

UNIVERZITET U BEOGRADU  
TEHNOLOŠKO-METALURŠKI FAKULTET

Ivana Z. Dinić

**SINTEZA I KARAKTERIZACIJA  
BIOKOMPATIBILNIH OPTIČKI AKTIVNIH  
FLUORIDA RETKIH ZEMALJA**

doktorska disertacija

Beograd, 2018

UNIVERSITY OF BELGRADE  
FACULTY OF TECHNOLOGY AND METALLURGY

Ivana Z. Dinić

**SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION  
OF BIOCOMPATIBLE OPTICALLY  
ACTIVE RARE-EARTH FLUORIDES**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2018

**Mentori:**

---

dr Ljiljana Mojović

redovni profesor Tehnološko-metalurškog fakulteta, Univerziteta u Beogradu

---

dr Lidija Mančić

naučni savetnik Instituta Tehničkih nauka SANU

**Članovi komisije:**

---

dr Olivera Milošević

naučni savetnik Instituta Tehničkih nauka SANU

---

dr Aleksandra Đukić - Vuković

naučni saradnik Tehnološko-metalurškog fakulteta, Univerziteta u Beogradu

Datum odbrane: \_\_\_\_\_

*Na kraju, ili čak mogu reći, na početku ove doktorske disertacije želim da napišem nekoliko reči zahvalnosti svim kolegama i dragim osobama, bez kojih ne bi bilo moguće započeti i dovesti do kraja ovaj put odrastanja i školovanja.*

*Pre svega posebnu zahvalnost dugujem dr Lidiji Mančić, na izdvojenom vremenu, prenetom znanju, savetima i sugestijama, pomoću kojih je rad na ovoj disertaciji bilo jedno neverovatno iskustvo.*

*Zahvaljujem se dr Ljiljani Mojović, dr Oliveri Milošević i dr Aleksandri Đukić - Vuković na velikoj pomoći i nesebičnom pružanju korisnih saveta tokom izrade teze. Ova teza rađena je na Institutu Tehničkih nauka SANU, u okviru projekta Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije, OI172035.*

*Naravno da veliku zahvalnost dugujem i timu izuzetnih ljudi pomoću kojih su sva istraživanja bila moguća. Posebno želim da izdvojim dr Marka Nikolića, dr Mihaila Rabasovića i dr Aleksandra Krmpota, sa Instituta za fiziku, u Beogradu, dr Bojana Marinkovića i dr Antonija Costu sa Papskog katoličkog Univerziteta u Rio de Žaneiru i dr Mariju Eugeniju Rabanal sa Univerziteta Karlos III u Madridu. Ujedno želim da se zahvalim i kolegama sa Stomatološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu, na pripremi ćelijskih preparata.*

*Na samom kraju, ili na početku, veliko HVALA dugujem mojoj porodici, prijateljima i mom Peđi, koji su uvek bili tu za mene.*

# SINTEZA I KARAKTERIZACIJA BIOKOMPATIBILNIH OPTIČKI AKTIVNIH FLUORIDA RETKIH ZEMALJA

## Rezime

Optički aktivne nanočestice fluorida elemenata retkih zemalja privlače veliku pažnju poslednjih godina zbog svoje uspešne primene u biološkim snimanjima, odnosno u vizualizaciji i karakterizaciji bioloških procesa na ćelijskom i molekulskom nivou. Optička aktivnost ovih materijala posledica je prisustva dopanata koji omogućavaju „Up“-konvertorsku (anti-štoks) emisiju svetlosti nakon pobude infracrvenim izvorom zračenja. U ovoj tezi, optički aktivne biokompatibilne čestice  $\text{NaYF}_4$  dopiranog iterbijumom i erbijumom, sintetisane su hidro/solvo-termalnim procesiranjem nitrata elemenata retkih zemalja uz upotrebu NaF kao precipitatora. Ispitan je uticaj koncentracije polaznih reaktanata, rastvarača (vode, etanola, etilen glikola i acetona) i prisustva različitih modifikatora površine (poletilenglikola - PEG, polivinilpirolidona - PVP, polilaktid-ko-glikolida - PLGA, hitozana - CS, poliakrilne kiseline - PAA, i etilendiamintetrasirćetne kiseline (etilendiamintetraacetat - EDTA) na proces nukleacije kubne i/ili heksagonalne  $\text{NaY}_{0.8}\text{Yb}_{0.17}\text{Er}_{0.03}\text{F}_4$  faze, morfologiju i hemijske karakteristike površine čestica. U slučaju dobijanja čestica niske kristaliničnosti vršena je i dodatna kalcinacija praha u atmosferi argona, pri čemu je praćen proces konverzije kubne ( $\alpha$ ) u heksagonalnu ( $\beta$ )  $\text{NaY}_{0.8}\text{Yb}_{0.17}\text{Er}_{0.03}\text{F}_4$  fazu. Efikasnost „up“-konverzije (UC), odnosno optička aktivnost čestica u vidljivom delu spektra, utvrđena je merenjem intenziteta i vremena emisije plave (na 408 nm, usled  $^2\text{H}_{9/2} \rightarrow ^4\text{I}_{11/2}$  prelaza), zelene (na 520 i 540 nm, usled  $^2\text{H}_{11/2} \rightarrow ^4\text{I}_{15/2}$  i  $^4\text{S}_{3/2} \rightarrow ^4\text{I}_{15/2}$  prelaza) i crvene (na 655 nm, usled  $^4\text{F}_{9/2} \rightarrow ^4\text{I}_{15/2}$  prelaza) svetlosti nakon pobuđivanja infracrvenim izvorom zračenja ( $\lambda \sim 980$  nm), definisanjem njihovog međusobnog odnosa, kao i izračunavanjem vrednosti hromatičnih koordinata x i y u CIE dijagramu.

Rendgeno strukturalna analiza praha pokazala je da korišćenje navedenih modifikatora površine u rastvorima niže koncentracije (5 i 10 mmol) dovodi primarno do kristalizacije  $\alpha$ - $\text{NaY}_{0.8}\text{Yb}_{0.17}\text{Er}_{0.03}\text{F}_4$  faze u sferičnim česticama nanometarskih dimenzija (<100 nm), osim u slučaju korišćenja PVP gde je postignuta *in situ* kristalizacija heksagonalne  $\beta$  faze. Utvrđeno je da na stabilizaciju heksagonalne kristalne strukture tokom procesa sinteze, pored izbora modifikatora površine, utiče i vreme hidro/solvo-termalnog tretmana, vrsta rastvarača i koncentracija polaznog rastvora. Kako heksagonalnu kristalnu strukturu odlikuje anizotropni rast kristala, ostvarena je i *in situ* kristalizacija monodisperznih heksagonalnih poliedarskih mikročestica u rastvorima veće koncentracije (100 mmol) korišćenjem EDTA modifikatora.

U radu je pokazano da je dodatnim termičkim tretmanom nanočestica kubne kristalne strukture moguće dobiti čestice heksagonalne kristalne strukture, pri čemu čestice gube svoj sferičan oblik. Sve sintetisane čestice odlikuje visoka čistoća i hidrofilnost. Homogena raspodjela jona dopanta u česticama pokazana je skenirajućom elektronskom mikroskopijom u kombinaciji sa energetsom disperzionom analizom X-zracima (SEM/EDAX). Prisustvo amino, karboksilnih ili hidroksilnih grupa na površini sintetisanih čestica, potvrđeno infracrvenom spektroskopijom sa Furijeovom transformacijom, što je ukazalo na formiranje biokompatibilnog sloja na površini čestica. U cilju ispitivanja mogućnosti njihovog korišćenja u biomedicinske svrhe antibakterijska aktivnost čestica je testirana prema Gram-negativnoj bakteriji *Escherichia coli*, Gram-pozitivnoj bakteriji *Staphylococcus aureus* i gljivici *Candida albicans*. Dodatno, za čestice koje se odlikuju najboljim morfološko-strukturnim karakteristikama (nanočestice  $\alpha$ -  $\text{NaY}_{0.8}\text{Yb}_{0.17}\text{Er}_{0.03}\text{F}_4$  faze dobijene u prisustvu PLGA i CS), ispitana je i citotoksičnost na primarnim ćelijama skvamoznog karcinoma jezika (eng. oral squamous cell carcinoma OSCC) i zdravim gingivalnim ćelijama korena pulpe (eng. human gingival cell, HGC) korišćenjem 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolijum bromid (MTT) testa u opsegu koncentracija od 10-50  $\mu\text{g/mL}$ . U oba slučaja, utvrđena je niža toksičnost nanočestica za HGC nego za OSCC te je dalje ispitana i mogućnost *in vitro* vizuelizacije ovih ćelija primenom nelinearne skenirajuće mikroskopije. Na osnovu dobijenih rezultata je utvrđeno da je vizuelizacija ćelija moguća i pri najnižim koncentracijama sintetisanih nanočestica, jer je njihovo prisustvo u citoplazmi potvrđeno jasnim svetlosnim odzivom pri pobudi laserom talasne dužine od 980 nm. Ovim istraživanjima je pokazano da je *in situ* sintezu biokompatibilnih optički aktivnih nanočestica sastava  $\text{NaY}_{0.8}\text{Yb}_{0.17}\text{Er}_{0.03}\text{F}_4$  moguće izvesti u kontrolisanim uslovima hidro/solvo-termalne sinteze, kao i da dobijene čestice poseduju karakteristike potencijalnih biomarkera nove generacije.

**Ključne reči:** „up“ - konverzija, luminescentni materijali, fluoridi, joni retkih zemalja, biokompatibilnost, hidro/solvo-termalna sinteza

**Naučna oblast:** Tehnološko inženjerstvo

**Uža naučna oblast:** Biohemijsko inženjerstvo i inženjerstvo materijala

**UDK broj:**

# SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF BIOCOMPATIBLE OPTICALLY ACTIVE RARE-EARTH FLUORIDES

## Abstract

Optically active rare earth doped fluoride nanoparticles have attracted great attention in recent years because of their successful application in biological imaging, including visualization and characterization of biological processes at the cellular and molecular level. Optical activity of these materials is due to the presence of dopants that allow Up- converting (Anti-Stokes) light emission after excitation by infrared radiation. In this work, optically active biocompatible NaYF<sub>4</sub> particles doped with ytterbium and erbium were synthesized by hydro/solo-thermal processing of rare earth nitrates and NaF. The influence of precursor concentration, solvents (water, ethanol, ethylene glycol and acetone) and surface modifiers (polyethylene glycol-PEG, polyvinylpyrrolidone-PVP, polylactid-co-glycolide acid-PLGA, chitosan-CS, polyacrylic acid-PAA, and ethylenediaminetetraacetate - EDTA) on the nucleation process of cubic and hexagonal NaY<sub>0.8</sub>Yb<sub>0.17</sub>Er<sub>0.03</sub>F<sub>4</sub> phase, particle morphology and surface chemical characteristics was examined. In the case of obtaining low crystalline particles, additional calcination in argon atmosphere was carried out, whereby the conversion process of the cubic ( $\alpha$ ) into the hexagonal ( $\beta$ ) NaY<sub>0.8</sub>Yb<sub>0.17</sub>Er<sub>0.03</sub>F<sub>4</sub> phase was monitored. Up-conversion efficiency, i.e optical activity of the particles in the visible part of the spectra was determined by measuring the intensity and decay time of the blue (at 408 nm, due to <sup>2</sup>H<sub>9/2</sub> → <sup>4</sup>I<sub>11/2</sub> transition), green (at 520 i 540 nm, due to <sup>2</sup>H<sub>11/2</sub> → <sup>4</sup>I<sub>15/2</sub> i <sup>4</sup>S<sub>3/2</sub> → <sup>4</sup>I<sub>15/2</sub> transition) and red (at 655 nm, due to <sup>4</sup>F<sub>9/2</sub> → <sup>4</sup>I<sub>15/2</sub> transition) emission after excitation by NIR (near infrared,  $\lambda$  =980 nm) light, defining their mutual relationship and calculating chromatic coordinates (X,Y) in the CIE diagram.

XRPD analysis showed that crystallization from the low-concentrated solutions (5 and 10 mmol) led to the  $\alpha$ - NaY<sub>0.8</sub>Yb<sub>0.17</sub>Er<sub>0.03</sub>F<sub>4</sub> phase generation in nanometric spherical particles (<100 nm) in the presence of all surface modifiers except PVP which enables *in situ* crystallization of the hexagonal  $\beta$ - NaY<sub>0.8</sub>Yb<sub>0.17</sub>Er<sub>0.03</sub>F<sub>4</sub> phase. Stabilization of the hexagonal crystal structure is additionally achieved by extension of the hydro/solvo-thermal treatment, ethanol usage and with rise of the precursor concentration. As the growth of this structure is anisotropic, *in situ* crystallization of monodisperse hexagonal polyhedral particles is achieved during hydrothermal treating of 100 mmol precursor in the presence of EDTA. All of the

synthesized particles are characterized by high purity and hydrophilicity. The homogeneous distribution of dopant ions in the particles, was demonstrated by scanning electron microscopy in combination with energy dispersive analysis of X-rays (SEM/EDAX). The presence of amino, carboxylic or hydroxyl groups on the particles surface is confirmed by infrared spectroscopy with Furie's transformation, indicating their biocompatibility. In order to examine their antibacterial activity, the particles was tested using Gram-negative bacterium *Escherichia coli*, Gram-positive bacterium *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* fungus. Additionally, cytotoxicity of  $\text{NaY}_{0.8}\text{Yb}_{0.17}\text{Er}_{0.03}\text{F}_4$  nanoparticles obtained in the presence of PLGA and CS (in a concentration range of 10-50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) was determined against oral squamous cell carcinoma (OSCC) and healthy non-cancerous human gingival cells (HGC) using 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5 diphenyltetrazolium bromide (MTT). Since lower cytotoxicity against HGC than against OSCC was determined for both kind of nanoparticles, the possibility of their *in vitro* visualization was further investigated using non-linear scanning microscopy. It was shown that cell visualization is possible using lowest nanoparticle concentrations of 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Clear light response of the nanoparticles present in cells cytoplasm was obtained under excitation at 980 nm. Obtained results show that *in situ* functionalized biocompatible optically active  $\text{NaY}_{0.8}\text{Yb}_{0.17}\text{Er}_{0.03}\text{F}_4$  nanoparticles synthesised in a controlled manner by hydro/solvo-thermal synthesis could be used as biomarkers of the new generation.

**Key words:** up- conversion, luminescent materials, fluorides, Rare-Earth ions, biocompatibility, hydro/solvo-thermal synthesis

**Scientific area:** Technological engineering

**Major area:** Biochemical engineering and material engineering



## SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
2. TEORIJSKI DEO .....	3
2.1. Luminescencija .....	3
2.1.1. Fotoluminescencija (PL).....	8
2.1.2. Ostali tipovi luminescencije.....	10
2.2. Luminescentni centri.....	11
2.2.1. Elektronske konfiguracije jona retkih zemalja .....	11
2.2.2. Dozvoljeni i nedozvoljeni prelazi .....	13
2.3. Materijali domaćini (pojam domaćina).....	14
2.3.1. Kubna NaYF <sub>4</sub> faza .....	15
2.3.2. Heksagonalna NaYF <sub>4</sub> faza .....	16
2.4. Joni dopanti .....	17
2.4.1. Joni aktivatori .....	17
2.4.2. Joni senziteri .....	18
2.4.3. Yb <sup>3+</sup> /Er <sup>3+</sup> par.....	18
2.5. Sinteza biokompatibilnih NaYF <sub>4</sub> :Yb <sup>3+</sup> /Er <sup>3+</sup> nanočestica.....	19
2.5.1. Termička dekompozicija organometalika.....	20
2.5.2. Hidrotermalna sinteza .....	21
2.5.2.1. Solvotermalna sinteza u prisustvu oleinske kiseline.....	22
2.5.2.2. Hidrotermalna sinteza u prisustvu limunske kiseline.....	26
2.5.2.3. Hidro/solvo-termalna sinteza iz neorganskih prekursora uz korišćenje helacionih agenasa i/ili polimera .....	28
2.5.2.4. Helacioni agensi i polimeri korišćeni u ovom radu .....	29
2.5.2.4.1. Etilendiamintetrasirćetna kiselina (EDTA).....	29
2.5.2.4.2. Polietilen glikol (PEG).....	30
2.5.2.4.3. Polivinilpirolidon (PVP) .....	31
2.5.2.4.4. Poliakrilna kiselina (PAA).....	31
2.5.2.4.5. Hitozan (CS) .....	32
2.5.2.4.6. Poli (laktid-ko-glikolid) (PLGA) .....	33
2.6. Biomarkeri .....	33
3. EKSPERIMENTALNI DEO.....	35
3.1. Materijali i metode .....	35

3.2.	Hemikalije koje su korišćene prilikom sinteze .....	35
3.3.	Sinteza biokompatibilnih optički aktivnih nanočestica NaYF <sub>4</sub> :Yb,Er.....	36
3.3.1.	Sinteza NaYF <sub>4</sub> :Yb,Er uz primenu EDTA .....	36
3.3.2.	Sinteza NaYF <sub>4</sub> :Yb,Er uz primenu PVP .....	37
3.3.3.	Sinteza NaYF <sub>4</sub> :Yb,Er uz primenu PEG .....	38
3.3.4.	Sinteza NaYF <sub>4</sub> :Yb,Er uz primenu PAA.....	39
3.3.5.	Sinteza NaYF <sub>4</sub> :Yb,Er uz primenu CS.....	40
3.3.6.	Sinteza NaYF <sub>4</sub> :Yb,Er uz primenu PLGA .....	40
3.4.	Metode korišćene za karakterizaciju sintetisanog materijala.....	41
3.4.1.	Određivanje faznog sastava .....	41
3.4.2.	Određivanje morfologije i hemijskog sastava uzoraka.....	41
3.4.2.1.	Skening elektronska mikroskopija (SEM, EDAX) .....	41
3.4.2.2.	Transmisiona elektronska mikroskopija (TEM, HRTEM, EDS).....	42
3.4.3.	Spektroskopske metode karakterizacije.....	42
3.4.3.1.	Spektroskopija sa infracrvenom Furijerovom transformacijom (FTIR) .....	42
3.4.3.2.	Analiza dinamičkog rasipanja svetlosti (Eng Dynamic light scattering DLS) 43	
3.4.3.3.	Fotoluminescentna merenja .....	43
3.4.3.4.	Određivanje vremena života pobuđenih energetskih stanja.....	43
3.4.4.	XPS analiza.....	44
3.4.5.	Određivanje antimikrobne aktivnosti.....	44
3.4.6.	Ispitivanje citotoksičnosti .....	45
3.4.6.1.	Izolovanje ćelija usne duplje.....	45
3.4.6.2.	MTT test.....	46
3.4.7.	Laser skenirajuća mikroskopija .....	47
4.	REZULTATI I DISKUSIJA .....	48
4.1.	Analiza NaYF <sub>4</sub> :Yb,Er uzorka sintetisanog u prisustvu EDTA.....	48
4.1.1.	Rendgeno-strukturna analiza prahova .....	48
4.1.2.	Morfologija, hemijski i fazni sastav prahova.....	52
4.1.3.	FTIR analiza uzorka.....	56
4.1.4.	Fotoluminescentne karakteristike uzorka .....	57
4.2.	Analiza NaYF <sub>4</sub> :Yb,Er uzorka sintetisanog u prisustvu PVP-a .....	61
4.2.1.	Rendgeno-strukturna analiza prahova .....	61
4.2.2.	Morfologija, hemijski i fazni sastav prahova.....	63

4.2.3.	FTIR analiza uzorka.....	66
4.2.4.	Fotoluminescentne karakteristike uzorka .....	66
4.3.	Analiza NaYF <sub>4</sub> :Yb,Er uzorka sintetisanog u prisustvu PEG .....	68
4.3.1.	Rendgeno-strukturna analiza prahova .....	68
4.3.2.	Morfologija, hemijski i fazni sastav prahova.....	70
4.3.3.	FTIR analiza uzorka.....	72
4.3.4.	Fotoluminescentne karakteristike uzorka .....	73
4.4.	Analiza NaYF <sub>4</sub> :Yb,Er uzorka sintetisanog u prisustvu PAA.....	74
4.4.1.	Rendgeno-strukturna analiza praha .....	74
4.4.2.	Morfologija, hemijski i fazni sastav praha.....	76
4.4.3.	FTIR analiza uzorka.....	77
4.4.4.	Fotoluminescentne karakteristike uzorka .....	78
4.5.	Analiza NaYF <sub>4</sub> :Yb,Er uzorka sintetisanog u prisustvu CS.....	79
4.5.1.	Rendgeno-strukturna analiza prahova .....	79
4.5.2.	Morfologija, hemijski i fazni sastav prahova.....	81
4.5.3.	FTIR analiza uzorka.....	83
4.5.4.	Fotoluminescentne karakteristike uzorka .....	84
4.6.	Analiza NaYF <sub>4</sub> :Yb,Er uzorka sintetisanog u prisustvu PLGA .....	86
4.6.1.	Rendgeno-strukturna analiza praha .....	86
4.6.2.	Morfologija, hemijski i fazni sastav praha.....	87
4.6.3.	FTIR analiza uzorka.....	89
4.6.4.	Fotoluminescentne karakteristike uzorka .....	89
4.7.	Uporedna analiza strukturnih, morfoloških i optičkih karakteristika sintetisanih čestica .....	91
4.8.	Određivanje hidrodinamičkog prečnika UC-CS-5-EG i UC-PLGA-5-Ac nanočestica .....	92
4.9.	Određivanje antimikrobnih karakteristika UC-CS-5-EG i UC-PLGA-5-Ac nanočestica .....	94
4.10.	Određivanje citotoksičnosti UC-CS-5-EG i UC-PLGA-5-Ac nanočestica .....	96
4.11.	<i>In vitro</i> laser skenirajuća mikroskopija HGC i OSCC ćelija primenom UC-CS-5-EG i UC-PLGA-5-Ac nanočestica kao biomarkera.....	97
4.12.	Fotoelektronska spektroskopija X-zracima UC-CS-5-EG čestica.....	102
5.	ZAKLJUČAK .....	105
6.	PUBLIKACIJE PROIZAŠLE IZ DOKTORSKE DISERTACIJE .....	107
7.	LITERATURA .....	108

## Spisak slika

<b>Slika 01</b>	Mehanizam „down“- konverzije	4
<b>Slika 02</b>	Mehanizam apsorpcije ekscitovanog stanja	4
<b>Slika 03</b>	Mehanizam EFE	5
<b>Slika 04</b>	Mehanizam sukcesivnog prenosa energije	6
<b>Slika 05</b>	Mehanizam unakrsnog otpuštanja fotona	6
<b>Slika 06</b>	Mehanizam kooperativne senzitacije	6
<b>Slika 07</b>	Mehanizam senzitacije luminescencije	7
<b>Slika 08</b>	Mehanizam lavine fotona	8
<b>Slika 09</b>	Mehanizmi nastanka fluorescencije: A (apsorpcija), RF (rezonantna fluorescencija), VR (vibraciona relaksacija), UK (unutrašnja konverzija), NF (normalna fluorescencija) [23]	9
<b>Slika 10</b>	Mehanizmi nastanka fosforescencije: A (apsorpcija), VR (vibraciona relaksacija), MK/IK (međusistemska-intersistemska konverzija), FS (fosforescencija) [23]	10
<b>Slika 11</b>	Energetski nivoi jona retkih zemalja	12
<b>Slika 12</b>	Šematski procesi apsorpcije i relaksacije [23]	14
<b>Slika 13</b>	Kubna kristalna modifikacija NaYF <sub>4</sub>	16
<b>Slika 14</b>	Heksagonalne kristalne modifikacije NaYF <sub>4</sub> faze a) <i>P-6</i> i b) <i>P63/m</i> prostorne grupe	17
<b>Slika 15</b>	Šematski prikaz energetskih nivoa i mogućih prelaza Yb <sup>3+</sup> /Er <sup>3+</sup>	19
<b>Slika 16</b>	a) $\alpha$ - NaYF <sub>4</sub> nanočestice, b) $\beta$ - NaYF <sub>4</sub> nanočestice [53]	21
<b>Slika 17</b>	TEM slika NaYF <sub>4</sub> : 2 % Er <sup>3+</sup> , 20 % Yb <sup>3+</sup> nanočestica [54]	21
<b>Slika 18</b>	TEM Na(Y <sub>1.5</sub> Na <sub>0.5</sub> )F <sub>6</sub> nanoštapića: a) 25 % Eu <sup>3+</sup> na 170°C za 16 h, b) 5 % Eu <sup>3+</sup> na 180°C za 24 h, c) 3 % Yb <sup>3+</sup> i 2 % Eu <sup>3+</sup> na 205°C za 24 h, d) 3 % Yb <sup>3+</sup> i 2 % Eu <sup>3+</sup> na 190°C za 24 h, e) i f) HRTEM slike Na(Y <sub>1.5</sub> Na <sub>0.5</sub> )F <sub>6</sub> nanoštapića prikazanih na slici b [59]	23
<b>Slika 19</b>	Različite morfološke forme NaYF <sub>4</sub> dobijenog HT metodom u prisustvu oleinske kiseline: a) $\alpha$ - NaYF <sub>4</sub> u prisustvu oleinske kiseline na 130°C, b) $\beta$ - NaYF <sub>4</sub> u prisustvu oleinske kiseline na 230°C, c) $\beta$ - NaYF <sub>4</sub> sa povećanjem koncentracije F <sup>-</sup> jona, d) $\alpha$ - NaYF <sub>4</sub> u prisustvu 0.35 g NaOH [60]	23
<b>Slika 20</b>	Morfologija sa XRD podacima za NaYF <sub>4</sub> :Yb,Er nanočestice, a) TEM, b) SAED c) XRD [61]	24
<b>Slika 21</b>	a, b) TEM - c, d) HRTEM - NaY <sub>0.8</sub> F <sub>4</sub> :Yb <sub>0.15</sub> /Er <sub>0.05</sub> UCNPs dobijenih korišćenjem 6 ml oleinske kiseline, 90 ml 1-oktadekana i 1.6 ml HF-oleilamina; e, f) TEM NaY <sub>0.8</sub> F <sub>4</sub> :Yb <sub>0.15</sub> /Er <sub>0.05</sub> UCNPs dobijenih korišćenjem 12 ml oleinske kiseline, 3 ml 1-oktadekana i 1.6 ml, odnosno 1.4 ml HF-oleilamina, redom stoji [63]	25
<b>Slika 22</b>	a, b) TEM NaYF <sub>4</sub> :Er <sup>3+</sup> 2 mol %, Yb <sup>3+</sup> 20 mol % nanočestica obloženih PEG (750)-fosfatom, c, d) TEM NaYF <sub>4</sub> :Er <sup>3+</sup> 2 mol %, Yb <sup>3+</sup> 20 mol % nanočestica obloženih PEG (2000)-fosfatom [64]	26
<b>Slika 23</b>	SEM $\beta$ - NaYF <sub>4</sub> : 5 % Tb <sup>3+</sup> nanočestica pripremljenih sa različitim molarnim odnosom citrata: RE <sup>3+</sup> a) bez citrata, b) 1:2, c) 1:1, d) 2:1, e) 4:1, f) 8:1 [65]	27
<b>Slika 24</b>	SEM NaYF <sub>4</sub> uzoraka nakon a) i b) 3 h, c) i d) 12 h e) i f) 24 h reakcije [67]	28
<b>Slika 25</b>	TEM NaYF <sub>4</sub> :Yb <sup>3+</sup> , Er <sup>3+</sup> nanočestica dobijenih u prisustvu polietilenimina [68]	28
<b>Slika 26</b>	TEM a) PVP- b) PEG- c) PAA- d) PEI- modifikovanih NaYF <sub>4</sub> :Yb,Er nanočestica [70]	29

<b>Slika 27</b>	Etilendiamintetra sirćetna kiselina (EDTA)	30
<b>Slika 28</b>	Polivinilpirolidon (PVP)	31
<b>Slika 29</b>	Poliakrilna kiselina (PAA)	32
<b>Slika 30</b>	Hitozan	32
<b>Slika 31</b>	Poli(laktid-ko-glikolid) (PLGA)	33
<b>Slika 32</b>	Difrakcija praha X-zracima uzoraka iz sistema UC-EDTA	49
<b>Slika 33</b>	Difrakcija praha X-zracima uzoraka iz sistema UC-EDTA-TT	50
<b>Slika 34</b>	Strukturno utučnjavanje uzoraka a) UC-EDTA-100-0,5-aq; b) UC-EDTA-100-2-aq; c) UC-EDTA-100-20-aq; d) UC-EDTA-10-2-Et; e) UC-EDTA-100-0,5-aq-TT; f) UC-EDTA-100-2-aq-TT. Difraktogrami dobijeni merenjem su dati kao crni krugovi, primenom Ritveldove metode crvenom linijom, dok je njihova razlika predstavljena sivom linijom. Referentne refleksije prisutnih faza označene su vertikalnim linijama u dnu dijagrama, crvenom bojom predstavljena je $\beta$ - NaYF <sub>4</sub> :Yb,Er faza, dok je $\alpha$ -NaYF <sub>4</sub> :Yb,Er faza označena crnom bojom.	51
<b>Slika 35</b>	SEM mikrografije uzorka a) UC-EDTA-100-0,5-aq; b) UC-EDTA-100-2-aq; c) UC-EDTA-100-20-aq; d) UC-EDTA-10-2-Et	54
<b>Slika 36</b>	TEM mikrografije uzoraka a) UC-EDTA-100-0,5-aq; b) UC-EDTA-10-2-Et; c,d) UC-EDTA-100-2-aq	54
<b>Slika 37</b>	TEM i SAED analiza uzorka UC-EDTA-100-0.5-aq-TT	55
<b>Slika 38</b>	FESEM analiza uzorka UC-EDTA-100-2-aq-TT	55
<b>Slika 39</b>	Tipična EDS analiza uzorka iz sistema UC-EDTA	55
<b>Slika 40</b>	EDAX analiza uzorka UC-EDTA-100-2-aq	56
<b>Slika 41</b>	FTIR analiza uzoraka UC-EDTA-100-0,5-aq, UC-EDTA-100-20-aq i EDTA jedinjenja	57
<b>Slika 42</b>	a), b) Emisioni spektri sintetisanih prahova; c) CIE dijagram hromatskih koordinata koje definišu svetlosni odziv sintetisanih uzoraka u ovom sistemu UC-EDTA-100-0,5-aq (0.33, 0.63), UC-EDTA-100-2-aq (0.35, 0.62), UC-EDTA-100-20-aq (0.37, 0.59), UC-EDTA-10-2-Et (0.38, 0.52), UC-EDTA-100-2-aq-TT (0.51, 0.49), UC-EDTA-100-0,5-aq-TT (0.33, 0.63)	60
<b>Slika 43</b>	Vreme života plave, zelene i crvene emisije za uzorke: a) UC-EDTA-100-2-aq; b) UC-EDTA-100-2-aq-TT; c) UC-EDTA-100-20-aq	60
<b>Slika 44</b>	Difrakcija praha X-zracima uzoraka iz sistema UC-PVP	62
<b>Slika 45</b>	Strukturno utučnjavanje uzoraka: a) UC-PVP-10-Et; b) UC-PVP-5-Et; c) UC-PVP-5-EG d) UC-PVP-10-Et-TT; e) UC-PVP-5-Et-NaOH. Difraktogrami dobijeni merenjem su dati kao crni krugovi, primenom Ritveldove metode crvenom linijom, dok je njihova razlika predstavljena sivom linijom. Referentne refleksije prisutnih faza označene su vertikalnim linijama u dnu dijagrama, crvenom bojom predstavljena je $\beta$ - NaYF <sub>4</sub> :Yb,Er faza, dok je $\alpha$ - NaYF <sub>4</sub> :Yb,Er faza označena crnom bojom.	63
<b>Slika 46</b>	TEM mikrografije uzorka a-c) UC-PVP-10-Et i d-f) UC-PVP-10-Et-TT	65
<b>Slika 47</b>	FESEM mikrografije uzorka a) UC-PVP-5-Et b) UC-PVP-5-Et-NaOH i c-d) UC-PVP-5-EG, e) Tipična EDS analiza uzorka iz sistema UC-PVP	65
<b>Slika 48</b>	FTIR analiza čistog PVP i uzoraka iz sistema UC-PVP	66
<b>Slika 49</b>	a) Emisioni spektri sintetisanih prahova UC-PVP b) CIE dijagram hromatskih koordinata koje definišu svetlosni odziv sintetisanih uzoraka u ovom sistemu UC-PVP-10-Et (0.31, 0.66), UC-PVP-10-Et-TT (0.33, 0.64), UC-PVP-5-Et (0.43, 0.55), UC-PVP-5-Et-NaOH (0.46, 0.53), UC-PVP-5-EG (0.55, 0.44)	68

<b>Slika 50</b>	Difrakcija praha X-zracima uzoraka iz sistema UC-PEG	69
<b>Slika 51</b>	Utačnjavanje strukture Ritveldovom metodom u programu Topas Academic za sistem a) UC-PEG-10-aq i b) UC-PEG-10-aq-TT. Difraktogrami dobijeni merenjem su dati kao crni krugovi, primenom Ritveldove metode crvenom linijom, dok je njihova razlika predstavljena sivom linijom. Referentne refleksije prisutnih faza označene su vertikalnim linijama u dnu dijagrama, crvenom bojom predstavljena je $\beta$ - NaYF <sub>4</sub> :Yb,Er faza, dok je $\alpha$ -NaYF <sub>4</sub> :Yb,Er faza označena crnom bojom.	69
<b>Slika 52</b>	TEM mikrografije uzorka a-c) UC-PEG-10-aq i d-f) UC-PEG-10-aq-TT	71
<b>Slika 53</b>	Tipična EDS analiza uzorka iz sistema UC-PEG	72
<b>Slika 54</b>	FTIR analiza uzorka UC-PEG-10-aq i UC-PEG-10-aq-TT	73
<b>Slika 55</b>	a) Emisioni spektri sintetisanih prahova UC-PEG b) CIE dijagram hromatičnosti	74
<b>Slika 56</b>	Utačnjavanje strukture Ritveldovom metodom u programu Topas Academic za sistem UC-PAA-5-Et. Difraktogrami dobijeni merenjem su dati kao crni krugovi, primenom Ritveldove metode crvenom linijom, dok je njihova razlika predstavljena sivom linijom. Referentne refleksije prisutnih faza označene su vertikalnim linijama u dnu dijagrama, $\alpha$ - NaYF <sub>4</sub> :Yb,Er faza je označena crnom bojom.	75
<b>Slika 57</b>	FESEM analiza uzorka UC-PAA-5-Et	77
<b>Slika 58</b>	EDS analiza uzorka UC-PAA-5-Et	77
<b>Slika 59</b>	FTIR analiza čistog PAA i uzorka UC-PAA-5-Et	78
<b>Slika 60</b>	a) Emisioni spektar uzorka UC-PAA-5-Et b) CIE dijagram hromatičnosti	79
<b>Slika 61</b>	Difrakcija praha X-zracima uzoraka iz sistema UC-CS	80
<b>Slika 62</b>	Utačnjavanje strukture Ritveldovom metodom u programu Topas Academic za sisteme UC-CS. Difraktogrami dobijeni merenjem su dati kao crni krugovi, primenom Ritveldove metode crvenom linijom, dok je njihova razlika predstavljena sivom linijom. Referentne refleksije prisutnih faza označene su vertikalnim linijama u dnu dijagrama, $\alpha$ - NaYF <sub>4</sub> :Yb,Er faza je označena crnom bojom.	80
<b>Slika 63</b>	a) SEM; b, c) TEM i d) SAED analiza uzorka UC-CS-5-EG	82
<b>Slika 64</b>	EDS analiza uzorka UC-CS-5-EG	82
<b>Slika 65</b>	FESEM analiza uzorka UC-CS-/PVP -5-EG sa raspodelom veličine čestica	83
<b>Slika 66</b>	a) FTIR analiza čistog hitozana, PVP i uzorka UC-CS-5-EG i UC-CS-EG-PVP	84
<b>Slika 67</b>	a) Emisioni spektar uzorka UC-CS i b) CIE dijagram hromatičnosti	85
<b>Slika 68</b>	Utačnjavanje strukture Ritveldovom metodom u programu Topas Academic za sistem UC-PLGA-5-Ac. Difraktogrami dobijeni merenjem su dati kao crni krugovi, primenom Ritveldove metode crvenom linijom, dok je njihova razlika predstavljena sivom linijom. Referentne refleksije prisutnih faza označene su vertikalnim linijama u dnu dijagrama, crvenom bojom predstavljena je $\beta$ - NaYF <sub>4</sub> :Yb,Er faza, dok je $\alpha$ - NaYF <sub>4</sub> :Yb,Er faza označena crnom bojom.	86
<b>Slika 69</b>	SEM i TEM analiza uzorka UC-PLGA-5-Ac	88
<b>Slika 70</b>	EDS analiza uzorka UC-PLGA-5-Ac	88
<b>Slika 71</b>	FTIR analiza čistog PLGA i uzorka UC-PLGA-5-Ac	89
<b>Slika 72</b>	a) Emisioni spektar uzorka UC-PLGA-5-Ac i b) CIE dijagram hromatičnosti	90
<b>Slika 73</b>	Raspodela čestica tokom vremena a) UC-CS-5-EG (1 mg/mL) u medijumu, b) UC-CS-5-EG (1 mg/mL) u destilovanoj vodi, c) UC-PLGA-5-Ac (1 mg/mL) u vodi, d) UC-PLGA-5-Ac (1 mg/mL) u medijumu.	93

<b>Slika 74</b>	Antibiogram test prema <i>Escherichia coli</i> a) UC-CS-5-EG i b) UC-PLGA-5-Ac nanočestica	94
<b>Slika 75</b>	Antibiogram test prema <i>Staphylococcus aureus</i> a) UC-CS-5-EG i b) UC-PLGA-5-Ac nanočestica	95
<b>Slika 76</b>	Antibiogram test prema <i>Candida albicans</i> a) UC-CS-5-EG i b) UC-PLGA-5-Ac nanočestica	95
<b>Slika 77</b>	Srednje vrednosti intenziteta redukcije MTT-a nakon jednodnevne inkubacije HGC i OSCC sa UC-CS-5-EG nanočesticama različite koncentracije	97
<b>Slika 78</b>	Srednje vrednosti intenziteta redukcije MTT-a nakon jednodnevne inkubacije HGC i OSCC sa UC-PLGA-5-Ac nanočesticama različite koncentracije	97
<b>Slika 79</b>	Vizuelizacija OSCC ćelije primenom UC-CS-5-EG nanočestica (10 µg/ml, 24 h inkubacije): a) prikaz ćelije u transmisionom modu b) autofluorescencija ćelije nakon femtosekundske eksitacije na 730 nm; c) luminescencija UC-CS-5-EG nanočestica nakon eksitacije na 980 nm; d) potvrda internalizacije UC-CS-5-EG u OSCC kroz kolokalizaciju autofluorescencije ćelije i luminescencije UC-CS-5-EG nanočestica	98
<b>Slika 80</b>	Vizuelizacija HGC ćelije primenom UC-CS-5-EG nanočestica (10 µg/ml, 24 h inkubacije): a) prikaz ćelije u transmisionom modu b) autofluorescencija ćelije nakon femtosekundske eksitacije na 730 nm; c) luminescencija UC-CS-5-EG nanočestica nakon eksitacije na 980 nm; d) potvrda internalizacije UC-CS-5-EG u OSCC kroz kolokalizaciju autofluorescencije ćelije i luminescencije UC-CS-5-EG nanočestica	99
<b>Slika 81</b>	Vizuelizacija OSCC ćelije primenom UC-PLGA-5-Ac nanočestica (10 µg/ml, 24 h inkubacije): a) prikaz ćelije u transmisionom modu b) autofluorescencija ćelije nakon femtosekundske eksitacije na 730 nm; c) luminescencija UC-CS-5-EG nanočestica nakon eksitacije na 980 nm; d) potvrda internalizacije UC-CS-5-EG u OSCC kroz kolokalizaciju autofluorescencije ćelije i luminescencije UC-CS-5-EG nanočestica	100
<b>Slika 82</b>	Vizuelizacija HGC ćelije primenom UC-PLGA-5-Ac nanočestica (10 µg/ml, 24 h inkubacije): a) prikaz ćelije u transmisionom modu b) autofluorescencija ćelije nakon femtosekundske eksitacije na 730 nm; c) luminescencija UC-CS-5-EG nanočestica nakon eksitacije na 980 nm; d) potvrda internalizacije UC-CS-5-EG u OSCC kroz kolokalizaciju autofluorescencije ćelije i luminescencije UC-CS-5-EG nanočestica	101
<b>Slika 83</b>	XPS analiza uzorka UC-CS-5-EG a) pregledni spektar; i spektri unutrašnjih nivoa atoma b) Na 1s; c) F 1s; d) Y 3d, Yb 4d Er 4d; e) C 1s; f) O 1s i g) N 1s	104

## Spisak tabela

<b>Tabela 1.</b>	Hemikalije korišćene u eksperimentalnom radu .....	36
<b>Tabela 2.</b>	Nomenklatura uzoraka dobijenih uz primenu EDTA .....	37
<b>Tabela 3.</b>	Nomenklatura uzoraka dobijenih uz primenu PVP.....	38
<b>Tabela 4.</b>	Nomenklatura uzoraka dobijenih uz primenu PEG.....	39
<b>Tabela 5.</b>	Nomenklatura uzoraka dobijenih uz primenu CS i CS-PVP.....	40
<b>Tabela 6.</b>	Podaci dobijeni strukturnim utičnjavanjem Ritveldovom metodom.....	50
<b>Tabela 7.</b>	Vreme života plave, zelene i crvene emisije .....	60
<b>Tabela 8.</b>	Podaci dobijeni strukturnim utičnjavanjem Ritveldovom metodom.....	63
<b>Tabela 9.</b>	Podaci dobijeni strukturnim utičnjavanjem Ritveldovom metodom.....	70
<b>Tabela 10.</b>	Podaci dobijeni strukturnim utičnjavanjem Ritveldovom metodom.....	76
<b>Tabela 11.</b>	Podaci dobijeni strukturnim utičnjavanjem Ritveldovom metodom.....	81
<b>Tabela 12.</b>	Podaci dobijeni strukturnim utičnjavanjem Ritveldovom metodom.....	87



## 1. UVOD

Optički aktivne nanočestice fluorida elemenata retkih zemalja (eng. rare earth, RE) imaju važnu ulogu u biološkim snimanjima kao i praćenju procesa koji se odigravaju na ćelijskom nivou jer omogućavaju rano dijagnostikovanje različitih oboljenja. Optimizacija procesa sinteze i modifikacije ovih čestica sa ciljem postizanja hidrofilnosti i selektivnog vezivanja različitih liganda (DNA, RNA, bioaktivni proteini ili antitela), kao i ispitivanja njihove *in vitro* i *in vivo* citotoksičnosti nalaze se u žiži interesovanja naučne javnosti.

Njihova optička aktivnost posledica je prisustva dopanata koji omogućavaju „up“-konvertorsku (anti-štoks) emisiju svetlosti. „Up“-konverzija (eng. upconversion, UC) se može opisati kao nelinearni optički proces sukcesivne apsorpcije dva ili više fotona i emisije svetlosti na kraćoj talasnoj dužini od pobudne [1]. Zahvaljujući tome, za pobuđivanje ovih materijala moguće je koristiti izvore ekscitacije sa opsegom talasnih dužina od 700 do 1200 nm koje ne dovode do interakcije sa biološkim tkivima. U slučaju „up“-konvertorskih procesa na bazi jona elemenata retkih zemalja, i to dopanta tipa  $\text{Er}^{3+}$ ,  $\text{Ho}^{3+}$  i  $\text{Tm}^{3+}$ , najčešće korišćen ko-dopant na talasnoj dužini oko 980 nm je jon  $\text{Yb}^{3+}$ . Elektronska konfiguracija ovih jona odgovara formuli  $4f^n 5s^2 5p^6 6s^2$  ( $n=0-14$ ) i nakon ukljanjanja 6s elektrona, njihove 4f orbitale postaju optički aktivne te omogućavaju elektronske prelaze tipa  $4f$  i/ili  $4f-5d$ , odnosno emisiju fotona u vidljivoj oblasti spektra koju odlikuje visok kvantni prinos i dugotrajnost [2-4]. Fluoridi na bazi elemenata RE uključuju  $\text{REF}_3$  kao i  $\text{AREF}_4$  jedinjenja (A- alkalni metali) koja zbog svoje hemijske stabilnosti, male energije fonona ( $\sim 350 \text{ cm}^{-1}$ ) i visokog stepena refrakcije predstavljaju idealne matrice za dodatno dopiranje optički aktivnih jona [5].

Obzirom da izbor dopanata određuje mehanizam luminescencije, pored „up“-konverzije u dopiranim jedinjenjima je moguće ostvariti i „down“-konverziju (eng. down conversion, DC).

Za razliku od „down“-konvertora, „up“-konvertorske nanočestice (eng. upconversion nanoparticles, UCNPs) imaju niz prednosti u pogledu biomedicinske aplikacije jer blisko infracrveno zračenje (eng. near infrared NIR), koje se koristi za njihovu pobudu, ostvaruje duboku penetraciju u biološka tkiva i ne izaziva foto-oštećenja i autofluorescenciju [6,7]. Njihovom funkcionalizacijom moguće je selektivno vezivanje različitih antigena i citokina, odnosno proteina koji učestvuju u imunom odgovoru organizma [8-10].

Aktuelnost istraživanja biokompatibilnih „up“-konvertorskih nanočestica ogleda se i u porastu broja publikacija koji se bave ranom dijagnostikom i dostavom terapeutika kancerskim ćelijama s obzirom da su kliničke metode za ranu dijagnostiku kancera, kao što su

kompjuterska tomografija (eng. Computer tomography, CT), magnetna rezonanca (eng. magnetic resonance imaging, MRI), pozitronska emisija tomografija (eng. positron emission tomography, PET) i jednofotonska emisija kompjuterska tomografija (eng. single photon emission computed tomography, SPECT), uglavnom skupe ili ne poseduju dovoljnu osetljivost. Razvijanje novih biomarkera veće osetljivosti, kakve je moguće postići selektivnom funkcionalizacijom „up“- konvertorskih nanočestica, je uglavnom bazirano na višestepenim postupcima sinteze, kao i korišćenju toksičnih reagenasa (cikloheksan, hloroform, trifluoroacetati...). Tako na primer, up“- konvertorske nanočestice se mogu dobiti termičkom dekompozicijom organometalnih jedinjenja (trifluoroacetatne soli RE i natrijuma) i hidrotermalnom sintezom u prisustvu oleinske kiseline, dok njihova naknadna funkcionalizacija podrazumeva izmenu ili oksidaciju oleinskih liganata, oblaganje polimerima i interkalaciju, što otežava ponovljivost procesa sinteze, a dodatno može uticati i na toksičnost nanočestica [11, 12]. Pored toga, višestepene metode se odlikuju i niskim prinosom jer gotovo svaki od koraka prati ispiranje, odnosno centrifugiranje uzorka pri kojem neminovno dolazi do gubitka sintetisanih nanočestica. Zbog svega navedenog neophodna je dalja optimizacija postojećih procesa sinteze, i to posebno sa stanovišta upotrebe novih biokompatibilnih agenasa koji bi omogućili nastajanje hidrofилnih i necitotoksičnih „up“- konvertorskih nanočestica u jednom koraku [13].

