+}$ como NTL com alta resolução espacial operando sob excitação de três fótons. Para isso, primeiramente foi comprovada a terceira ordem do processo de excitação da emissão gerada em torno de 484 nm. Em seguida, foi analisado o perfil espectral da banda de emissão em torno de 484 nm (${}^1\text{G}_4 \rightarrow {}^3\text{H}_6$) dos íons de Tm^{3+} sob excitação em 940 nm para o intervalo de temperatura de 24-140 °C. Assim, observamos que a temperatura induz uma redistribuição de população entre os níveis Stark do estado eletrônico ${}^1\text{G}_4$ dos íons de Tm^{3+} causando mudanças relevantes nas intensidades relativas de duas diferentes linhas luminescentes que constituem a banda característica centrada em 484 nm. A razão das intensidades de fluorescência (RIF) apresentou uma variação linear com a temperatura para o intervalo de 24 a 140 °C, levando a uma sensibilidade térmica constante de 0,08% °C⁻¹ para o intervalo de temperatura analisado. Esta sensibilidade foi encontrada e comparada a de outros nanosensores térmicos luminescentes sob excitação por três fótons da literatura. A potencial aplicação de NPs de NaNbO_3 co-dopadas com $\text{Tm}^{3+}/\text{Yb}^{3+}$ como NTL sob excitação por três fótons foi demonstrado na determinação precisa da temperatura local induzida por excitação laser. Portanto, os resultados apresentados comprovaram a capacidade promissora das NPs de NaNbO_3 co-dopadas com Tm/Yb como NTL via RIF, mas também aponta a sua possível aplicação como agente fototérmico capaz de simultaneamente converter luz em calor e remotamente fazer a leitura térmica.

Em seguida no capítulo 4 investigamos as potenciais bioaplicações das NPs de NaNbO_3 dopadas com diferentes concentrações de Tm (1, 3 e 5 mol%) como NTL e em

bio-imagens fluorescentes. Através dos espectros de emissão, obtidos sob excitação em 1319 nm, observamos que somente uma banda de emissão em 800 nm é gerada na região do visível-NIR. Tal emissão ocorre por um processo de conversão ascendente de energia gerado a partir da absorção de dois fótons. Além disso, verificamos que a intensidade da emissão em 800 nm é fortemente dependente da matriz hospedeira devido ao processo de excitação assistido por multi-fônons, o que significa dizer que é fortemente dependente da temperatura. De fato, observamos que a intensidade da banda de emissão em 800 nm duplica quando a temperatura da amostra varia de 30 a 90 °C. Além disso, este aumento da intensidade de emissão vem acompanhado de uma redistribuição de população dos subníveis Stark termicamente acoplados de duas diferentes linhas espectrais que compõem a banda de emissão em 800nm. Para as três amostras analisadas, a razão das intensidades em 797 e 807 nm mostraram um comportamento linear com a temperatura para o intervalo de 24 a 90 °C. Devido à esse comportamento foi possível calcular os valores das sensibilidades térmicas relativas (S_r) das amostras investigadas. Os resultados mostraram que S_r é praticamente constante tanto em relação à temperatura quanto em relação à concentração de íons de Tm³⁺ usados para dopar as NPs, apresentando um valor médio de 0,75 % °C⁻¹ para a amostra dopada com 5 mol% de Tm³⁺ no intervalo de temperatura de 30-60 °C, o que justifica a sua possível aplicação como NTL. E como, a emissão e excitação de nossas NPs se encontram dentro da primeira e segunda janelas biológicas, respectivamente, existe grande possibilidade de obtermos NTL e bio-imagens fluorescentes com grande resolução espacial e uma maior profundidade de penetração, uma vez que efeitos como espalhamento e autofluorescência são minimizados. Além disso, com base no experimento de penetração realizado, foi possível observar claramente que essa configuração proporciona uma maior profundidade de penetração e, de fato, profundidades de penetração tão grandes quanto 3 mm é potencialmente possível de serem obtidas. Portanto, as NPs de NaNbO₃ dopados com íons de Tm³⁺ surgem como excelentes nanomarcadores multifuncional para imagens fluorescentes com altos contraste e penetração, e nanotermômetro luminescente com alta sensibilidade térmica para bioaplicações.