Predmet istraživanja ove doktorske disertacije je upravo razvijanje i optimizacija *in situ* sinteze optički aktivnih fluorida na bazi elemenata retkih zemalja sa kontrolisanim morfološko-strukturnim svojstvima i biokompatibilnom površinom i odnosi se na:

- ispitivanje uticaja biokompatibilnih polimera (EDTA, PVP, PEG, PAA, hitozana i PLGA) na proces nukleacije i prostornu orijentisanost  $\text{NaY}_{0.8}\text{Yb}_{0.17}\text{Er}_{0.03}\text{F}_4$  faze nastale procesom hidro/solvo-termalnog tretmana;
- optimizaciju procesa hidro/solvo-termalnog tretmana sa stanovišta dobijanja biokompatibilnih  $\text{NaY}_{0.8}\text{Yb}_{0.17}\text{Er}_{0.03}\text{F}_4$  čestica definisane morfologije i željenih optičkih karakteristika;
- ispitivanje antimikrobnih svojstava  $\text{NaY}_{0.8}\text{Yb}_{0.17}\text{Er}_{0.03}\text{F}_4$  nanočestica;
- ispitivanje citotoksičnosti  $\text{NaY}_{0.8}\text{Yb}_{0.17}\text{Er}_{0.03}\text{F}_4$  nanočestica dobijenih u prisustvu PLGA i hitozana na zdravim i kancerskim ćelijama; i
- ispitivanje mogućnosti primene ovih nanočestica kao biomarkera kancerskih ćelija.

## 2. TEORIJSKI DEO

### 2.1. Luminescencija

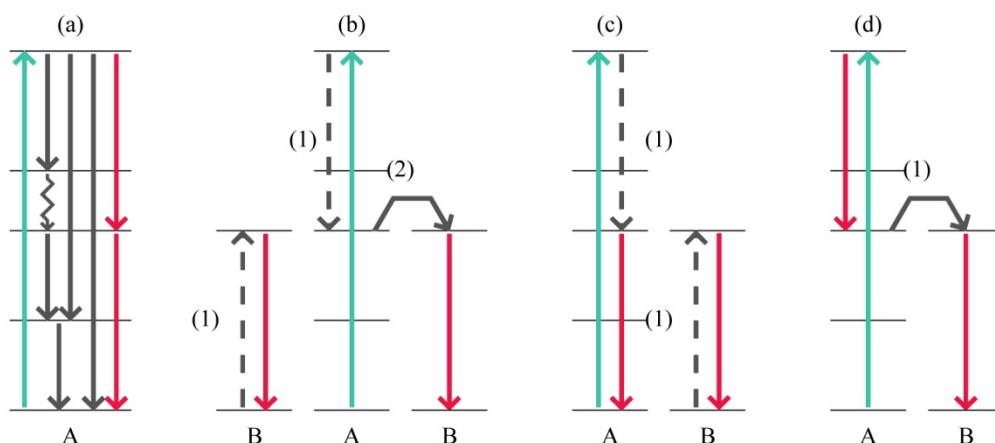
Luminescencija (lat. *luminis* = svetlost) kao termin se prvi put pominje 1888. godine kada je E. Wiedemann njime opisao sjaj materijala koji nastaje pod uticajem spoljašnjeg zračenja koje ne potiče od izvora toplote. Wiedemanova definicija emisije je dopunjena kasnije kriterijumom trajanja i nakon prestanka delovanja ekscitacionog izvora [14]. Danas se luminescencija definiše kao pojava spontane emisije svetlosti usled interakcije molekula materije sa spoljašnjim izvorom energije. Apsorpcija određene količine energije dovodi do pobuđivanja elektrona koji prilikom vraćanja u osnovno stanje emituju zračenje [15]. Energetska razlika između maksimalnih vrednosti najniže ekscitacione i emisione trake predstavlja Štoksov pomeraj. Prema poreklu pobude luminescencija se deli na foto-, katodo-, radio-, kristalo-, elektro-, tribo-, sono-, termo- i hemoluminescenciju, koja obuhvata i bioluminescenciju u živim bićima [16, 17].

Mehanizam luminescencije obuhvata:

- „Down“- konverziju i
- „Up“- konverziju

#### „Down“- konverzija

„Down“- konverzija predstavlja proces (eng. down conversion, DC) gde joni apsorbuju fotone više energije a emituju fotone niže energije uz unutrašnji gubitak energije [18]. Apsorpcija svetlosti se obično odvija u oblasti UV spektra dok se emisija odvija u oblasti vidljivog ili infracrvenog dela spektra. Mehanizam „down“- konverzije zasniva se na kaskadnom mehanizmu prenosa energije sa jednog donora na dva akceptora. Suma apsorbovane energije je jednaka sumi emisione energije donora. Mogući mehanizmi „down“- konverzije su prikazani na slici 1: kaskadni mehanizam (slika 1a) i kvantno sečenje koje nastaje između dva jona retkih zemalja i transferom energije između jona A i jona B nakon čega dolazi do emisije jona 2 (slika 1b) ili emisije oba jona (slika 1 c-d) [19, 20].

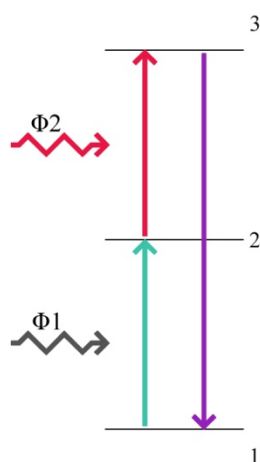


**Slika 01**      Mehanizam „down“- konverzije

### „Up“- konverzija

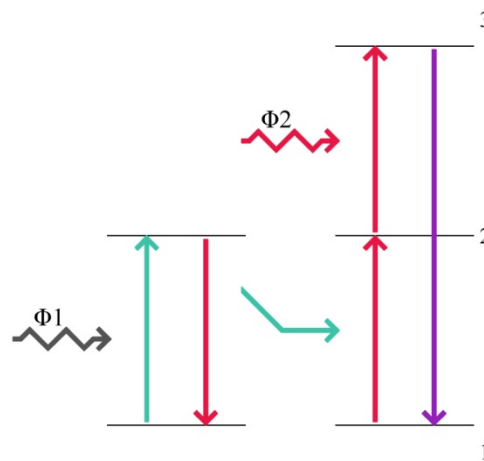
Za razliku od DC „up“- konverzija predstavlja nelinearni optički proces u kome se dva ili više fotona kombinuju formirajući foton veće energije. Postoje tri tipa mehanizma “up”-konverzije: apsorpcija ekscitovanog stanja (eng. Excited-State Absorption, ESA), prenos energije (eng. Energy Transfer, ET) i lavina fotona (eng. Photon Avalanche, PA).

**Apsorpcija ekscitovanog stanja (ESA)** predstavlja višestepenu ekscitaciju sa sukcesivnom apsorpcijom jednog ili više fotona. Ukoliko su uključena dva fotona jednog jona (slika 2), prvi foton omogućava prelaz jona sa osnovnog stanja 1 u pobuđeno stanje 2, što predstavlja osnovno stanje apsorpcije (eng. Ground-State Absorption, GSA); dok drugi foton omogućuje dalji prelaz sa stanja 2 u stanje 3, nakon čega dolazi do UC emisije. Ovaj mehanizam je karakterističan za materijale koji sadrže nisku koncentraciju dopanata.

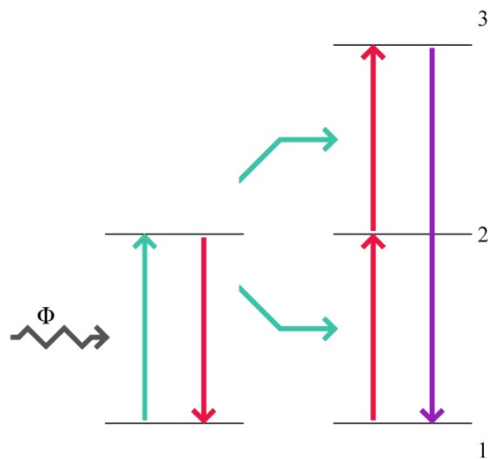


**Slika 02**      Mehanizam apsorpcije ekscitovanog stanja

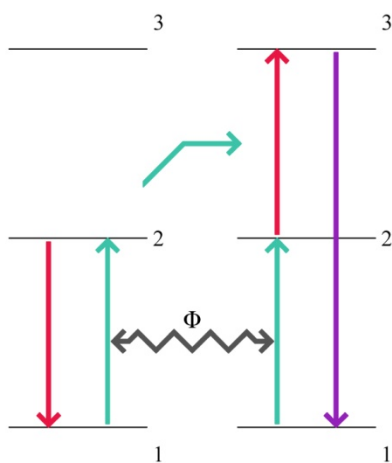
**Transfer energije (ET)** uključuje sekvencijalnu apsorpciju dva fotona koji prenose energiju od ekscitovanog jona (donor) do susednog jona (aktivator ili akceptor). Karakterističan je za materijale sa visokom koncentracijom dopanta. Kod ovog mehanizma postoje različite vrste prenosa energije koje uključuju transfer energije sa apsorpcijom ekscitovanog stanja (eng. ET followed by ESA - EFE), sukcesivni prenos energije (eng. Succesive energy transfer, SET), unakrsnu relaksaciju (eng. Cross Relaxation, CR), kooperativnu senzitaciju (eng. Cooperative sensitization, CoS) i kooperativnu luminescenciju (eng. Cooperative luminescence, CL). Kod EFE mehanizma (slika 3) prenos energije vrši se sa ekscitovanog jona donora na aktivirani jon u stanju 1 procesom transfera energije, pri čemu aktivirani jon prelazi na stanje 2. Sa stanja 2 procesom ESA, aktivirani jon prelazi na stanje 3 sa kojeg se kasnijim prelazom vraća na osnovno stanje i emituje energiju. SET mehanizam (slika 4) se zasniva na prenosu aktiviranog jona sa nivoa 1 na nivo 2 a zatim i na nivo 3 ET procesima. Kod CR mehanizma (slika 5) jon donor i jon akceptor su identični. Fotoni spoljašnjeg izvora svetlosti apsorbuju se od strane oba jona, gde dolazi do njihove ekscitacije na nivo 2. Transferom energije se jon aktivatora zatim prebacuje na nivo 3, dok jon donora prelazi na nivo niže energije.



**Slika 03**      Mehanizam EFE

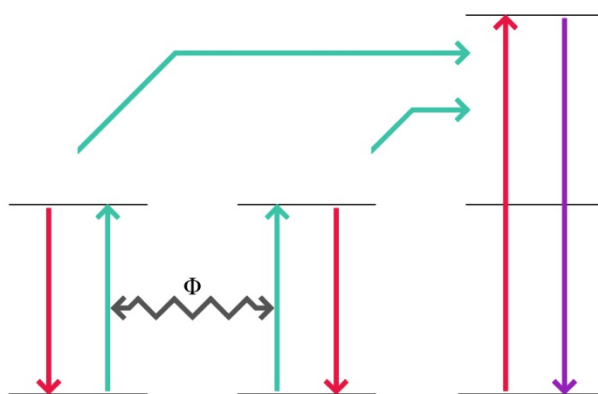


**Slika 04**      Mehanizam sukcesivnog prenosa energije



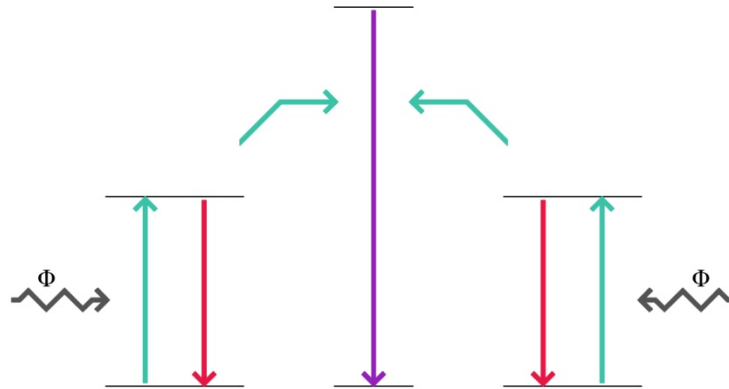
**Slika 05**      Mehanizam unakrsnog otpuštanja fotona

CoS mehanizam (slika 6) se zasniva na prenosu energije sa dva jona dopanata na jedan jon aktivatora, gde dolazi do njegove eksitacije na viši nivo.



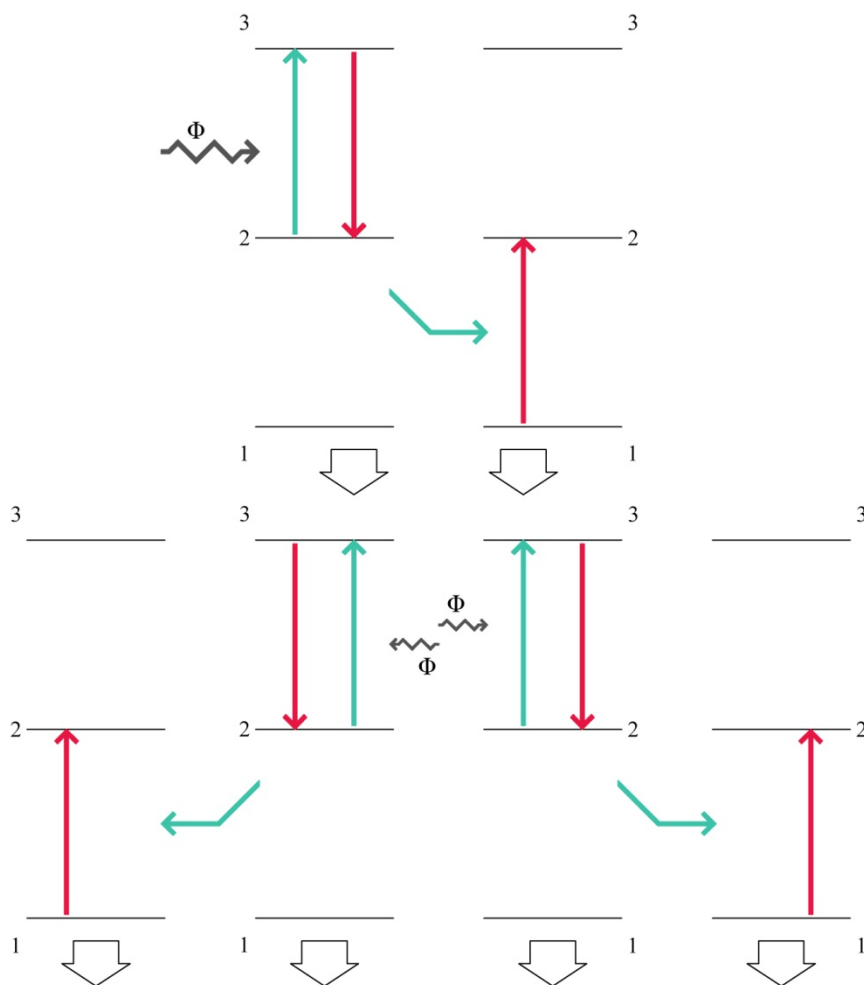
**Slika 06**      Mehanizam kooperativne senzitivacije

CL mehanizam (slika 7) podrazumeva emisiju jednog fotona nakon dvostruke eksitacije istog jona koji se ponaša i kao senziter i kao aktivator.



**Slika 07**      Mehanizam senzitacije luminescencije

**Lavina fotona (PA)** poznata je i kao lavina apsorpcije (slika 8). Jon dopanta (jon 1) sa osnovnog stanja 1 procesom GSA prelazi na nivo 2 odakle dalje prelazi na nivo 3 procesom ESA. Na nivou 3 jon dopanta dolazi u interakciju sa susednim jonom (jon 2) koji se nalazi u osnovnom stanju, pri čemu dolazi do proizvodnje dva jona (jon 1 i jon 2) na nivou 2, procesom CoS. Ta dva jona deluju kao donori koji mogu proizvesti još četiri jona, koji mogu proizvesti još osam itd [7, 21].



**Slika 08**      Mehanizam lavine fotona

### 2.1.1. Fotoluminescencija (PL)

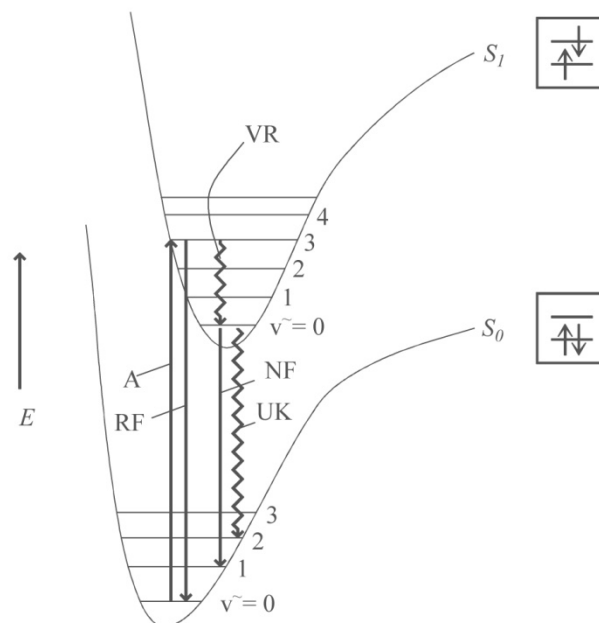
Fotoluminescencija nastaje nakon apsorpcije elektromagnetnog zračenja gde materijal najčešće apsorbuje fotone više energije, nakon čega, usled deekscitacije emituje svetlost niže energije. Deekscitacija se odvija mehanizmima spoljašnjeg i unutrašnjeg prenosa energije. Spoljašnji prenos energije se ne može direktno detektovati jer podrazumeva prenos energije sa pobuđenog na susedni molekul, dok se unutrašnji prenos energije može detektovati jer molekul koji je u pobuđenom stanju oslobađa energiju u vidu toplote ili zračenja.

U zavisnosti od dužine emisije svetlosti fotoluminescencija se deli na **fluorescenciju** i **fosforescenciju** [22]. Za razliku od fluorescencije, emisija svetlosti fosforescentnih materijala se nastavlja i nakon što se ukloni izvor pobude zato što sistem prelazi između stanja različitih multipliciteta. Sposobnost materijala da sijaju u mraku je najpre i definisana kao fosforescencija (od Grčke reči *φωσφόρο* (*fosforos*) što znači onaj koji nosi svetlost). Nešto



kasnije, proučavajući fenomen luminescencije fluorita, Georges Stokes je ovoj pojavi dao naziv fluorescencija, za koju je definisao Stokes-ov zakon po kome emisione talasne dužine fluorescencije moraju biti veće od talasnih dužina ekscitovanog zračenja. Tek je 1859. godine Edmond Becquerel pokazao da fluorescencija zapravo predstavlja fenomen fosforescencije sa kraćim vremenom trajanja [16]. Prema ovoj podeli fosforescentni materijali imaju emisiju reda veličine od  $10^{-4}$  do  $10^4$  s, dok se ova vrednost kod fluorescencije kreće od  $10^{-10}$  do  $10^{-6}$  s.

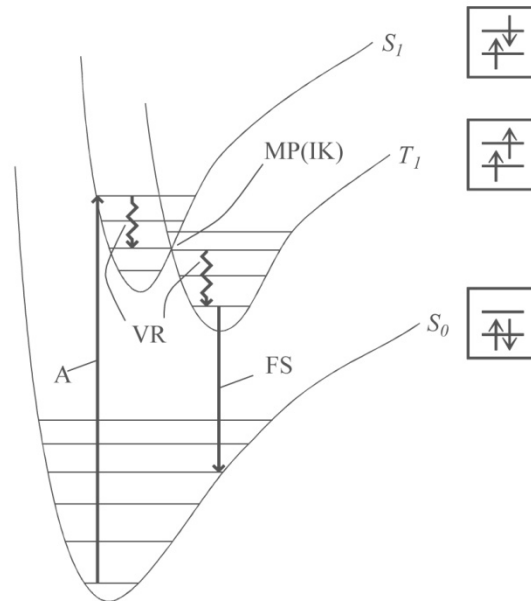
Fluorescencija se može definisati i kao proces kod kojeg apsorpcijom fotona molekul prelazi sa osnovnog vibracionog nivoa na neki od vibracionih nivoa pobuđenog elektronskog stanja istog multipliciteta, a zatim se vraća u osnovno stanje radijativnim ili neradijativnim procesima. Postoji nekoliko mehanizama relaksacije apsorbovanih fotona i oni su prikazani na slici 9: rezonantna fluorescencija (RF) odnosno reemisija apsorbovanih fotona, vibraciona relaksacija (VR), unutrašnja konverzija (UK) i normalna fluorescencija (NF) [15, 23].



**Slika 09** Mehanizmi nastanka fluorescencije: A (apsorpcija), RF (rezonantna fluorescencija), VR (vibraciona relaksacija), UK (unutrašnja konverzija), NF (normalna fluorescencija) [23]

Fosforescencija, s druge strane, predstavlja emitovanje svetlosti pri kojoj sistem prelazi između stanja različitog multipliciteta. Prilikom izlaganja čestica UV ili vidljivoj svetlosti dolazi do procesa apsorpcije, relaksacije i emisije. Relaksacija obuhvata vibracionu relaksaciju (VR) i međusistemsku (intersistemsku) konverziju (MK/IK) (slika 10). Sa

obzirom na to da su prelazi između nivoa različite multipletnosti zabranjeni po spinu, fosforescencija ima znatno duže vreme života nego fluorescencija [15, 23].



**Slika 10** Mehanizmi nastanka fosforescencije: A (apsorpcija), VR (vibraciona relaksacija), MK/IK (medusistemska-intersistemska konverzija), FS (fosforescencija) [23]

### 2.1.2. Ostali tipovi luminescencije

Pored fotoluminescencije, u zavisnosti od načina pobuđivanja, luminescencija se može podeliti i na:

- **elektroluminescenciju**, koja se javlja nakon izlaganja materijala jakom električnom polju. Karakteristična je za gasove gde se proces prenosa energije odvija prilikom sudara elektrona/jona i elementarnih čestica gasa (na primer kod "neonskih" lampi), ali i kod poluprovodnih materijala (na primer kod svetlećih dioda - LED) kod kojih se prenos energije vrši rekombinacijom elektrona i šupljina.
- **radioluminescenciju**, koja nastaje kao posledica dejstva jonizujućeg zračenja ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -zruci, X-zruci, kratkotalasno UV zračenje).
- **katodoluminescenciju**, koja nastaje usled interakcije snopa elektrona velike brzine sa tankim slojem fluorescentne supstance koja se nalazi sa unutrašnje strane ekrana katodnih cevi (osciloskopi, televizori...).

- **triboluminescenciju**, koja predstavlja optički fenomen u kome dolazi do stvaranja svetlosti usled raskidanja hemijskih veza u materijalu prilikom razvlačenja, drobljenja ili trljanja.

- **hemiluminescenciju**, koja predstavlja pretvaranje hemijske energije u svetlosnu i koja se u živim organizmima naziva **bioluminescencija** (svici, meduze, određene vrste gljiva...) [24].

## 2.2. Luminescentni centri

Odnos emitovanih i apsorbovanih fotona definiše se kao kvantni prinos. Luminescentni centri sa najvećim kvantnim odnosom pokazuju najbolju emisiju. Vreme gašenja luminescencije predstavlja ukupno vreme u kome se luminescentni centri nalaze u pobuđenom stanju, pre nego što se vrata u svoje osnovno stanje. Kvantni prinos i vreme gašenja (ili vreme života) luminescencije zavise od brojnih faktora koji utiču na povećanje ili smanjenje gubitka energije kao što su: koncentracija luminescentnih centara, veličina njihovog efikasnog preseka za interakciju sa fotonima, koordinacija kristalografskih položaja koje zauzimaju u rešetki materijala domaćina i prisustvo nečistoća i/ili defekta u kristalu [16]. Prema elektronskim prelazima luminescentni centri se dele na:

1.  $1s \leftrightarrow 2p$

2.  $ns^2 \leftrightarrow nsnp$  (joni tipa  $Tl^+$ )

3.  $3d^{10} \leftrightarrow 3d^9 4s$  ( $Ag^+$ ,  $Cu^+$  i  $Au^+$ )

4.  $3d^n \leftrightarrow 3d^n$ ,  $4d^n \leftrightarrow 4d^n$  (prelazni metali prve i druge grupe)

5.  $4f^n \leftrightarrow 4f^n$ ,  $5f^n \leftrightarrow 5f^n$  (joni retkih zemalja i joni aktinoida)

6.  $4f^n \leftrightarrow 4f^{n-1} 5d$  ( $Ce^{3+}$ ,  $Pr^{3+}$ ,  $Sm^{2+}$ ,  $Eu^{2+}$ ,  $Tm^{2+}$  i  $Yb^{2+}$ )

7. Prenos naelektrisanja ili prelaz između p elektrona anjona i prazne orbitale katjona (međumolekulski prelazi u kompleksima  $VO_4^{3-}$ ,  $WO_4^{2-}$  i  $MoO_4^{2-}$ ) i

8.  $\pi \leftrightarrow \pi$ , odnosno  $n \leftrightarrow \pi^*$  (organski molekuli koji sadrže  $\pi$  elektrone, gde  $n$  predstavlja nevezujući elektron u organskom molekulu) [15, 23].

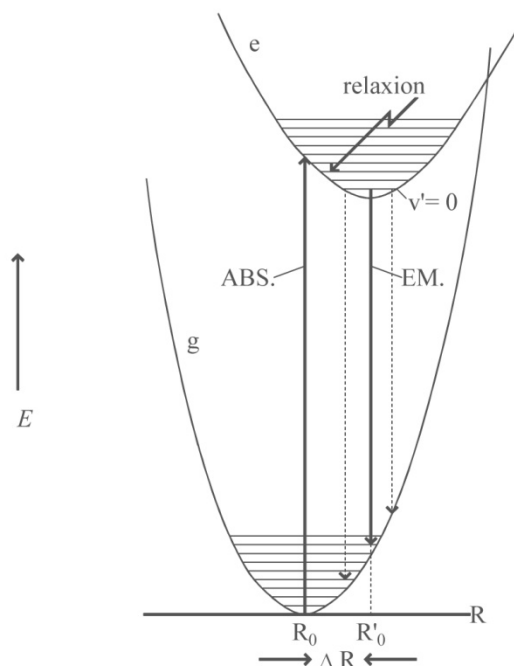
### 2.2.1. Elektronske konfiguracije jona retkih zemalja

Elementi retkih zemalja, lantanoidi (Ln) spadaju u grupu prelaznih metala, koja pripada trećoj podgrupi (skandijum grupi) elemenata. Uključuju 15 elemenata od lantanijuma do lutecijuma, kao i itrijum i skandijum. Lantanoidi sadrže specifičnu elektronsku konfiguraciju (Slika 11), gde prioritet popunjavanja novim elektronima sa povećanjem



### 2.2.2. Dozvoljeni i nedozvoljeni prelazi

Elementi iz serije lantanoida, predstavljaju pogodne aktivacione jone za primenu kod UC materijala, iz razloga što poseduju  $d$  i  $f$  orbitale. Karakteristični apsorpcioni i emisijski spektri u vidljivom ili NIR delu spektra, pripisuju se prelazima između  $4f - 4f$  nivoa. S obzirom da su prelazi  $4f - 4f$  zabranjeni pravilom parnosti, elektronski prelazi između energetskih nivoa iste parnosti nisu mogući. Uski prelazi slabog intenziteta, koji se ponekad mogu javiti u spektrima, posledica su postojanja malog udela inverzne parnosti, poremećaja kristalnog polja i vibracije elektrona, koji mogu preći u dozvoljene prelaze kao prisilni elektronski prelazi. Verovatnoća neradijativnih prelaza povećava se eksponencijalno sa smanjenjem energetskog procepa između elektronskih stanja. Za razliku od  $4f - 4f$  prelaza,  $4f - 5d$  prelazi su dozvoljeni i u apsorpcionom spektru se vide kao široke trake. Prenos naelektrisanja označava se kao  $4f^n \rightarrow 4f^{n-1}5d$ . Prelazi prenosom naelektrisanja koji imaju oznaku  $4f^n \rightarrow 4f^{n+1} 2p^{-1}$  takođe spadaju u dozvoljene prelaze. Prelazi kod kojih dolazi do promene u jednakosti odnosno parnosti između nivoa sa istim spinovima su slabije vidljivi kod  $3d$  prelaznih metala a izraženiji su kod elemenata sa  $4d$  i  $5d$  konfiguracijom. U kristalima  $4f - 4f$  prelazi su delimično dozvoljeni usled dejstva kristalnog polja. Kod slodobnih jona, prelazi koji spadaju u zabranjene mogu preći u dipolni tip dozvoljenih prelaza. Energija eksitacije se može emitovati kroz neradijativan proces (višak energije se prenosi u vibraciju ili rotaciju okolnih molekula) ili kao foton preko radijativnih procesa (emisija EM) (slika 12) [14, 20].



**Slika 12** Šematski procesi apsorpcije i relaksacije [23]

### 2.3. Materijali domaćini (pojam domaćina)

Za sintezu optički aktivnih nanomaterijala koji su dopirani jonima retkih zemalja od velikog je značaja izbor materijala “domaćina” jer njegova kristalna struktura definiše raspored dopiranih jona. Pored toga, od značaja su i optičke karakteristike rešetke kao i vrednost fononske energije. Niska energija fonona je poželjna karakteristika koju materijal “domaćin” treba da poseduje jer ona redukuje multifonosku relaksaciju i povećava radijativnu emisiju jona dopanata.

Uzimajući u obzir da su joni retkih zemalja sličnih dimenzija, idealni materijali “domaćini” su uglavnom njihova neorganska jedinjenja i to: fluoridi ( $\text{NaREF}_4$ ,  $\text{REF}_3$ ), oksidi ( $\text{RE}_2\text{O}_3$ ) i oksisulfidi ( $\text{RE}_2\text{O}_2\text{S}$ ). Halogenidi tipa hlorida, bromida i jodida ne ulaze u izbor materijala “domaćina” zbog svoje izrazite higroskopne prirode. Fluoridi su se pokazali kao najpogodniji materijali domaćini za dopiranje jona retkih zemalja u odnosu na većinu drugih neorganskih matrica, zbog toga što poseduju veliki indeks refrakcije i najnižu energiju fonona ( $\sim 350 \text{ cm}^{-1}$ ) [5, 29-31], što ima za posledicu:

- smanjeni uticaj kristalnog polja na unutrašnje  $4f$  orbitale gde se razdvajanje nivoa kreće i do reda veličine od nekoliko stotina  $\text{cm}^{-1}$ , odnosno smanjeni intenzitet koncentracionog gašenja luminescencije i unakrsne relaksacije;

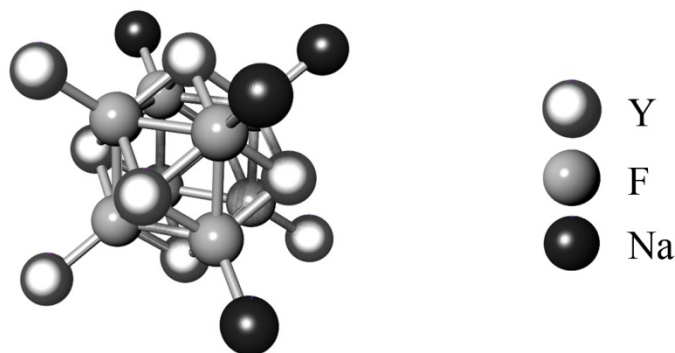
- slabljenje neradijativnih prelaza (stopa multifononske emisije je 10 puta manja kod  $\text{LaF}_3$  nego kod  $\text{Y}_2\text{O}_3$ ); i

- dugo vreme života pobuđenih stanja usled redukovane mogućnosti  $f-f$  prelaza.

Ove karakteristike zajedno inhibiraju gašenje ekscitovanog stanja i povećavaju kvantni prinos emisije. Trenutno najefikasniji materijali domaćini za dopiranje jona retkih zemalja u cilju postizanja efikasne “up”- konverzije su kubna ( $\alpha$ ) i heksagonalna ( $\beta$ ) struktura  $\text{NaYF}_4$  [5, 31]. Kristalizacija ovih faza u česticama nanometarskih dimenzija je uglavnom određena procesima nukleacije u tečnoj fazi. Formiranje nukleusa koji imaju sposobnost rasta u rastvoru se može definisati i kao proces u kome se atomi ili molekuli reaktanta organizuju u klastere proizvoda odgovarajuće veličine, koji imaju sposobnost da ireverzibilno rastu. Rast kristala odvijaće se sve dok se ne postigne ravnotežno stanje između atoma u rastvoru i atoma na površini kristala. U zavisnosti od toga koji je od ova dva procesa (nukleacija ili rast kristala) dominantan tokom procesa sinteze mogu se dobiti monokristalne ili polikristalne nanočestice. Njihovu finalnu morfologiju i karakteristike površine definišu procesni parametri (temperatura, vreme sinteze, pH, režim mešanja) i prisustvo nečistoća [32-35].

### 2.3.1. Kubna $\text{NaYF}_4$ faza

Kubna faza predstavlja kinetički stabilnu fazu koja nastaje pri kratkim vremenima sinteze na nižim temperaturama. Za razliku od heksagonalne, kristali kubne faze se lakše formiraju u rastvoru i imaju strukturu fluorita (prostorna grupa  $Fm-3m$ ) koju karakteriše visok stepen simetrije i samo jedan katjonski položaj koji je koordiniran sa osam fluoridnih anjona. U njemu su nasumično raspoređeni joni  $\text{Na}^+$  i  $\text{RE}^{3+}$  (slika 13), što dovodi do pojave neharmoničnih oscilacija. Iz tog razloga kubna  $\text{NaYF}_4$  struktura pokazuje niži stepen „up“-konvertorske efikasnosti u odnosu na heksagonalnu  $\text{NaYF}_4$  fazu. Na višim temperaturama ili sa produženjem vremena reakcije, može doći do transformacije kubne u heksagonalnu fazu, pri čemu daljim povećanjem temperature sa 400 na 700°C dolazi do ponovnog prelaska u stabilnu visokotemperaturnu kubnu fazu, što je praćeno prvo povećanjem pa potom i smanjenjem intenziteta luminescencije. Do nastanka uređene kubne  $\text{NaYF}_4$  faze može doći i tretiranjem heksagonalne strukture laserom visoke energije [27, 36].

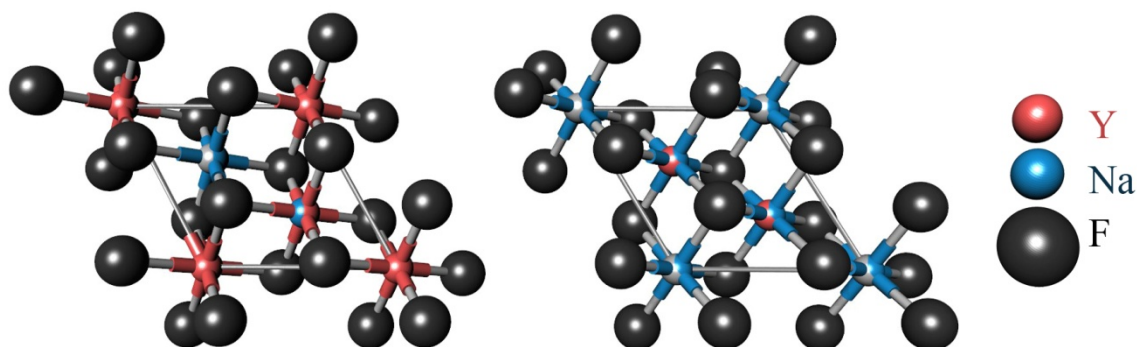


**Slika 13** Kubna kristalna modifikacija NaYF<sub>4</sub>

### 2.3.2. Heksagonalna NaYF<sub>4</sub> faza

Heksagonalna faza (slika 14) predstavlja termodinamički stabilnu strukturu koju je moguće dobiti i na sobnoj temperaturi metodom koprecipitacije iz vodenih rastvora (u prisustvu strukturnih modifikatora kao što je polietilenimin) praćena termičkim tretmanom [37]. Ova faza pokazuje veću UC efikasnost u odnosu na kubnu, zbog postojanja većeg broja katjonskih mesta za smeštanje jona dopanata. U literaturi se pominju dve moguće prostorne grupe kristalizacije ove faze,  $P63/m$  i  $P-6$ . Kod  $P-6$  prostorne grupe postoje tri različita položaja za smeštanje dopanata, i to: 2 devetostruko koordinirana položaja koji su okupirani Y<sup>3+</sup>, odnosno Y<sup>3+</sup> i Na<sup>+</sup> jonima (u odnosu 3:1), i jedan šestostruko koordinirani položaj koji polovično okupiraju joni Na<sup>+</sup>. Prostorna grupa  $P63/m$  se od prethodne razlikuje po tome što postoji jedan devetostruko koordinirani položaj u kome su mešovito zastupljeni joni Y<sup>3+</sup> i Na<sup>+</sup> i jedan šestostruko koordinirani položaj koji polovično okupiraju joni Na<sup>+</sup>. Pored navedenih prostornih grupa, razmatrana je i  $P62/m$  prostorna grupa u kojoj NaYF<sub>4</sub> faza može kristalirati u uslovima visokog pritiska [38, 39]. Simetrija položaja RE<sup>3+</sup> jona u heksagonalnoj fazi je niže simetrije od one koja se nalazi u kubnoj fazi, što dozvoljava raznovrsniju kombinaciju  $f$ -nivoa RE jona i povećava verovatnoću pojave radijativnih  $f-f$  prelaza. Usled toga, emisija vidljive svetlosti heksagonalne  $\beta$ - NaYF<sub>4</sub>:Yb/Er faze može biti i do deset puta intenzivnija od emisije kubne NaYF<sub>4</sub>:Yb/Er faze [27, 40, 41].





**Slika 14** Heksagonalne kristalne modifikacije NaYF<sub>4</sub> faze a) *P-6* i b) *P63/m* prostorne grupe

## 2.4. Joni dopanti

Kao joni dopanti “up”- konvertorskih materijala najčešće se koriste trovalentni joni retkih zemalja koji imaju mogućnost apsorpcije fotona niže energije pri čemu emituju fotone više energije (tzv. anti-Štok emisija). Izbor i koncentracija dopiranih jona određuju talasnu dužinu i intenzitet luminescencije. Efikasna “up”- konverzija postiže se korišćenjem odabranih kombinacija jona aktivatora i senzitera.

### 2.4.1. Joni aktivatori

Izuzev La<sup>3+</sup>, Ce<sup>3+</sup>, Yb<sup>3+</sup> i Lu<sup>3+</sup>, ostali lantanoidi imaju više pobuđenih 4*f* energetskih nivoa. Da bi se omogućila dobra UC emisija neophodno je da energetska razlika između pobuđenih nivoa i osnovnog stanja bude dovoljna da omogući apsorpciju fotona i transfer energije. Tako raspoređene energetske nivoe imaju joni Er<sup>3+</sup>, Tm<sup>3+</sup>, i Ho<sup>3+</sup> zbog čega se oni najčešće i koriste kao joni aktivatori (ili emiteri). Ovi joni poseduju i veliki energetski procep između pobuđenih i nižih energetskih nivoa, što smanjuje verovatnoću pojave neradijativnih prelaza. Tako kod jona Er<sup>3+</sup> energetska razlika između <sup>4</sup>I<sub>11/2</sub> i <sup>4</sup>I<sub>15/2</sub> nivoa slična je energetskej razlici između <sup>4</sup>F<sub>7/2</sub> i <sup>4</sup>I<sub>11/2</sub> nivoa te se svi oni mogu iskoristiti za generisanje UC emisije. Da bi se postigla efikasnija UC potrebno je obratiti pažnju na rastojanje između dva susedna jona aktivatora jer visok stepen dopiranosti može dovesti do štetnog, unakrsnog otpuštanja fotona i gašenja eksitacione energije, pa se obično ograničava na vrednost od nekoliko molских procenata [17, 29, 42].

## 2.4.2. Joni senziteri

Da bi se povećala UC efikasnost, uz jone aktivatora se u matricu domaćina dopiraju i joni senzitera. Ovi joni imaju visok stepen apsorpcije NIR svetlosti i poseduje energetske nivoe koji su rezonantni sa energetskim nivoima jonima aktivatora. Kao joni senziteri najviše se koriste  $\text{Yb}^{3+}$  i  $\text{Nd}^{3+}$ . Jon  $\text{Yb}^{3+}$  ima jednostvanu elektronsku konfiguraciju, sa  $^2\text{F}_{7/2}$  osnovnim nivoom i samo jednim pobuđenim 4f nivoom,  $^2\text{F}_{5/2}$ . Zbog  $^2\text{F}_{7/2} - ^2\text{F}_{5/2}$  prelaza, apsorpciona traka jona  $\text{Yb}^{3+}$  koja se nalazi na oko 980 nm ima visoki stepen apsorpcije NIR zračenja. Za razliku od koncentracije jona aktivatora, koncentracija senzitera mora biti viša i obično iznosi od 10-30 mol % [17, 29, 42].

Boja emitovanog zračenja zavisi od izbora jona emitera tako da  $\text{NaYF}_4$  faza dopirana jonima  $\text{Er}^{3+}/\text{Yb}^{3+}$  emituje zelenu i crvenu svetlost,  $\text{Tm}^{3+}/\text{Yb}^{3+}$  najjače emituje svetlost plave boje, dok dopiranost  $\text{Er}^{3+}/\text{Tm}^{3+}/\text{Yb}^{3+}$  generiše emisiju bele svetlosti [29].

## 2.4.3. $\text{Yb}^{3+}/\text{Er}^{3+}$ par

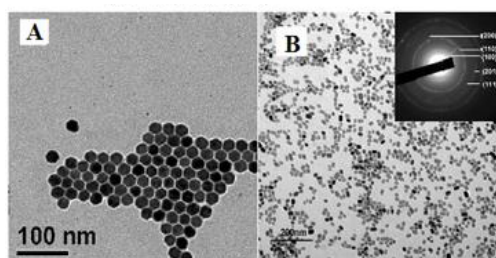
$\text{Yb}^{3+}/\text{Er}^{3+}$  par poseduje visoku „up“- konvertorsku efikasnost, jer jon  $\text{Er}^{3+}$  poseduje metastabilne  $^4\text{I}_{9/2}$  i  $^4\text{I}_{11/2}$  nivoe koji su rezonantni sa  $^2\text{F}_{5/2}$  nivom  $\text{Yb}^{3+}$ . Nakon eksitacije NIR zračenjem, dolazi do transfera energije sa jona iterbijuma na jon erbijuma i pobuđivanja njegovih viših energetskih nivoe sa kojih dolazi do emisije plave ( $^2\text{H}_{9/2} \rightarrow ^4\text{I}_{15/2}$ ), zelene ( $(^2\text{H}_{11/2}, ^4\text{S}_{3/2}) \rightarrow ^4\text{I}_{15/2}$ ) i crvene ( $^4\text{F}_{9/2} \rightarrow ^4\text{I}_{15/2}$ ) svetlosti na 409 i 488, 510-560 i 640-670 nm, redom stoji [43], slika 15. Nakon apsorpcije NIR fotona dolazi do eksitacije jona iterbijuma sa osnovnog  $^4\text{F}_{7/2}$  na pobuđeni  $^4\text{F}_{5/2}$  nivo i prenosa energije na jon  $\text{Er}^{3+}$  koji sa osnovnog  $^4\text{I}_{15/2}$  nova prelazi na  $^4\text{I}_{11/2}$  nivo. Dalje pobuđivanje iterbijumovih jona dovodi do pobuđivanja  $^4\text{F}_{7/2}$  energetskog nivoe erbijuma i pojave neradijativnih prelaza na niže  $^2\text{H}_{11/2}$ ,  $^4\text{S}_{3/2}$  i  $^4\text{F}_{9/2}$  nivoe, a zatim i radijativnih koji dovode do emisije zelene (520 i 540 nm) i crvene (660 nm) svetlosti vraćanjem na osnovni  $^4\text{I}_{15/2}$  nivo. Radijativni prelaz sa pobuđenog  $^4\text{F}_{7/2}$  nivoe na osnovni nivo dovodi do pojave plave linije spektra na 488 nm [44, 45]. Na slici 15 je prikazan i mehanizam koji uključuje trostepeni prenos energije sa jona  $\text{Yb}^{3+}$  na  $^4\text{G}^2\text{K}$  nivo  $\text{Er}^{3+}$ , koji omogućava pobuđivanje  $^2\text{H}_{9/2}$  nivoe neradijativnim prelazima što dovodi do pojave plave emisije na 408 nm ( $^2\text{H}_{9/2} \rightarrow ^4\text{I}_{15/2}$ ) i zelene emisije na 557 nm ( $^2\text{H}_{9/2} \rightarrow ^4\text{I}_{13/2}$ ) [46, 47]. Na osnovu prikazanih prelaza može se zaključiti da intenziteti emisionih linija direktno zavise od sadržaja



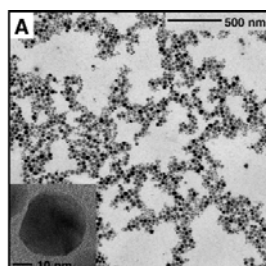
koja pruža mogućnost kontrole debljine generisanog omotača [50]. Kod metode zamene liganda, inertni ligandi koji postoje na površini sintetisanih UC čestica zamenjuju se aktivnim hidrofilnim ligandima poliakrilne, adipinske, citratne ili tioglikolne kiseline, dok se procesom oksidacije liganda (npr. oleinske kiseline) nezasićene dvostruke veze ugljenika prevode u karboksilnu grupu. Na ovaj način, omogućava se dalje vezivanje proteina i specifično ciljane ćelija. Tako na primer, oligomeri koji sadrže amino grupe će se vezati za karboksilne, a oni koji sadrže disulfidne će se lako vezati za UC nanočestice koje sadrže funkcionalne tiol grupe na svojoj površini [51].

### **2.5.1. Termička dekompozicija organometalika**

Metoda termičke dekompozicije organometalika omogućava dobijanje hidrofobnih nanočestica kontrolisane veličine i oblika, a bazirana je na korišćenju organskih prekursora tipa trifluoroacetatnih soli RE i natrijuma. Sinteza se obično vrši u prisustvu surfaktanata tipa oleinske kiseline, oleilamina i 1-oktadekana, i izvodi se u strogo kontrolisanoj zaštitnoj atmosferi. Promena procesnih parametara (temperature i vremena reakcije), koncentracije prekursora i surfaktanata, kao i način dodavanja prekursora u rastvarač, utiču na morfologiju i stabilizaciju heksagonalne faze u česticama [41, 52]. Kod "heating-up" metode (ili metode zagrevanja) uvođenje prekursora u rastvor vrši se na sobnoj temperaturi, a zatim se vrši sporo zagrevanje smeše do određene temperature, dok se kod "hot-injection" metode (ili metode toplog injektiranja), prekursor uvodi u već zagrejan rastvarač te je njegova dekompozicija trenutna. Prednost ovih metoda je mogućnost sinteze monokristalnih čestica veličine ispod 10 nanometra, koje imaju izrazitu uniformnost oblika i faznog sastava ali je njihova kristaliničnost niska a usled toga i efikasnost „up“- konverzije. Tako npr, nanočestice kubne  $\text{NaYF}_4:20\% \text{ Yb}, 2\% \text{ Er}$  i heksagonalne  $\text{NaYF}_4:20\% \text{ Yb}, 2\% \text{ Tm}$  sintetisane „hot-injection“ dekompozicijom acetatnih prekursora u rastvoru oleilamina na  $310^\circ\text{C}$  poseduju visoku sferičnost i usku raspodelu veličina od  $10,5 \pm 0,7$  nm (slika 16) [53], dok  $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er/Tm}$  nanočestice kubne strukture dobijene laganim ukapavanjem prekursora u rastvor oktadekana i oleinske kiseline i naknadnim zagrevanjem rastvora odlikuje raspodela veličine od 10-60 nm (slika 17) [54].



**Slika 16** a)  $\alpha$ - NaYF<sub>4</sub> nanočestice, b)  $\beta$ - NaYF<sub>4</sub> nanočestice [53]



**Slika 17** TEM slika NaYF<sub>4</sub>: 2 % Er<sup>3+</sup>, 20 % Yb<sup>3+</sup> nanočestica [54]

### 2.5.2. Hidrotermalna sinteza

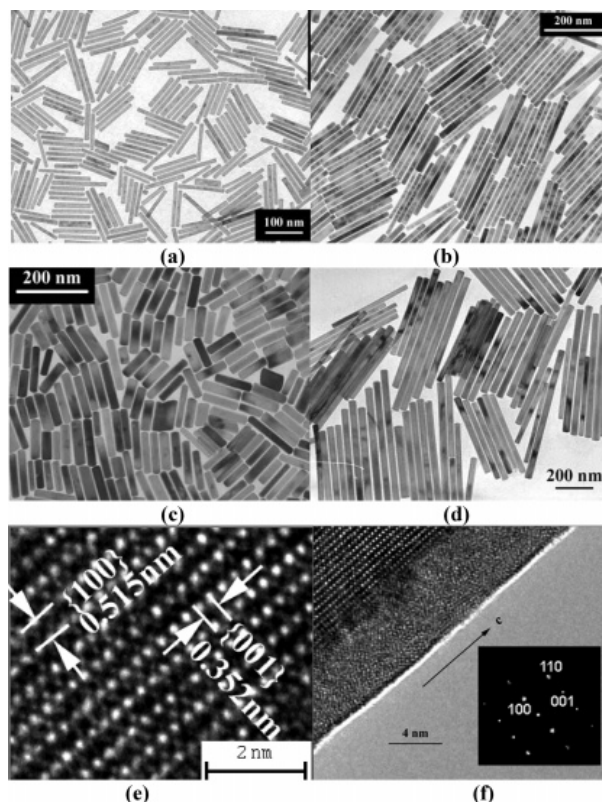
Kod hidrotermalne sinteze procesi rastvaranja prekursora i precipitacije jedinjenja željenog sastava odvijaju se u zatvorenom sistemu - hidrotermalnom reaktoru, koji se sastoji od spoljašnje posude od nerđajućeg čelika i unutrašnjeg teflonskog uložka, a odvijaju se na temperaturama do 250°C i pritiscima od nekoliko desetina bara. Promene gustine, dielektrične konstante i koeficijenta difuzije vode kao reakcionog medijuma, koje se dešavaju na 200°C, povećavaju izbor prekursora koji se mogu koristiti za sintezu nanočestica jer utiču na njihovu rastvorljivost. Ukoliko se umesto vode kao rastvarač koristi alkohol, metoda se naziva solvotermalnom, a pritisci koji se generišu u sudu zavise od izbora alkohola. Kada se kao prekursori koriste koloidni rastvori i precipitati već definisanog sastava omogućava se nastajanje čestica visoke kristaliničnosti u kraćim vremenskim intervalima. Ovom metodom su dobijene dopirane čestice NaYF<sub>4</sub>, kako kubne, tako i heksagonalne strukture, veličine od 30 nm do 15  $\mu$ m, koje poseduju dobre optičke karakteristike. Parametri koji utiču na strukturno-morfološke karakteristike čestica nastalih hidro/solvo-termalnim procesom su koncentracija prekursora, temperatura, vreme reakcije, pritisak i koncentracija surfaktanta [12, 52, 55-57]. Prednost ovog načina sinteze je pre svega jednostavnost i ekonomska isplativost jer se reakcija ne izvodi u zaštitnoj atmosferi, niti podrazumeva isključivu upotrebu toksičnih

prekursora. Takođe, ovom metodom je moguće sintetisati i hidrofilne „up“- konvertorske nanočestice različite morfologije *in situ* pravilnim izborom modifikatora površine [58].

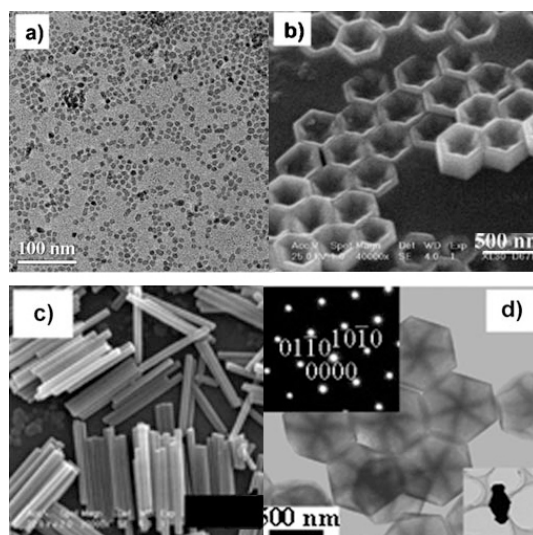
### 2.5.2.1. Solvotermalna sinteza u prisustvu oleinske kiseline

L. Wang i Z. Li su sa uspehom sintetisali monokristalne „up“- konvertorske čestice primenom solvotermalne metode u prisustvu oleinske kiseline još 2006. godine. Tretiranjem smeše oleinska kiselina/voda/etanol/ $\text{Ln}(\text{NO}_3)_3$  na temperaturi od 180-250°C i u trajanju od 16-24 h, dobijeni su štapićasti monokristali  $\text{Na}(\text{Y}_{1.5}\text{Na}_{0.5})\text{F}_6$  dopirani  $\text{Eu}^{3+}$ ,  $\text{Tb}^{3+}$ ,  $\text{Yb}^{3+}/\text{Er}^{3+}$  ili  $\text{Yb}^{3+}/\text{Tm}^{3+}$  jonima (slika 18). Pokazano je da je veličina nastalih štapićastih formi u funkciji promene koncentracije RE prekursora, dok je njihova „up“- konvertorska efikasnost direktno proporcionalna sadržaju dopanata [59].

Variranjem parametara hidrotermalnog procesiranja (temperature, vremena trajanja sinteze, količine reaktanata i rastvarača), uspešno su sintetisane čestice sastava  $\text{NaMF}_4$  (M= Dy, Ho, Er, Tm, Y, Yb i Lu) koje poseduju različitu strukturu, oblik i veličine (slika 19). Pokazano je da promena vremena reakcije, temperature, kao i udela NaOH dovodi do transformacije kubne u heksagonalnu  $\text{NaMF}_4$  fazu, dok promena koncentracije NaOH, NaF i  $\text{M}^{3+}$ , dovodi do promene u morfologiji čestica. Pored promene morfologije i faznog sastava čestica, ostvarena je i promena veličine kristala, od svega nekoliko nanometara pa do nekoliko mm [60].

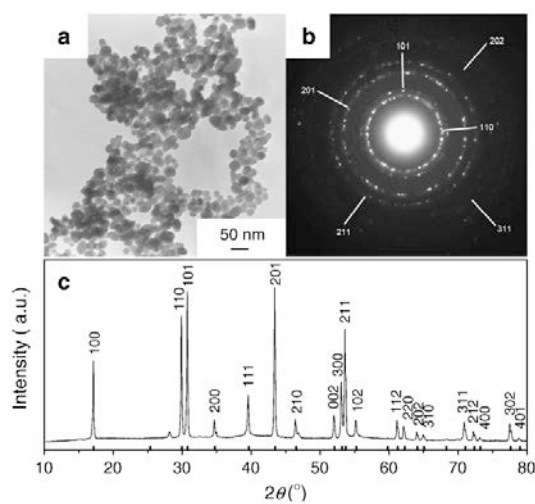


**Slika 18** TEM  $\text{Na}(\text{Y}_{1.5}\text{Na}_{0.5})\text{F}_6$  nanoštapića: a) 25 %  $\text{Eu}^{3+}$  na  $170^\circ\text{C}$  za 16 h, b) 5 %  $\text{Eu}^{3+}$  na  $180^\circ\text{C}$  za 24 h, c) 3 %  $\text{Yb}^{3+}$  i 2 %  $\text{Eu}^{3+}$  na  $205^\circ\text{C}$  za 24 h, d) 3 %  $\text{Yb}^{3+}$  i 2 %  $\text{Eu}^{3+}$  na  $190^\circ\text{C}$  za 24 h, e) i f) HRTEM slike  $\text{Na}(\text{Y}_{1.5}\text{Na}_{0.5})\text{F}_6$  nanoštapića prikazanih na slici b [59]



**Slika 19** Različite morfološke forme  $\text{NaYF}_4$  dobijenog HT metodom u prisustvu oleinske kiseline: a)  $\alpha$ -  $\text{NaYF}_4$  u prisustvu oleinske kiseline na  $130^\circ\text{C}$ , b)  $\beta$ -  $\text{NaYF}_4$  u prisustvu oleinske kiseline na  $230^\circ\text{C}$ , c)  $\beta$ -  $\text{NaYF}_4$  sa povećanjem koncentracije  $\text{F}^-$  jona, d)  $\alpha$ -  $\text{NaYF}_4$  u prisustvu 0.35 g  $\text{NaOH}$  [60]

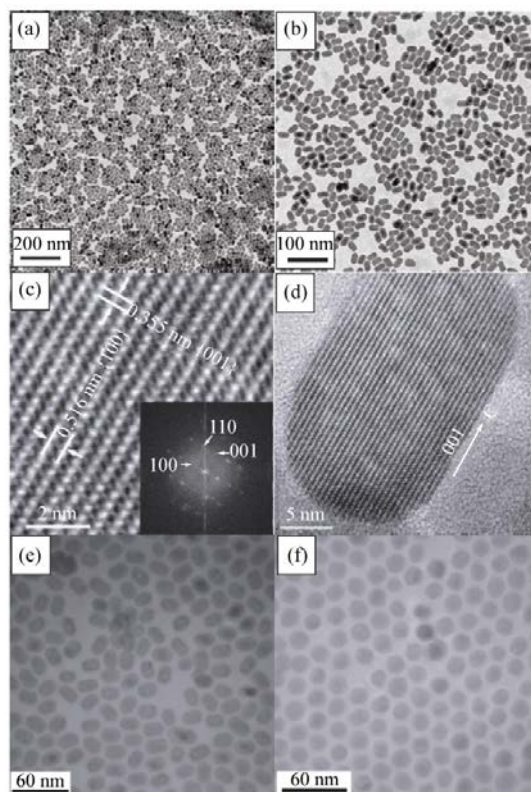
Sinteza monodisperznih nanočestica sastava  $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er/Tm/Ho}$ , koje poseduju heksagonalnu strukturu, moguće je ostvariti i postupkom dvofazne solvotermalne sinteze polazeći iz RE stearata, a uz prisustvo oleinske kiseline. Odvijanje reakcije u tečno-čvrstom dvofaznom sistemu (RE stearati - rastvor voda-etanol-oleinska kiselina, NaF), dovodi do nastanka hidrofobnih čestica, ali je prisustvo oleata na površini čestica moguće ukloniti višestrukim ispiranjem i ultrasonikacijom čestica u etanolu nakon procesa sinteze (slika 20) [61].



**Slika 20** Morfologija sa XRD podacima za  $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}$  nanočestice, a) TEM, b) SAED c) XRD [61]

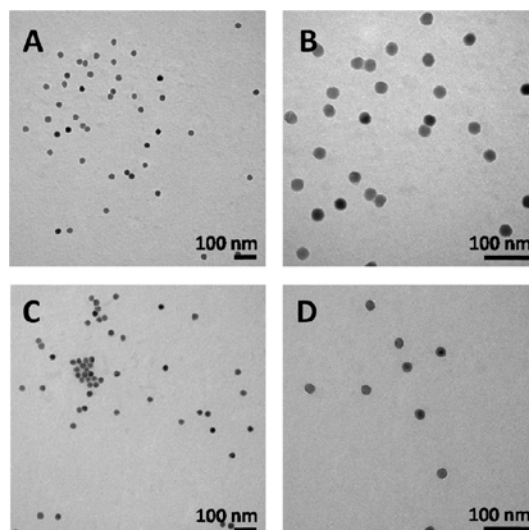
Hidro/solvo-termalna metoda sinteze UC u prisustvu oleata se i dalje najčešće koristi za dobijanje nanočestica heksagonalnog faznog sastava čija se površina u cilju postizanja hidrofilnosti i primene u medicini, modifikuje biokompatibilnim agensima. Amorfni silicijum dioksid predstavlja pogodnu neorgansku komponentu za oblaganje „up“- konvertorskih nanočestica, iako je njegova primena u medicini primarno vezana za kontrolisanu dostavu lekova [62]. Primer  $\beta$ -  $\text{NaYF}_4$  nanočestica sintetisanih solvotermalnom metodom u prisustvu oleata koje su obložene slojem silike primenom tetraetilortosilikata (TEOS) i 3-aminopropiltrioksisilana (APTES) dat je na slici 21 [63]. Oblaganje čestica vršeno je reverznom mikroemulzionom metodom u vremenskom periodu od 2 h što je rezultovalo stvaranjem sloja  $\text{SiO}_2$  debljine od 1 nm. Ovako dobijene čestice su zatim sa uspehom korišćenje za označavanje različitih kancerskih ćelija.





**Slika 21** a, b) TEM - c, d) HRTEM -  $\text{NaY}_{0.8}\text{F}_4:\text{Yb}_{0.15}/\text{Er}_{0.05}$  UCNPs dobijenih korišćenjem 6 ml oleinske kiseline, 90 ml 1-oktadekana i 1.6 ml HF- oleilamina; e, f) TEM  $\text{NaY}_{0.8}\text{F}_4:\text{Yb}_{0.15}/\text{Er}_{0.05}$  UCNPs dobijenih korišćenjem 12 ml oleinske kiseline, 3 ml 1-oktadekana i 1.6 ml, odnosno 1.4 ml HF- oleilamina, redom stoji [63]

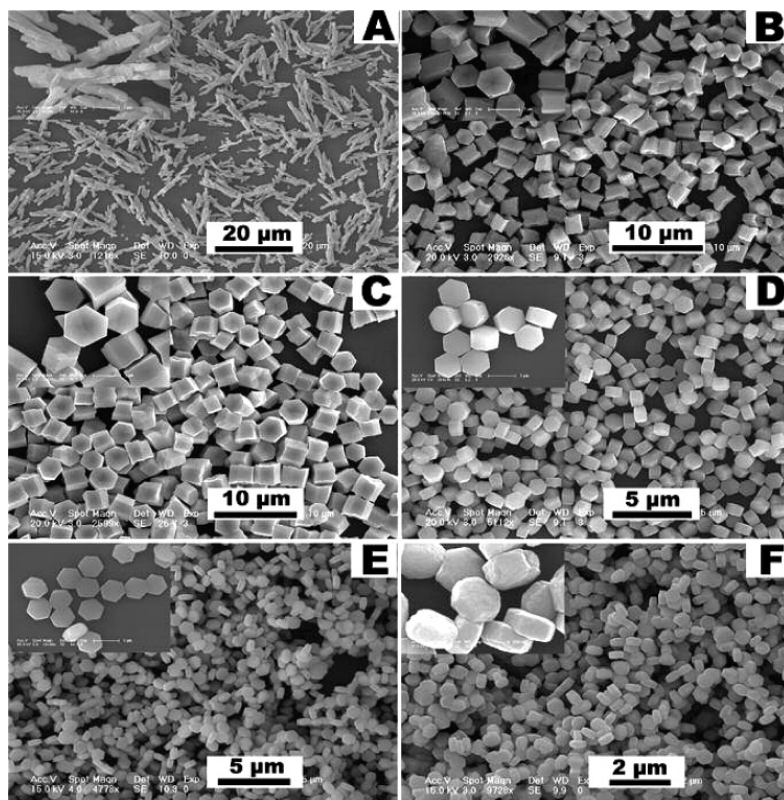
Na sličan način, biokompatibilnost  $\beta$ -  $\text{NaYF}_4:\text{Er}^{3+}$  (2 mol %),  $\text{Yb}^{3+}$  (20 mol %) nanočestica čija je površina prikrivena ligandima oleinske kiseline postignuta je naknadnom razmenom liganda uz primenu PEG-fosfata. Razmena liganda je vršena na temperaturi od  $70^\circ\text{C}$  u trajanju od 5 h. Čestice su precipitirane heksanom i izolovane centrifugiranjem. Uklanjanje viška PEG fosfata podrazumevalo je dijalizu u trajanju od 24 h, a dobijene monodisperzne nanočestice je nakon toga bilo moguće lako dispergovati u vodi (slika 22) [64].



**Slika 22** a, b) TEM  $\text{NaYF}_4:\text{Er}^{3+}$  2 mol %,  $\text{Yb}^{3+}$  20 mol % nanočestica obloženih PEG (750)-fosfatom, c, d) TEM  $\text{NaYF}_4:\text{Er}^{3+}$  2 mol %,  $\text{Yb}^{3+}$  20 mol % nanočestica obloženih PEG (2000)-fosfatom [64]

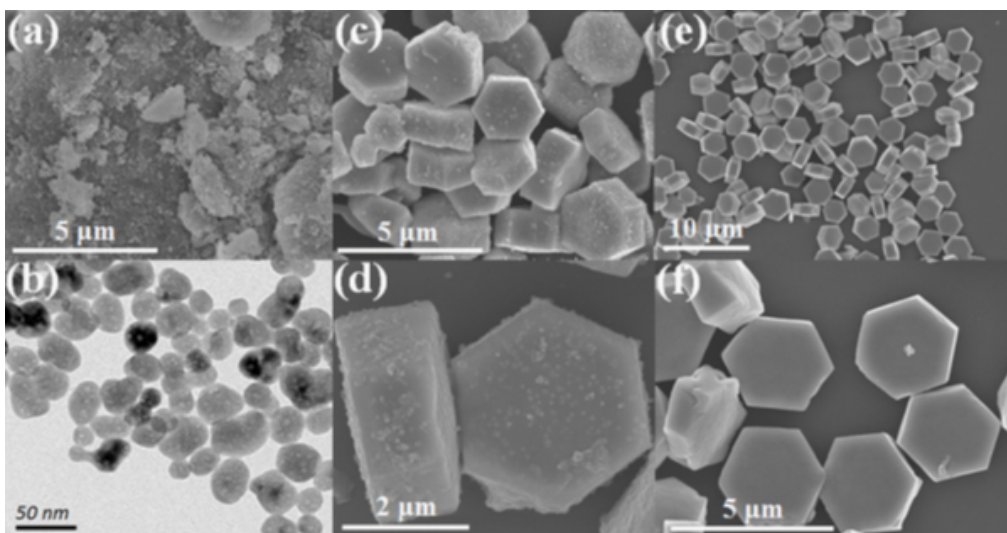
#### 2.5.2.2. Hidrotermalna sinteza u prisustvu limunske kiseline

Pored oleinske kiseline, za kontrolu oblika i veličine „up“ konvertorskih nanočestica pri hidro/solvo-termalnoj sintezi se može koristiti i citratna kiselina (ili njene soli). Upotrebom natrijum citrata Li je sa svojim timom uspešno sintetisao  $\text{NaYF}_4:\text{Ln}^{3+}$  ( $\text{Ln}=\text{Eu}$ ,  $\text{Tb}$ ,  $\text{Yb/Er}$  i  $\text{Yb/Tm}$ ) mikroprizme pri temperaturi od  $180^\circ\text{C}$  u trajanju od 0.5-24 h. Promenom koncentracije citrata, odnosno molarnog odnosa citrati  $\text{Ln}^{3+}$ , dolazi do promene morfologije sintetisanih čestica (slika 23) dok porast vremena sinteze dovodi do konverzije u  $\alpha$  fazu [65].



**Slika 23** SEM  $\beta$ - NaYF<sub>4</sub>: 5 % Tb<sup>3+</sup> nanočestica pripremljenih sa različitim molarnim odnosom citrata: RE<sup>3+</sup> a) bez citrata, b) 1:2, c) 1:1, d) 2:1, e) 4:1, f) 8:1 [65]

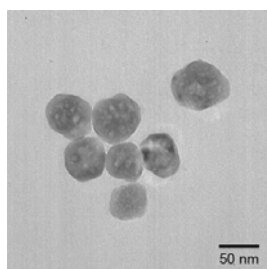
Sinteza sferičnih, monokristalnih nanočestica NaYF<sub>4</sub>:Yb<sup>3+</sup>, Tm<sup>3+</sup> koje poseduju kubnu strukturu i veličinu od 150-250 nm postignuta je hidrotermalnim tretmanom rastvora nitrata retkih zemalja RE(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> (RE= Y, Yb i Tm), NaF, NaNO<sub>3</sub> i limunske kiseline [66]. Pored odnosa citrata i lantanoida, na intenzitet luminescencije čestica dobijenih na ovaj način utiču i temperatura sinteze kao i vreme trajanja hidrotermalnog tretmana. Proces sinteze  $\beta$ - NaYF<sub>4</sub> faze u sličnom sistemu moguće je postići variranjem pH vrednosti prekursorskog rastvora, kao što je pokazano na slici 24 [67].



**Slika 24** SEM NaYF<sub>4</sub> uzoraka nakon a) i b) 3 h, c) i d) 12 h e) i f) 24 h reakcije [67]

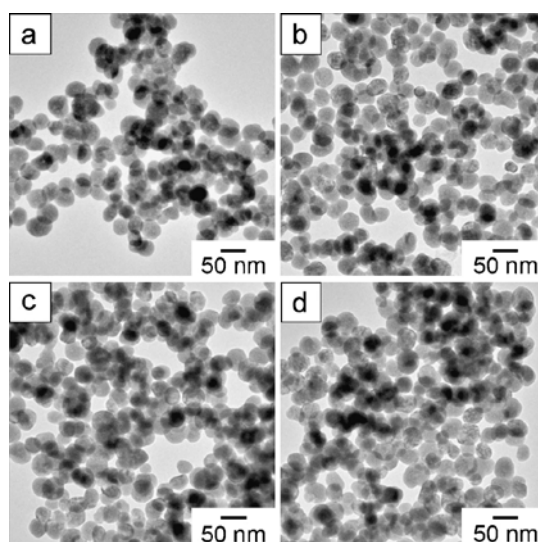
### 2.5.2.3. Hidro/solvo-termalna sinteza iz neorganskih prekursora uz korišćenje helacionih agenasa i/ili polimera

Iako u literaturi postoji određeni broj radova posvećenih hidro/solvo-termalnoj sintezi „up“- konvertorskih nanočestica sastava NaYF<sub>4</sub>:Yb/Er u prisustvu EDTE kao helacionog agenasa i drugih biokompatibilnih polimera, ovako sintetisane čestice nisu dalje ispitivane u cilju određivanja njihove citotoksičnosti i potencijalne primene u medicini. Metoda je prvi put publikovana 2006. godine kada je i razvijen “one-step“ solvotermalni metod sinteze hidrofilnih NaYF<sub>4</sub>:Yb/Er čestica kubne kristalne strukture u prisustvu polietilenimina (PEI), slika 25 [68]. Godinu dana kasnije, Sun je sa svojim timom opisao postupak dobijanja α- i β-faze NaYF<sub>4</sub>:Yb/Er hidrotermalnim tretmanom precipitata RE nitrata elementa i natrijum fluorida (NaF) u prisustvu citratne kiseline i EDTA. Pokazano je da veličina i kristalna struktura čestica zavisi od stepena nukleacije koji je u funkciji koncentracije RE prekursora, vremena sinteze i molskog odnosa RE/(NaF, citrati, EDTA) [69].



**Slika 25** TEM NaYF<sub>4</sub>:Yb<sup>3+</sup>, Er<sup>3+</sup> nanočestica dobijenih u prisustvu polietilenimina [68]

Stabilizacija heksagonalne  $\beta$ - faze u sferičnim česticama  $\text{NaYF}_4:\text{Yb/Er}$  veličine oko 40 nm postignuta je procesom solvotermalnog tretmana stearata retkih zemalja  $(\text{C}_{17}\text{H}_{35}\text{COO})_3\text{RE}$ ,  $\text{RE} = \text{Yb}_{0.78}\text{Y}_{0.20}\text{Er}_{0.02}$  u prisustvu polivinilpirolidona (PVP), polietilen glikola (PEG), poliakrilne kiseline (PAA) i polietilenimina (PEI). Korišćenje ovih polimera dovodi do nastanka hidrofilnih čestica koje su zbog postojanja  $-\text{COOH}$  i  $-\text{NH}_2$  grupa na svojoj površini pogodne za dalju konjugaciju sa biomolekulima kao što su antitela, biotin, streptavidin [70].



**Slika 26** TEM a) PVP- b) PEG- c) PAA- d) PEI- modifikovanih  $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}$  nanočestica [70]

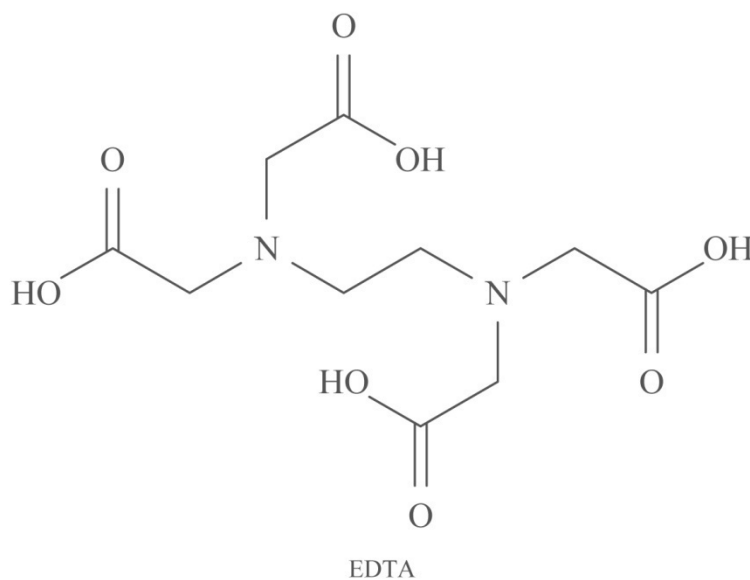
Polazeći od navedenih istraživanja, a u cilju postizanja *in situ* hidrofilnosti i/ili biokompatibilnosti „up“- konvertorskih nanočestica, u ovoj studiji će biti ispitivani uticaji etilendiamintetrasirćetne kiseline (EDTA), polietilen glikola (PEG), polivinilpirolidona (PVP), poliakrilne kiseline (PAA), hitozana (CS) i poli(laktid-ko-glikolida) (PLGA) na proces nukleacije i morfologiju  $\text{NaYF}_4:\text{Yb/Er}$  faze, pa će o ovim agensima biti nešto više reči.

#### 2.5.2.4. Helacioni agensi i polimeri korišćeni u ovom radu

##### 2.5.2.4.1. Etilendiamintetrasirćetna kiselina (EDTA)

EDTA predstavlja poliamino karboksilnu kiselinu koja spada u grupu heksadentatnih liganada i helacionih agenasa (slika 27). Njena sposobnost vezivanja jona elemenata retkih

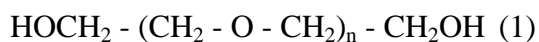
zemalja omogućava homogenu dekompoziciju prekursora i nastajanje monodisperznih čestica tokom hidrotermalnog tretmana. EDTA ima primenu u procesima polimerizacije, industriji tekstila, papira i prehrambenoj industriji. Koristi se za izradu brojnih farmaceutskih formulacija, kao i za sintezu određenih farmaceutski aktivnih komponenata, npr. penicilina, askorbinske kiseline i epinefrina [71, 72].



**Slika 27** Etilendiamintetra sirćetna kiselina (EDTA)

#### 2.5.2.4.2. Polietilen glikol (PEG)

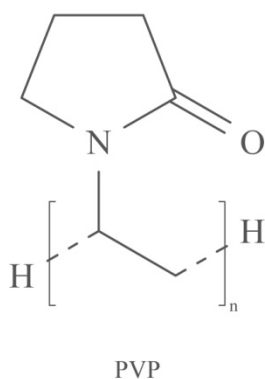
PEG je polimer etilen oksida koji poseduje dobru rastvorljivost u vodi i etanolu. Može biti linearne ili razgranate strukture, a najčešće se prikazuje formulom:



Visoka rastvorljivost PEG-a u vodi omogućava derivatizaciju i konjugaciju krajnjih funkcionalnih grupa za biološke molekule [73]. Njegove fizičko hemijske karakteristike su u funkciji relativne molekulske mase i sa porastom iste PEG prelazi iz tečnog u polučvrsto stanje. Molekuli male molekulske mase se razgrađuju u prisustvu alkohol dehidrogenaze do toksičnih metabolita dok su oni veće mase netoksični i imaju veliku primenu u proizvodnji kozmetike i lekova. Pored toga PEG se koristi i kao biosenzor, imobilizator ćelija, za inkapsulaciju Langerhansovih ostrvaca za transplantaciju i lečenje dijabetesa, stabilizaciju nekih biofarmaceutskih formulacija (npr. interferona) i drugo [74, 75].

#### 2.5.2.4.3. Polivinilpirolidon (PVP)

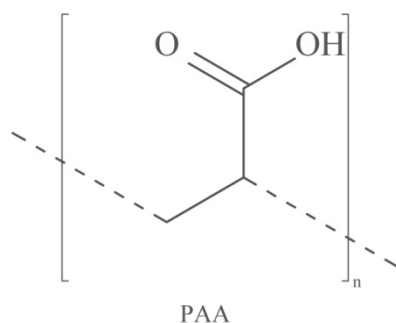
PVP je polimer čija je struktura prikazana na slici 28. Komercijalno je dostupan u različitim molekulskim masama, izraženim u K vrednostima koje predstavljaju relativne viskoznosti njegovog vodenog rastvora. Rastvorljivost PVP je zadovoljavajuća i u nepolarnim rastvaračima, a kompatibilan je i sa većinom neorganskih soli, kao i prirodnim i sintetičkim smolama. Koristi se u procesima proizvodnje tekstila, sapuna i papira, a u formi hidrogela se koristi i za sanaciju rana [76, 77].



**Slika 28** Polivinilpirolidon (PVP)

#### 2.5.2.4.4. Poliakrilna kiselina (PAA)

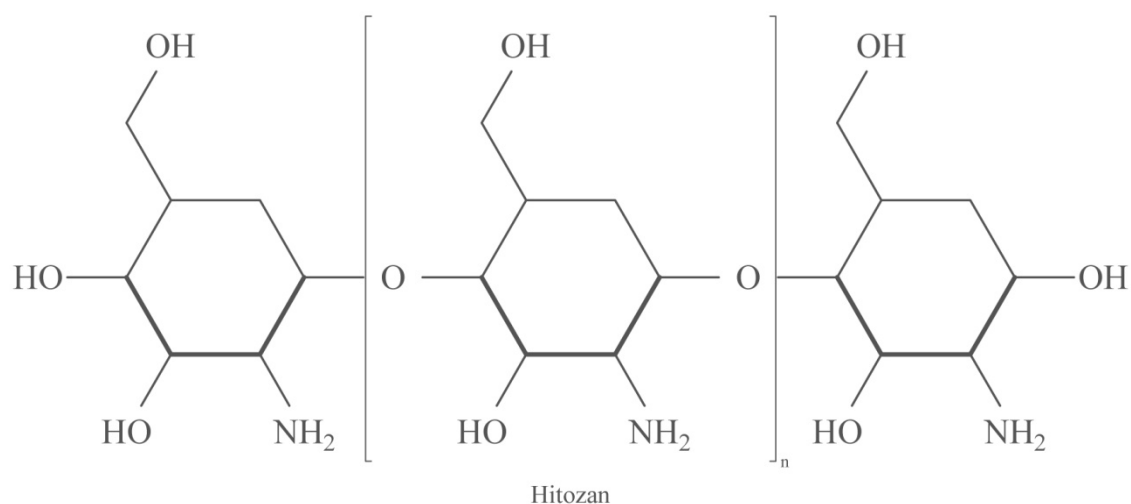
PAA spada u anjonske polimere visoke rastvorljivosti. Sadrži karboksilne grupe koji ga čine pH- i elektro- osetljivim materijalom. Nastaje procesom polimerizacije akrilne kiseline u vodenom rastvoru i njena struktura je prikazana na slici 29. Lako se vezuje za površinu oksida procesom zamene liganda. Najčešće se primenjuje u svojstvu flokulanta i emulgatora. U industriji papira se koristi kao regulator viskoznosti, u tekstilnoj industriji kao sredstvo za dispergovanje pigmenata, a u proizvodnji medicinskih sredstava služi za izradu kontaktnih sočiva [78].



**Slika 29** Poliakrilna kiselina (PAA)

#### 2.5.2.4.5. Hitozan (CS)

CS je derivat polisaharida hitina i predstavlja kopolimer koji se sastoji od N-acetil-D-glukozamina i D-glukozamina (slika 30). Kao i hitin, hitozan spada u netoksične polimere visoke biodegradabilnosti i biokompatibilnosti. Navedena svojstva su u funkciji broja protonovanih amino grupa sadržanih u polimernom lancu ovog jedinjenja. Nerastvoran je u vodi ali se rastvara u vodenim rastvorima kiselina. Ima veliku primenu u farmaceutskoj tehnologiji i medicini za izradu zaštitnog sloja na nanočesticama različitog sastava ili u formi poroznih mikrosfera koje se koriste za dostavu lekova. Pored ove primene, koristi se i u izradi fotografija, kozmetičkih preparata i prehrambenoj industriji [79].

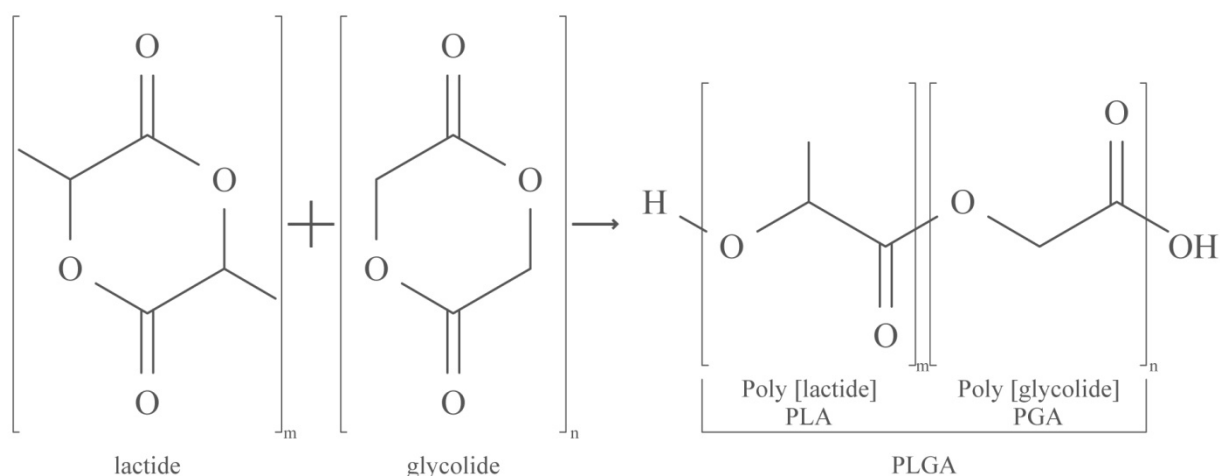


**Slika 30** Hitozan



#### 2.5.2.4.6. Poli (laktid-ko-glikolid) (PLGA)

PLGA predstavlja kopolimer mlečne kiseline (eng. LA) i glikolne kiseline (eng. GA) (slika 31). Mlečna kiselina sadrži jedan asimetričan atom ugljenika pa zbog toga ima dva optička izomera, D i L. Ukoliko su oba jednako zastupljena, PLGA se može predstaviti i kao D,L-laktid-ko-glikolna kiselina. S obzirom da se PLGA u živim organizmima razlaže na mlečnu i glikolnu kiselinu Svetska zdravstvena organizacija ga je svrstala u kategoriju biodegradabilnih polimera visoke biokompatibilnosti. Zbog toga se sve češće primenjuje i kao nosač lekova, makromolekula (DNK i RNK i peptida) i proteina u materijalima koji se koriste u inženjerstvu tkiva [80, 81].



**Slika 31** Poli(laktid-ko-glikolid) (PLGA)

## 2.6. Biomarkeri

Biomarkeri određuju ćelijske, biohemijske i/ili molekulske karakteristike, koje se objektivno mogu meriti i koristiti kao indikatori bioloških procesa, patogenih procesa ili farmakološkog odgovora pacijenata na primljenu terapiju (lek). Biomarkeri kancerskih ćelija su obično biološki molekuli izdvojeni iz ćelija tumora ili su odgovor tkiva na ćelije kancera koji se koriste kao indikatori postojanja kancera u telu [82, 83]. Na osnovu biohemije kancer biomarkeri mogu biti molekuli DNK, RNK, proteini, peptidi, hormoni ili indikatori bioloških procesa kao što su apoptoza, angiogeneza ili proliferacija. Oni moraju biti lako merljivi, jednostavni za pripremu i ekonomski isplativi [83]. Biološka snimanja, sa druge strane, imaju veliki udeo u savremenim medicinskim istraživanjima, dijagnostici i terapiji jer omogućavaju

vizualizaciju morfologije ćelija i procesa koji se u njima dešavaju [84]. Standardne procedure za praćenje kancera zasnivaju se na endoskopiji belom svetlošću, pri čemu se dijagnostikovanje vrši na osnovu vizuelne percepcije. Takav način dijagnostikovanja nije dovoljan za detekciju prekancerogenih lezija koje ne pokazuju velike promene u boji tkiva te se sve više radi na unapređenju tehnika koje detektuju fluorofore aktivne pod eksternim izvorom zračenja. Postoje dva tipa fluorofora: endogene (prirodno se nalaze unutar živih ćelija) i egzogene (hemijski agensi), u koje ubrajamo organske boje (metilensko plavo, proflavin, kristalviolet i fluorescein), metalkomplekse i neorganske fosforne nanočestice [85]. U grupi fosfornih nanočestica, posebna pažnja je usmerena ka dizajnu “up”- konvertora koji se pobuđuju NIR zračenjem, jer poseduju određene prednosti u odnosu na fluorofore koje se pobuđuju UV i VIS zračenjem, i to: postižu veću dubinu prodiranja unutar tkiva, ne izazivaju autofluorescenciju tkiva, ne dovode do lokalnog zagrevanja i poseduju dugotrajnost i stabilnost signala (nema slabljenja signala s vremenom) [86]. Pored navedenog, njihove hibridne nanostrukturne forme, na čijoj se sintezi i karakterizaciji sve više radi, se mogu koristiti i za multispektralna snimanja koja omogućavaju istovremeno praćenje višestrukih molekularnih procesa u tkivima, a time i rano otkrivanje bolesti [87]. Kao primer prednosti ranog otkrivanja bolesti mogu se navesti kanceri usne duplje odnosno kanceri glave i vrata, koji predstavljaju šesti najčešći tip kancera u svetu, pri čemu, među njima, skvamozne ćelije kancera jezika (eng. oral squamous cell carcinoma, OSCC) su najčešće maligne eptielne neoplazme [88, 89]. Pojava kancera usne duplje procentualno je veća kod muškaraca, gde se kao glavni faktori rizika smatraju upotreba cigareta, alkohola, duvana za žvakanje i ljudski papiloma virus (eng. human papillomavirus, HPV). Rani stadijumi bolesti su bez simptoma i veoma slični drugim tipovima mukoznih bolesti, a kada se bolest dijagnostikuje u kasnijim stadijumima stepen preživljavanja kreće se oko 50 %, zbog pojave lokalnih metastaza limfnih čvorova i vrata [89]. Iz tog razloga od velikog je značaja formiranje novih neinvazivnih selektivnih metoda za ranu dijagnostiku i terapiju bolesti [90].

### 3. EKSPERIMENTALNI DEO

#### 3.1. Materijali i metode

U ovom radu *in situ* sinteza biokompatibilnih optički aktivnih čestica sastava  $\text{NaY}_{0.8}\text{Yb}_{0.17}\text{Er}_{0.03}\text{F}_4$  vršena je hidro/solvo-termalnim tretmanom rastvora nitratnih soli elemenata retkih zemalja i NaF, a u prisustvu različitih agensa za kontrolu nukleacije i rasta kristala, i to: EDTA, PEG, PVP, PAA, CS i PLGA. Izbor agenasa za kontrolu nukleacije i postizanje biokompatibilnosti izvršen je sa ciljem uvođenja određenih funkcionalnih grupa, i to: -COOH (EDTA), -NH<sub>2</sub> (PEG, CS), i -C=O (PVP, PLGA, PAA). Ispitivan je uticaj glavnih parametara procesiranja, vremena reakcije ( $\tau$ ), koncentracije prekursora (C) i tipa rastvarača na morfologiju čestica, dok je koncentracija elemenata retkih zemalja koji se dopiraju u strukturu  $\text{NaYF}_4$  faze izabran na osnovu literaturnih podataka. Kako je utvrđeno da sadržaj Y u  $\text{NaYF}_4$  fazi može da se substituiše Yb do 40 mol %, dok se Er dopira u znatno nižoj koncentraciji od 4 mol % [65], pri čemu se najefikasniji svetlosni odziv dobija kod materijala dopiranih do 20 mol %, u ovom radu je izabran odnos Yb:Er=17:3. Sve sinteze su izvođene u čeličnom autoklavu koji sadrži teflonski uložak radne zapremine 100 ml. Stepun punjenja autoklava iznosio je 80 i 60 %, u zavisnosti od tipa rastvarača koji je korišćen. Za zagrevanje autoklava korišćen je eksterni grejni prsten dok je mešanje tokom reakcije (400 rpm) uspostavljeno magnetom.

#### 3.2. Hemikalije koje su korišćene prilikom sinteze

Prilikom izrade ove doktorske disertacije korišćene su komercijalno dostupne hemikalije analitičkog kvaliteta proizvođača Sigma Aldrich, Centrohem i Carlo Erba, Tabela 1.

**Tabela 1.** Hemikalije korišćene u eksperimentalnom radu

Hemikalija	Hemijska formula	Proizvođač
Itrijum(III)nitrat heksahidrat	$Y(NO_3)_3 \cdot 6H_2O$	Sigma Aldrich
Iterbijum(III)nitrat pentahidrat	$Yb(NO_3)_3 \cdot 5H_2O$	Sigma Aldrich
Erbijum(III)nitrat pentahidrat	$Er(NO_3)_3 \cdot 5H_2O$	Sigma Aldrich
EDTA	$C_{10}H_{16}N_2O_8$	Sigma Aldrich
PVP 25	$(C_6H_9NO)_n$	Sigma Aldrich
PEG-400	$C_{2n}H_{4n+2}O_{n+1}$	Sigma Aldrich
PAA	$(C_3H_4O_2)_n$	Sigma Aldrich
Etilen glikol	$C_2H_6O_2$	Sigma Aldrich
PLGA		Sigma Aldrich
Hitozan		Sigma Aldrich
Natrijum fluorid	NaF	Sigma Aldrich
Amonijum hidroksid	$NH_4OH$	Centrohem
Hlorovodonična kiselina	HCl	Carlo Erba
Azotna kiselina	$HNO_3$	Centrohem
Natrijum hidroksid	NaOH	Centrohem
Etanol	$C_2H_6O$	Sigma Aldrich
Aceton	$C_3H_6O$	Sigma Aldrich
3-(4,5-dimetil-2tiazol-il)-2,5-difenil-2H-tetrazolium bromid	MTT	Sigma Aldrich
Dimetil sulfoksid	DMSO	Sigma Aldrich
Paraformaldehid	PFA	Sigma Aldrich
Moviol	Mowiol	Sigma Aldrich
DMEM medijum	Dulbecco's Modified Eagle Medijum	Sigma Aldrich
Fetalni govedí serum	eng. fetal bovine serum, FBS	Sigma Aldrich
Penicilin-streptomicin smeša		Sigma Aldrich
TrypLE Express reagensu		(ThermoFisherScientific, Waltham, USA)
Fiziološki rastvor fosfata	PBS	Sigma Aldrich
rastvor antibiotik/antimikotik	ABAM	ThermoFisher Scientific
Sladni agar		Torlak
Sladni bujon		Torlak
Hranljivi agar		Torlak
Hranljivi bujon		Torlak

### 3.3. Sinteza biokompatibilnih optički aktivnih nanočestica $NaYF_4:Yb,Er$

#### 3.3.1. Sinteza $NaYF_4:Yb,Er$ uz primenu EDTA

U ovom setu eksperimenata ispitan je uticaj koncentracije prekursora (100 mmol i 10 mmol) i vremena reakcije (0,5 h, 2 h i 20 h) na morfološko-strukturne osobine sintetisanih

uzoraka. Praćen je i uticaj različitih rastvarača (destilovane vode i etanola) i dodatnog termičkog tretmana praha na stepen konverzije kubne u heksagonalnu fazu.

Tipična procedura je podrazumevala odmeravanje nitrata retkih zemalja u zadatom stehiometrijskom odnosu i njihovo rastvaranje u 40 ml destilovane vode; kompleksiranje je vršeno dodavanjem EDTA u odnosu RE:EDTA=1:1, na temperaturi od 60°C i uz dodavanje 1ml NH<sub>4</sub>OH; posebno je napravljen rastvor NaF (40 ml, odnos RE:F=7). Kompleksirani rastvor nitrata je ukapan u rastvor NaF uz konstantno mešanje, nakon čega je izvršena korekcija pH vrednosti do pH 3 (dodavanjem par kapi HNO<sub>3</sub>). Dobijena reakciona smeša je prebačena u teflonski sud od 100 ml, i po zatvaranju autoklava temperatura grejača je podešena na 200°C, a brzina mešanja na 400 rpm. Nakon završetka reakcije i hlađenja reaktora, produkt reakcije u formi finog praha je izdvojen centrifugiranjem pri 8000 rpm. Za ispiranje praha je korišćena destilovana voda, nakon čega je prah sušen na 100°C u trajanju od 3 h. Dodatni termički tretman praha vršen je na 400°C, 5 h, u zaštitnoj atmosferi argona. U slučaju smanjene koncentracije prekursora, rastvaranje EDTA je vršeno i u smeši etanol - voda (odnos voda:etanol=1:2).

Nomenklatura uzoraka (definisanih kao „UC-agens-koncentracija-vreme-rastvarač-dodatni termički tretman“, UC: NaY<sub>0.8</sub>Yb<sub>0.17</sub>Er<sub>0.03</sub>F<sub>4</sub>, koncentracija u mmol, vreme u satima) dobijenih u ovom sistemu data je u Tabeli 2.