No capítulo 5 realizamos inicialmente um estudo sobre o comportamento das emissões em 1230 e 1470 nm de NPs de LaF₃ dopadas com 1mol% de Tm³⁺ para as excitações lasers em 690 e 790 nm, e verificou-se que a melhor excitação para

maximizar as emissões analisadas foi 690 nm. Foi realizada uma análise das bandas de emissão em 1230 e 1470 nm das NPs de LaF₃ para as concentrações de 1, 3 e 5 mol% de Tm³⁺, em que foi observado um aumento considerável da banda de emissão em 1230 nm (em relação a de 1470 nm) com o aumento da concentração. Realizamos também um estudo sobre a aplicação das NPs de LaF₃ dopadas com diferentes concentrações (1, 3 e 5 mol%) de Tm³⁺ como nanosensor luminescente de temperatura, baseado na RIF das bandas de emissão em 1470 e 1230 nm, que correspondem as transições $^3\text{H}_4 \rightarrow ^3\text{F}_4$ e $^3\text{H}_5 \rightarrow ^3\text{H}_6$ de íons de Tm³⁺. Para cada uma das três concentrações analisadas, foi observado que a RIF em 1470 e 1230 nm apresenta um crescimento linear com o aumento da temperatura. Ajustes lineares dos dados experimentais foram obtidos e, a partir desses foi possível obter as sensibilidades térmicas e ver que essas são constantes (independente da temperatura). Os seguintes valores para sensibilidades térmicas foram estimados: 0,119, 0,046 e 0,019 °C⁻¹, respectivamente, para as concentrações de 1, 3 e 5 mol% de Tm³⁺. Também foram obtidas as sensibilidades térmicas relativas para o intervalo de temperatura de 24 a 88 °C. Os resultados mostraram que as mesmas diminuem à medida que a temperatura aumenta, possuindo na temperatura de 24 °C os valores máximos de 1,9; 1,7 e 1,5 % °C⁻¹, respectivamente, para as amostras dopadas com 1, 3 e 5 mol% de Tm³⁺. Estas sensibilidades térmicas relativas foram então comparadas as de outros nanosensores luminescentes de temperatura descritos na literatura que operam dentro das janelas biológicas. Devido ao fato das emissões em 1230 e 1470 nm das NPs de LaF₃ dopadas com Tm³⁺ estarem dentro da região espectral da segunda janela biológica, e a principal banda de absorção (que maximiza essas emissões) em 690 nm dos íons de Tm³⁺ estar localizada dentro da primeira janela biológica, juntamente com a alta sensibilidade térmica apresentada pela razão das intensidades das bandas de emissão em 1470 e 1230 nm, as NPs de LaF₃ dopadas com Tm³⁺ se apresentam como promissores NTLs na técnica RIF com grande potencial para aplicações em sistemas biológicos.

Finalmente no capítulo 6 realizamos um estudo da dependência com a temperatura da emissão por conversão descendente de energia das NPs de LaF₃ co-dopadas com 10 mol% de Yb³⁺ e 4 mol% de Ho³⁺ sob excitação em 913 nm, com o intuito de usa-las como nanotermômetros luminescentes operando dentro das janelas biológicas. Foi observado que a temperatura induz uma redistribuição de população entre os níveis Stark do estado eletrônico $^5\text{I}_6$ dos íons de Ho³⁺ causando relevantes mudanças na

intensidade relativa de duas diferentes linhas luminescentes que constituem a banda de emissão em torno de 1188 nm. A RIF de dois subníveis Stark termicamente acoplados, com emissão em 1148 e 1188 nm, mostrou um comportamento linear com o aumento da temperatura. Em seguida, sensibilidade térmica relativa de nossas NPs foi determinada, apresentando um valor médio de $0,19\text{ \% }^{\circ}\text{C}^{-1}$ no intervalo temperatura biológico (20-60 °C). Esta sensibilidade térmica relativa obtida foi comparada com alguns dos principais nanosensores luminescentes de temperatura presentes na literatura e os resultados se mostraram promissores. Dessa forma, nossas NPs demostram uma excelente potencialidade como NTL para aplicações em vivo, uma vez que com a excitação na I-JB e emissão na II-JB podem atingir um maior comprimento de penetração nos tecidos humanos.

Em resumo, os resultados obtidos neste trabalho de doutorado permitiram uma melhor compreensão das possíveis bioaplicações das NPs de NaNbO_3 e LaF_3 dopadas com diferentes íons terra-raras como nanoaquecedores ópticos em bioimagens fluorescentes e principalmente como de NTLs operando nas regiões de transparência de tecidos biológicos e também na região do azul do espectro eletromagnético

Como perspectivas sugerimos a realização de experimentos *in vitro*, *ex vivo* e *in vivo* (usando nossas NPs) de nanotermometria e em bioimagens fluorescentes. Além de explorar novos tipos de NPs, por exemplo, do tipo core-shell na tentativa de aumentar a sensibilidade térmica, pois é possível um maior controle nos processos de transferência de energia entre diferentes íons terra-raras.