**Tabela 2.** Nomenklatura uzoraka dobijenih uz primenu EDTA

Nominalni sastav praha	Koncentracija prekursora (mmol)	Vreme (h)	Rastvarač	Oznaka uzorka UC-agens-koncentracija-vreme-rastvarač
1 NaY <sub>0.8</sub> Yb <sub>0.17</sub> Er <sub>0.03</sub> F <sub>4</sub>	100	0.5 h	H <sub>2</sub> O	UC-EDTA-100-0.5-aq
2 Uzorak 1 nakon termičkog tretmana u argonu na 400 °C, 5 h				UC-EDTA-100-0.5-aq-TT
3 NaY <sub>0.8</sub> Yb <sub>0.17</sub> Er <sub>0.03</sub> F <sub>4</sub>	100	2 h	H <sub>2</sub> O	UC-EDTA-100-2-aq
4 Uzorak 3 nakon termičkog tretmana u argonu na 400 °C, 5 h				UC-EDTA-100-2-aq-TT
5 NaY <sub>0.8</sub> Yb <sub>0.17</sub> Er <sub>0.03</sub> F <sub>4</sub>	100	20 h	H <sub>2</sub> O	UC-EDTA-100-20-aq
6 NaY <sub>0.8</sub> Yb <sub>0.17</sub> Er <sub>0.03</sub> F <sub>4</sub>	10	2 h	Etanol voda	UC-EDTA-10-2-Et

### 3.3.2. Sinteza NaYF<sub>4</sub>:Yb,Er uz primenu PVP

U ovom setu eksperimenata, praćen je dalji uticaj smanjivanja koncentracije prekursora (10 i 5 mmol), količine dodatog PVP (0.1 g i 1 g), pH vrednosti i dodatnog termičkog tretmana na formiranje NaYF<sub>4</sub>:Yb,Er heksagonalne faze, kao i na stepen aglomeracije sintetisanih čestica.

Tipična procedura je podrazumevala rastvaranje stehiometrijskih količina nitrata retkih zemalja u 10 ml destilovane vode, rastvaranje NaF u 10 ml (odnos RE:F=7) i rastvaranje odmerene količine PVP u 40 ml etanola. Rastvor nitrata je lagano ukapan u rastvor PVP, a zatim je dodat i rastvor NaF uz konstantno mešanje reakcione smeše, pri čemu je dobijen mutan rastvor, pH 4. Radi određivanja uticaja pH vrednosti na proces nukleacije  $\text{NaY}_{0.8}\text{Yb}_{0.17}\text{Er}_{0.03}\text{F}_4$  faze u jednoj od sinteza je izvršena i korekcija pH vrednosti do pH 9 ukapavanjem 0.1 M rastvora NaOH. Ovako dobijena reakciona smeša je dodatno homogenizovana mešanjem u trajanju od 15 min, a potom je prebačena u teflonski sud zapremine 100 ml. Nakon zatvaranja autoklava, temperatura grejača autoklava je podešena na 200°C, a mešalica na 400 rpm. Nakon završetka reakcije i hlađenja reaktora, produkt reakcije u formi finog praha je izdvojen centrifugiranjem pri 8000 rpm. Za ispiranje praha korišćen je etanol, nakon čega je prah sušen na 100°C u trajanju od 3 h. Dodatni termički tretman praha vršen je na 400°C, 5 h, u zaštitnoj atmosferi argona. U slučaju korišćenja etilen glikola za rastvaranje PVP (30 ml) odnos voda/etilen glikol iznosio je 1:1, pri čemu je ostala procedura pripreme reakcione smeše bila ista. Nomenklatura uzoraka dobijenih u ovom sistemu (definisanih kao „UC-agens-koncentracija-rastvarač-dodatni termički tretman“, UC:  $\text{NaY}_{0.8}\text{Yb}_{0.17}\text{Er}_{0.03}\text{F}_4$ , koncentracija u mmol) dobijenih u ovom sistemu data je u Tabeli 3.

**Tabela 3.** Nomenklatura uzoraka dobijenih uz primenu PVP

Nominalni sastav	Koncentracija prekursora (mmol)	Vreme (h)	Rastvarač	Oznaka uzorka
1 $\text{NaY}_{0.8}\text{Yb}_{0.17}\text{Er}_{0.03}\text{F}_4$	10	2 h	Etanol	UC-PVP-10-Et
2 Uzorak 1 nakon termičkog tretmana u argonu na 400 °C, 5 h				UC-PVP-10-Et-TT
3 $\text{NaY}_{0.8}\text{Yb}_{0.17}\text{Er}_{0.03}\text{F}_4$	5	2 h	Etanol	UC-PVP-5-Et
4 $\text{NaY}_{0.8}\text{Yb}_{0.17}\text{Er}_{0.03}\text{F}_4$	5	2 h	Etanol/NaO	UC-PVP-5-Et-NaOH
5 $\text{NaY}_{0.8}\text{Yb}_{0.17}\text{Er}_{0.03}\text{F}_4$	5	2 h	Etilen glikol	UC-PVP-5-EG

### 3.3.3. Sinteza $\text{NaYF}_4\text{:Yb,Er}$ uz primenu PEG

U ovom eksperimentu ispitan je uticaj polietilenglikola i dodatnog žarenja na morfološko-strukturalna svojstva čestica. Odmerene količine nitrata retkih zemalja ukupne koncentracije 10 mmol rastvorene su u 40 ml PEG-400 uz konstantno mešanje na magnetnoj mešalici i uz zagrevanje do 50°C; posebno je napravljen rastvor NaF u 10 ml destilovane vode (RE:F=7). U rastvor nitrata ukapavan je rastvor NaF a zatim je reakcionoj smeši dodato još 30 ml PEG-400, pri čemu je dobijen mutan rastvor. Nakon homogenizacije mešanjem u

trajanju od 15 min, reakciona smeša je prebačena u teflonski sud radne zapremine 100 ml. Po zatvaranju autoklava temperatura grejača je podešena na 200°C, a brzina mešanja na 400 rpm. Nakon dvočasovne reakcije i hlađenja reaktora do sobne temperature, produkt reakcije u formi finog praha je izdvojen centrifugiranjem pri 8000 rpm. Za ispiranje praha je korišćena destilovana voda, nakon čega je prah sušen na 100°C u trajanju od 3 h. Dodatni termički tretman praha vršen je na 400°C, 5 h, u zaštitnoj atmosferi argona. Nomenklatura uzoraka dobijenih u ovom sistemu (definisanih kao „UC-agens-koncentracija-rastvarač-dodatni termički tretman“, UC: NaY<sub>0.8</sub>Yb<sub>0.17</sub>Er<sub>0.03</sub>F<sub>4</sub>, koncentracija u mmol) data je u Tabeli 4.

**Tabela 4.** Nomenklatura uzoraka dobijenih uz primenu PEG

Nominalni Sastav	Koncentracija prekursora (mmol)	Vreme (h)	Rastvarač	Oznaka uzorka
1 NaY <sub>0.8</sub> Yb <sub>0.17</sub> Er <sub>0.03</sub> F <sub>4</sub>	10	2 h	H <sub>2</sub> O	UC-PEG-10-aq
2 Uzorak 1 nakon termičkog tretmana u argonu na 400 °C, 5 h				UC-PEG-10-aq-TT

### 3.3.4. Sinteza NaYF<sub>4</sub>:Yb,Er uz primenu PAA

Ispitivanje uticaja PAA na proces nukleacije NaY<sub>0.8</sub>Yb<sub>0.17</sub>Er<sub>0.03</sub>F<sub>4</sub> faze vršeno je dodavanjem 0,1 g poliakrilne kiseline u reakcionu smešu, i to na sledeći način. Odmerene količine nitrata retkih zemalja ukupne koncentracije 5 mmol su najpre rastvorene u 5 ml destilovane vode; posebno su napravljeni rastvori NaF (5 ml, odnos RE:F=7) i PAA (50 ml, smeše voda/etanol u odnosu 1:4). Rastvor PAA je ukapan u rastvor nitrata uz mešanje, a zatim je i rastvor NaF dodat na isti način. Nakon dodavanja NaF dobijen je mutni rastvor koji je dodatno homogenizovan mešanjem u trajanju od 15 min. Korekcija pH vrednosti do pH 9 izvršena je ukapavanjem male količine rastvora NaOH (0.1 M), a zatim je reakciona smeša prebačena u teflonski sud zapremine 100 ml. Po zatvaranju autoklava temperatura grejača je podešena na 200°C, a brzina mešanja na 400 rpm. Nakon završetka reakcije u trajanju od 2 h i hlađenja reaktora do sobne temperature, produkt reakcije u formi finog praha je izdvojen centrifugiranjem pri 8000 rpm. Za ispiranje praha je korišćen etanol, nakon čega je prah sušen na 80°C u trajanju od 3 h. U skladu sa napred definisanom nomenklaturom dobijeni uzorak ima oznaku UC-PAA-5-Et.

### 3.3.5. Sinteza NaYF<sub>4</sub>:Yb,Er uz primenu CS

U ovom setu eksperimenata pored ispitivanja uticaja samog CS na proces nukleacije heksagonalne NaYF<sub>4</sub>:Yb,Er faze, ispitan je i združeni uticaj CS 0,1 g i PVP 0,1 g, i to na sledeći način. Odmerene količine nitrata retkih zemalja koncentracije 5 mmol rastvorene su u 10 ml destilovane vode; posebno su napravljeni rastvori NaF (10 ml, RE:F=7) i hitozana (15 ml, uz dodatak nekoliko kapi HNO<sub>3</sub> na 70°C). Rastvor hitozana je ukapan u rastvor nitrata uz mešanje, a zatim je smeši dodat i rastvor NaF na isti način. Dodavanjem 35 ml etilen glikola, dobijen je bistar viskozni rastvor, pH 4. Nakon mešanja u trajanju od 20 min reakcioni rastvor je prebačen u teflonski sud zapremine 100 ml. Po zatvaranju autoklava temperatura grejača je podešena na 200°C, a brzina mešanja na 400 rpm. Nakon završetka reakcije u trajanju od 2 h i hlađenja reaktora do sobne temperature, produkt reakcije u formi finog praha je izdvojen centrifugiranjem pri 8000 rpm. Za ispiranje praha je korišćen etanol, nakon čega je prah sušen na 60°C u trajanju od 2 h.

U slučaju ispitivanja združenog uticaja hitozana i PVP, 0,1 g PVP je zasebno rastvoren u 35 ml etilen glikola, pri čemu je ostala procedura bila ista kao u prethodnom slučaju. pH vrednost dobijene reakcione smeše iznosila je pH 3,9. Nomenklatura uzoraka dobijenih u ovom sistemu (definisanih kao „UC-agens-koncentracija-rastvarač, UC: NaY<sub>0,8</sub>Yb<sub>0,17</sub>Er<sub>0,03</sub>F<sub>4</sub>, koncentracija u mmol) data je u Tabeli 5.

**Tabela 5.** Nomenklatura uzoraka dobijenih uz primenu CS i CS-PVP

Nominalni sastav	Koncentracija prekursora (mmol)	Vreme (h)	Rastvarač	Oznaka uzorka
1 NaY <sub>0,8</sub> Yb <sub>0,17</sub> Er <sub>0,03</sub> F <sub>4</sub>	10	2 h	H <sub>2</sub> O/EG	UC-CS-5-EG
2 NaY <sub>0,8</sub> Yb <sub>0,17</sub> Er <sub>0,03</sub> F <sub>4</sub>	10	2 h	H <sub>2</sub> O/EG/PVP	UC-CS-/PVP -5-EG

### 3.3.6. Sinteza NaYF<sub>4</sub>:Yb,Er uz primenu PLGA

Ispitivanje uticaja PLGA na proces nukleacije NaYF<sub>4</sub>:Yb,Er faze vršeno je dodavanjem 0,1 g PLGA u reakcionu smešu, i to na sledeći način: odmerene količine nitrata retkih zemalja ukupne koncentracije 5 mmol su najpre rastvorene u 15 ml destilovane vode. Posebno su napravljeni rastvori NaF (5 ml, odnos RE:F=7), i PLGA (laktid:glikolid, 75:25, Mr 66,000-107,000 rastvoren u 40 ml acetona). Rastvor NaF je ukapan u rastvor nitrata uz mešanje, a zatim je dodat i rastvor PLGA na isti način. Dobio se mutan rastvor pH 9,5.



Dobijena reakciona smeša dodatno je mešana 15 min, i potom prebačena u teflonski sud radne zapremine 100 ml. Sa obzirom da je PLGA termički stabilan na temperaturama ispod 250°C na atmosferskom pritisku [91], proces sinteze u autoklavu je izvođen na 120°C, u trajanju od 12 h, pri mešanju od 400 rpm. Nakon završetka reakcije i hlađenja reaktora, produkt reakcije u formi finog praha je izdvojen centrifugiranjem pri 8000 rpm. Za ispiranje praha je korišćen aceton, nakon čega je prah sušen na 80°C u trajanju od 2 h. U skladu sa napred navedenom nomenklaturom („UC-agens-koncentracija-rastvarač, UC: NaY<sub>0.8</sub>Yb<sub>0.17</sub>Er<sub>0.03</sub>F<sub>4</sub>, koncentracija u mmol) dobijeni uzorak ima oznaku UC-PLGA-5-Ac.

### **3.4. Metode korišćene za karakterizaciju sintetisanog materijala**

#### **3.4.1. Određivanje faznog sastava**

Određivanje faznog sastava sintetisanog materijala vršeno je metodom difrakcije praha X-zracima (eng. X-ray powder diffraction, XRPD). Ispitivanja su vršena na sledećim difraktometrima:

- Bruker D8 Discovery i
- Philips X'PERT.

Kod oba uređaja korišćeno je CuK $\alpha$  zračenje talasne dužine  $\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$ , opsega snimanja od 10-80°, sa korakom snimanja 0,02° i vremenom zadržavanja od 1 i 5 s po koraku. Strukturni podaci sintetisanih uzoraka (veličina kristalita, dimenzije jedinične ćelije i ostvareni stepen substitucije jona itrijuma jonima dopanta) dobijeni su utičnjavanjem XRPD rezultata Ritveldovom ili La Bail metodom, korišćenjem softvera Topas 4.2. Pri utičnjavanju strukture je korišćen fundamentalni parametarski prilaz opisan u radu [92].

#### **3.4.2. Određivanje morfologije i hemijskog sastava uzoraka**

##### **3.4.2.1. Skening elektronska mikroskopija (SEM, EDAX)**

Morfologija i semikvantitativna analiza hemijskog sastava sintetisanih uzoraka ispitivani su pomoću skenirajuće elektronske mikroskopije u kombinaciji sa energetsom disperzionom analizom X-zracima (SEM/EDAX). Analize su rađene na uređajima JEOL

JSM-6701F SEM, SEM XL 30/EDS, FE-SEM Zeiss DSM 960, TESCAN VEGA 3 SB i FESEM/EDAX HITACHI SU-70. Priprema uzoraka je podrazumevala dispergovanje malih količina praha u etanolu, nakapavanje suspenzije na nosač uzorka i naporavanje uzorka zlatom u argonu. Softver SemAfore 5.21 JEOL korišćen je za analizu raspodele veličine čestica.

### **3.4.2.2. Transmisiona elektronska mikroskopija (TEM, HRTEM, EDS)**

Substruktura dobijenih uzoraka analizirana je pomoću transmisione elektronske mikroskopije, dok je visokorezolucionom transmisionom elektronskom mikroskopijom (eng. High resolution transmission electron microscopy, HRTEM) izvršena potvrda faznog sastava nanočestica (Brza Furijeova transformacija, softver Gatan Digital Micrograph 3.7.4). Elektronska difrakcija odabrane površine (eng. Selected Area Electron Diffraction, SAED) korišćena je za potvrdu nastanka monokristalnih i polikristalnih nanočestica, dok je njihov sastav određen energetske disperzionom spektroskopijom (EDS). Navedene analize su urađene korišćenjem uređaja JEOL-JEM 2010 pri radnom naponu od 200 kV, u kombinaciji sa elektronskom difrakcijom odabrane površine (SAED) i energetske disperzionom spektroskopijom (EDS).

### **3.4.3. Spektroskopske metode karakterizacije**

#### **3.4.3.1. Spektroskopija sa infracrvenom Furijerovom transformacijom (FTIR)**

U cilju određivanja prisustva i načina vezivanja određenih liganada na površini sintetisanih čestica primenjena je infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom (engl. Fourier Transform Infrared Spectroscopy, FTIR). U tu svrhu korišćen je Thermo Scientific Nicolet 6700 spektrofotometar (Thermo Fisher Scientific) sa dijamantskom sondom za ATR merenja (ATR - atenuirana totalna refleksija). Sva merenja su vršena u vazduhu primenom iste sile za ostvarivanje kontakta primenom 128 skeniranja pri rezoluciji od  $4\text{ cm}^{-1}$ .

### **3.4.3.2. Analiza dinamičkog rasipanja svetlosti (Eng Dynamic light scattering DLS)**

Analiza dinamičkog rasipanja svetlosti hidrodinamičkog prečnika sintetisanih čestica (Eng. hydrodynamic radius  $R_H$ ), rađena je pomoću Malvern Zetasizer Nano ZS u dejonizovanoj vodi i DMEM medijumu, koji je korišćen pri vizualizaciji UC čestica. U tu svrhu UC čestice dispergovane su u koncentraciji od 1 mg/ml i propuštene kroz celulozni filter, sa porama veličine 0.45  $\mu\text{m}$ , pre DLS merenja.

### **3.4.3.3. Fotoluminescentna merenja**

Optičke karakteristike dobijenih prahova ispitivane su na sobnoj temperaturi pomoću L980300J (Thorlabs) spektrometra koji ima MCPD-7700:311C (Otsuka Electronics Co. LTD) detektor i korišćenjem spektrofluorimetarskog sistema koji se sastoji od OPO (eng. Optical Parameter Oscillation) lasera, izvora (EKSPLA NT 342 sa opsegom emisije od 210-2300 nm), kriostata (Advance Research Systems DE202-AE) sa Lakeshore model 331 kontrolorom, spektrografa FHR 1000 (Horiba Jobin-Yvon) i ICCD detektora (Horiba Jobin-Yvon). Pored toga korišćen je spektrometar Fluorog sa C31034 fotomultiplikatorom. Spektri su mereni u UV i vidljivoj oblasti pri ekscitaciji lasera u opsegu od 978-980 nm. Na osnovu dobijenih spektara, urađen je proračun hromatskih koordinata koji definiše finalni svetlosni odziv svakog od sintetisanih UC, predstavljen X i Y koordinatama u CIE (fran. Commission Internationale d'Eclairage, CIE) diagramu [93].

### **3.4.3.4. Određivanje vremena života pobuđenih energetske stanja**

Vreme života nekog energetskog stanja jeste srednje vreme koje elektron provede u pobuđenom stanju pre nego što se vrati na osnovni nivo. Pri ispitivanju vremena života, dobijene su krive opadanja intenziteta luminescencije sa vremenom, koje su imale oblik eksponencijalne funkcije prvog reda, definisan sledećom zavisnošću:

$$I(t)=I(o)e^{-t/\tau} \quad (1)$$

$I(t)$ - intenzitet u vremenu  $t$

$I(o)$ - intenzitet u vremenu  $t=0$

$\tau$ - vreme života

Logaritmovanjem dobijenih intenziteta  $I(t)$  pa potom prevođenjem u grafički prikaz  $\ln I(t)-t$ , dobija se linearna zavisnost na osnovu čijeg se nagiba određuje vreme života. Linearno fitovanje rađeno je u programu Origin Pro 8.

U slučaju da se vreme života nije moglo opisati eksponencijalnom funkcijom prvog reda, određivano je srednje vreme koristeći sledeću zavisnost:

$$\tau_{sr} = \frac{\int_0^0 t I(t) dt}{\int_0^0 I(t) dt} \quad (2)$$

#### 3.4.4. XPS analiza

XPS (eng. X-ray photoelectron spectroscopy) predstavlja fotoelektronsku spektroskopiju koja koristi izvore rendgenskog zračenja od 200 eV do 2000 eV. XPS analiza uzorka UC-CS-5-EG rađena je na hemisferičnom analizatoru Alpha 100, gde se kao izvor zračenja koristila MgK $\alpha$  linija (1486,6 eV). Dobijeni rezultati merenja koristili su se za određivanje elementarnog sastava površine čestica, kao i prisustva određenih funkcionalnih grupa na samoj čestici razlaganjem odgovarajućih signala.

#### 3.4.5. Određivanje antimikrobne aktivnosti

U cilju ispitivanja uzoraka UC-CS-5-EG i UC-PLGA-5-Ac sa strane njihovog korišćenja u biomedicinske svrhe, antibakterijska aktivnost čestica je testirana prema Gram-negativnoj bakteriji *Escherichia coli*, Gram-pozitivnoj bakteriji *Staphylococcus aureus* i gljivici *Candida Albicans*, za tri različite koncentracije (10, 50 i 100  $\mu$ g/ml).

Za potrebe ispitavanja antimikrobne aktivnosti uzoraka UC-CS-5-EG i UC-PLGA-5-Ac pripremljene su hranljive podloge: sladni agar, sladni bujon, hranljivi agar, hranljivi bujon (Torlak), sterilisane u autoklavu 15 minuta na temperaturi od 121°C.

Ispitivanja su vršena disk-difuzionom metodom, pri čemu je postupak isti za sve patogene. U sterilne Petri šolje, u sterilnoj atmosferi plamenika, doda se agar podloga (200 ml), za *Escherichia coli* i *Staphylococcus aureus* hranljivi agar dok se kod *Candida albicans* koristi sladni agar. Kada se podloga stegne i osuši stave se po četiri sterilna bunarčića (zapremine od 60  $\mu$ l), nakon čega se sipa top agar (20 ml) u kome je potom dodato 200  $\mu$ l

razblažene kulture mikroorganizama (razblaženje od  $10^{-1}$  (1:10) za kulture *Staphylococcus aureus* i *Candida albicans*, i  $10^{-2}$  (1:100) za kulturu *Escherichia coli*). Nakon 1 h kada se podloga stegne i ohladi izvade se bunarčići. U prostor gde je bio bunar sipa se po 60  $\mu$ l kontrole i uzorka i to sledećim redom: 1- kontrola (sterilna voda); 2- uzorak koncentracije 10  $\mu$ g/ml; 3- uzorak koncentracije 50  $\mu$ g/ml i 4- uzorak koncentracije 100  $\mu$ g/ml. Petrijeve šolje su potom inkubirane u termostatu na temperaturi od 37°C za patogene za *Escherichia coli* i *Staphylococcus aureus* odnosno 30°C za *Candida albicans*, tokom 24 h.

### **3.4.6. Ispitivanje citotoksičnosti**

#### **3.4.6.1. Izolovanje ćelija usne duplje**

Citotoksičnost izabranih uzoraka je ispitivana na zdravim i kancerskim ćelijama usne duplje. Zdrave gingivalne ćelije korena pulpe (eng. human gingival cell, HGC), kao i skvamozne kancerske ćelije jezika (eng. oral squamous cell carcinoma, OSCC), dobijene su od pacijenata sa klinike za Maksilofacijalnu hirurgiju Stomatološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu, uz saglasnost pacijenata. Planirani eksperimenti su odobreni od strane Etičkog komiteta Stomatološkog fakulteta (36/31), Univerziteta u Beogradu.

Priprema OSCC je rađena prema standardnoj proceduri opisanoj u radu [94]. DMEM medijum (Dulbecco's Modified Eagle Medijum) uz dodatak 20 % fetalnog goveđeg seruma (eng. fetal bovine serum, FBS) i 100 U/ml penicilin-streptomycin smeše (Sigma-Aldrich) je korišćen za transport uzorka tkiva. Nakon usitnjavanja tkiva, izdvojene ćelije su uzgajane u ćelijskoj kulturi T25 korišćenjem DMEM medijuma kome je dodato 10 % FBS i 100 U/ml smeše penicilin-streptomycin, u termostatu u vlažnoj atmosferi 5 % CO<sub>2</sub> na temperaturi od 37°C. Hranljivi medijum je menjan na svaka 2-3 dana. Ćelije su presejavane pre nego što dostignu 80 % rasta kulture. Da bi se izbegla kontaminacija ćelijama fibroblasta u kulturama, vršeno je kratkotrajno izlaganje kultura TrypLE Express reagensu (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA). OSCC korišćene u ovoj studiji su dobijene nakon trećeg presejavanja.

Za ekstrakciju HGC korišćeno je zdravo gingivalno tkivo od tri različita pacijenta, starosti između 19-25 godina, dobijeno tokom ekstrakcije trećeg kutnjaka. Gingivalno tkivo je transportovano u modifikovanom D-MEM/F12 medijumu (Dulbecco's Eagle's F12, Thermo Fisher Scientific), sa dodatkom 20 % FBS-a i 1 % rastvora antibiotik/antimikotik (ABAM,

Thermo Fisher Scientific). Tkivo je potom ispirano u fiziološkom rastvoru fosfata (PBS, Sigma Aldrich) i podvrgnuto metodi izolacije izrastanjem. Tkivo je najpre usitnjeno na manje delove veličine  $\sim 1 \text{ mm}^2$ , zasejano u posudu od  $25 \text{ cm}^2$  koja sadrži DMEM/F12 sa dodatkom 10 % FBS-a i 1 % ABAM a zatim inkubirano na temperaturi od  $37^\circ\text{C}$  u 5 %  $\text{CO}_2$ . Čelijama je bilo dozvoljeno da dostignu 80 % rasta kulture pre presejavanja, uz promenu hranljivog medijuma na svaka 2-3 dana. HGC korišćene u ovoj studiji su dobijene nakon drugog presejavanja.

#### **3.4.6.2. MTT test**

MTT (3-(4,5-dimetil-2tiazol-il)-2,5-difenil-2H-tetrazolium bromid, Sigma Aldrich) test je zasnovan na redukciji tetrazolijumske soli MTT dehidrogenazama ćelijskih mitohondrija. Pri ovome dolazi do cepanja tetrazolijumskog prstena i pojave formazana, koji poseduje karakterističnu boju. MTT mogu da redukuju samo aktivne mitohondrije živih ćelija te je ovaj kolorimetrijski test korišćen za merenje broja vijabilnih ćelija, odnosno određivanje citotoksičnosti nekih od sintetisanih UC prahova. Određivanje citotoksičnosti je ispitivano za tri različite koncentracije UC nanočestica u medijumu, i to 10, 25 i 50  $\mu\text{g/ml}$ . Za svaku koncentraciju, odmerena količina praha je suspendovana u sterilnom D-MEM/F12 medijumu uz konstantno mešanje i ultrazvučnu sonikaciju u trajanju od 3 min. OSCC i HGC su zasejane u posudu koja sadrži 96 „bunara“ u koncentraciji 10000 ćelija po „bunaru“, a zatim su inkubirane na  $37^\circ\text{C}$  u vlažnoj atmosferi koja sadrži 5 %  $\text{CO}_2$ . Nakon 24 h, ćelijama je dodato po 100  $\mu\text{l}$  rastvora određene koncentracije i inkubacija ćelija sa česticama je nastavljena još 24 h. Nakon tog perioda potrošeni medijum je uklonjen i u svaki „bunar“ je dodato po 0.5  $\text{mg/ml}$  MTT medijuma. Nakon inkubacije u trajanju od 4 h uklonjen je supernatant i ćelije su lizirane sa 100  $\mu\text{l}$  dimetil sulfoksida (DMSO, Sigma Aldrich) u trajanju od 20 min na temperaturi od  $37^\circ\text{C}$ . Ova tečnost je ujedno služila i za rastvaranje nagrađenog formazana, tako da se u bunarima razvijala karakteristična crveno-ljubičasta boja, čiji je intenzitet određivan na ELISA čitaču (Enzyme-linked immunosorbent assay RT-2100c, Rayto, China) na talasnoj dužini od 540 nm [95]. Svi eksperimenti su izvedeni u triplicatu i ponovljeni su tri puta u nezavisnim eksperimentima. Vijabilnost ćelija je izražena odnosom apsorbance ćelija inkubiranih sa UC česticama i apsorbance ćelija inkubiranih samo u medijumu- kontrola, a rezultati su predstavljeni kao srednja vrednost  $\pm$  standardna devijacija (SD).

### 3.4.7. Laser skenirajuća mikroskopija

Laser skenirajuća mikroskopija je korišćena za vizualizaciju UC čestica u ćelijskim preparatima. Inkubacija ćelija je rađena sa rastvorima UC čestica koncentracije 10 µg/ml. Pre inkubacije rastvori su ultrasonificirani i filtrirani (filter sa porama veličine 0.45 µm) da bi se uklonili aglomerati nanočestica i sprečila pojava saturacije tokom skeniranja. Na sterilnim staklenim pločicama, dimenzija 22 mm x 22 mm, zasejano je po 10000 ćelijskih kultura, HGC i OSCC, koje su zatim inkubirane u trajanju od 24 h (37°C, 5 % CO<sub>2</sub>). Nakon toga ćelije su izložene rastvoru UC nanočestica i inkubacija je nastavljena još 24 h. Staklene pločice sa adherentnim ćelijama su zatim dva puta nežno ispirane PBS-om i potom fiksirane 4 % paraformaldehidom (PFA, Sigma Aldrich) u trajanju od 20 min. Višak PFA je ispran PBS-om (3x3 min), pločice su osušene, nakon čega je dodat 10 µl Moviola (Mowiol, Sigma Aldrich). Ovako dobijene pločice su postavljene na mikroskopsko staklo, pri čemu su se ćelije nalazile između stakla i pločice. Uzorci su čuvani u mraku i na hladnom do mikroskopske analize sutradan.

Laboratorijski „set up“ nelinearnog, laser skenirajućeg mikroskopa koji je korišćen za vizuelizaciju ćelija sa UC česticama je detaljno prikazan u radu [96]. Ti:Safirski laser (Coherent, Mira 900-F) koji može da radi u femptosekundnom (FS) i kontinualnom modu (CM) je korišćen kao izvor zračenja. Femptnosekundni mod je korišćen za vizuelizaciju ćelija pri pobudi od 730 nm (autofluorescencija ćelija), dok je kontinualno zračenje na 980 nm korišćeno za eksitaciju UC nanočestica u ćelijama. Snimanja su rađena korišćenjem imerzionog (uljnog) objektiva Carl Zeiss, EC Plan-NEOFLUAR, pri uvećanjima 40x1.3.

## 4. REZULTATI I DISKUSIJA

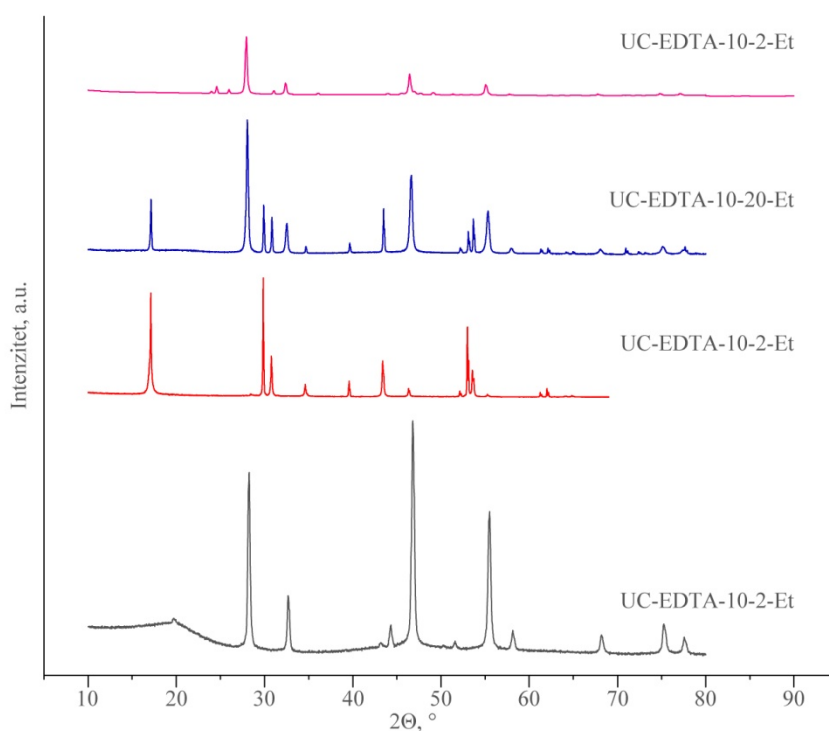
### 4.1. Analiza NaYF<sub>4</sub>:Yb,Er uzorka sintetisanog u prisustvu EDTA

#### 4.1.1. Rendgeno-strukturna analiza prahova

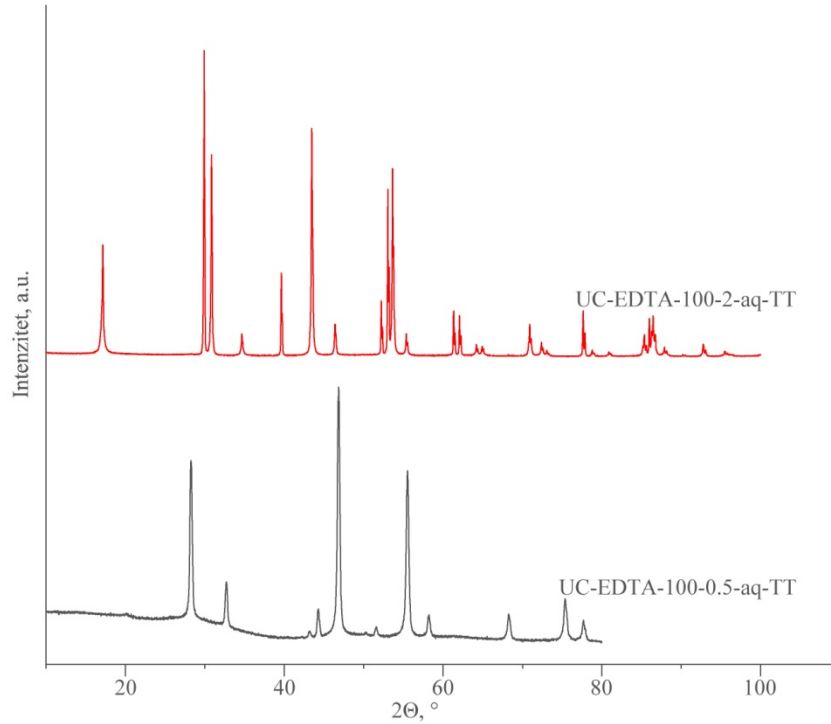
Kristalna struktura predstavlja jedan od najvažnijih faktora koji utiče na ponašanje rasta čestica i njihova optička svojstva. Kao što je pomenuto ranije, NaYF<sub>4</sub> faza može kristalisati u kubnoj i heksagonalnoj strukturi. U kubnoj strukturi (prostorne grupe *Fm-3m*) joni Na<sup>+</sup> i Y<sup>3+</sup> nasumično okupiraju jedan katjonski položaj koji se odlikuje visokim stepenom simetrije. U heksagonalnoj kristalnoj strukturi (prostorne grupe *P-6*) postoje tri položaja katjona, od kojih je jedan okupiran jonima Y<sup>3+</sup>, drugi nasumično okupiran jonima Y<sup>3+</sup> i Na<sup>+</sup>, dok treći zauzimaju joni Na<sup>+</sup> [97, 98]. Na slici 32 prikazani su rezultati difrakcije praha X-zracima uzorka NaY<sub>0,8</sub>Yb<sub>0,17</sub>Er<sub>0,03</sub>F<sub>4</sub> sintetisanih u prisustvu EDTA u uslovima datim u tabeli 2. U poređnom analizom prikazanih rezultata može se zaključiti da promenom koncentracije reaktanata, rastvarača ili vremena sinteze dolazi do formiranja kubne ili heksagonalne faze u ovom sistemu. Detaljna analiza faznog sastava sintetisanih prahova, kao i određivanje strukturnih parametara dobijenih faza urađena je primenom Ritveldove metode u programu Topaz Academic, slika 34. Na osnovu ove analize pokazano je da uzorak UC-EDTA-100-2-aq poseduje heksagonalnu kristalnu strukturu koja odgovara kartici JCPDS 28-1192, prostorna grupa *P-6*. Takođe u ovom uzorku je utvrđeno postojanje dve kristalne faze sličnih parametara jedinične ćelije (Å): a<sub>1</sub>=5.9787(1) c<sub>1</sub>=3.5022(1); i a<sub>2</sub>=5.9809 c<sub>2</sub>=3.5031(1), različite veličine kristalita (nm): 526(4) i 42(1), i težinskim udelima od 82 tež. % i 18 tež. %, redom stoji. Smanjenje vremena sinteze dovodi do kristalizacije kubne faze (JCPDS 77-2042, prostorna grupa *Fm-3m*) u uzorku UC-EDTA-100-0,5-aq. Vrednosti parametra jedinične ćelije: a=5.5100(15) Å i V=165.4(1) Å<sup>3</sup> ukazuju na promenu veličine rešetke koja je posledica ugradnje jona dopanta. Proračun okupacije katjonskih mesta jonima itrijuma od 0.86(1) potvrđuje nastajanje jedinjenja zadate stehiometrije NaY<sub>0,8</sub>Yb<sub>0,17</sub>Er<sub>0,03</sub>F<sub>4</sub>. Prosečna veličina kristalita u ovom uzorku iznosi 34(1) nm. Do nastanka kubne faze usled fazne transformacije dolazi i sa produženjem vremena sinteze, tako da je uzorak UC-EDTA-100-20-aq polifaznog sastava, odnosno sadrži čestice kubne i heksagonalne kristalne strukture. Iako je iz literature poznato da je proces α→β transformacije endoterman proces koji dovodi do formiranja termodinamički stabilnije faze [65], rezultati dobijeni u ovom sistemu ukazuju da je proces



$\beta \rightarrow \alpha$  transformacije takođe moguće u uslovima produženog termičkog tretmana. Promena rastvarača, odnosno uvođenje etanola kao rastvarača (odnos voda:etanol=1:2) uz smanjenje koncentracije reaktanata ima za posledicu nastajanje kubne  $\alpha$ - NaYF<sub>4</sub>:Yb,Er faze koju prati i nizak udeo ortorombične YF<sub>3</sub> faze (5 tež. %). Nukleacija kubne faze u ovom sistemu može biti posledica kristalizacije u uslovima niže koncentracije reaktanata, uticaja većeg napona pare rastvarača etanol-voda ali i razlike u helatnoj strukturi koja se formira u prisustvu etanola [99]. Dodatni termički tretman uzoraka UC-EDTA-100-0,5-aq ne dovodi do promene u strukturi i faznom sastavu pa je i u uzorku UC-EDTA-100-0,5-aq-TT potvrđeno prisustvo kubne faze (JCPDS 77-2042, prostorne grupe *Fm-3m*), sa parametrima jedinične kubne ćelije:  $a=5.50538(16)$  Å i veličinom kristalita od 30(1) nm, slika 33. Strukturnim utičnjavanjem podataka, koji su dobijeni rendgenskom analizom praha UC-EDTA-100-2-aq-TT (slika 33), potvrđeno je prisustvo heksagonalne faze (JCPDS 28-1192, prostorne grupe *P-6*), sa parametrima jedinične ćelije:  $a=5.9785(1)$  Å,  $c=3.5023(1)$  Å u kristalitima prosečne veličine 591(2) nm.



**Slika 32** Difrakcija praha X-zracima uzoraka iz sistema UC-EDTA



**Slika 33** Difrakcija praha X-zracima uzoraka iz sistema UC-EDTA-TT

**Tabela 6.** Podaci dobijeni strukturnim utačnjavanjem Ritveldovom metodom

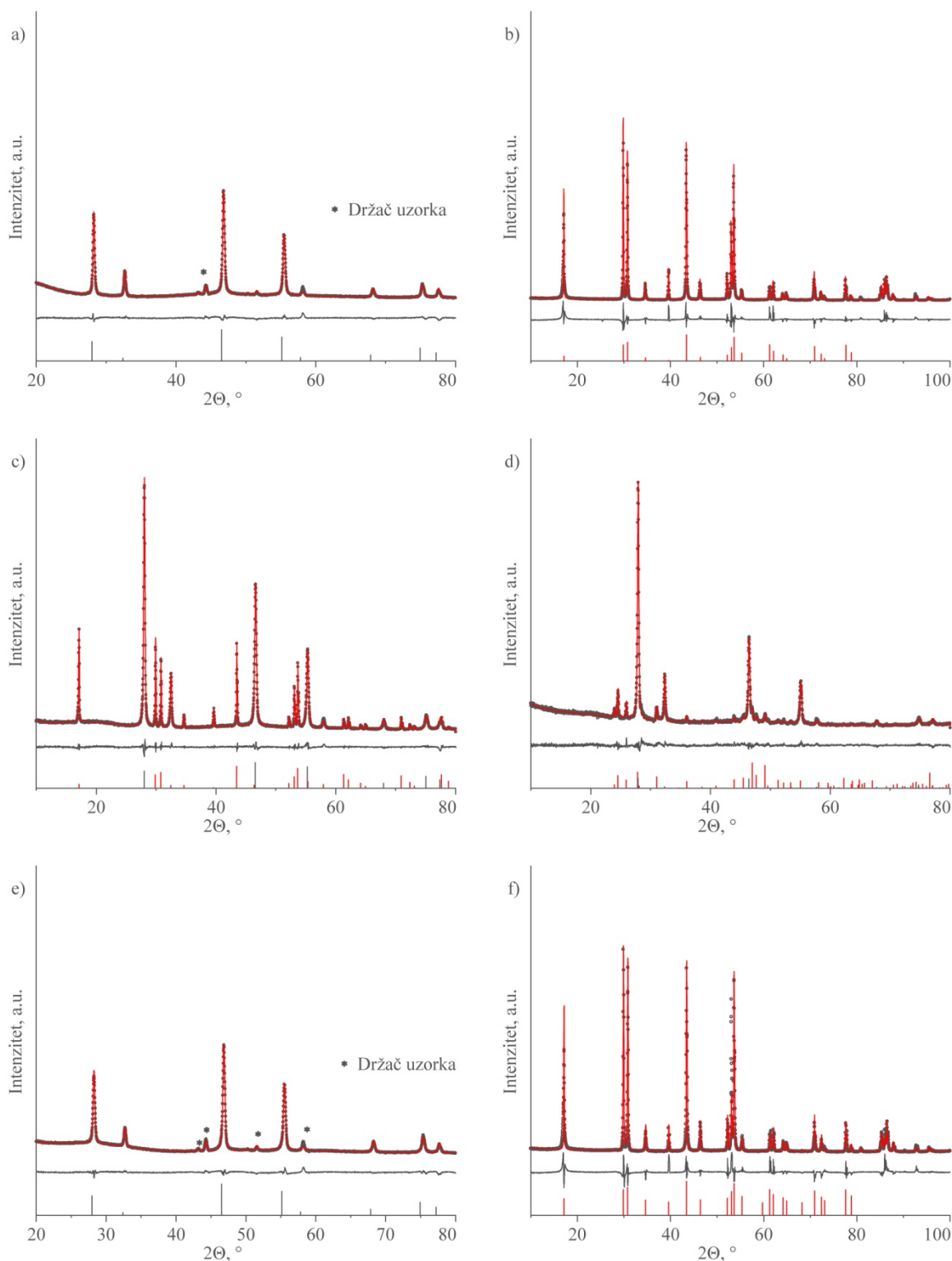
	UC-EDTA-100-0.5-aq	UC-EDTA-100-0.5-aq-TT	UC-EDTA-100-2-aq		UC-EDTA-100-2-aq-TT	UC-EDTA-100-20-aq	UC-EDTA-10-2-Et
<b>Glavna faza,</b>	Cubic <i>Fm-3m</i>	Cubic <i>Fm-3m</i>	Hex. <i>P-6</i>	Hex. <i>P-6</i>	Hex. <i>P-6</i>	Cubic <i>Fm-3m</i>	Cubic <i>Fm-3m</i>
<b>tež. %</b>	100%	100%	82%	18%	100%	83%	95%
<b>a (Å)</b>	5.5100 (15)	5.5054 (16)	5.9787 (1)	5.9809 (1)	5.9785 (1)	5.51212 (10)	5.53026 (27)
<b>c (Å)</b>			3.5023 (1)	3.5031 (1)	3.5023 (1)		
<b>CS* (nm)</b>	34 (1)	30 (1)	526 (4)	34 (1)	591 (2)	56 (1)	64 (4)
<b>Mikronaprezanje (%)</b>	-	-	-	-	-	0.34 (1)	0.18 (2)
<b>R<sub>Bragg</sub></b>	1.35	1.25	-	-	-	-	1.38
<b>Okup. Y<sup>3+</sup></b>	0.86 (1)	0.80 (1)	-	-	-	0.86(1)	0.73 (1)
<b>Dodatna faza, tež. %</b>	-	-	-	-	-	Hex. <i>P-6</i> 17%	Ort YF <sub>3</sub> <i>Pnma</i> 5%

$\alpha$ - NaYF<sub>4</sub> (JCPDS 77-2042) a=5.47 Å

$\beta$ - Na<sub>1.5</sub>Y<sub>1.5</sub>F<sub>6</sub> (JCPDS 28-1192) a=5.91 Å c=3.49 Å

ort-YF<sub>3</sub> (ICSD 6023)a=6.35 Å b=6.85 Å c=4.39 Å

\*CS eng. crystallites sizes -veličina kristalita



**Slika 34** Strukturno utajnjavanje uzoraka a) UC-EDTA-100-0,5-aq; b) UC-EDTA-100-2-aq; c) UC-EDTA-100-20-aq; d) UC-EDTA-10-2-Et; e) UC-EDTA-100-0,5-aq-TT; f) UC-EDTA-100-2-aq-TT. Difraktogrami dobijeni merenjem su dati kao crni krugovi, primenom Ritveldove metode crvenom linijom, dok je njihova razlika predstavljena sivom linijom. Referentne refleksije prisutnih faza označene su vertikalnim linijama u dnu dijagrama, crvenom bojom predstavljena je  $\beta$ - NaYF<sub>4</sub>:Yb,Er faza, dok je  $\alpha$ - NaYF<sub>4</sub>:Yb,Er faza označena crnom bojom.

#### 4.1.2. Morfologija, hemijski i fazni sastav prahova

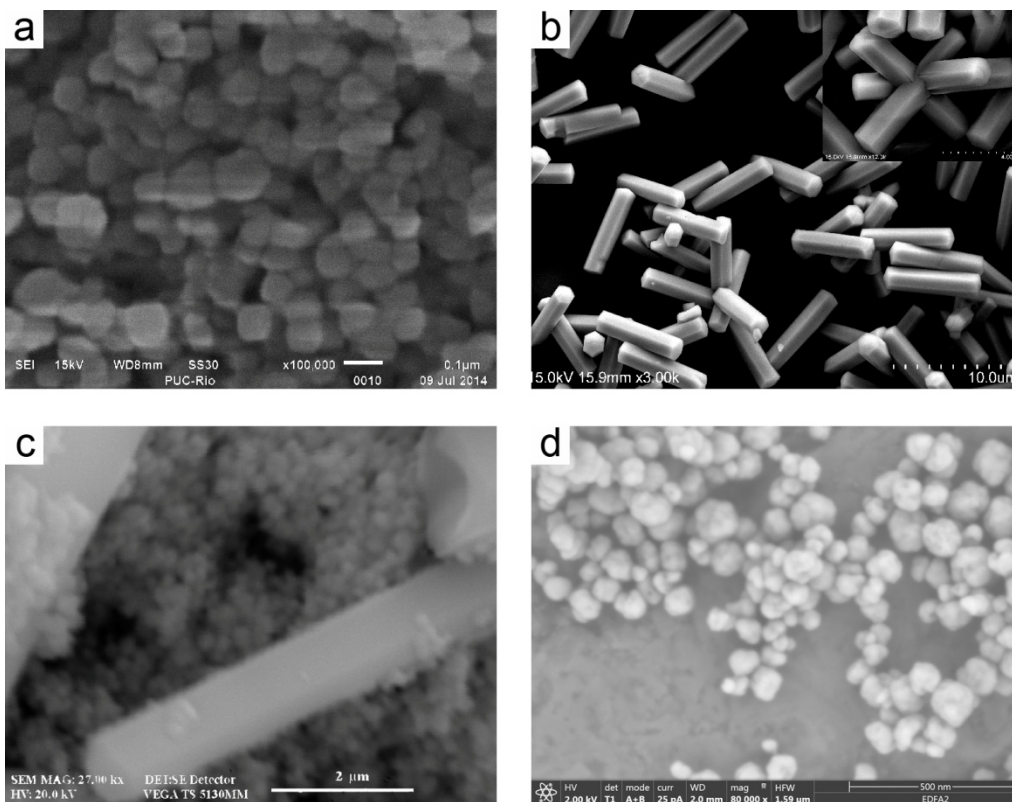
Morfološke karakteristike, hemijski i fazni sastav sintetisanih čestica određene su korišćenjem skenirajuće i transmisionne elektronske mikroskopije, slike 35 i 36. Na osnovu dobijenih rezultata utvrđeno je da je morfologija čestica posledica njihove kristalne strukture. Naime, sferične nanočestice u uzorcima UC-EDTA-100-0,5-aq, UC-EDTA-100-20-aq i UC-EDTA-10-2-Et (Slika 35a,c,d) poseduju kubnu strukturu koju odlikuje izotropni rast kristalita [100]. Njihova veličina i kristaliničnost je posledica procesnih parametara. Tako, pri kraćem vremenu sinteze nukleacija i rast kristalita kubne faze dovodi do formiranja sferičnih nanočestica veličine ~50 nm, dok sa produženjem vremena procesiranja dolazi do nastajanja nanočestica u širem opsegu veličina (uzorci UC-EDTA-100-0,5-aq i UC-EDTA-100-20-aq, slike 35a,c). Elektronska difrakcija izabrane oblasti (SAED, Slike 36a,d) ukazuje na  $d$  vrednosti 3.156, 2.743, 1.943 i 1.664 Å koje odgovaraju kristalografskim ravnima (111), (200), (220) i (311) kubne NaYF<sub>4</sub> faze (JCPDS 77- 2042). Nastale čestice su polikristalne strukture, dok je njihova kristaliničnost u funkciji vremena sinteze. S druge strane, TEM-SAED analiza uzorka UC-EDTA-10-2-Et, za čiju sintezu je korišćen prekursor niže koncentracije i etanol kao rastvarač, pokazuje da su nastale nanočestice čija je veličina u opsegu do 100 nm monokristalne, slika 36b. Iako kristališu iz rastvora niske koncentracije, ove čestice imaju širu raspodelu zbog orijentacionog spajanja više nukleusa koji dalje rastu kao jedan kristal.

Prisustvo heksagonalne faze koja je potvrđena u uzorcima UC-EDTA-100-2-aq i UC-EDTA-100-20-aq, značajno utiče na finalnu morfologiju nastalih čestica, slike 35b,c. Usled anizotropnog rasta heksagonalne kristalne strukture, čestice imaju oblik heksagonalnih prizmi sa pravougaonim stranama dužine oko 3μm i bazom dimenzije oko 500 nm. Sporadično, u uzorku UC-EDTA-100-2-aq uočeno je i prisustvo poliedarskih formi nastalih spajanjem heksagonalnih baza u formu cveta, koje su prikazane u okviru isečka na slici 35b. Anizotropni rast kristalnih ravni posledica je njihove različite brzine rasta koja je u funkciji hemijskog potencijala, odnosno proporcionalna je odnosu površine određene ravni i broja atoma na njoj. S obzirom na činjenicu da kristalna ravan (100) ima veću gustinu RE<sup>3+</sup> jona nego ravan (001), adsorpcija F<sup>-</sup> jona na njima će se odvijati u većoj meri doprinoseći dalje anizotropnom rastu formiranih kristalita [100]. Na osnovu dobijenih rezultata i uzimajući u obzir kinetičku stabilnost kubne faze, može se zaključiti da će proces precipitacije i nukleacije NaYF<sub>4</sub>:Yb,Er u rastvoru inicijalno rezultirati nastankom sferičnih nanočestica kubne strukture.

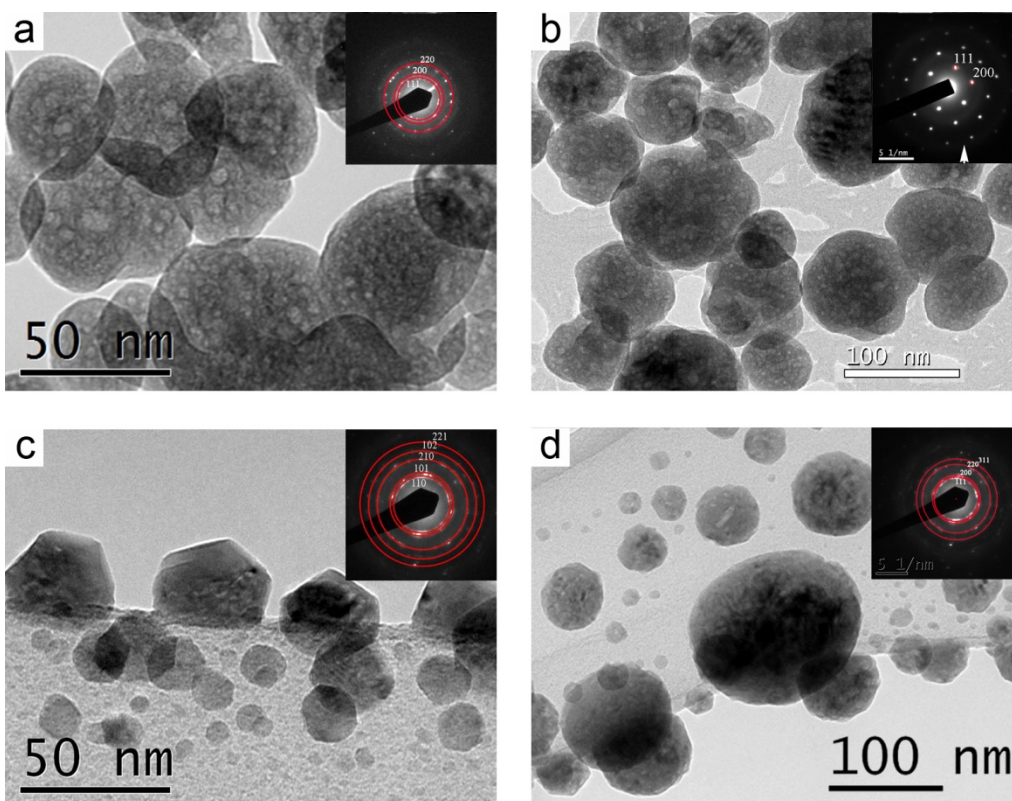
Intenziviranje procesa površinske difuzije jona na već formiranim nanočesticama koje se dešava s porastom vremena sinteze i/ili temperature, dovodi do stvaranja začetaka latica koje dalje neizotropno rastu stvarajući heksagonalne prizme sa zajedničkom bazom/jezgrom. Smanjivanje baze, usled daljeg rastvaranja/rekristalizacije čvrste faze u rastvoru, kao i trenje usled mešanja tokom hidrotermalnog procesiranja dovodi do odvajanja pojedinačnih heksagonalnih poliedarskih formi, odnosno nastanka prizmi mikronske veličine koje predstavljaju tipičnu morfologiju čestica u uzorku UC-EDTA-100-2-aq, slika 35b [101]. Prisustvo nanočestica sa heksagonalnim kristalnim uređenjem, na koje je ukazala XRPD analiza uzorka UC-EDTA-100-2-aq, potvrđeno je TEM i SAED analizom, slika 36c. SAED isečak na slici 36c, pokazuje  $d$  vrednosti 3.004, 2.900, 1.946, 1.603 i 1.364 Å koje odgovaraju (110), (101), (210), (102) i (201) kristalnim ravnima  $\beta$ - NaYF<sub>4</sub> faze (JCPDS 28-1192), redom stoji. Produženje vremena reakcije na 20 h (uzorak UC-EDTA-100-20-aq), dovodi do rastvaranja i rekristalizacije mikronskih čestica, te su heksagonalne prizme nešto tanje, a pored njih se u uzorku uočavaju i novonastale sferične nanočestice kubne faze, slika 35c.

Dodatni termički tretman sintetisanih prahova monofaznog sastava (uzorci UC-EDTA-100-0,5-aq-TT i UC-EDTA-100-2-aq-TT), ne dovodi do promene faznog sastava i veličine čestica, ali povećava njihovu kristaliničnost i dovodi do pojave međučestičnog sinterovanja, slike 37 i 38.

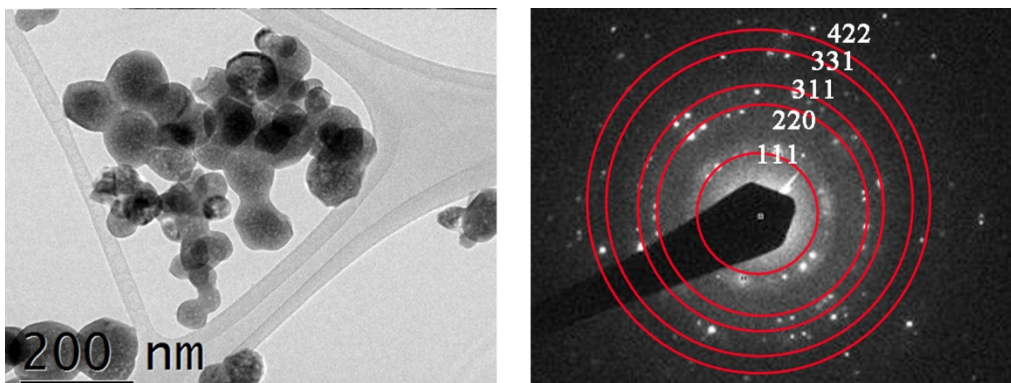
Tipičan spektar energetsko-disperzione analize (EDS) čestica dobijenih u ovom sistemu, prikazan je na slici 39. Sve prahove odlikuje visok stepen čistoće i prisustvo elemenata koji ih izgrađuju: natrijum ( $K\alpha$  na 1.041), itrijum ( $L\alpha$  na 1.92 keV), iterbijum ( $L\alpha$  na 7.414 i  $M$  na 1.521 keV), erbijum ( $L\alpha$  na 6.947 i  $M$  na 1.404 keV) i fluor ( $K\alpha$  na 0.677). Homogena distribucija prisutnih elemenata unutar pojedinačnih čestica pokazana je primenom energetske disperzione analize X-zracima (EDAX) uzorka UC-EDTA-100-2-aq, slika 40.



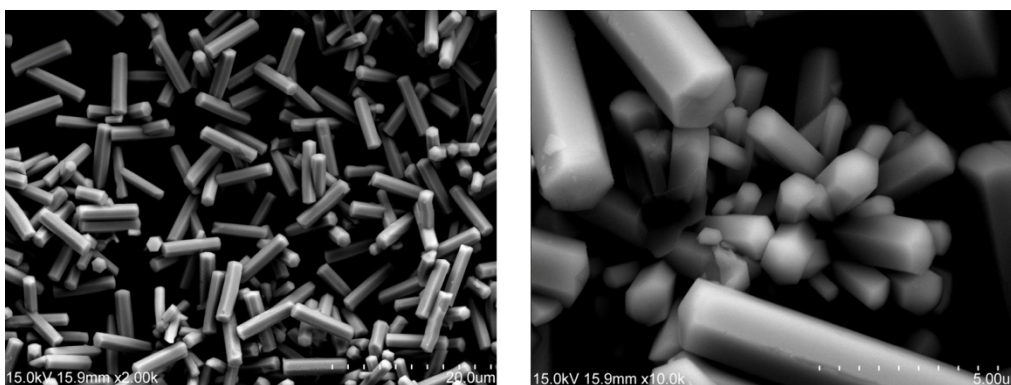
**Slika 35** SEM mikrografije uzorka a) UC-EDTA-100-0,5-aq; b) UC-EDTA-100-2-aq; c) UC-EDTA-100-20-aq; d) UC-EDTA-10-2-Et



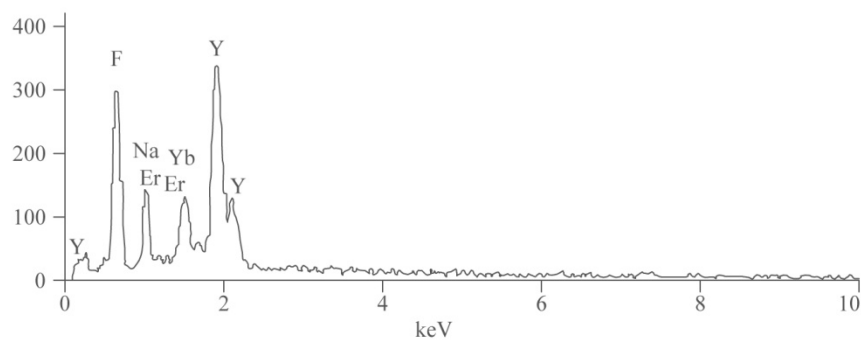
**Slika 36** TEM mikrografije uzorka a) UC-EDTA-100-0,5-aq; b) UC-EDTA-10-2-Et; c,d) UC-EDTA-100-2-aq



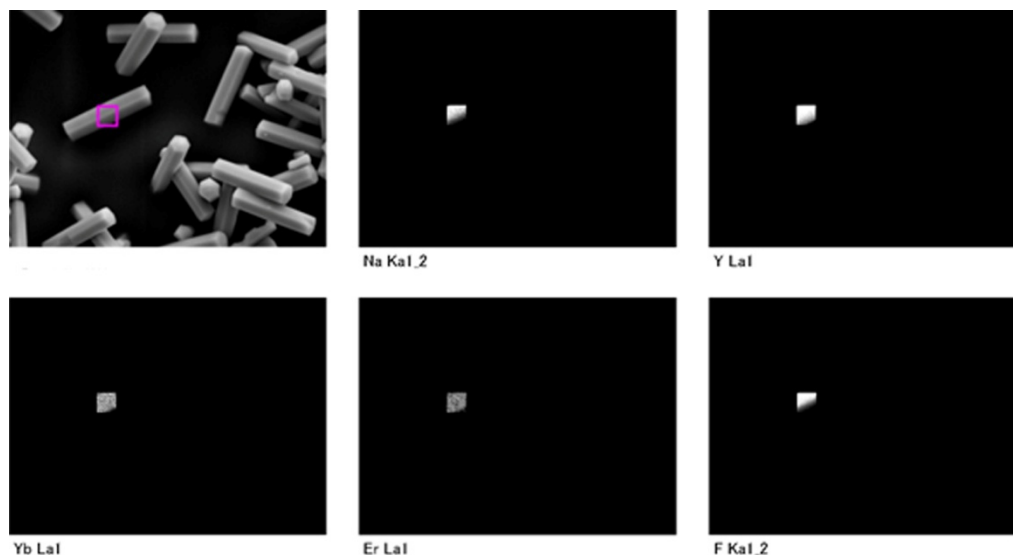
**Slika 37** TEM i SAED analiza uzorka UC-EDTA-100-0.5-aq-TT



**Slika 38** FESEM analiza uzorka UC-EDTA-100-2-aq-TT



**Slika 39** Tipična EDS analiza uzorka iz sistema UC-EDTA

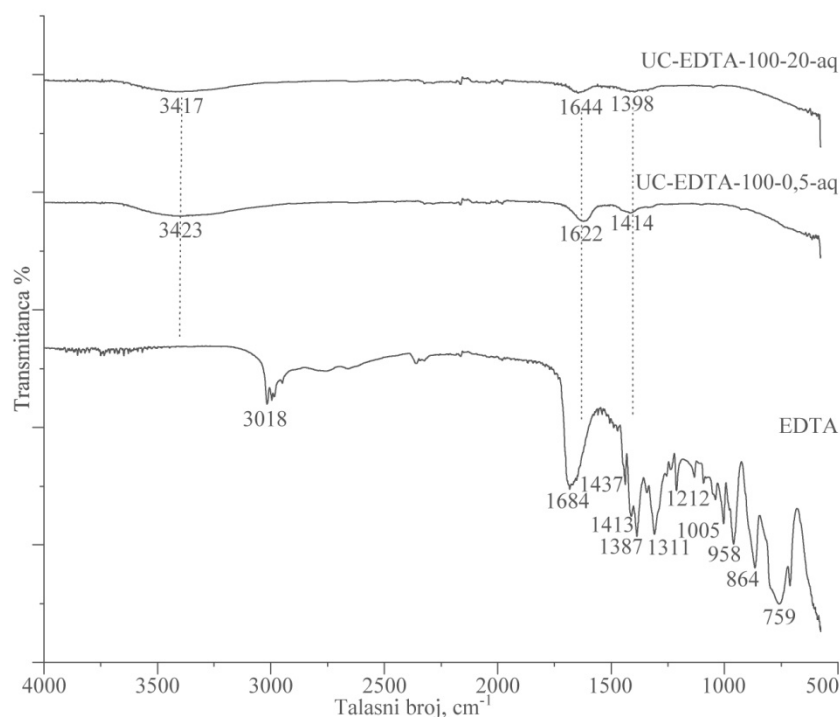


**Slika 40** EDAX analiza uzorka UC-EDTA-100-2-aq

#### 4.1.3. FTIR analiza uzorka

U cilju potvrde prisustva/odsustva karakterističnih funkcionalnih grupa EDTE na površini sintetisanih čestica urađena je *in situ* FTIR spektrometrija. Analiza uzoraka UC-EDTA-100-0,5-aq i UC-EDTA-100-20-aq prikazana je na slici 41. U cilju označavanja spektralnih traka urađena i analiza spektra EDTA jedinjenja. Na osnovu literaturnih podataka EDTA spektar se može podeliti u tri oblasti: (1) 3200-2700  $\text{cm}^{-1}$  koji uključuje i  $-\text{CH}_2$  istezanje u opsegu od 3100-2750  $\text{cm}^{-1}$ ; (2) 1650-1350  $\text{cm}^{-1}$  koji pripada  $\text{COOH}$  istezanju i (3) 1350-900  $\text{cm}^{-1}$  koji pripada  $\text{CH-OH}$  i  $\text{C-N}$  istezanju [102-104]. Na osnovu prikazanih spektara koji odgovaraju ispitivanim uzorcima, može se uočiti da su samo trake koji pripadaju  $\text{C=O}$  (na 1644  $\text{cm}^{-1}$  i 1622  $\text{cm}^{-1}$ ) i  $\text{C-N}$  (na 1414  $\text{cm}^{-1}$  i 1398  $\text{cm}^{-1}$ ) istezanju dobro očuvane u sintetisanim česticama. Njihovi intenziteti su slabiji a pozicija malo pomereni u odnosu na njihov položaj u spektru čiste EDTE usled koordinacije jona retkih zemalja na površini čestica. Pored prethodno navedenih traka, u sintetisanim uzorcima su očuvane i široke trake na 3423 i 3417  $\text{cm}^{-1}$  koji predstavljaju  $-\text{OH}$  istezanje, a koje potvrđuju hidrofilnost čestica.





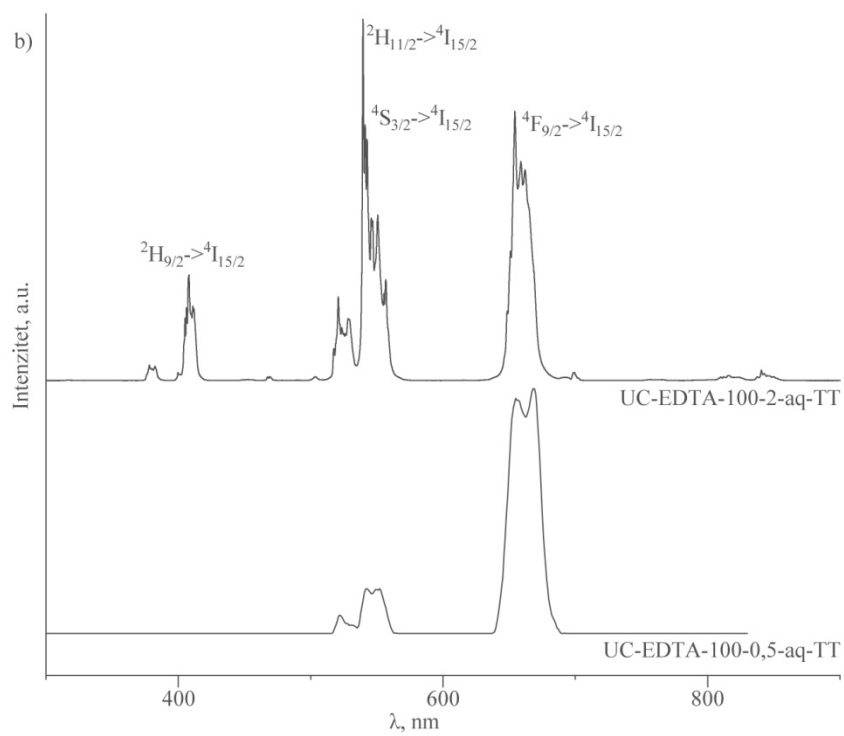
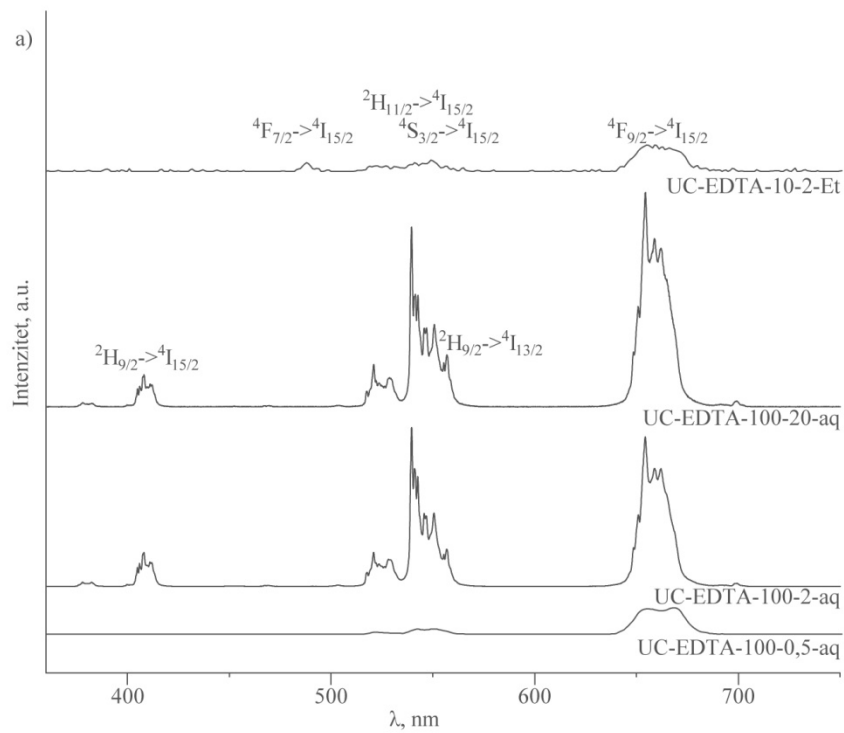
**Slika 41** FTIR analiza uzoraka UC-EDTA-100-0,5-aq, UC-EDTA-100-20-aq i EDTA jedinjenja

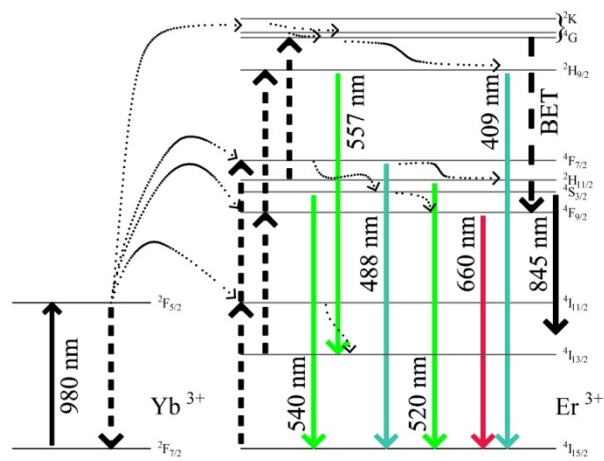
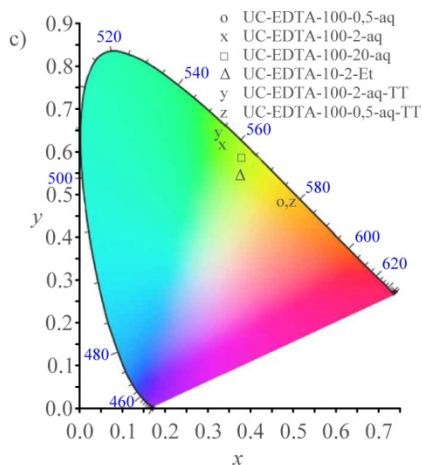
#### 4.1.4. Fotoluminescentne karakteristike uzorka

„Up“- konverzija sintetisanih uzoraka određena je pobuđivanjem na 980 nm, a dobijeni spektri prikazani na slici 42a ukazuju na prisustvo plave, zelene i crvene emisije svetlosti na talasnim dužinama 375-415, 510-560 i 640-670 nm, redom stoji. Intenziteti emisija, kao i širina emisionih linija posledica su kristaliničnosti i veličine sintetisanih čestica. Na osnovu dijagrama energetskih nivoa  $\text{Yb}^{3+}$  i  $\text{Er}^{3+}$ , prikazanom u okviru slike 42c, uočene emisione linije se pripisuju sledećim  $f-f$  elektronskim prelazima jona  $\text{Er}^{3+}$ :  ${}^2\text{H}_{9/2} \rightarrow {}^4\text{I}_{15/2}$  (plava emisija na 407 nm),  $({}^2\text{H}_{11/2}, {}^4\text{S}_{3/2}) \rightarrow {}^4\text{I}_{15/2}$  (zelena emisija, na 520 nm i 540 nm) i  ${}^4\text{F}_{9/2} \rightarrow {}^4\text{I}_{15/2}$  (crvena emisija na 655 nm). Na osnovu dobijenih spektara, urađen je proračun X i Y hromatskih koordinata kojim je definisan finalni svetlosni odziv svakog od sintetisanih uzoraka u ovom sistemu, a koje su predstavljene u okviru CIE dijagrama na slici 42c. Analizom ovog dijagrama može se uočiti da uzorke koji sadrže heksagonalnu fazu odlikuje zelena emisija svetlosti, dok se finalni svetlosni odziv uzoraka koji sadrže kubnu ili mešavinu kubne i heksagonalne  $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}$  faze pomera ka žuto-narandžastom delu spektra, usled jačanja crvene emisije. Kao što je već objašnjeno u poglavlju 2.4.3, do jačanja intenziteta crvene emisije u spektru može doći usled pobuđivanja  ${}^2\text{F}_{9/2}$  nivoa preko  ${}^4\text{I}_{13/2}$  nivoa,

multifononske relaksacije  ${}^4F_{7/2}$  nivoa preko  ${}^2H_{11/2}$  i  ${}^4S_{3/2}$  nivoa, kao i neradijativnih prelaza sa  ${}^4I_{11/2}$  nivoa na  ${}^4I_{13/2}$  nivo, isečak na slici 42b. U literaturi je pokazano da je proces neradijativne relaksacije  ${}^4I_{11/2} \rightarrow {}^4I_{13/2}$ , koji prethodi pobuđivanju  ${}^4F_{9/2}$  nivoa, posebno izražen u nanokristalima [105], što je i vidljivo u spektru uzorka UC-EDTA-100-0,5-aq kojeg odlikuje najmanja veličina kristalita (34 nm), kao i kod termički tretiranog uzorka, UC-EDTA-100-0,5-aq-TT. Suprotno tome, u spektrima uzoraka UC-EDTA-100-2-aq, UC-EDTA-100-2-aq-TT i UC-EDTA-100-20-aq, koji poseduju visoku kristaliničnost čestica mikronskih dimenzija, izražene su i ljubičasto/plave emisione linije na 375-415 nm, kao i pojava nove spektralne linije na 557 nm u zelenom delu spektra. Ova linija je posledica  ${}^2H_{9/2} \rightarrow {}^4I_{13/2}$  prelaza [106], koji doprinosi jačanju zelene emisije. Plava emisiona linija na 488 nm, koja potiče od  ${}^4F_{7/2} \rightarrow {}^4I_{15/2}$  prelaza, je karakteristična za uzorak UC-EDTA-10-2-Et, kojeg odlikuje monokristalna struktura čestica i odsustvo defekata koji dovode do gašenja luminescencije.

Za uzorke UC-EDTA-100-2-aq, UC-EDTA-100-2-aq-TT i UC-EDTA-100-20-aq koji su okarakterisani najjačim svetlosnim odzivom, određena su i vremena života plave, zelene i crvene emisije, slika 43, a dobijeni rezultati su prikazani u tabeli 7. Visoke vrednosti vremena života luminescencije (nekoliko stotina mikrosekundi) ukazuje na visoku populaciju nivoa koje odlikuju radijativni prelazi, kao i smanjeni intenzitet multifononske relaksacije sa  ${}^4F_{9/2}$  nivoa, odnosno uspešan transfer energije sa  $Yb^{3+}$  na  $Er^{3+}$  jon. U odnosu na podatke koji se mogu naći u literaturi, a koji se odnose na čestice istog sastava i morfologije dobijene korišćenjem KF i TSC-a (umesto NaF i EDTE): - (plava,  ${}^2H_{9/2} \rightarrow {}^4I_{15/2}$ ); 23.97-58.71  $\mu s$  (zeleno  ${}^4S_{3/2}$ ) i 121.54-276.69  $\mu s$  (crvena,  ${}^4F_{9/2} \rightarrow {}^4I_{15/2}$ ) [100], dobijeni rezultati su značajno bolji.

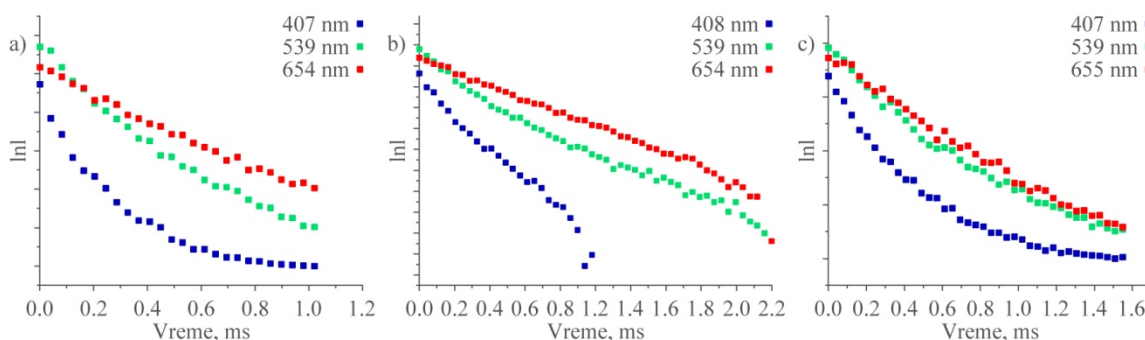




**Slika 42** a), b) Emisioni spektri sintetisanih prahova; c) CIE dijagram hromatskih koordinata koje definišu svetlosni odziv sintetisanih uzoraka u ovom sistemu UC-EDTA-100-0,5-aq (0.33, 0.63), UC-EDTA-100-2-aq (0.35, 0.62), UC-EDTA-100-20-aq (0.37, 0.59), UC-EDTA-10-2-Et (0.38, 0.52), UC-EDTA-100-2-aq-TT (0.51, 0.49), UC-EDTA-100-0,5-aq-TT (0.33, 0.63)

**Tabela 7.** Vreme života plave, zelene i crvene emisije

$\tau_D$ (ms)	$^2H_{9/2} \rightarrow ^4I_{15/2}$	$^2H_{11/2}, ^4S_{3/2} \rightarrow ^4I_{15/2}$	$^4F_{9/2} \rightarrow ^4I_{15/2}$
	Plava (407 nm)	Zelena (539 nm)	Crvena (655 nm)
UC-EDTA-100-2-aq	0,127	0,251	0,292
UC-EDTA-100-2-aq-TT	0,124	0,251	0,300
UC-EDTA-100-20-aq	0,237	0,335	0,386

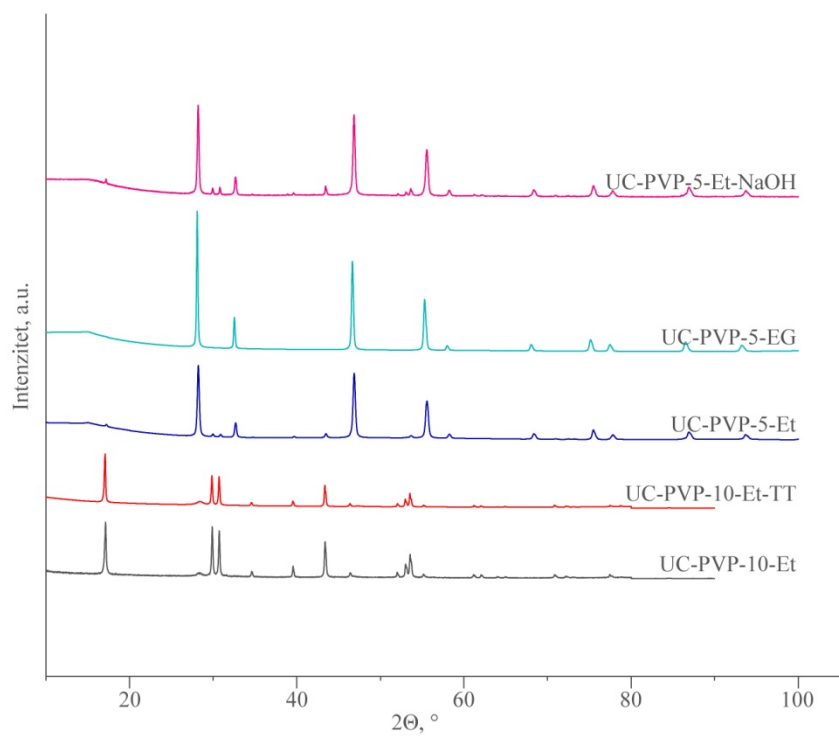


**Slika 43** Vreme života plave, zelene i crvene emisije za uzorke: a) UC-EDTA-100-2-aq; b) UC-EDTA-100-2-aq-TT; c) UC-EDTA-100-20-aq

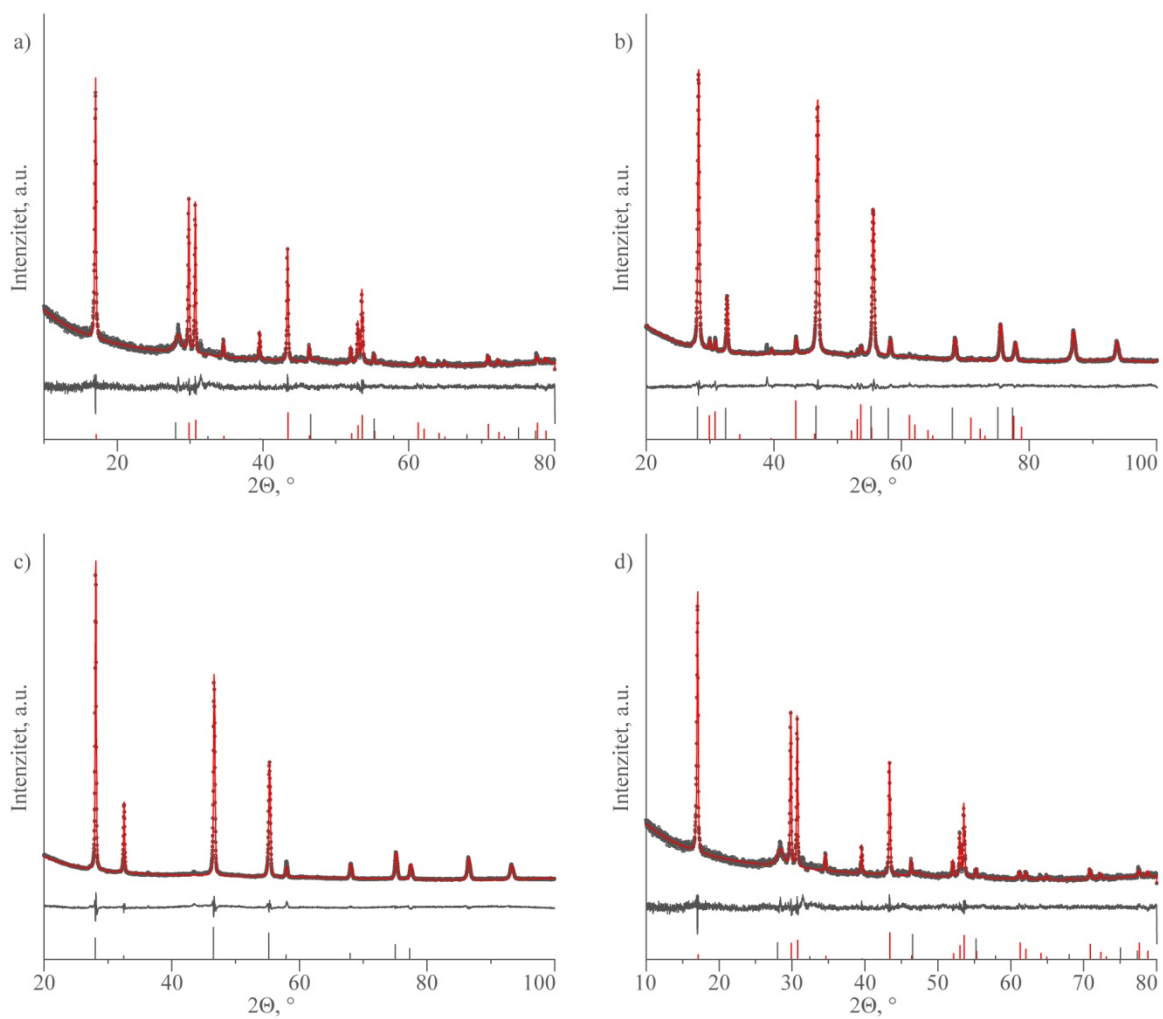
## 4.2. Analiza NaYF<sub>4</sub>:Yb,Er uzorka sintetisanog u prisustvu PVP-a

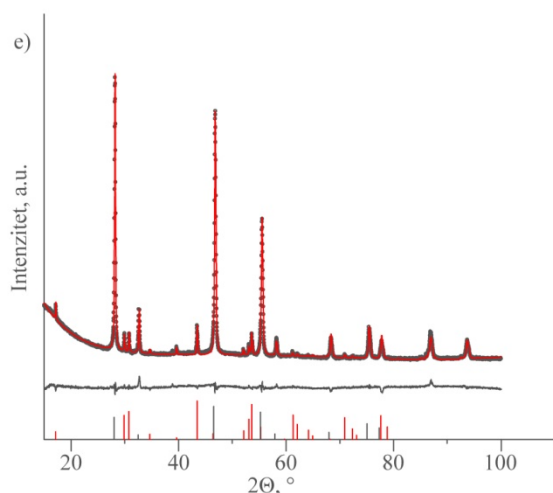
### 4.2.1. Rendgeno-strukturna analiza prahova

Promena koncentracije reaktanata, dodatni termički tretman, kao i izvođenje reakcije u solvotermalnim uslovima (korišćenje etanola i etilenglikola) u sistemu u kome je PVP korišćen kao ligand ima za rezultat formiranje prahova različitog faznog sastava pri istom vremenu sineze. Na slici 44 prikazani su rezultati difrakcije praha X-zracima uzoraka UC-PVP-10-Et, UC-PVP-10-Et-TT, UC-PVP-5-Et, UC-PVP-5-EG i UC-PVP-5-Et-NaOH sintetisanim u uslovima datim u tabeli 3. Kod ovih uzoraka dolazi do nukleacije kubne  $\alpha$ -NaYF<sub>4</sub>:Yb,Er (JCPDS 77-2042) ili heksagonalne  $\beta$ -NaYF<sub>4</sub>:Yb,Er (JCPDS 16-0334) faze u zavisnosti od koncentracije reaktanata i tipa rastvarača. Nukleacija heksagonalne faze u nanočesticama postignuta je u uzorku sintetisanom iz etanolskog rastvora prekursora veće koncentracije (UC-PVP-10-Et), dok je kubna struktura ona koja preovladava u nanočesticama sintetisanim iz rastvora niže koncentracije (UC-PVP-5-Et). Promena pH vrednosti (UC-PVP-5-Et-NaOH), kao i korišćenje etilenglikola (UC-PVP-5-EG) ne utiče na stepen transformacije kubne u heksagonalnu fazu, dok dodatni termički tretman uzorka UC-PVP-10-Et dovodi do smanjenja intenziteta refleksija kubne faze u uzorku UC-PVP-10-Et-TT. Detaljna analiza faznog sastava sintetisanih prahova u ovom sistemu, kao i određivanje strukturnih parametara dobijenih faza urađena je primenom Ritveldove metode u programu Topaz Academic, Slika 45, dok su dobijeni podaci prikazani u tabeli 8. Iz tabele se može videti da usled substitucije itrijuma jonima iterbijuma i erbijuma dolazi do promene parametara jedinične ćelije, što potvrđuje i snižena vrednost faktora okupacije katjonskog položaja koje zauzima Y<sup>3+</sup> (vrednost 1 odgovara stehiometriji nedopirane kubne NaYF<sub>4</sub> faze). Pri utičnjavanju heksagonalne faze korišćene su fiksirane vrednosti okupacionog faktora itrijuma prostorne grupe *P63/m*, jer je time postignuta najbolja saglasnost modelovanih i eksperimentalno dobijenih podataka.



**Slika 44** Difrakcija praha X-zracima uzoraka iz sistema UC-PVP





**Slika 45** Strukturno utučnjavanje uzoraka: a) UC-PVP-10-Et; b) UC-PVP-5-Et; c) UC-PVP-5-EG d) UC-PVP-10-Et-TT; e) UC-PVP-5-Et-NaOH. Difraktogrami dobijeni merenjem su dati kao crni krugovi, primenom Ritveldove metode crvenom linijom, dok je njihova razlika predstavljena sivom linijom. Referentne refleksije prisutnih faza označene su vertikalnim linijama u dnu dijagrama, crvenom bojom predstavljena je  $\beta$ - NaYF<sub>4</sub>:Yb,Er faza, dok je  $\alpha$ - NaYF<sub>4</sub>:Yb,Er faza označena crnom bojom.

**Tabela 8.** Podaci dobijeni strukturnim utučnjavanjem Ritveldovom metodom

	UC-PVP-10-Et		UC-PVP-10-Et-UC-PVP-5-Et- Et-TT		UC-PVP-5-Et-NaOH		UC-PVP-EG
	Hex. <i>P63/m</i>	Cubic <i>Fm-3m</i>	Hex. <i>P63/m</i>	Cubic <i>Fm-3m</i>	Cubic <i>Fm-3m</i>	Hex. <i>P63/m</i>	Cubic <i>Fm-3m</i>
<b>Glavna faza,</b>	Hex. <i>P63/m</i>	Cubic <i>Fm-3m</i>	Hex. <i>P63/m</i>	Cubic <i>Fm-3m</i>	Cubic <i>Fm-3m</i>	Hex. <i>P63/m</i>	Cubic <i>Fm-3m</i>
<b>Tež. %</b>	78%	22%	91%	92%	97%	3%	100%
<b>a (Å)</b>	5.9771 (2)	5.4553 (2)	5.9762 (2)	5.489	5.4885 (1)	5.9752 (3)	5.509
<b>c (Å)</b>	3.5145 (1)		3.5093 (1)			3.5109 (3)	
<b>CS* (nm)</b>	78 (2)	11 (1)	100 (3)	34.1 (5)	53 (1)	104 (4)	102 (20)
<b>Mikronaprezanje (%)</b>	0.06 (2)	1.1 (1)	0.03 (1)	0.07 (1)	0.09 (1)	-	0.11
<b>R<sub>Bragg</sub></b>	4.5	1.2	2.1	1.9	1.9	-	2.2
<b>Okup. Y<sup>3+</sup></b>	-	-	-	0.62 (1)	0.4	-	0.8
<b>Dodatna</b>	-	-	Cubic <i>Fm-3m</i>	Hex. <i>P63/m</i>	-	-	-
<b>faza, tež. %</b>			9%	8%			

$\alpha$ - NaYF<sub>4</sub> (JCPDS 77-2042): a=5.47 Å

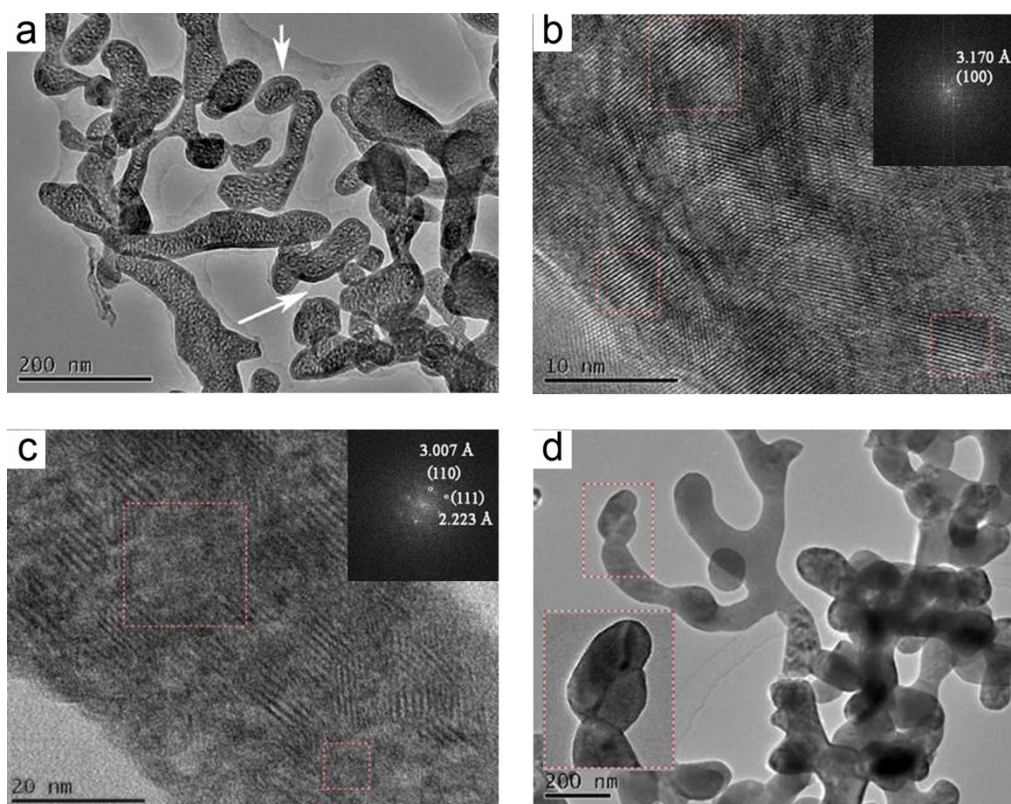
$\beta$ - Na<sub>1.5</sub>Y<sub>1.5</sub>F<sub>6</sub> (JCPDS 16-0334) a=5.96 Å c=3.53 Å

\*CS eng. crystallites sizes -veličina kristalita

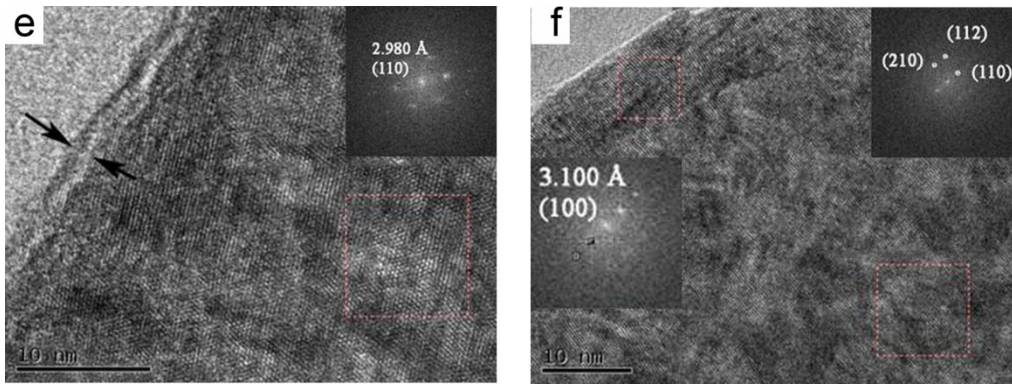
#### 4.2.2. Morfologija, hemijski i fazni sastav prahova

Na slikama 46 i 47 prikazani su rezultati TEM i SEM analiza uzoraka UC-PVP-10-Et i UC-PVP-10-Et-TT, odnosno UC-PVP-5-Et, UC-PVP-5-Et-NaOH i UC-PVP-5-EG, redom stoji. Kod uzorka UC-PVP-10-Et, većina čestica su izduženog, nepravilnog oblika, slika 46a. Pored toga postoji i mali udeo sferičnih čestica. Sve čestice su međusobno povezane tankim

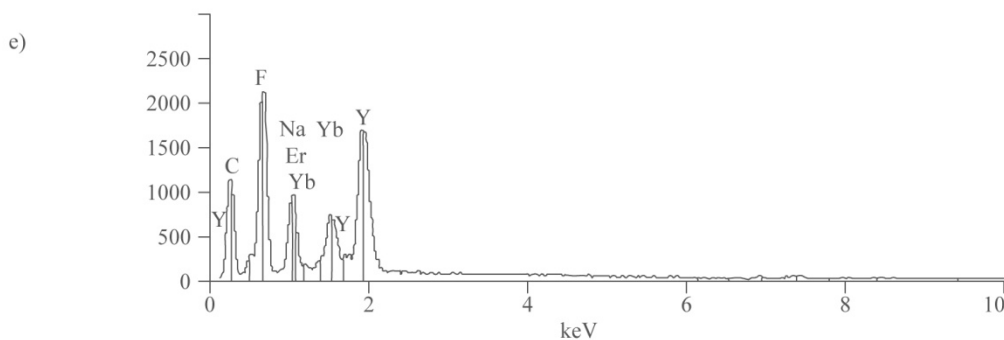
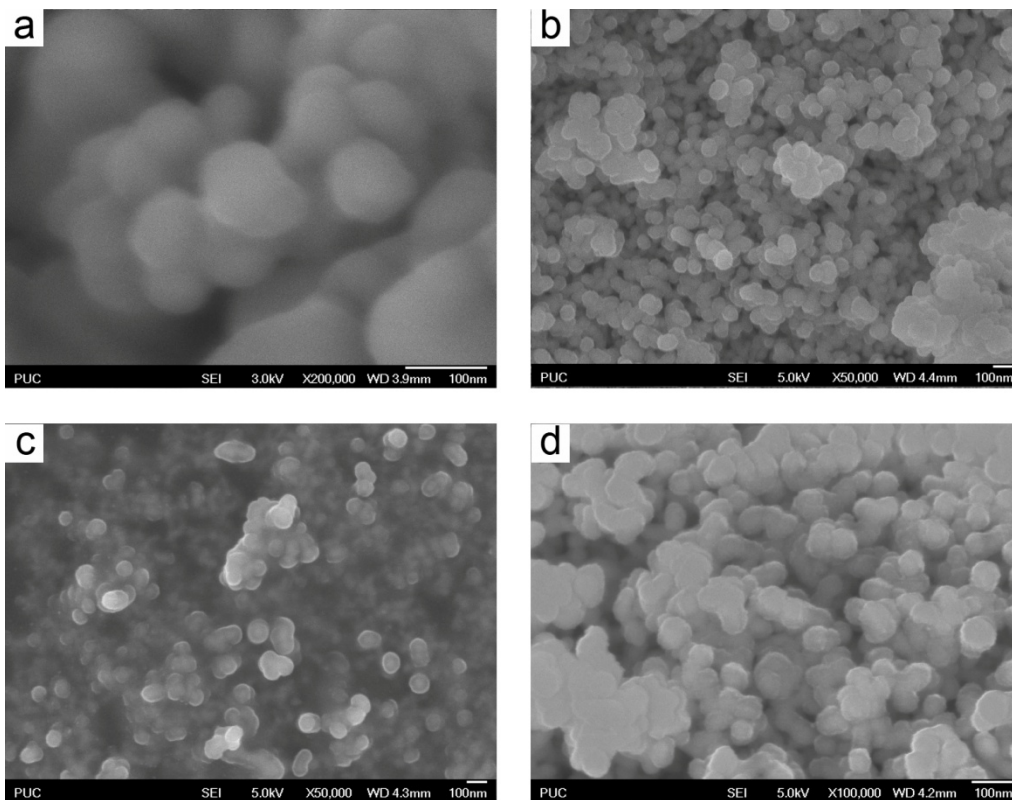
amornim filmom koji najverovatnije potiče od PVP-a. Nezavisno od oblika, čestice odlikuje visoka kristaliničnost, a FFT analizom je potvrđeno prisustvo kubne (isečak na slici 46b) i heksagonalne (isečak na slici 46c)  $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}$  faze u njima. Dodatni termički tretman ne dovodi do značajnije promene morfologije čestica (uzorak UC-PVP-10-Et-TT, slika 46d) ali doprinosi rastu kristalita usled međučestičnog sinterovanja prikazanog na isečku slike 46d. U ovom uzorku uočljivo je i prisustvo Moiréovih linija (slika 46e), koje nastaju preklapanjem ravni kristalnih rešetki dva kristalita slične orijentacije [107]. FFT analizom potvrđeno je prisustvo heksagonalne faze u česticama, dok se na njihovoj površini uočava tanak sloj amorfne (PVP) ili kubne ( $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}$ ) faze, slike 46e, f, redom stoji. Prisustvo kubne faze na površini čestica ukazuje da na mestima na kojima je došlo do kontakta dva zrna različitog kristalnog uređenja dolazi do transformacije kubne u heksagonalnu fazu Ostwaldovim procesom srastanja [108]. FESEM mikrografije uzoraka UC-PVP-5-Et, UC-PVP-5-Et-NaOH i UC-PVP-5-EG (slika 47) pokazuje da promena koncentracije prekursora, pH vrednosti i rastvarača utiče na promenu morfologije čestica, na način da je većina čestica pravilnijeg, sferičnog oblika. Sferičnost čestica je delimično uslovljena i kristalizacijom kubne faze u ovim uzorcima, kao i malom veličinom kristalita (tabela 8). Tipična EDS analiza uzoraka iz UC-PVP sistema, slika 47e, potvrđuje visok stepen čistoće i prisustvo dopanata.







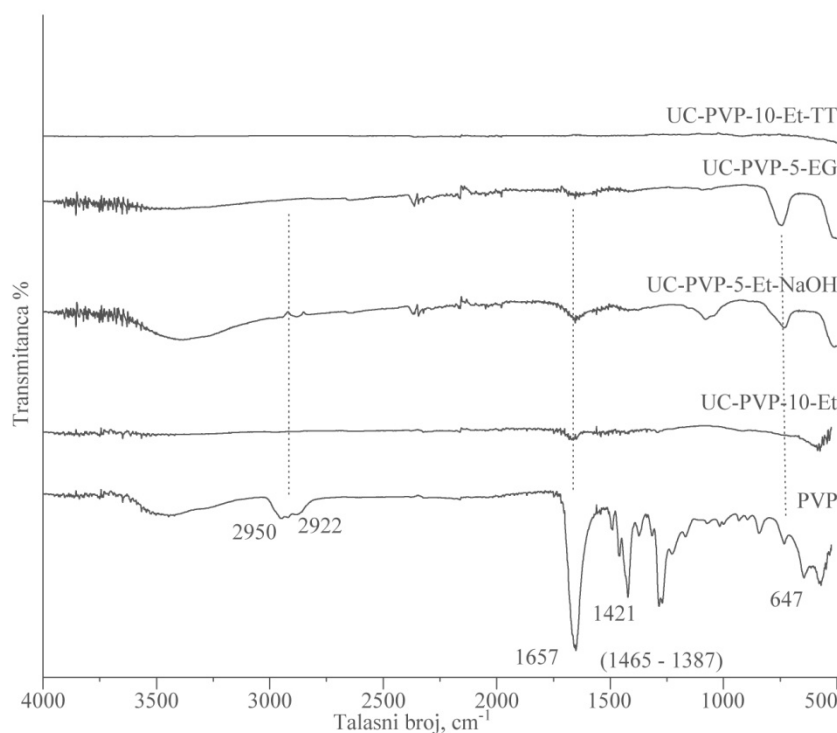
**Slika 46** TEM mikrografije uzorka a-c) UC-PVP-10-Et i d-f) UC-PVP-10-Et-TT



**Slika 47** FESEM mikrografije uzorka a) UC-PVP-5-Et b) UC-PVP-5-Et-NaOH i c-d) UC-PVP-5-EG, e) Tipična EDS analiza uzorka iz sistema UC-PVP

### 4.2.3. FTIR analiza uzorka

FTIR analiza uzoraka sintetisanih korišćenjem PVP-a u različitim reakcionim medijima, kao i čistog PVP-a, prikazana je na slici 48. Na osnovu literaturnih podataka [70, 109] izvršeno je označavanje traka prisutnih u spektru sintetisanih uzoraka i to: asimetrično istezanje  $\text{CH}_2$  (prsten) na  $2950\text{ cm}^{-1}$ , simetrično istezanje  $\text{CH}_2$  (lanac) na  $2922\text{ cm}^{-1}$ ,  $\text{C}=\text{O}$  istezanje na  $1657\text{ cm}^{-1}$ , istezanje pirolidonskog prstena u opsegu od  $1465\text{ cm}^{-1}$  do  $1387\text{ cm}^{-1}$  i amid IV istezanje na  $647\text{ cm}^{-1}$ . Iako su pikovi oslabljenog intenziteta, njihovo postojanje potvrđuje prisustvo polivinilpirolidona, na šta je ukazala i prethodna TEM i SEM analiza. Sa druge strane FTIR analiza termički tretiranog uzorka, UC-PVP-10-Et-TT, pokazala je odsustvo karakterističnih pikova PVP funkcionalnih grupa.

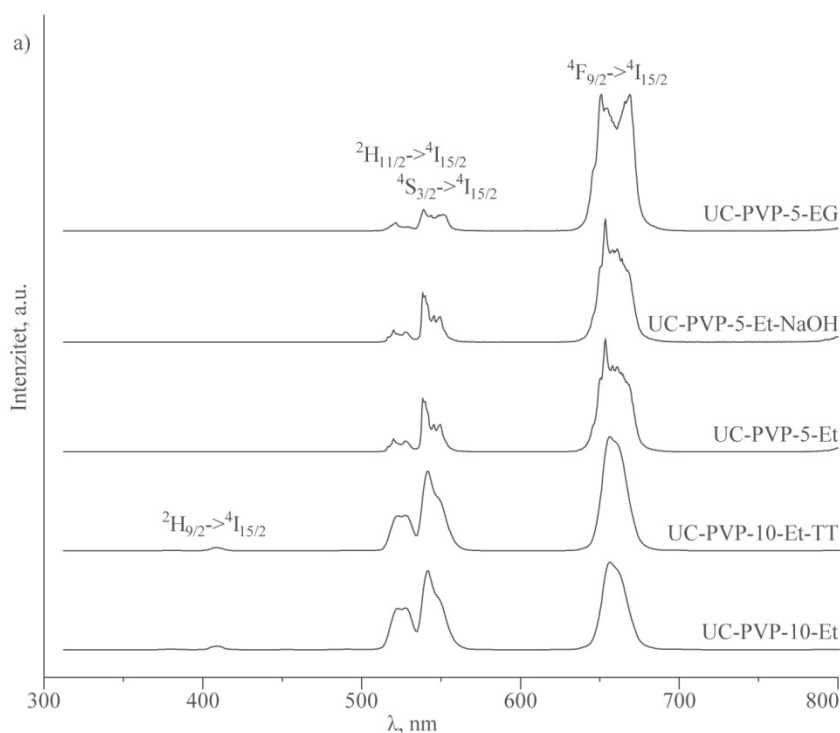


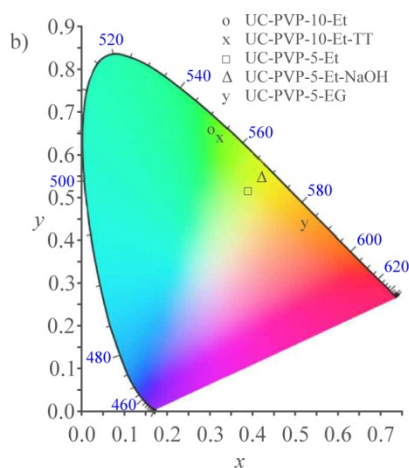
**Slika 48** FTIR analiza čistog PVP i uzorka iz sistema UC-PVP

### 4.2.4. Fotoluminescentne karakteristike uzorka

„Up“- konverzija uzorka merena je pri pobuđivanju od 980 nm, a dobijeni spektri su prikazani na slici 49a. Kao i u prethodnom sistemu, uzorci emituju svetlost u plavom (420 nm), zelenom (510-560 nm) i crvenom (640-690 nm) delu spektra, usled prelaza koji su

opisani u Poglavlju 4.1.4. Prisustvo kubne ili heksagonalne faze u uzorcima značajno utiče na oštrinu i intenzitet emisionih linija, a samim tim i na finalni svetlosni odziv čestica. Tako uzorak UC-PVP-5-EG koji sadrži kubnu NaYF<sub>4</sub>:Yb,Er fazu emituje svetlost žuto-narandžastog dela spektra, CIE (0.56, 0.44), dok kod uzoraka UC-PVP-10-Et, UC-PVP-10-Et-TT, UC-PVP-5-Et i UC-PVP-5-Et-NaOH koji sadrže heksagonalnu fazu dolazi do pomeraja CIE koordinata ka zelenom delu spektra, slika 49c. Razlog tome je što heksagonalna faza ima nižu simetriju kristalne ćelije koja povećava verovatnoću realizacije  $4f-4f$  prelaza. Iako termički tretirani uzorak UC-PVP-10-Et-TT ima najveći težinski procenat heksagonalne faze, uzorak UC-PVP-10-Et emituje intenzivniju zelenu svetlost. Ovo se može objasniti pojavom međučestičnog sinterovanja i prisustvom kubne faze na površini heksagonalne NaYF<sub>4</sub>:Yb,Er faze u termički tretiranom uzorku, a može biti i posledica razlaganja PVP-a i formiranja organskih liganada (C-H i C-C vibracionih oscilatora) koji dovode do parcijalnog gašenja luminescencije [45, 110]. U spektrima uzoraka UC-PVP-5-Et i UC-PVP-5-Et-NaOH, vidljivo je razdvajanje emisionih linija u zelenom opsegu usled podele  $^4S_{3/2}$  energetskeg nivoa uzrokovane homogenijom distribucijom dopanata u NaYF<sub>4</sub> matrici kod ovih uzoraka [111].



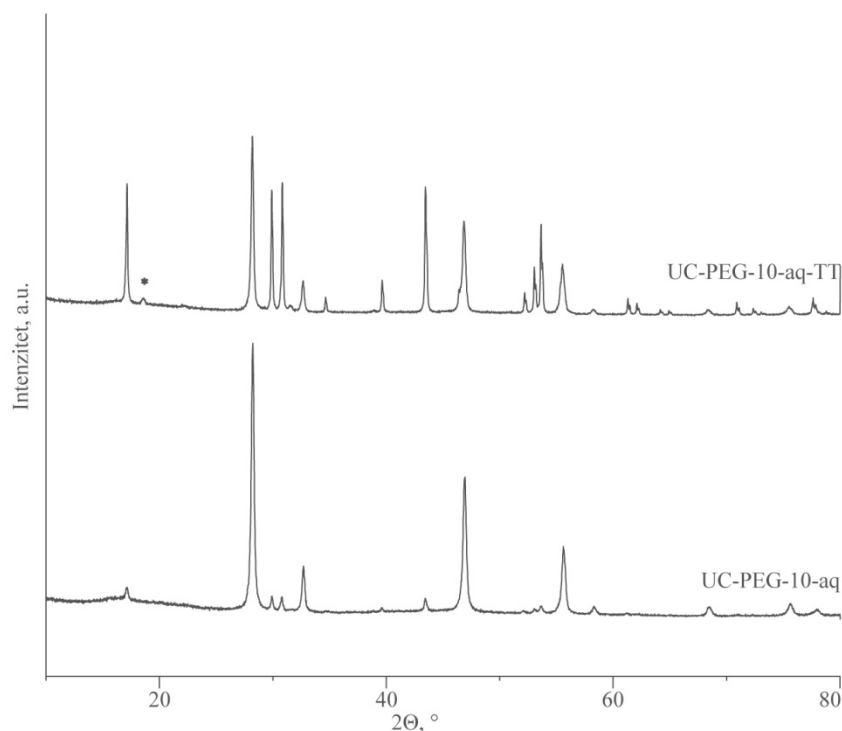


**Slika 49** a) Emisioni spektri sintetisanih prahova UC-PVP b) CIE dijagram hromatskih koordinata koje definišu svetlosni odziv sintetisanih uzoraka u ovom sistemu UC-PVP-10-Et (0.31, 0.66), UC-PVP-10-Et-TT (0.33, 0.64), UC-PVP-5-Et (0.43, 0.55), UC-PVP-5-Et-NaOH (0.46, 0.53), UC-PVP-5-EG (0.55, 0.44)

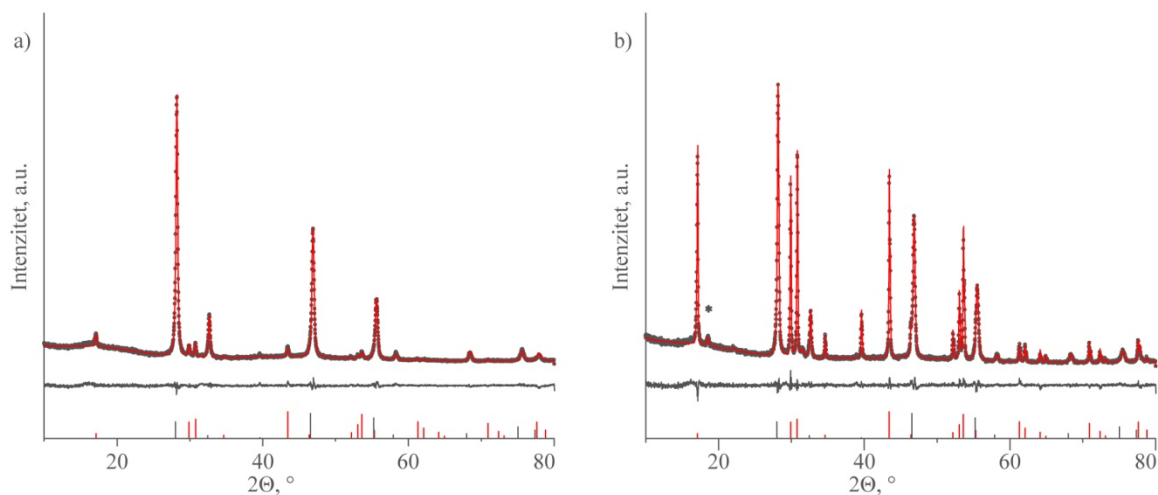
### 4.3. Analiza $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}$ uzorka sintetisanog u prisustvu PEG

#### 4.3.1. Rendgeno-strukturna analiza prahova

Rezultat difrakcije praha X-zracima uzorka  $\text{NaY}_{0.8}\text{Yb}_{0.17}\text{Er}_{0.03}\text{F}_4$  sintetisanog u prisustvu PEG-a, slike 50 i 51a, pokazuje da čestice u ovom sistemu primarno kristališu u kubnoj kristalnoj strukturi (97,8 tež. %), prostorne grupe  $Fm-3m$  (JCPDS 77-2042), dok se heksagonalna  $P63/m$  (JCPDS 16-0334) faza javlja kao prateća, tabela 9. Dodatni termički tretman dovodi do značajnog formiranja heksagonalne faze (42 tež. %), kao i nukleacije monoklinične  $\text{Na}_3\text{YF}_3$  faze prostorne grupe  $P121/n1$  (najjača refleksija, pod uglom od  $2\theta$  na  $18.6^\circ$ , ove faze obeležena je sa \* na slici 50). Sadržaj ove faze od 5.2 % težinskih određen je strukturnim utačnjavanjem, slika 51b, tabela 9. Transformacija kubne  $\text{NaYF}_4$  faze u monokliničnu fazu sastava  $\text{Na}_3\text{YF}_3$  je već zabeležena u literaturi u temperaturnom opsegu od  $530-800^\circ\text{C}$  [112]. S obzirom da pored temperature i veličina kristalita značajno utiče na pojavu fazne transformacije [113], male veličine kristalita kubne faze od 41 nm omogućile su nastajanje ove faze na temperaturi od  $400^\circ\text{C}$ . Inkorporaciju jona dopanata u kristalnu rešetku  $\text{NaYF}_4$ , potvrđena je kao i u prethodnim sistemima određivanjem faktora okupacije katjonskog mesta na koje se smešta  $\text{Y}^{3+}$ , i dobijena vrednost od 0.80(3) odgovara zadatoj stehiometriji  $\text{NaY}_{0.8}\text{Yb}_{0.17}\text{Er}_{0.03}\text{F}_4$  jedinjenja.



**Slika 50** Difrakcija praha X-zracima uzoraka iz sistema UC-PEG



**Slika 51** Utačnjavanje strukture Ritveldovom metodom u programu Topas Academic za sistem a) UC-PEG-10-aq i b) UC-PEG-10-aq-TT. Difraktogrami dobijeni merenjem su dati kao crni krugovi, primenom Ritveldove metode crvenom linijom, dok je njihova razlika predstavljena sivom linijom. Referentne refleksije prisutnih faza označene su vertikalnim linijama u dnu dijagrama, crvenom bojom predstavljena je  $\beta$ - NaYF<sub>4</sub>:Yb,Er faza, dok je  $\alpha$ - NaYF<sub>4</sub>:Yb,Er faza označena crnom bojom.

**Tabela 9.** Podaci dobijeni strukturnim utačnjavanjem Ritveldovom metodom

	UC-PEG-10-aq	UC-PEG-10-aq-TT	
<b>Glavna faza,</b>	Cubic <i>Fm-3m</i>	Cubic <i>Fm-3m</i>	Hex. <i>P63/m</i>
<b>tež. %</b>	97.80%	52.80%	42%
<b>a (Å)</b>	5.4835 (2)	5.4897 (1)	5.9802 (1)
<b>c (Å)</b>			3.5061 (1)
<b>CS* (nm)</b>	41 (1)	60 (3)	136 (3)
<b>Mikronaprezanje (%)</b>	0.11 (1)	0.26 (2)	0.15 (1)
<b>R<sub>bragg</sub></b>	1.3	1.1	2.4
<b>Okup. Y<sup>3+</sup></b>	0.80 (3)	0.80 (3)	-
<b>Dodatna</b>	Hex. <i>P63/m</i>	Monoclinic <i>P121/n1</i>	
<b>faza, tež %</b>	2.20%	Na <sub>3</sub> YF <sub>3</sub> - 5.2 %	

$\alpha$ - NaYF<sub>4</sub> (JCPDS 77-2042): a=5.47Å

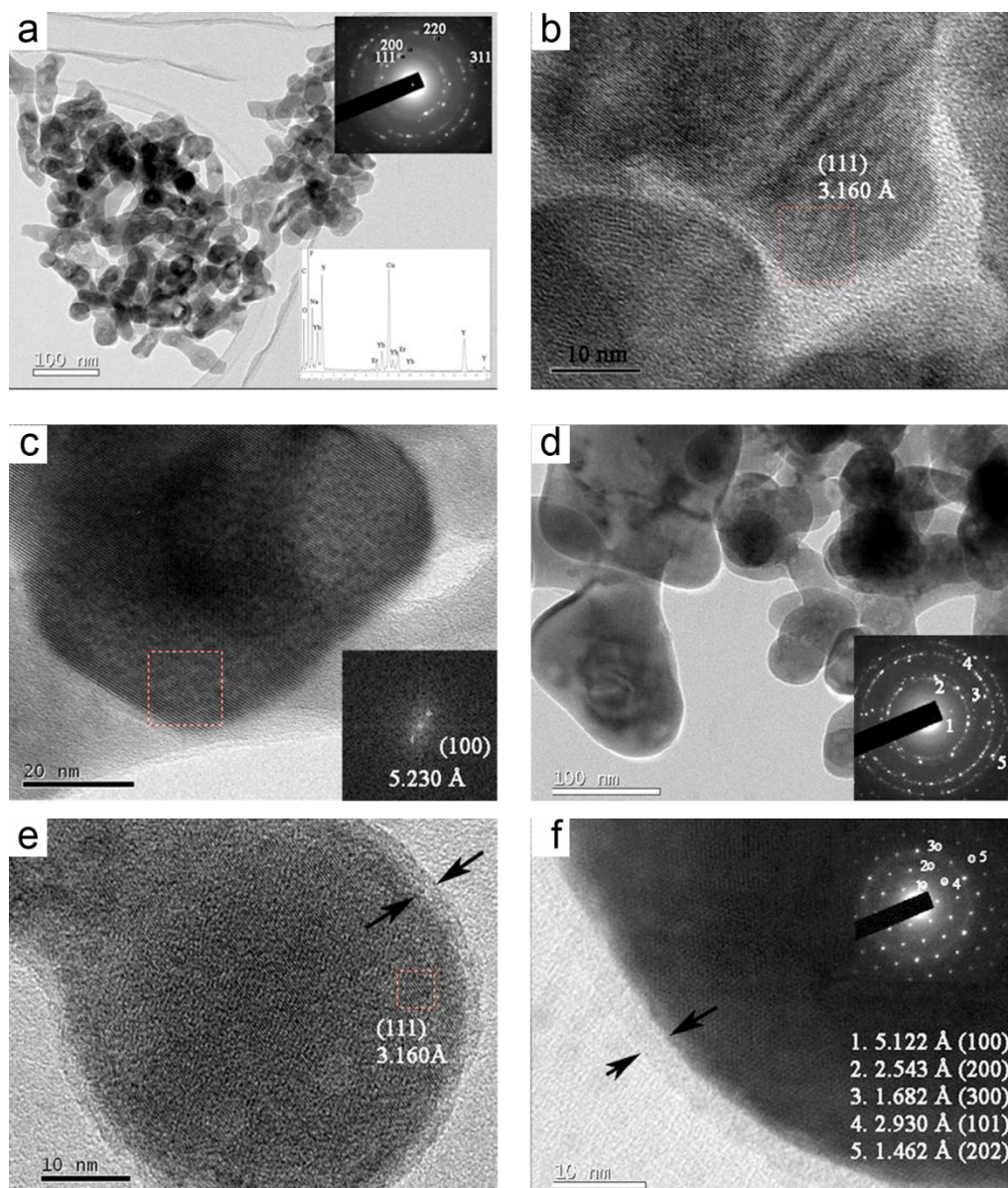
$\beta$ - Na<sub>1.5</sub>Y<sub>1.5</sub>F<sub>6</sub> (JCPDS 16-0334) a=5.96 Å c=3.53 Å

\*CS eng. crystallites sizes -veličina kristalita

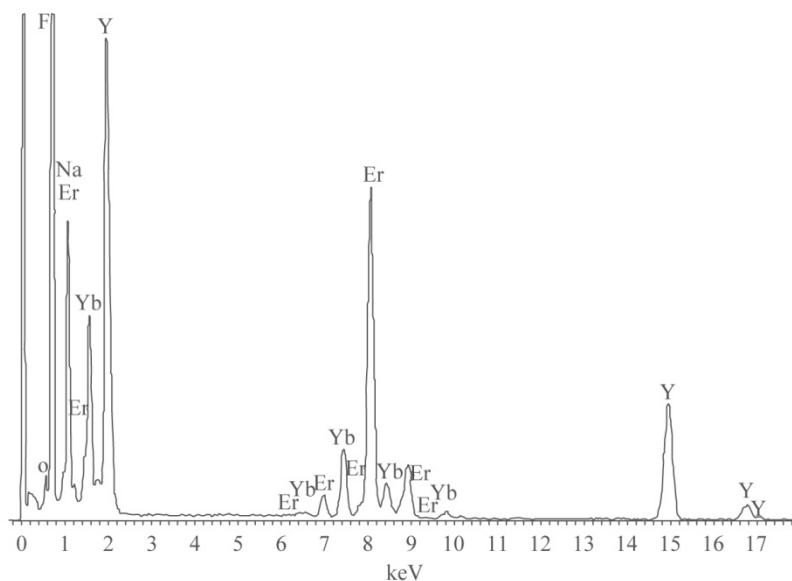
#### 4.3.2. Morfologija, hemijski i fazni sastav prahova

Tipična morfologija čestica NaYF<sub>4</sub>:Yb,Er sintetisanih u prisustvu PEG-a prikazana je na slici 52. Slabo aglomerisane čestice oblika nepravilne sfere, veličine manje od 100 nm izgrađene su od manjih kristalita, slika 52a. Odgovarajući SAED dijagram koji je prikazan kao isečak na slici 52a, potvrđuje prisustvo kubne *Fm-3m* NaYF<sub>4</sub> faze u njima (JCPDS 77-2042), dok EDS prikazan na slici 53 ukazuje na visoku čistoću čestica, kao i prisustvo dopanata. S porastom uvećanja (slika 52b) moguće je zaključiti da su čestice čija je veličina oko 40 nm, na kojima se jasno uočava (1 1 1) ravan, monokristalne. Prisustvo heksagonalne (*P63/m*) faze potvrđeno je u većim zrnima nepravilnog oblika, prikazanim na slici 52c. Uočeno međuravansko rastojanje od 5.230 Å odgovara (1 0 0) ravni heksagonalne faze (JCPDS 16-0334). Prisustvo Moiréovih linija uočljivo je na slikama 52b i 52c. Dodatni termički tretman dovodi do rasta čestica kao i do boljeg definisanja njihovog obilka, te je u ovom uzorku jasnije prisustvo čestica poligonalnog oblika, veličine oko 100 nm i dvostruko manjih sferičnih čestica, slika 52d. SAED analize grupe čestica prikazanih na slici 52b potvrđuju prisustvo refleksija obe faze. Prstenovi povezani sa heksagonalnom fazom obeleženi su brojevima 1, 3 i 5 (i odgovaraju (1 0 0), (2 0 1) i (1 0 2) ravnima), dok su ravni koje pripadaju kubnoj fazi (1 1 1) i (3 1 1) obeležene brojevima 2 i 4. Sferična čestica veličine ~60 nm, prikazana na slici 52e, poseduje monokristalu kubnu prirodu, što je u skladu sa izračunatom vrednošću veličine kristalita kubne faze, tabela 9. Kontura slabijeg kontrasta vidljiva na ivici

čestice sugeriraju prisustvo amornog omotača debljine od oko 2 nm. Njegovo prisustvo je uočljivo i na poligonalnim česticama heksagonalne faze koje takođe poseduju monokristalnu prirodu, slika 52f. Predpostavka je da je usled dodatnog termičkog tretmana došlo do razgradnje PEG-a, i formiranja amornog ugljenika.



**Slika 52** TEM mikrografije uzorka a-c) UC-PEG-10-aq i d-f) UC-PEG-10-aq-TT

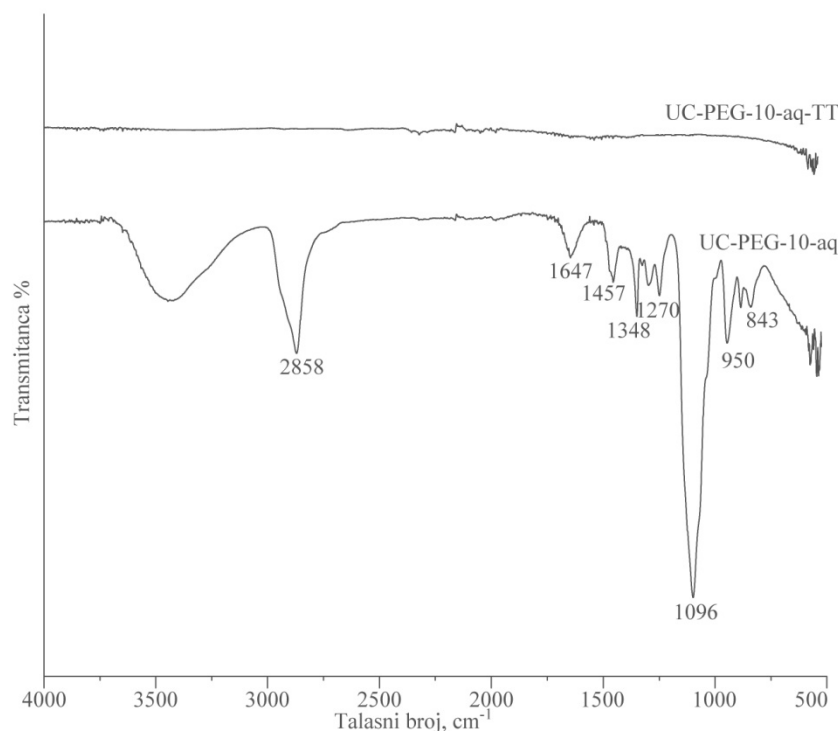


**Slika 53** Tipična EDS analiza uzorka iz sistema UC-PEG

### 4.3.3. FTIR analiza uzorka

U cilju određivanja prisustva PEG liganda i prirode amorfne faze vidljive na TEM mikrografijama čestica ovog sistema, urađena je FTIR analiza uzoraka UC-PEG-10-aq i UC-PEG-10-aq-TT, slika 54. Dobijeni FTIR spekter ukazuje na očuvanje svih funkcionalnih grupa PEG-a, i to: široka traka na  $3000\text{--}3700\text{ cm}^{-1}$  potiče od istežanja hidroksilnih grupa (-OH), traka na  $2850\text{ cm}^{-1}$  odgovara simetričnom  $\text{-CH}_2$  istežanju, traka na  $1647\text{ cm}^{-1}$  je usled N-H savijanja, traka na  $1457\text{ cm}^{-1}$  označava deformaciju  $\text{CH}_2$  grupe, traka na  $1348\text{ cm}^{-1}$  je posledica  $\text{CH}_2$  pomeraja, traka na  $1277\text{ cm}^{-1}$  je usled deformacije C-H, traka na  $1096\text{ cm}^{-1}$  odgovara C-O-C istežanju van ravni, i trake na  $950$  i  $843\text{ cm}^{-1}$  ukazuju na simetrično C-O-C istežanje u ravni [114, 115]. Intenziteti pikova potvrđuje da su čestice  $\text{NaYF}_4\text{:Yb,Er}$  obložene PEG-om, dok pomeraj C-O-C grupe od oko  $10\text{ cm}^{-1}$  sugeriše da je došlo do formiranja hemijske veze između PEG i  $\text{NaYF}_4\text{:Yb,Er}$  čestica [115]. Sa druge strane na FTIR spektru termički tretiranog uzorka, UC-PEG-10-aq-TT, primećeno je odsustvo pikova funkcionalnih grupa PEG-a, što ukazuje da je nakon dodatnog termičkog tretmana došlo do njegove dekompozicije.

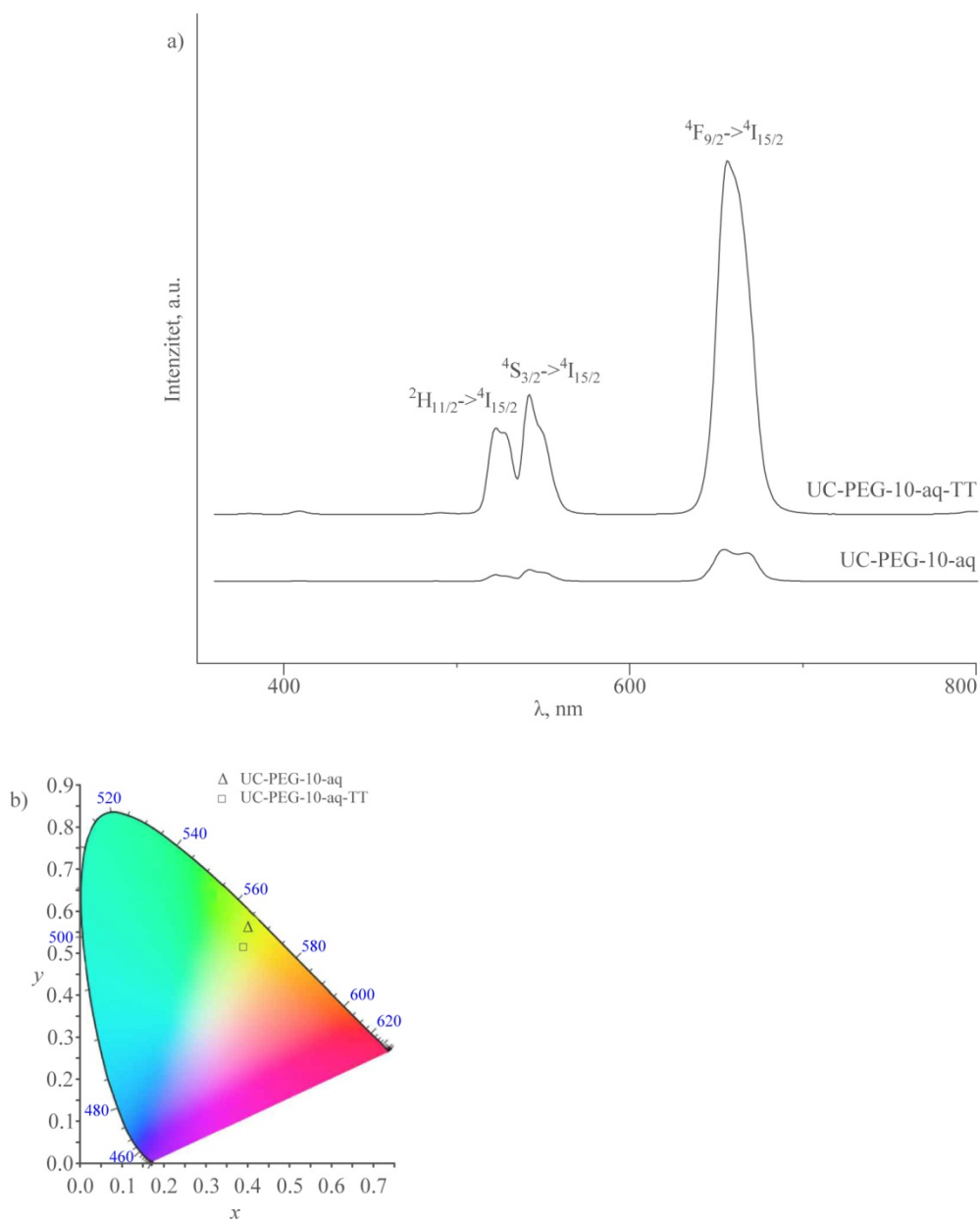




**Slika 54** FTIR analiza uzorka UC-PEG-10-aq i UC-PEG-10-aq-TT

#### 4.3.4. Fotoluminescentne karakteristike uzorka

Na slici 55a prikazan je spektar „up“- konverzije uzorka NaYF<sub>4</sub>:Yb,Er sintetisanih u prisustvu PEG-a, merene pri eksitaciji od 980 nm. Širina i nizak intenzitet uočenih spektralnih linija uzorka UC-PEG-10-aq može biti posledica prisustva hidroksilnih grupa, čije je prisustvo potvrđeno FTIR analizom. Naime, pokazano je da prisustvo -OH grupa na površini NaYF<sub>4</sub>:Yb,Er nanočestica, može biti posledica ne samo adsorpcije već i formiranja Y-OH veze usled odvijanja procesa sinteze u prisustvu vode [116]. U tom slučaju hidroksilna grupa dovodi do gašenja „up“- konvertorske emisije, odnosno dovodi do smanjenja njenog intenziteta, usled multifononske relaksacije Er<sup>3+</sup> jona:  $^4I_{11/2} \rightarrow ^4I_{13/2}$  i  $^2H_{11/2}$ ,  $^4S_{3/2} \rightarrow ^4F_{9/2}$  [116, 117]. Ove relaksacije favorizuju eksitaciju  $^4F_{9/2}$  nivoa, pri čemu dolazi do povećanja intenziteta crvene emisije u odnosu na zelenu, što je prikazano na slici 55a. Obzirom da je u ovom sistemu potvrđeno i prisustvo heksagonalne faze, obe spektralne linije, i zelena (na 521 nm i 540 nm) i crvena (na 655 nm) su prisutne u spektrima, pa je finalna emisija svetlosti oba uzorka zeleno-žute boje (UC-PEG-10-aq: CIE 0.41, 0.56 i UC-PEG-10-aq-TT: CIE 0.39 i 0.50).



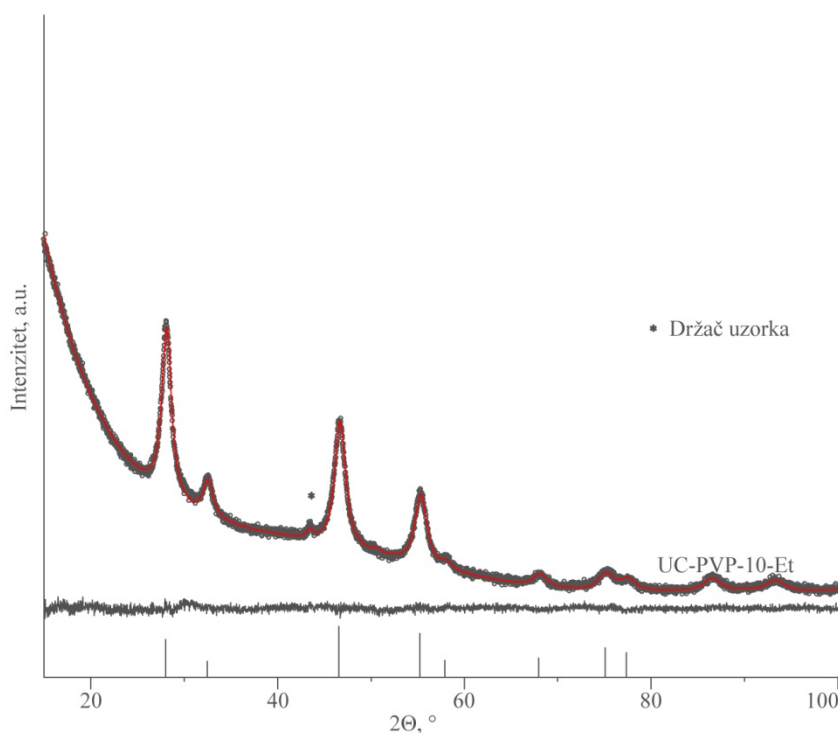
**Slika 55** a) Emisioni spektri sintetisanih prahova UC-PEG b) CIE dijagram hromatičnosti

#### 4.4. Analiza NaYF<sub>4</sub>:Yb,Er uzorka sintetisanog u prisustvu PAA

##### 4.4.1. Rendgeno-strukturna analiza praha

Na slici 56 prikazan je rezultat difrakcije praha X-zracima uzorka NaY<sub>0.8</sub>Yb<sub>0.17</sub>Er<sub>0.03</sub>F<sub>4</sub> sintetisanog u prisustvu PAA na osnovu kojeg se može videti da su dobijene čestice kubne strukture (JCPDS 77-2042), prostorne grupe *Fm-3m*. Strukturnim utajnjavanjem određena je

veoma mala veličina kristalita NaYF<sub>4</sub>:Yb,Er faze od svega 7.4(1) nm, kao i veličina jedinične ćelije od  $a = 5.516 \text{ \AA}$ . Nešto veća vrednost okupacionog faktora za katjonsko mesto na kojem su smešteni joni itrijuma od 0.80(2) sugeriše da u ovom uzorku nije došlo do potpune ugradnje dopanata u rešetku NaYF<sub>4</sub> faze, tabela 10.



**Slika 56** Utačnjavanje strukture Ritveldovom metodom u programu Topas Academic za sistem UC-PAA-5-Et. Difraktogrami dobijeni merenjem su dati kao crni krugovi, primenom Ritveldove metode crvenom linijom, dok je njihova razlika predstavljena sivom linijom. Referentne refleksije prisutnih faza označene su vertikalnim linijama u dnu dijagrama,  $\alpha$ -NaYF<sub>4</sub>:Yb,Er faza je označena crnom bojom.

**Tabela 10.** Podaci dobijeni strukturnim utačnjavanjem Ritveldovom metodom

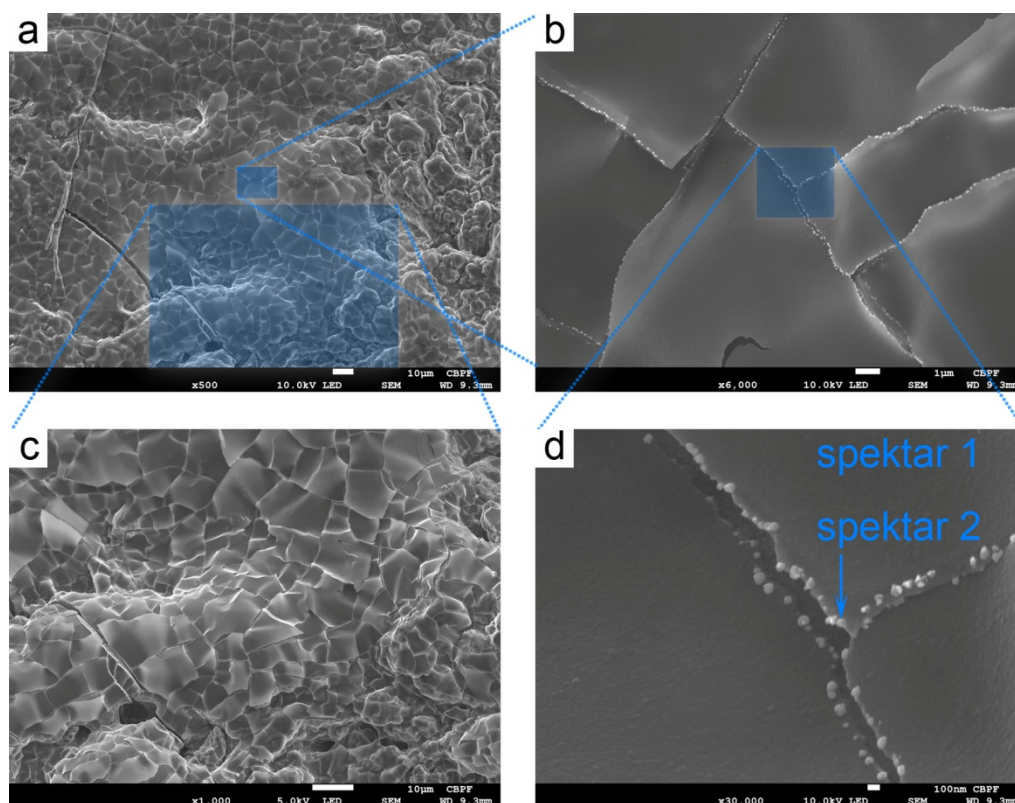
<b>UC-PAA-5-Er</b>	
<b>Glavna faza,</b>	Cubic <i>Fm-3m</i>
<b>tež. %</b>	100%
<b>a (Å)</b>	5.516 (1)
<b>c (Å)</b>	
<b>CS* (nm)</b>	7.4 (1)
<b>Mikronaprezanje (%)</b>	0.59 (2)
<b>R<sub>bragg</sub></b>	1.7
<b>Okup. Y<sup>3+</sup></b>	0.80 (2)
<b>Dodatna faza, tež. %</b>	-
<b>GoF</b>	-

---

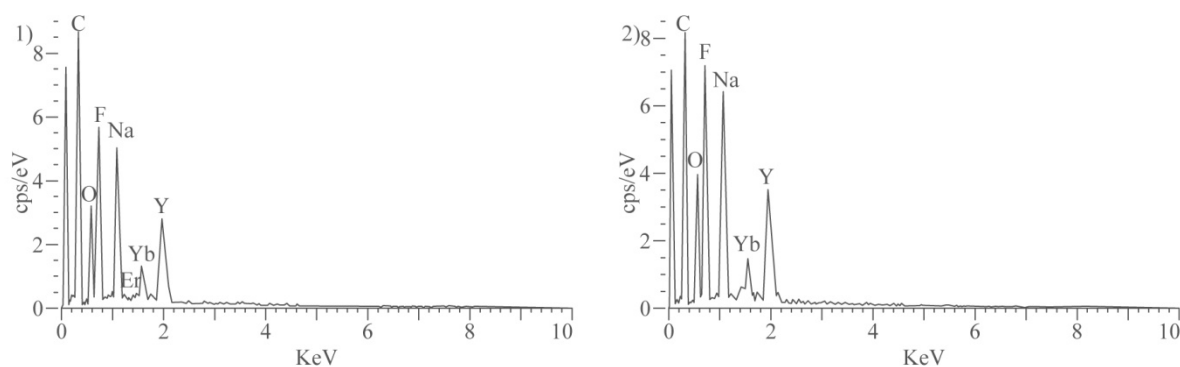
$\alpha$ -NaYF<sub>4</sub> (JCPDS 77-2042): a=5.47Å  
\*CS eng. crystallites sizes -veličina kristalita

#### 4.4.2. Morfologija, hemijski i fazni sastav praha

Tipična morfologija čestica NaYF<sub>4</sub>:Yb,Er sintetisanih u prisustvu PAA prikazana je na slici 57. Ona pokazuje da je ovaj uzorak sačinjen od aglomerisanih nanofolija. Njihova debljina iznosi svega nekoliko nanometra, dok su im širina i dužina u mikrometarskom opsegu veličina (do 10 μm), slika 57b. Prisustvo nanočestica na ivici folija ukazuje na činjenicu da su folije verovatno i sačinjene od njih, što potvrđuje i njihova EDS analiza, slika 58.



**Slika 57** FESEM analiza uzoraka UC-PAA-5-Et

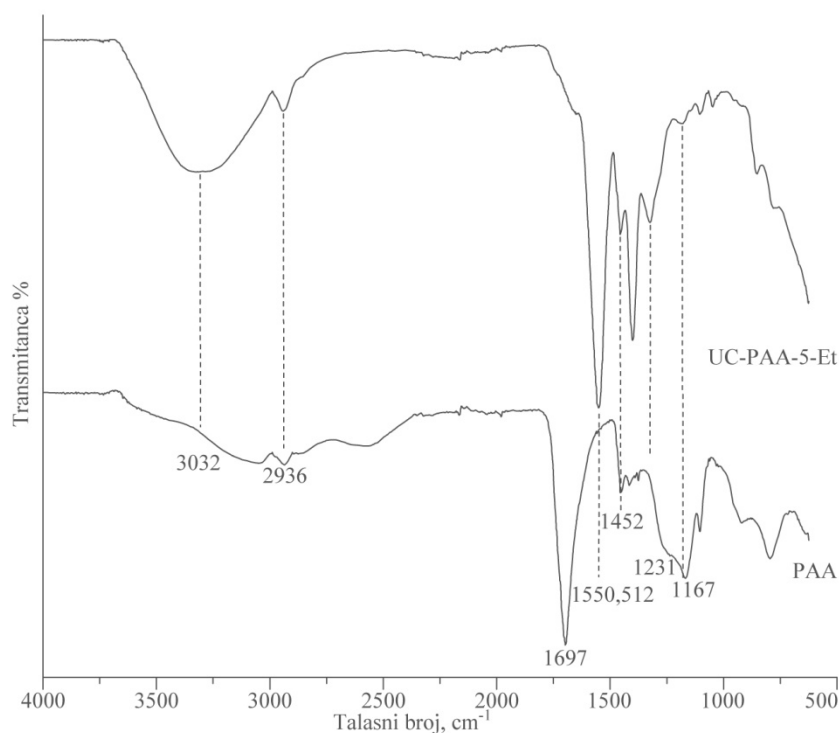


**Slika 58** EDS analiza uzorka UC-PAA-5-Et

#### 4.4.3. FTIR analiza uzorka

U cilju određivanja prisustva funkcionalnih grupa PAA na površini čestica, urađena je FTIR analiza uzoraka UC-PAA-5-Et, slika 59. Na njoj je prikazana i analiza čistog PAA jedinjenja. Na osnovu podataka iz literature [118, 119], dobijene spektralne trake su definisane na sledeći način: traka na  $3306\text{ cm}^{-1}$  je usled -OH istezanja; traka na  $2940\text{ cm}^{-1}$  je posledica -CH<sub>2</sub> istezanja; traka na  $1697\text{ cm}^{-1}$  (odnosno na  $1550\text{ cm}^{-1}$  u spektru UC-PAA-5-Et uzorka) odgovara C=O istezanju; traka na  $1455\text{ cm}^{-1}$  pripisana je -CH<sub>2</sub> deformaciji; dok je

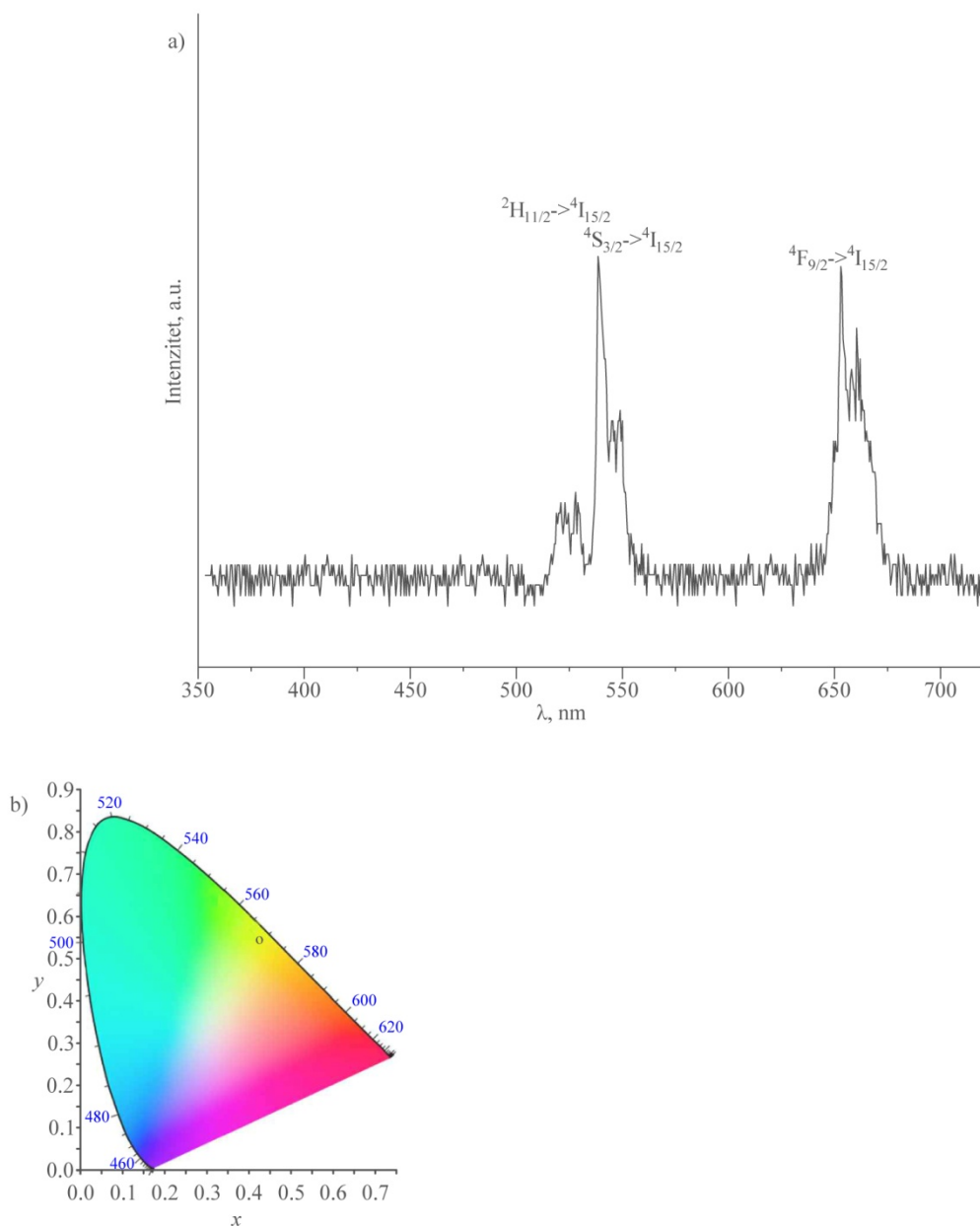
traka na  $1180\text{ cm}^{-1}$  usled C-O istezanja. Njihov nesmanjeni intenzitet, kao i značajan pomeraj trake koja se odnosi na C=O istezanje u spektru uzorka UC-PAA-5-Et, ukazuje na to da je PAA u velikoj meri prisutna u sintetisanom uzorku, kao i da je ostvarena značajna interakcija  $\text{RE}^{3+}$  - C=O ligand.



**Slika 59** FTIR analiza čistog PAA i uzorka UC-PAA-5-Et

#### 4.4.4. Fotoluminescentne karakteristike uzorka

Na slici 60a prikazan je spektar „up“ konverzije uzorka  $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}$  sintetisanog u prisustvu PAA, dobijen pri eksitaciji od  $980\text{ nm}$ . Intenzitet luminescencije ovog uzorka je slab, što može biti posledica prisustva velikog broja hidroksilnih grupa i interakcija  $\text{RE}^{3+}$  jona sa C=O ligandom na koje je ukazala FTIR analiza. Prisustvo zelene (na  $521\text{ nm}$  i  $540\text{ nm}$ ) i crvene (na  $655\text{ nm}$ ) emisije sličnog intenziteta definiše finalnu emisiju žute boje (CIE 0.45, 0.54), slika 60b.



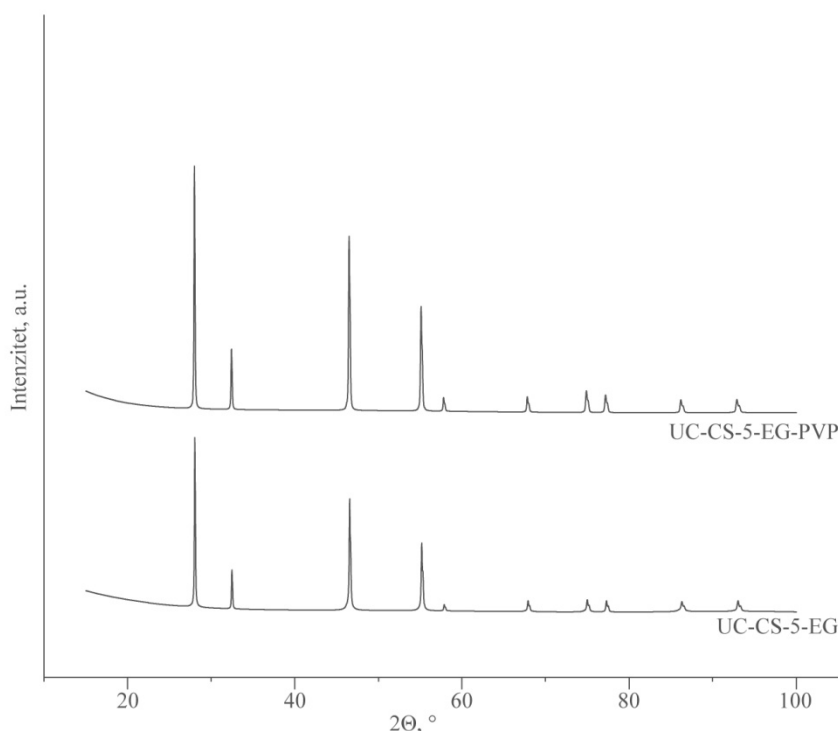
**Slika 60** a) Emisioni spektar uzorka UC-PAA-5-Et b) CIE dijagram hromatičnosti

## 4.5. Analiza NaYF<sub>4</sub>:Yb,Er uzorka sintetisanog u prisustvu CS

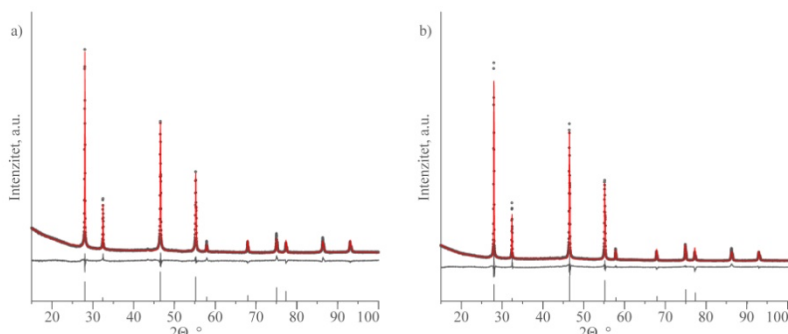
### 4.5.1. Rendgeno-strukturna analiza prahova

Na slici 61 prikazani su uporedni rezultati difrakcije praha X-zracima uzorka NaY<sub>0.8</sub>Yb<sub>0.17</sub>Er<sub>0.03</sub>F<sub>4</sub> sintetisanog u prisustvu CS i CS-PVP-a, a u skladu sa uslovima sinteze prikazanim u tabeli 5. Kod oba uzorka su prisutne refleksije koje odgovaraju kubnoj  $\alpha$ -NaYF<sub>4</sub>:Yb,Er fazi (JCPDS 77-2042), prostorne grupe *Fm-3m*. Na osnovu podataka dobijenih

strukturnim utačnjavanjem, tabela 11, može se zaključiti da su u uzorku UC-CS-5-EG prisutne dve kristalne faze sličnih parametara jedinične ćelije (Å):  $a_1=5.51830(9)$  i  $a_2=5.53074(1)$ , i različite veličine kristalita (nm): 84(4) i 12(1) nm. Vrednosti parametra jedinične ćelije  $V=168.04(1)$  Å<sup>3</sup> ukazuju na promenu veličine rešetke koja je posledica ugradnje jona dopanta Yb<sup>3+</sup> i Er<sup>3+</sup>. Okupacija katjonskih mesta jona itrijuma od 0.8(1) potvrđuje nastajanje jedinjenja željene stehiometrije NaY<sub>0.8</sub>Yb<sub>0.17</sub>Er<sub>0.03</sub>F<sub>4</sub>. Podaci u vezi okupacije katjonskih mesta jona itrijuma u fazi sa manjom veličinom kristalita nisu određeni, jer je najbolja saglasnost modelovanih i eksperimentalno dobijenih podataka postignuta kada su korišćenje fiksirane vrednosti okupacionog faktora itrijuma prostorne grupe *Fm-3m*.



**Slika 61** Difrakcija praha X-zracima uzoraka iz sistema UC-CS



**Slika 62** Utačnjavanje strukture Ritveldovom metodom u programu Topas Academic za sisteme UC-CS. Difraktogrami dobijeni merenjem su dati kao crni krugovi, primenom Ritveldove metode crvenom linijom, dok je njihova razlika predstavljena sivom linijom. Referentne refleksije prisutnih faza označene su vertikalnim linijama u dnu dijagrama,  $\alpha$ -NaYF<sub>4</sub>:Yb,Er faza je označena crnom bojom.



**Tabela 11.** Podaci dobijeni strukturnim utačnjavanjem Ritveldovom metodom

	UC-CS-5-EG		UC-CS-/PVP-5-EG
Glavna faza,	Cubic <i>Fm-3m</i>	Cubic <i>Fm-3m</i>	Cub. <i>Fm-3m</i>
tež. %	74%	26%	100%
a (Å)	5.51830 (9)	5.53074 (1)	5.523
c (Å)			
CS* (nm)	84 (4)	12 (1)	176 (4)
Mikronaprezanje (%)	-	-	0.15 (1)
R <sub>bragg</sub>	5.7	7.04	2.77
Okup. Y <sup>3+</sup>	0.8 (1)	-	0.60 (1)
Dodatna faza, tež %	-	-	-

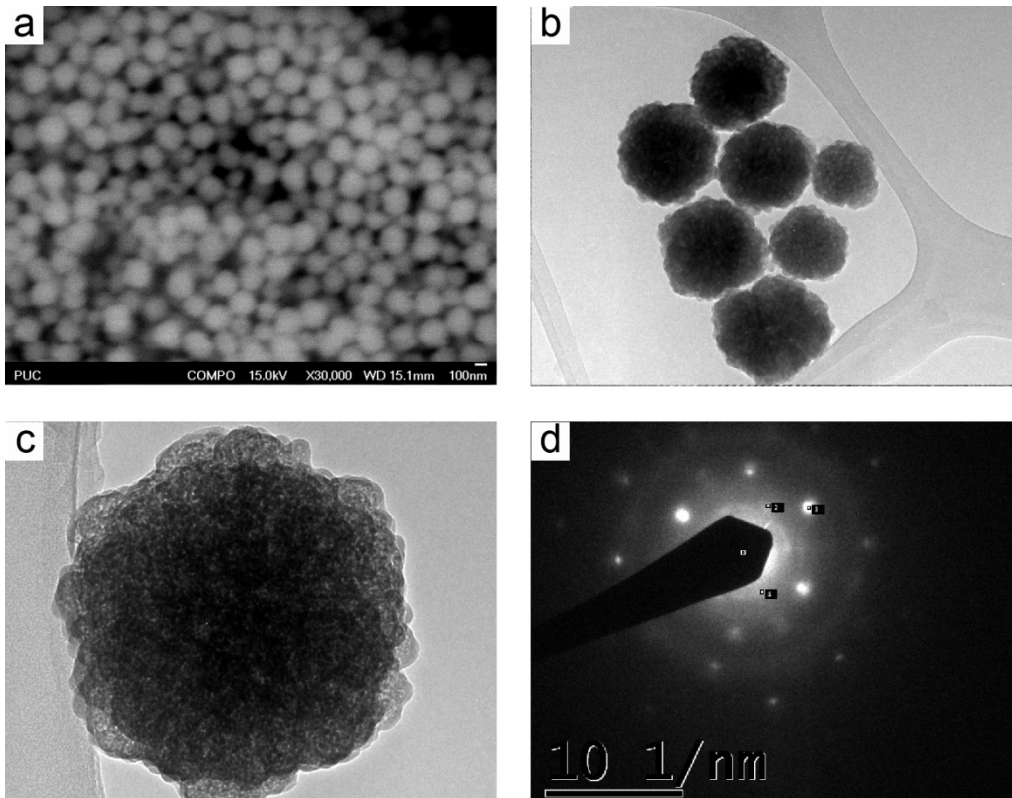
---

$\alpha$ -NaYF<sub>4</sub> (JCPDS 77-2042): a=5.47Å  
\*CS eng. crystallites sizes -veličina kristalita

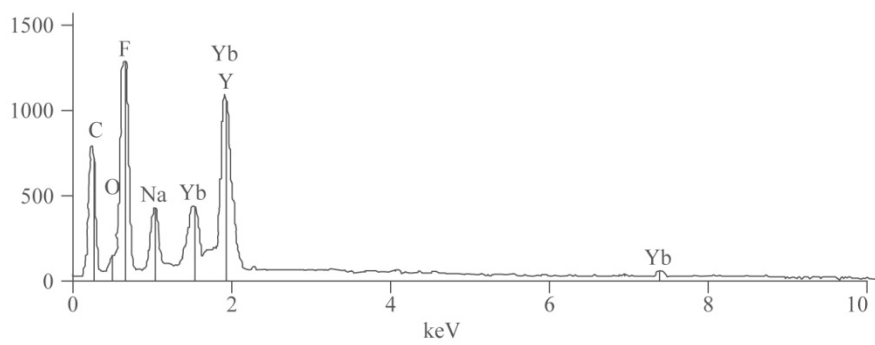
---

#### 4.5.2. Morfologija, hemijski i fazni sastav prahova

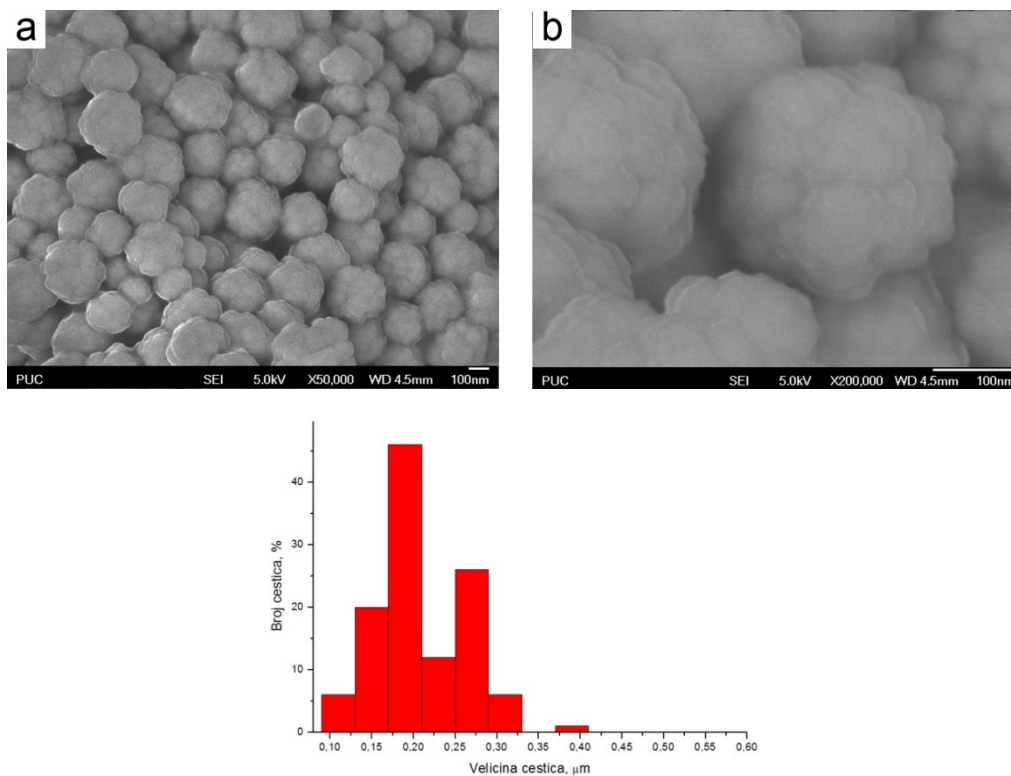
Morfologija čestica NaYF<sub>4</sub>:Yb,Er, sintetisanih u prisustvu čistog hitozana i u smeši hitozana i PVP-a, prikazana je na slikama 63 i 65, redom stoji. Oba uzorka sačinjavaju neaglomerisane čestice sferičnog oblika i hrapave površine. Njihova veličina je u opsegu od 100-200 nm, slike 63b i 65b. SAED analiza pojedinačne čestice iz sistema UC-CS-5-EG, slike 63c,d, na kojoj je vidljivo prisustvo difrakcionih maksimuma (tačke - indikacija monokristalne strukture čestice) i difrakcionih prstenova (indikacija polikristalne strukture koja je posledica prisustva nanometarskih čestica na površini veće monokristalne čestice) kubne faze, zapravo potvrđuje rezultate strukturnog utačnjavanja. Međuravanska rastojanja od 3.119, 2.705, 1.933 i 1.104 Å odgovaraju ravnima (111), (200) i (423) kubne NaYF<sub>4</sub> faze (JCPDS 77-2042). EDS analiza potvrđuje čistoću čestica, slika 64. Prisustvo PVP-a kao drugog liganda tokom procesa sinteze ne dovodi do promene morfologije čestica, ali utiče na njihovu veličinu, slika 65. Naime, raspodela veličina čestica u ovom uzorku je nešto šira, i kreće se u opsegu od 90 do 300 nm, slika 65.



**Slika 63** a) SEM; b, c) TEM i d) SAED analiza uzorka UC-CS-5-EG



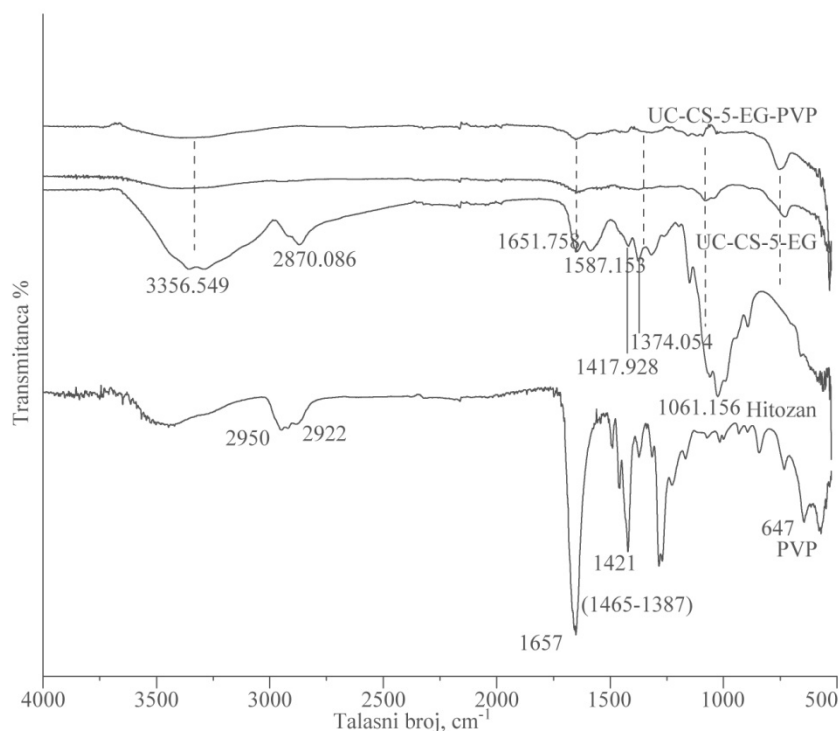
**Slika 64** EDS analiza uzorka UC-CS-5-EG



**Slika 65** FESEM analiza uzorka UC-CS-/PVP-5-EG sa raspodelom veličine čestica

### 4.5.3. FTIR analiza uzorka

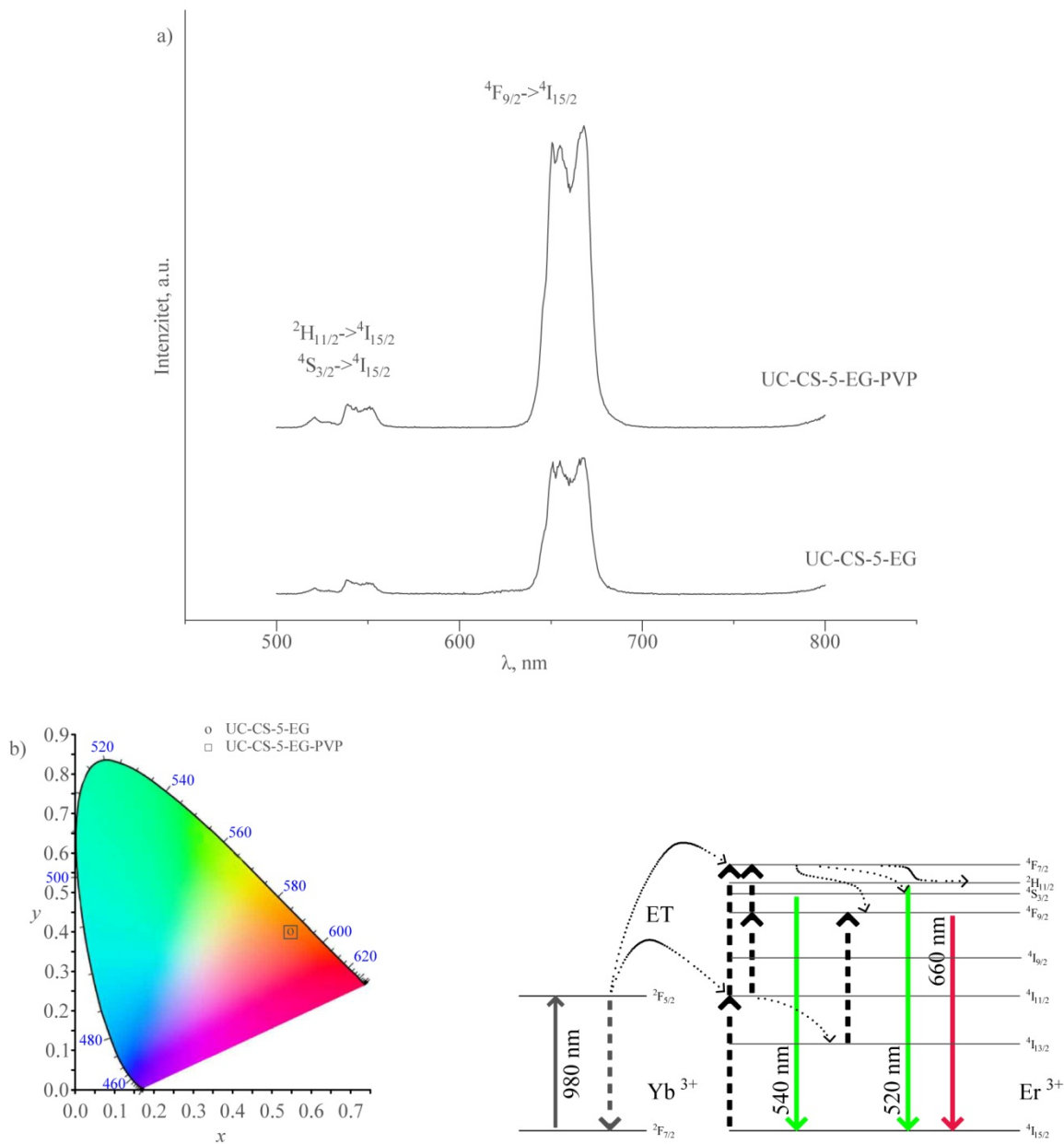
FTIR analiza uzoraka UC-CS-5-EG i UC-CS-/PVP-5-EG kao i čistog hitozana i PVP-a prikazana je uporednim spektrima na slici 66 a. Analiza dobijenih FTIR spektara, urađena u skladu sa literaturnim podacima [70, 109, 120-122], pokazuje da su u spektrima UC-CS-5-EG i UC-CS-/PVP-5-EG uzoraka očuvane, u većoj ili manjoj meri, sledeće absorpcione trake: na  $3399,941\text{ cm}^{-1}$  usled vibracionog istezanja-OH i -NH grupe, na  $1651,758\text{ cm}^{-1}$  usled C=O istezanja, na  $1373,572\text{ cm}^{-1}$  usled  $\text{CH}_3$  savijanja, na  $1557,0\text{ cm}^{-1}$  usled NH istezanja i na  $1080,441\text{ cm}^{-1}$  usled C-O istezanja. Kao što se može videti, sve navedene trake pripadaju hitozanskim ligandima, dok prisustvo PVP-a nije potvrđeno kod uzorka UC-CS-/PVP-5-EG.



**Slika 66** a) FTIR analiza čistog hitozana, PVP i uzoraka UC-CS-5-EG i UC-CS-EG-PVP

#### 4.5.4. Fotoluminescentne karakteristike uzorka

Na slici 67a, prikazani su uporedni spektri „up“- konverzije uzoraka UC-CS-5-EG i UC-CS-5-EG-PVP, mereni pri eksitaciji od 980 nm. U spektrima su prisutne zelene emisione linije (520-550 nm) koje potiču od  $^2H_{11/2}, ^4S_{3/2} \rightarrow ^4I_{15/2}$  prelaza, kao i crvena emisiona linija (630- 690 nm) posledica prelaza  $^4F_{9/2} \rightarrow ^4I_{15/2}$  jona erbijuma. Oba prelaza su određena stopom neradijativnih prelaza sa  $^4F_{7/2}$  nivoa koja zavisi od veličine i kristaliničnosti čestica. Prisustvo kubne faze dovodi do intenzifikacije crvene emisije usled dodatnog pobuđivanja  $^4F_{9/2}$  nivoa preko  $^4I_{13/2}$  nivoa, a ovaj deekscitacijom  $^4I_{11/2}$  nivoa, te neradijativnom relaksacijom sa  $^4F_{7/2}$  nivoa preko  $^2H_{11/2}$  i  $^4S_{3/2}$  nivoa. Usled toga, oba uzorka emituju narandžasto-crveni svetlosni odziv definisan CIE koordinatama (0,59, 0,41) i (0,60 i 0,39), slika 67b.

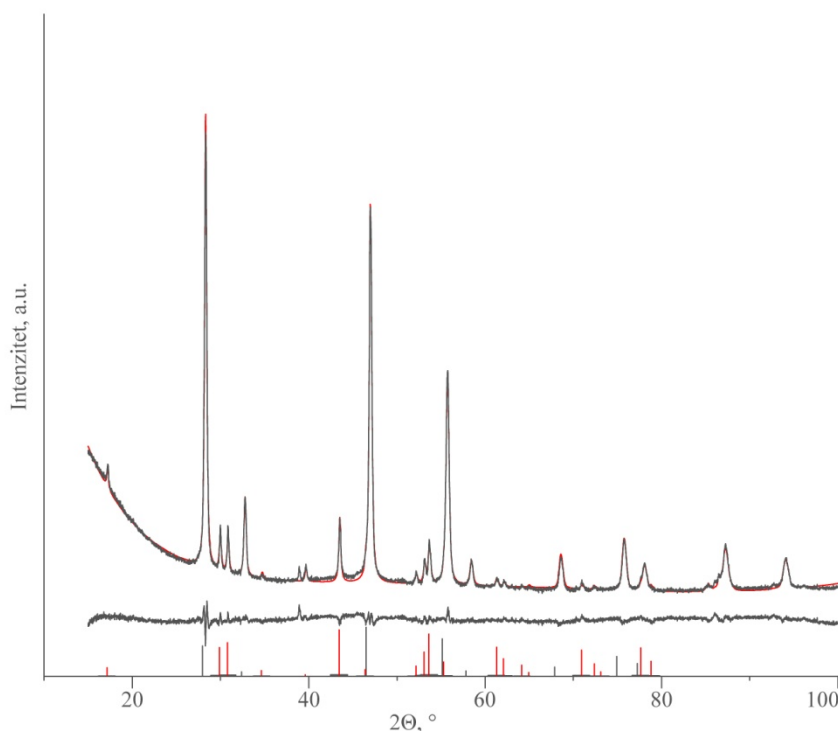


**Slika 67** a) Emisioni spektar uzoraka UC-CS i b) CIE dijagram hromatičnosti

## 4.6. Analiza NaYF<sub>4</sub>:Yb,Er uzorka sintetisanog u prisustvu PLGA

### 4.6.1. Rendgeno-strukturna analiza praha

Na slici 68 prikazan je rezultat difrakcije praha X-zracima uzorka NaY<sub>0.8</sub>Yb<sub>0.17</sub>Er<sub>0.03</sub>F<sub>4</sub> sintetisanog u prisustvu PLGA. Dobijeni difraktogram pokazuje da je u ovom uzorku došlo do formiranja i kubne i heksagonalne faze prostornih grupa *Fm-3m* i *P63/m*, redom stoji. Intenziteti i pozicije svih refleksija su u saglasnosti sa podacima referentnih JCPDS kartica 77-2042 i 16-0334. Strukturnim utačnjavanjem difraktograma, tabela 12, pokazano je da su veličine kristalita ovih faza 33(1) nm za kubnu odnosno 47(1) nm za heksagonalnu fazu.



**Slika 68** Utačnjavanje strukture Ritveldovom metodom u programu Topas Academic za sistem UC-PLGA-5-Ac. Difraktogrami dobijeni merenjem su dati kao crni krugovi, primenom Ritveldove metode crvenom linijom, dok je njihova razlika predstavljena sivom linijom. Referentne refleksije prisutnih faza označene su vertikalnim linijama u dnu dijagrama, crvenom bojom predstavljena je  $\beta$ - NaYF<sub>4</sub>:Yb,Er faza, dok je  $\alpha$ - NaYF<sub>4</sub>:Yb,Er faza označena crnom bojom.

**Tabela 12.** Podaci dobijeni strukturnim utačnjavanjem Ritveldovom metodom

	UC-PLGA-5-Ac	
Glavna faza,	Cubic <i>Fm-3m</i>	Hex. <i>P63/m</i>
tež. %	85%	15%
a (Å)	5.4764 (1)	5.9785 (3)
c (Å)		3.5088 (4)
CS* (nm)	33 (1)	47 (1)
Mikronaprezanje (%)	0.113 (4)	-
R <sub>bragg</sub>	1.79	3.83
Okup. Y <sup>3+</sup>	0.76 (1)	0.75 (1)
Dodatna faza, tež. %	-	-
GoF	-	-

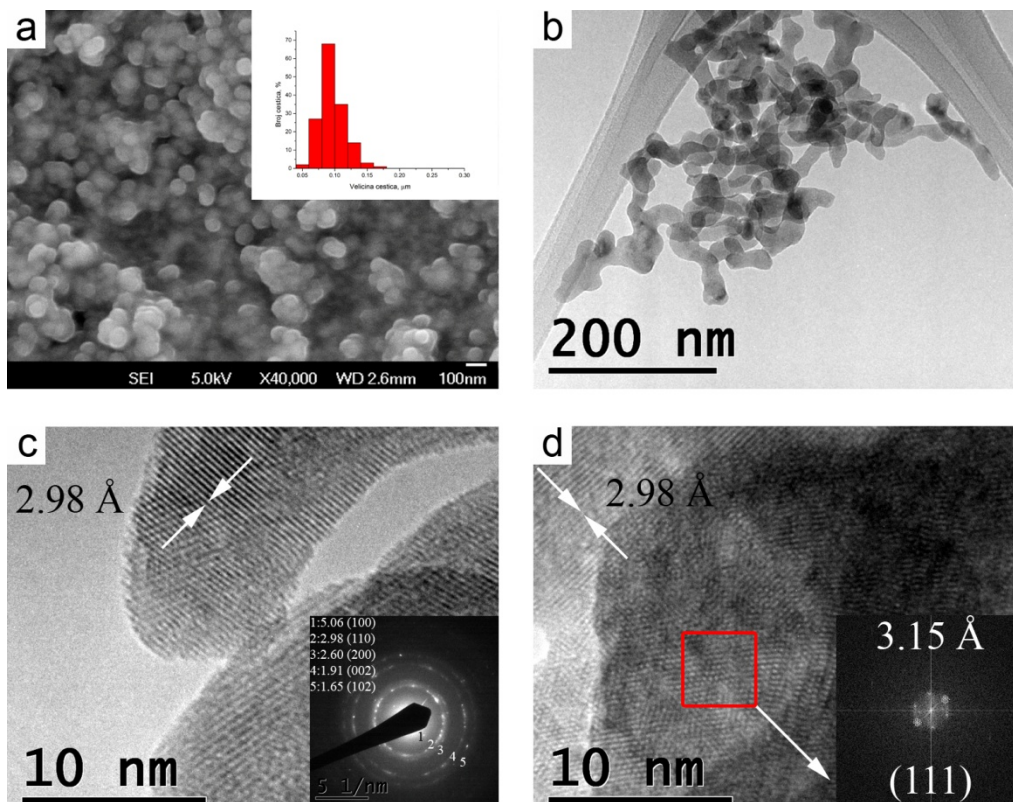
---

$\alpha$ - NaYF<sub>4</sub> (JCPDS 77-2042): a=5.47Å  
 $\beta$ - Na<sub>1.5</sub>Y<sub>1.5</sub>F<sub>6</sub> (JCPDS 16-0334) a=5.96 Å c=3.53 Å  
\*CS eng. crystallites sizes -veličina kristalita

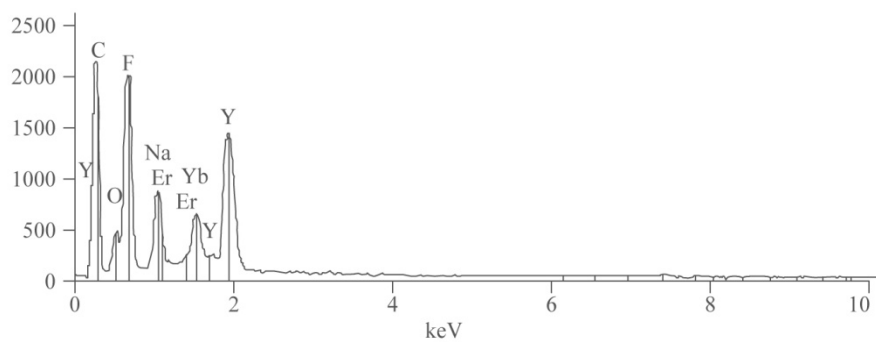
---

#### 4.6.2. Morfologija, hemijski i fazni sastav praha

Morfološke karakteristike uzorka UC-PLGA-5-Ac određene su na osnovu SEM i TEM analiza prikazanih na slici 69. SEM analiza je pokazala da masu uzorka čine sferične čestice srednje veličine od 100 nm. Aglomeracija čestica je posledica prisustva PLGA, na koje će ukazati FTIR analiza. EDS analiza je potvrdila prisustvo svih konstitucionih elemenata, slika 70. TEM analiza čestica, slika 69b, otkriva prisustvo manjih čestica nepravilnog oblika i čija je veličina oko 60 nm. SAED analiza čestice prikazane na slici 69c, daje potvrdu kristalizacije heksagonalne faze. Međuravanska rastojanja od 5.06, 2.98, 2.60, 1.91, 1.65 Å sa slike odgovaraju ravnima (100), (110), (200), (002) i (102) heksagonalne faze. Prisustvo kubne faze potvrđeno je FFT analizom sferične čestice prikazane na slici 69d. Naime, vrednost  $d$  od 3.15 Å odgovara ravni (111) kubne faze.



**Slika 69** SEM i TEM analiza uzorka UC-PLGA-5-Ac

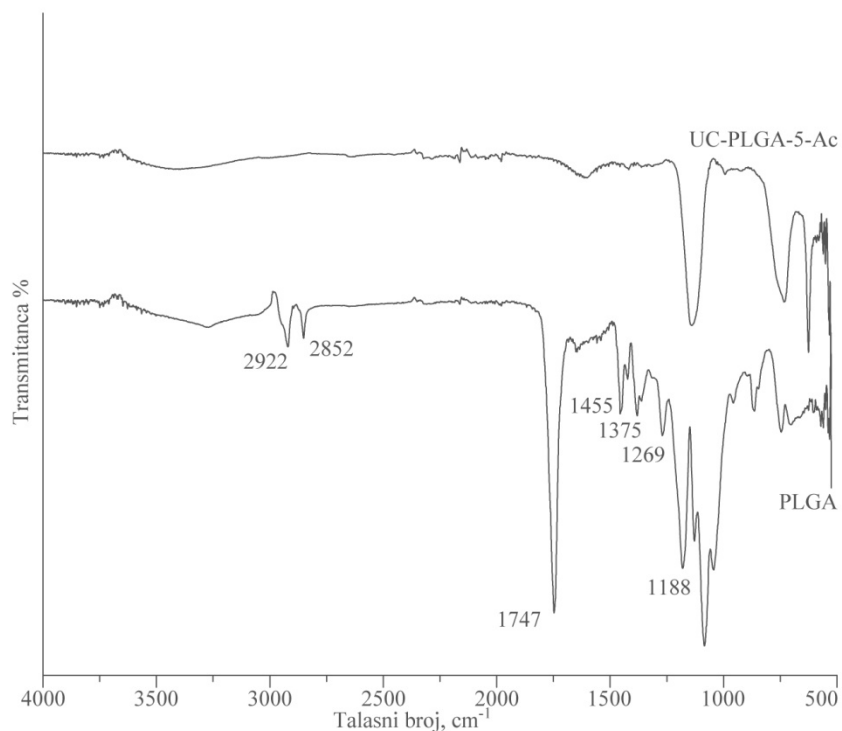


**Slika 70** EDS analiza uzorka UC-PLGA-5-Ac



### 4.6.3. FTIR analiza uzorka

U cilju određivanja prisustva PLGA na površini čestica sintetisanih u ovom sistemu urađena je FTIR analiza uzorka UC-PLGA-5-Ac, kao i čistog PLGA jedinjenja, slika 71. Karakteristične apsorpcione trake PLGA klasifikovane su na osnovu literature [123] na sledeći način: asimetrično CH<sub>3</sub> i CH<sub>2</sub> istežanje na 2850 i 2920 cm<sup>-1</sup>, redom stoji; C=O istežanje na 1750 cm<sup>-1</sup>, simetrične CH<sub>3</sub> i CH<sub>2</sub> deformacije na 1500-1250 cm<sup>-1</sup>, i C-O estar istežanje u oblasti od 1300-1150 cm<sup>-1</sup>. U FTIR spektru UC-PLGA-5-Ac dolazi do smanjenja apsorpcije PLGA grupa usled vibracija bočnih lanaca kao i značajnog pomeranja najintenzivnije C=O trake, usled mogućeg formiranja soli karboksilne kiseline, O=C-ONa [124].

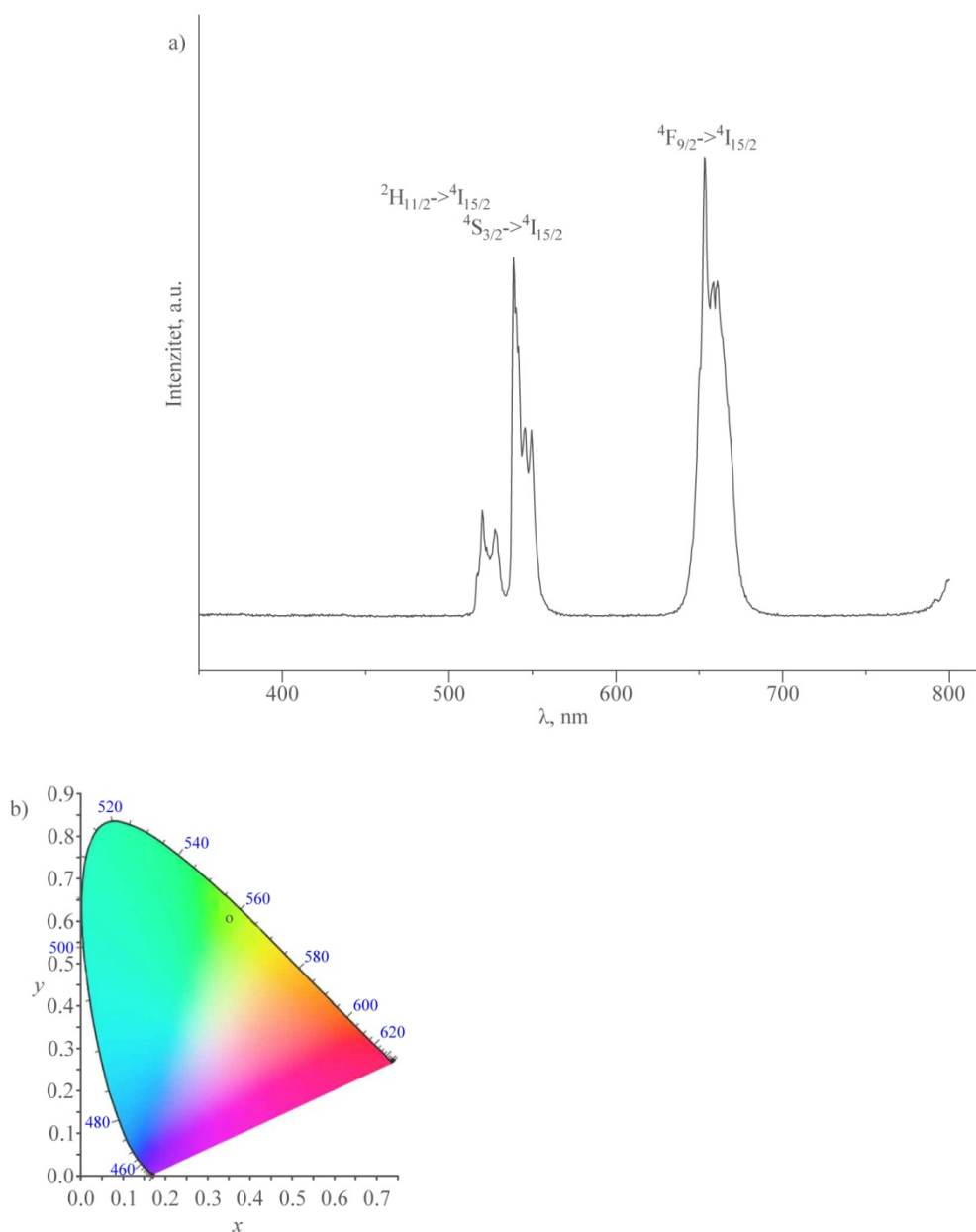


**Slika 71** FTIR analiza čistog PLGA i uzorka UC-PLGA-5-Ac

### 4.6.4. Fotoluminescentne karakteristike uzorka

Na slici 72a, prikazan je spektar „up“- konverzije uzoraka PLGA-5-Ac nakon eksitacije na 980 nm. I kod ovog spektra vidljive su tri emisijske linije Er<sup>3+</sup> jona i to: dve zelene (na 512- 533 i 533-560 nm) usled  $^2H_{11/2}, ^4S_{3/2} \rightarrow ^4I_{15/2}$  prelaza, i jedna crvena (na 630-

690 nm) usled prelaza  ${}^4F_{9/2} \rightarrow {}^4I_{15/2}$ . Cepanje emisionog pika koji se javlja na 533 nm, na nekoliko uskih linija, posledica je deljenja  ${}^4S_{3/2}$  energetskog nivoa koja ukazuje na homogenu distribuciju jona  $Er^{3+}$  u  $NaYF_4$  fazi [111]. Kao što je već navedeno ranije, do pojave crvene emisione linije dolazi usled direktne eksitacije  ${}^4F_{9/2}$  nivoa preko  ${}^4I_{13/2}$  nivoa (kome prethodi neradijativni prelaz sa  ${}^4I_{11/2}$  nivoa), kao i usled neradijativne relaksacije  ${}^4F_{7/2}$  nivoa preko nivoa  ${}^2H_{11/2}$  i  ${}^4S_{3/2}$ . Prisustvo heksagonalne faze od 15 tež. % značajno utiče na intenzitet emisije u zelenom delu spektra, te definiše i finalni svetlosni odziv (CIE 0,37 0,61) materijala, slika 72b.



**Slika 72** a) Emisioni spektar uzorka UC-PLGA-5-Ac i b) CIE dijagram hromatičnosti

#### 4.7. Uporedna analiza strukturnih, morfoloških i optičkih karakteristika sintetisanih čestica

Na osnovu prethodnih analiza biokompatibilnih optički aktivnih čestica fluorida sastava  $\text{NaY}_{0.8}\text{Yb}_{0.17}\text{Er}_{0.03}\text{F}_4$  dobijenih hidro/solvo termalnom sintezom u prisustvu različitih agensa za kontrolu nukleacije i rasta kristala (EDTA, PEG, PVP, PAA, CS i PLGA) pokazano je da struktura, morfologija, veličina i funkcionalne karakteristike čestica zavise i od koncentracije prekursora, vremena reakcije i tipa rastvarača.

Tako, kod UC-EDTA uzoraka smanjenje koncentracije prekursora i vremena sinteze, kao i primena etanola kao rastvarača, dovodi do stabilizacije kubne  $\alpha$ -  $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}$  faze, dok pri većim koncentracijama prekursora dolazi do kristalizacije heksagonalne  $\beta$ -  $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}$  faze već nakon 2 h reakcije. Porast vremena reakcije i dodatni termički tretman poboljšava stepen kristaliničnosti sintetisanih čestica što direktno utiče na intenzitet i vreme života luminescencije. Najduže vreme života karakteriše uzorak UC-EDTA-100-20-aq sačinjen od čestica mikronskih dimenzija, dok su najbolje morfološke karakteristike (sa stanovišta primene u medicini) ostvarene u uzorku UC-EDTA-10-2-Et kojeg sačinjavaju sferične neaglomerisane monokristalne nanočestice  $\alpha$ -  $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}$  faze.

Primena PVP-a i etilen glikola dovodi do stabilizacije kubne  $\alpha$ -  $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}$  faze u rastvorima sa nižom koncentracijom prekursora, dok uvođenje etanola ima za posledicu nastajanje polifaznih uzoraka koji izgrađuju nanočestice kubne i heksagonalne faze. Dodatni termički tretman prahova iz ovog sistema dovodi do transformacije kubne u heksagonalnu fazu. Kao i kod sistema sa EDTA-om najbolje morfološke karakteristike odlikuju  $\alpha$ -  $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}$  fazu u uzorku UC-PVP-5-EG koji sačinjavaju sferične čestice veličine ispod 100 nm.

Kod sistema sa PEG-om (UC-PEG-10-aq) karakteristična je primarna nukleacija kubne faze koju prati veoma mali udeo heksagonalne faze (~2,2 wt %). Dodatnim termičkim tretmanom je moguće značajnije povećati udeo heksagonalne faze u veoma kratkom roku (~42 wt %, UC-PEG-10-aq-TT), a time i luminescentni odziv ovih čestica u zelenom delu spektra, ali zadržavanje hidroksilnih grupa (-OH) na površini termički tretiranih čestica, kao i porast neuniformnosti oblika i veličine čestica (usled rasta kristala i međučestičnog sinterovanja) nepovoljno utiču na intenzitet luminescencije.

Kod uzorka UC-PAA-5-Et utvrđeno je prisustvo kubne  $\alpha$ -  $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}$  faze u nanofolijama debljine ~ 6 nm i dužine/širine ~ 10  $\mu\text{m}$ . Iako je u literaturi pokazano da PAA omogućava sintezu mikrosfera sačinjenih od nanočestica [125], promena parametara sinteze u

ovom uzorku dovela je do usmerene agregacije primarnih nanočestica u jednodimenzionalne nanostrukturne forme folija.

Uzorak dobijen u prisustvu hitozana, UC-CS-5-EG, karakteriše prisustvo neaglomerisanih monokristalnih sferičnih čestica  $\alpha$ - NaYF<sub>4</sub>:Yb,Er faze čija je veličina ispod 100 nm. Prisustvo amino grupa hitozana na površini čestica povećava njihovu hidrofилnost i biokompatibilnost, a da pri tome ne smanjuje intenzitet „up“- konvertorske emisije u crvenom delu spektra.

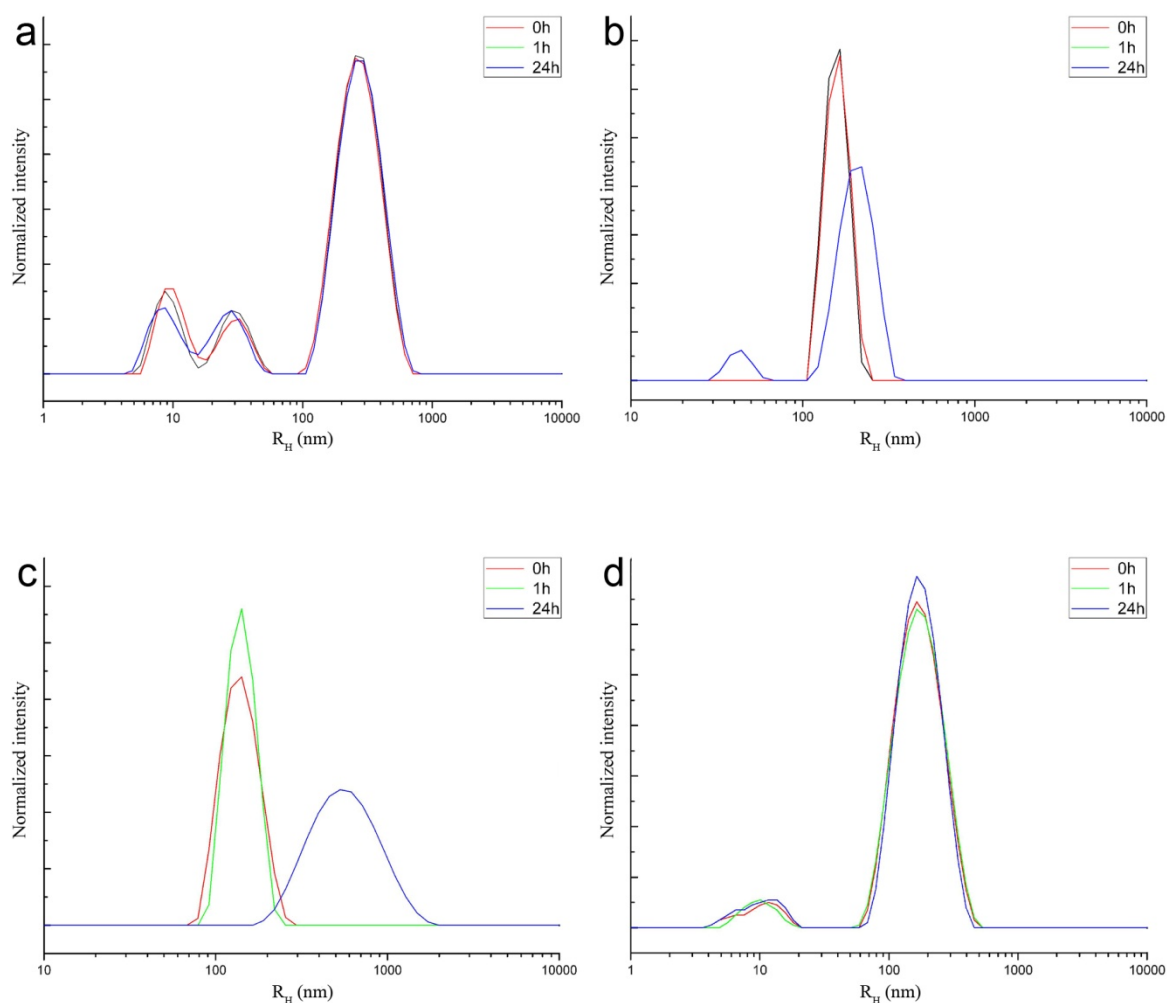
UC-PLGA-5-Ac uzorak predstavlja smešu kubne i heksagonalne NaYF<sub>4</sub>:Yb,Er faze, pri čemu kubna faza preovlađuje u sistemu (85 wt %). Uzorak je sačinjen od sferičnih neaglomerisanih čestica veličine oko 100 nm. FTIR analizom je potvrđeno prisustvo PLGA funkcionalnih grupa na površini čestica, koje ne utiču značajno na intenzitet luminescencije, te je finalni svetlosni odziv čestica definisan (CIE 0,37 0,61) i lako ga je registrovati u zelenom delu spektra.

Na osnovu svega navedenog, za dodatna ispitivanja biokompatibilnosti kao i moguće primene sintetisanih optički aktivnih nanočestica fluorida retkih zemalja u vizuelizaciji ćelija izabrane su nanočestice sastava NaY<sub>0,8</sub>Yb<sub>0,17</sub>Er<sub>0,03</sub>F<sub>4</sub> koje su sintetisane u prisustvu hitozana (uzorak UC-CS-5-EG) i poli(laktid-ko-glikolida), uzorak UC-PLGA-5-Ac.

#### **4.8. Određivanje hidrodinamičkog prečnika UC-CS-5-EG i UC-PLGA-5-Ac nanočestica**

Određivanje hidrodinamičkog prečnika sintetisanih čestica pogodna je metoda za analizu njihove stabilnosti u koloidnim rastvorima tokom vremena, što je od velike važnosti sa stanovišta biološke primene. Hidrodinamički prečnik (Eng. Hydrodynamic radius, R<sub>H</sub>) i indeks disperzije (Eng. Polydispersity index, PDI) UC-CS-5-EG i UC-PLGA-5-Ac čestica u koloidnim rastvorima (dejonizovanoj vodi i medijumu) mereni su u funkciji vremena primenom metode zasnovane na dinamičkom rasipanju svetlosti (Eng. Dynamic light scattering, DLS), slika 73. Kod UC-CS-5-EG koloida, slika 73a, se može videti prisustvo čestica veličine 30 nm i 100 nm. Hidrodinamički prečnik u medijumu iznosi 60 nm (PDI 1), a u dejonizovanoj vodi 311 nm (PDI 0.34). Dok vrednosti hidrodinamičkog prečnika i indeksa disperzije u medijumu ostaju nepromenjeni nakon 1 i 24h, u vodenim rastvorima je utvrđena promena obe vrednosti nakon 1 i 24 h i to: najpre blagi porast srednjeg prečnika na 380 nm (PDI 0.4), a zatim i pad ove vrednosti na 211 nm (PDI 0.34), usled pojave klastera veličine oko 50 nm, slika 73b. Pojava klastera veličine oko 50 nm je posledica aglomeracije

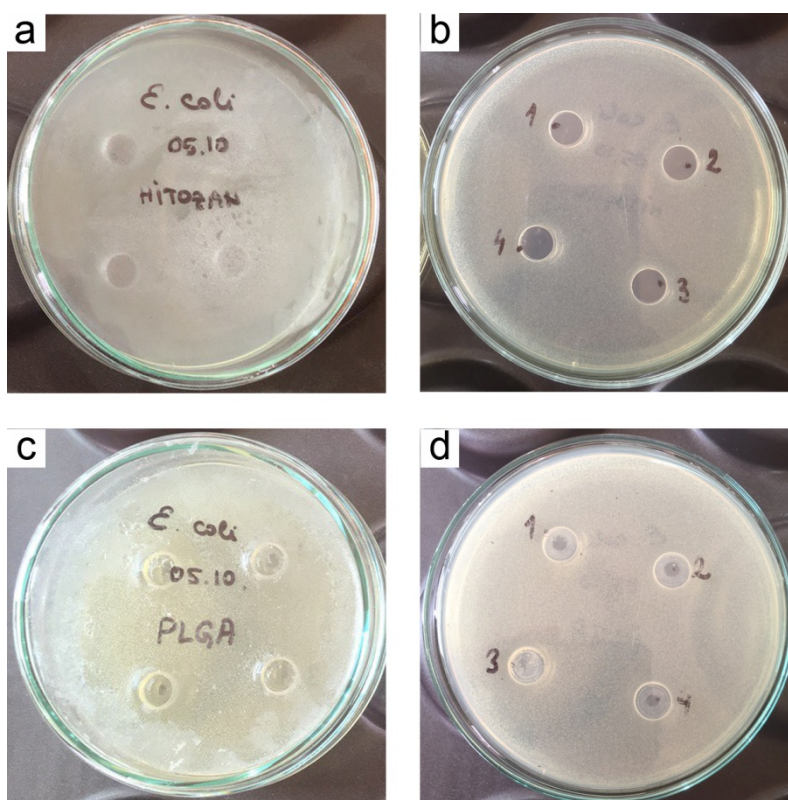
nanočestica veličine 20 nm, čije je prisustvo utvrđeno visokorezolucionom transmissionom mikroskopijom, slika 63c. Za razliku od UC-CS-5-EG, kod UC-PLGA-5-Ac uzorka hidrodinamički prečnik u vodi (177 nm, PDI 0.32) je veći nego u medijumu (127 nm, PDI 0.31), slika 73c i d. Nakon 1 h stajanja uočene su minimalne promene, i to 195 nm (PDI 0.32) i 127 nm (PDI 0.31), u vodi i medijumu redom stoji, što potvrđuje stabilnost oba koloida. Produženjem vremena stajanja nakon 24 h, hidrodinamički prečnik u vodi raste do 488 nm (PDI 0.3), dok u medijumu ne dolazi do promene parametara (127 nm, PDI 0.34).



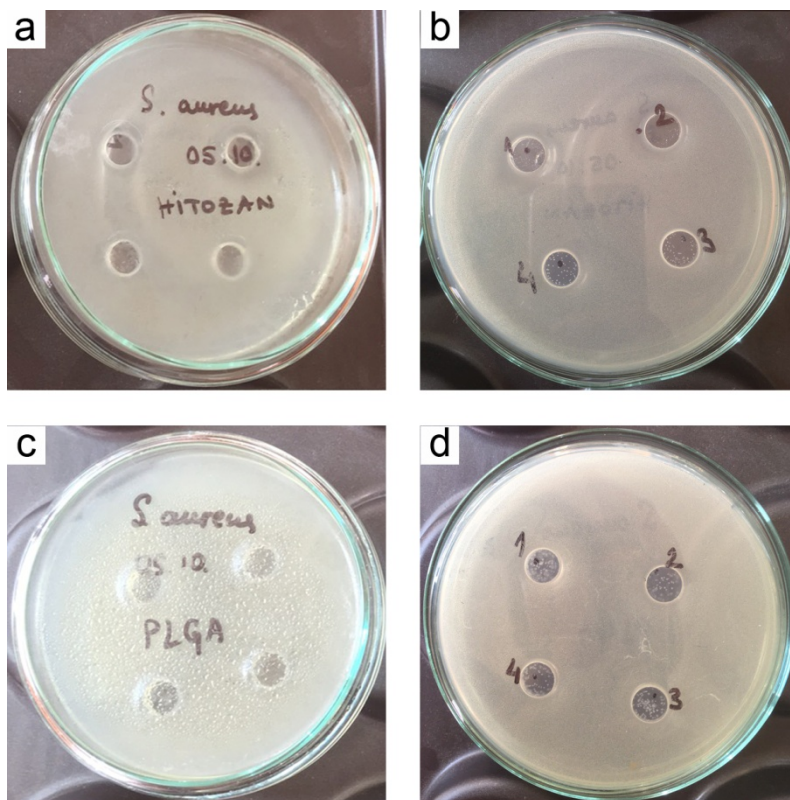
**Slika 73** Raspodela čestica tokom vremena a) UC-CS-5-EG (1 mg/mL) u medijumu, b) UC-CS-5-EG (1 mg/mL) u destilovanoj vodi, c) UC-PLGA-5-Ac (1 mg/mL) u vodi, d) UC-PLGA-5-Ac (1 mg/mL) u medijumu.

#### 4.9. Određivanje antimikrobnih karakteristika UC-CS-5-EG i UC-PLGA-5-Ac nanočestica

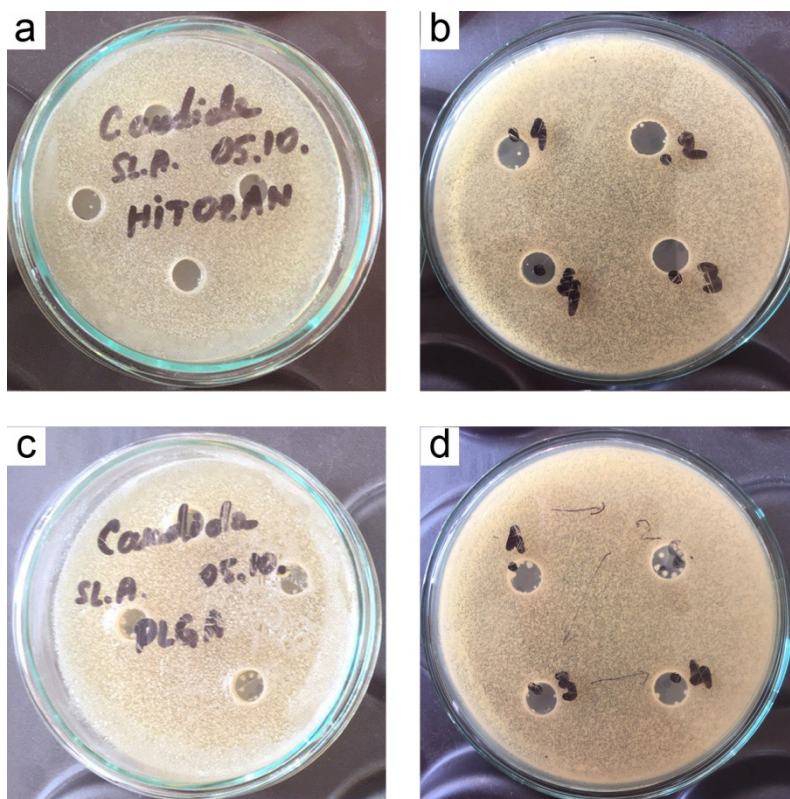
Antimikrobna aktivnost UC-CS-5-EG i UC-PLGA-5-Ac nanočestica, pri koncentracijama od 10 µg/ml, 50 µg/ml i 100 µg/ml, ispitivana je prema Gram-negativnoj bakteriji *Escherichia coli*, Gram-pozitivnoj bakteriji *Staphylococcus aureus* i gljivici *Candida albicans*, koristeći disk-difuzioni metod. Na slikama 74, 75 i 76 prikazani su rezultati antibiogram testa i to: prema *Escherichia coli*; prema *Staphylococcus aureus* i prema *Candida albicans*, redom stoje. Na osnovu prikazanih rezultata primećeno je da nakon 24 h inkubacije, kod oba sistema pri svim ispitivanim koncentracijama, ne dolazi do pojave zone inhibicije, što ukazuje na to da UC-CS-5-EG i UC-PLGA-5-Ac nanočestice ne poseduju antimikrobnu aktivnost.



**Slika 74** Antibiogram test prema *Escherichia coli* a) UC-CS-5-EG i b) UC-PLGA-5-Ac nanočestica



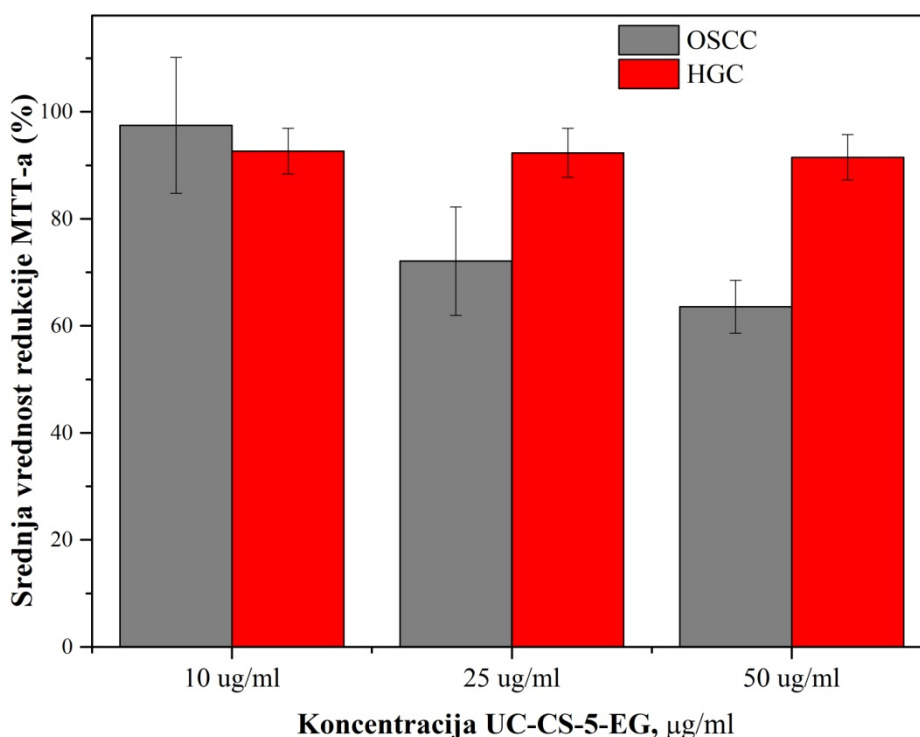
**Slika 75** Antibiogram test prema *Staphylococcus aureus* a) UC-CS-5-EG i b) UC-PLGA-5-Ac nanočestica



**Slika 76** Antibiogram test prema *Candida albicans* a) UC-CS-5-EG i b) UC-PLGA-5-Ac nanočestica

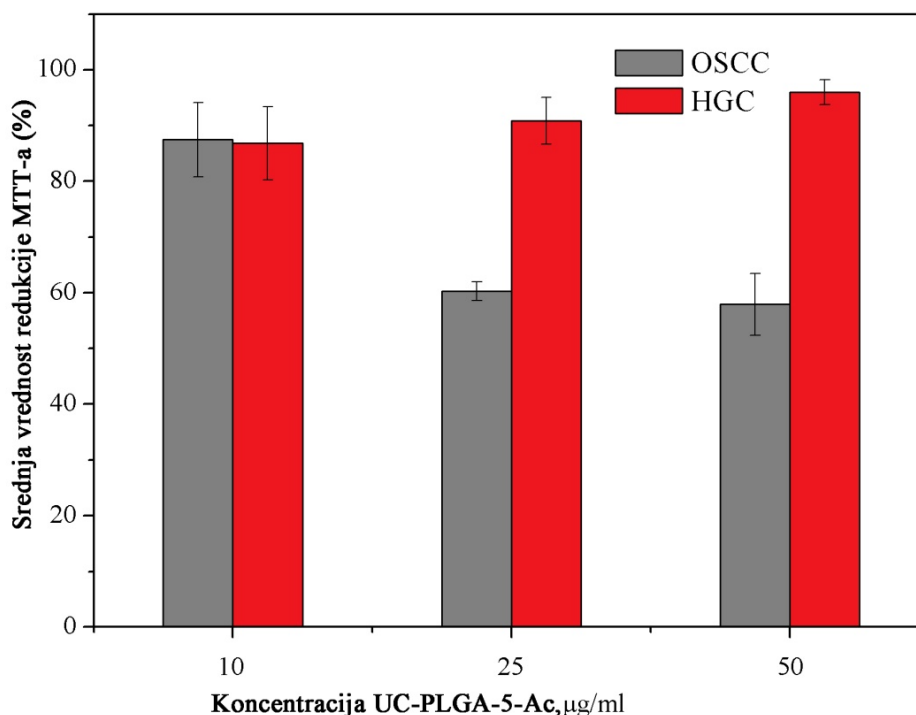
#### 4.10. Određivanje citotoksičnosti UC-CS-5-EG i UC-PLGA-5-Ac nanočestica

U cilju određivanja biokompatibilnosti uzorka, njihova citotoksičnost je ispitana na zdravim gingivalnim ćelijama korena pulpe (eng. human gingival cell, HGC) i skvamoznim ćelijama kancera jezika (eng. oral squamous cell carcinoma, OSCC). Na slikama 77 i 78 prikazane su srednje vrednosti intenziteta redukovanog MTT-a ( $\pm$  standardna devijacija, SD), koji je proporcionalan mitohondrijalnoj aktivnosti odnosno broju preživelih ćelija, a u zavisnosti od koncentracije UC-CS-5-EG i UC-PLGA-5-Ac nanočestica inkubiranih sa HGC i OSCC ćelijama. Na osnovu prikazanih rezultata može se zaključiti da je nakon 24 h inkubacije, stepen preživljavanja HGC veći od 90 %, odnosno veći od 88 % u čitavom opsegu ispitanih koncentracija nanočestica UC-CS-5-EG i UC-PLGA-5-Ac, redom stoji. Uporedo, stepen preživljavanja OSCC opada sa porastom koncentracije UC čestica iz oba sistema. Visok stepen preživljavanja ovih ćelija dobijen je samo u slučaju korišćenja rastvora najniže koncentracije UC-CS-5-EG i UC-PLGA-5-Ac nanočestica od 10  $\mu$ g/ml, i on iznosi 92 % i 89 %, redom stoji. Povećanje koncentracije UC čestica dovodi do porasta citotoksičnosti, te stepen preživljavanja OSCC ćelija opada na 66 %, odnosno 60 %, pri koncentraciji UC-CS-5-EG i UC-PLGA-5-Ac nanočestica od 50  $\mu$ g/ml, redom stoji. Ovako niske vrednosti broja preživelih kancerskih ćelija nakon 24 h, uz očuvanje broja HGC ćelija pri istoj koncentraciji, ukazuju na moguće citostatičko delovanje sintetisanih nanočestica u navedenoj koncentraciji.





**Slika 77** Srednje vrednosti intenziteta redukcije MTT-a nakon jednodnevne inkubacije HGC i OSCC sa UC-CS-5-EG nanočesticama različite koncentracije



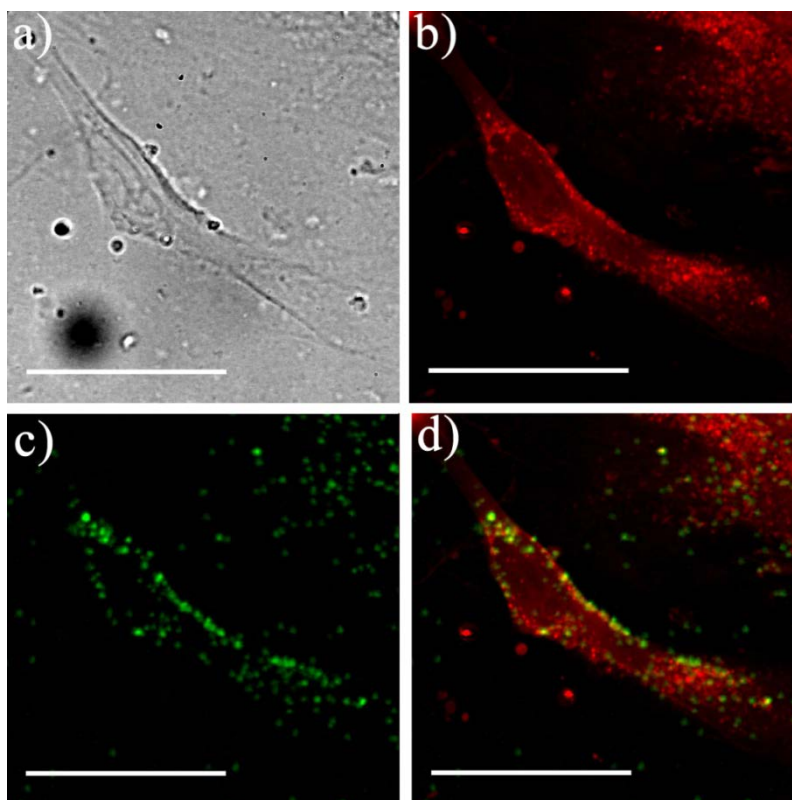
**Slika 78** Srednje vrednosti intenziteta redukcije MTT-a nakon jednodnevne inkubacije HGC i OSCC sa UC-PLGA-5-Ac nanočesticama različite koncentracije

#### 4.11. *In vitro* laser skenirajuća mikroskopija HGC i OSCC ćelija primenom UC-CS-5-EG i UC-PLGA-5-Ac nanočestica kao biomarkera

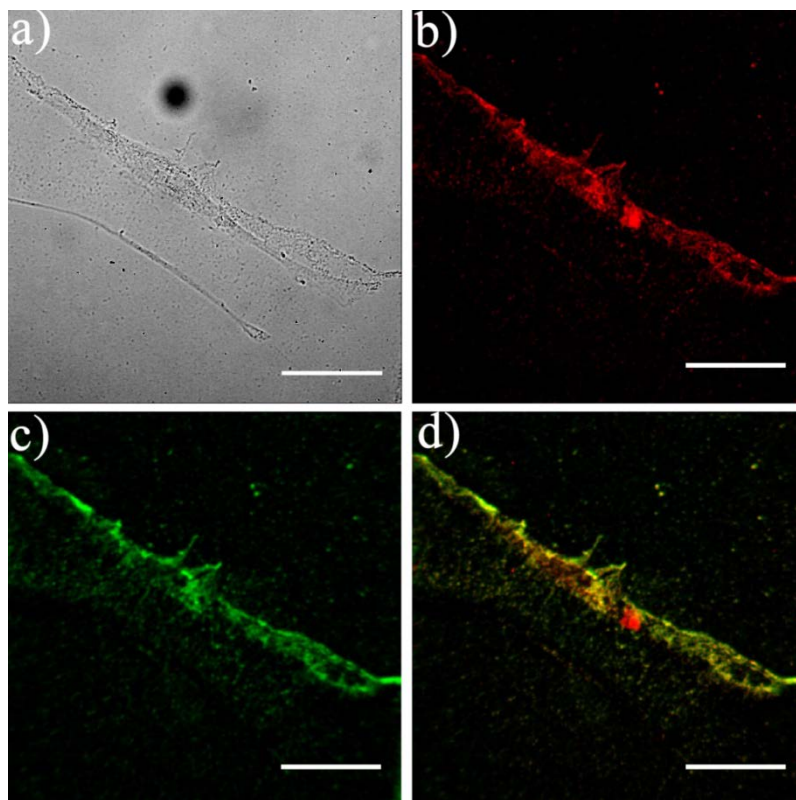
Za ispitivanje moguće primene sintetisanih UC-CS-5-EG i UC-PLGA-5-Ac nanočestica za obeležavanje HGC i OSCC ćelija korišćena je najniža koncentracija čestica od 10 µg/ml, iz razloga što je za ovu koncentraciju utvrđen veoma mali stepen citotoksičnosti kod oba tipa ćelija. U dijagnostičke svrhe je najbolje primeniti najmanju koncentraciju koja omogućava vizuelizaciju. Vizuelizacija OSCC i HGC ćelija obeleženih UC-CS-5-EG nanočesticama urađena je korišćenjem lasera talasne dužine 980 nm i intenziteta od 8,5 i 7 mW, redom stoji. Veličina oblasti prikazane na slikama je oko 100x100 µm<sup>2</sup>. Na slici 79 prikazana je OSCC i to: slika 79a predstavlja ćeliju vidljivu pod mikroskopom u transparentnom modu; slika 79b prikazuje autofluorescenciju OSCC nakon eksitacije femtosekundnim laserom na 730 nm; slika 79c predstavlja luminescenciju UC-CS-5-EG nanočestica nakon eksitacije kontinualnim zračenjem na 980 nm; dok je slika 79d dobijena preklapanjem slika 79b i c. Sa ove poslednje slike se može jasno videti da su UC-CS-5-EG

nanočestice, koje su prikazane zelenim fluorescentnim tačkama, uspešno internalizovane u kancer ćeliji. Njihova lokalizacija je najvidljivija u citoplazmi OSCC duž zida ćelije.

Na identičan način, uspešno je izvršeno i obeležavanje HGC, slika 80. Sa slike 80d se jasno vidi da se internalizacija nanočestica odvija tako da nije vidljiv ulazak nanočestica u jedro ćelije, nije očekivano da dolazi do genetskog oštećenja HGC.



**Slika 79** Vizuelizacija OSCC ćelije primenom UC-CS-5-EG nanočestica (10  $\mu\text{g/ml}$ , 24 h inkubacije): a) prikaz ćelije u transmisionom modu b) autofluorescencija ćelije nakon femtosekundske eksitacije na 730 nm; c) luminescencija UC-CS-5-EG nanočestica nakon eksitacije na 980 nm; d) potvrda internalizacije UC-CS-5-EG u OSCC kroz kolokalizaciju autofluoresecencije ćelije i luminescencije UC-CS-5-EG nanočestica

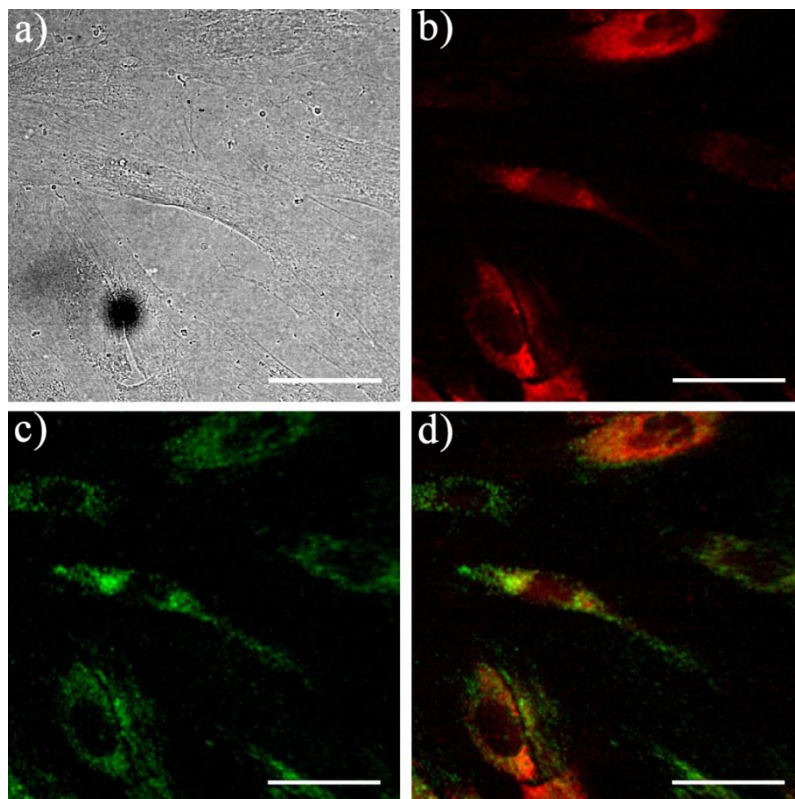


**Slika 80** Vizuelizacija HGC ćelije primenom UC-CS-5-EG nanočestica (10  $\mu\text{g/ml}$ , 24 h inkubacije): a) prikaz ćelije u transmissionom modu b) autofluorescencija ćelije nakon femtosekundske eksitacije na 730 nm; c) luminescencija UC-CS-5-EG nanočestica nakon eksitacije na 980 nm; d) potvrda internalizacije UC-CS-5-EG u OSCC kroz kolokalizaciju autofluorescencije ćelije i luminescencije UC-CS-5-EG nanočestica

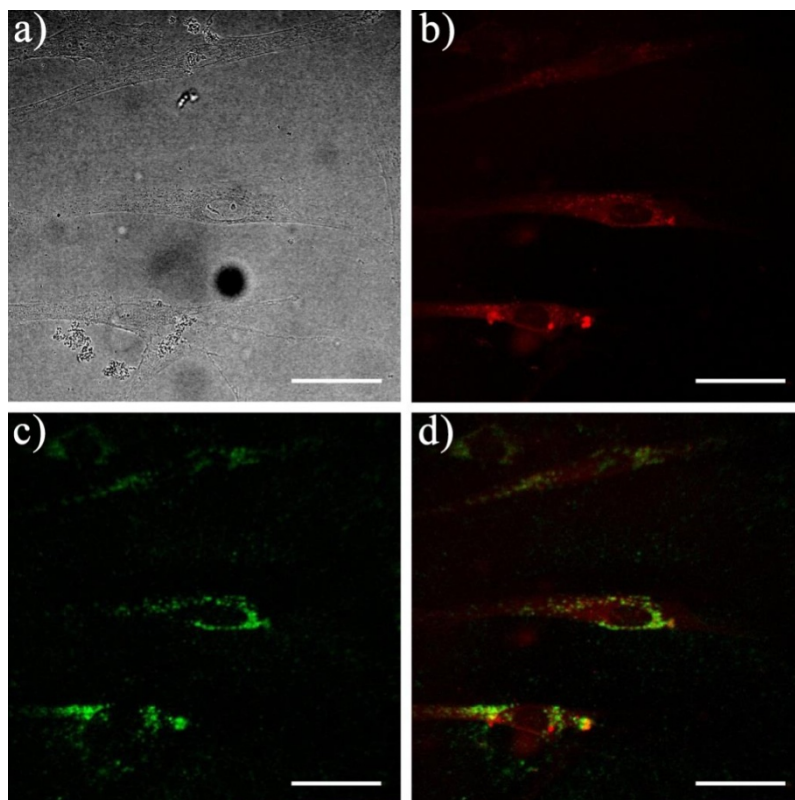
Ispitivanje sposobnosti internalizacije UC-PLGA-5-Ac nanočestica, kao i ispitivanje njihovog luminescentnog odziva kada se one nalaze u ćeliji, ispitan je na gore opisan način, a dobijeni rezultati prikazani su na slikama 81 i 82. Vizuelizacija OSCC i HGC obeleženih UC-PLGA-5-Ac nanočesticama postignuta je korišćenjem lasera talasne dužine 980 nm i intenziteta od 6 i 7,5 mW, redom stoji. Veličina oblasti prikazane na slikama je oko  $200 \times 200 \mu\text{m}^2$ . Na slici 81 prikazana je OSCC i to: slika 81a predstavlja ćelije vidljive pod mikroskopom u transparentnom modu; slika 81b prikazuje autofluorescenciju OSCC nakon eksitacije femtosekundnim laserom na 730 nm; slika 81c predstavlja luminescenciju UC-PLGA-5-Ac nanočestica nakon eksitacije kontinualnim zračenjem na 980 nm; dok je slika 81d dobijena preklapanjem slika 81b i c. Sa ove poslednje slike se može jasno videti da su UC-PLGA-5-Ac nanočestice, koje su prikazane zelenim fluorescentnim tačkama, uspešno internalizovane u kancer ćeliji. Njihova homogena distribucija u citoplazmi OSCC je jasno uočljiva sa slike 81d.

Na isti način urađena je i vizualizacija HGC ćelija korišćenjem UC-PLGA-5-Ac nanočestica, a dobijeni rezultati su prikazani na slici 82. Kao i u prethodnim slučajevima,

visok stepen internalizacije UC-PLGA-5-Ac nanočestica, kao i činjenica da nije uočeno njihovo prisustvo u jedru ćelije sugerirše da se one potencijalno mogu koristiti kao biomarkeri nove generacije.



**Slika 81** Vizuelizacija OSCC ćelije primenom UC-PLGA-5-Ac nanočestica (10  $\mu\text{g/ml}$ , 24 h inkubacije): a) prikaz ćelije u transmisionom modu b) autofluorescencija ćelije nakon femtosekundske eksitacije na 730 nm; c) luminescencija UC-CS-5-EG nanočestica nakon eksitacije na 980 nm; d) potvrda internalizacije UC-CS-5-EG u OSCC kroz kolokalizaciju autofluoresecencije ćelije i luminescencije UC-CS-5-EG nanočestica



**Slika 82** Vizuelizacija HGC ćelije primenom UC-PLGA-5-Ac nanočestica (10  $\mu\text{g/ml}$ , 24 h inkubacije): a) prikaz ćelije u transmissionom modu b) autofluorescencija ćelije nakon femtosekundske eksitacije na 730 nm; c) luminescencija UC-CS-5-EG nanočestica nakon eksitacije na 980 nm; d) potvrda internalizacije UC-CS-5-EG u OSCC kroz kolokalizaciju autofluorescencije ćelije i luminescencije UC-CS-5-EG nanočestica

Iako postoji dosta radova koji pokazuju mogućnost označavanja ćelija UCNPs, većina njih je fokusirana na testiranje na ćelijama kancerskih linija, dok su podaci o citotoksičnosti na primarnim ćelijskim kulturama kancerskih i normalnih ćelija veoma retki, i mogu se naći u svega par publikacija [126-128]. Specifičnost testiranih UCNPs, odnosno organskih omotača koji su na njima naknadno nanešeni, kao i tipa ćelija na kojima je ispitivana citotoksičnost ne omogućava direktno poređenje sa ovde prikazanim rezultatima, ali se na osnovu njih može zaključiti da su utvrđena svojstva UC-CS-5-EG i UC-CPLGA-5-Ac nanočestica u skladu sa zahtevima primene biomarkera nove generacije. S obzirom da je vizualizacija ćelija pri upotrebi UCNPs u *in vivo* uslovima uspešna do dubine od 1 cm [129], može se očekivati da se UC-CS-5-EG i UC-PLGA-5-Ac UCNPs sa uspehom mogu koristiti za detekciju skvamoznih ćelija kancera jezika i u *in vivo* uslovima nakon dodatnog vezivanja određenog antigena koji bi omogućio njihovu selektivniju internalizaciju u OSSC. Dodatno uočeno citotoksično dejstvo na kancerske ćelije pri višim koncentracijama primenjenih nanočestica uz minimalnu inhibiciju HGC ćelija ukazuje na mogućnost primene i u terapiji, pored dijagnostičke primene, što zahteva dalja detaljnija ispitivanja. U tu svrhu, a uzimajući u obzir navedene

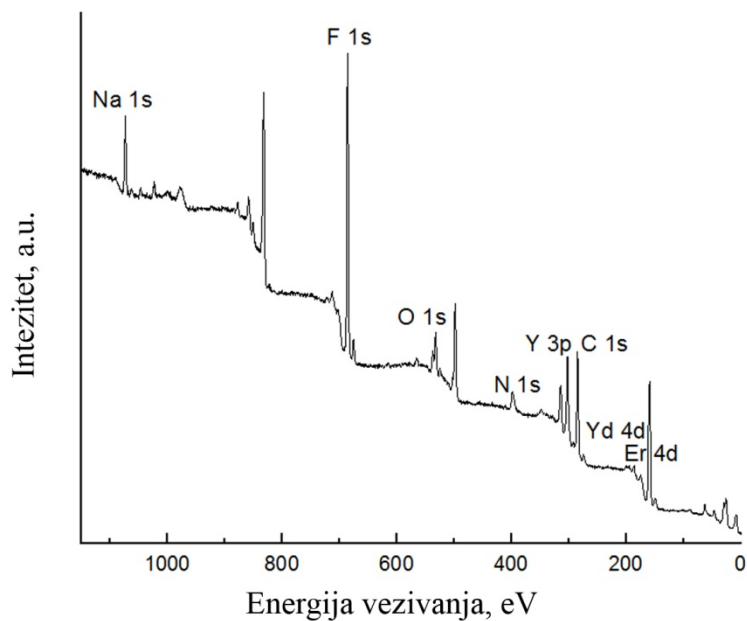
karakteristike sintetisanih UCNPs, kao i činjenicu da UC-CS-5-EG uzorak izgrađuju monodisperzne, monokristalne sferične nanočestice koje emituju intenzivan svetlosni odziv i grade stabilne koloidne rastvore, za ovaj uzorak je dodatno urađeno i određivanje prisustva slobodnih amino grupa na njihovoj površini, koje bi se potencijalno mogle dalje vezati za određeni antigen.

#### 4.12. Fotoelektronska spektroskopija X-zracima UC-CS-5-EG čestica

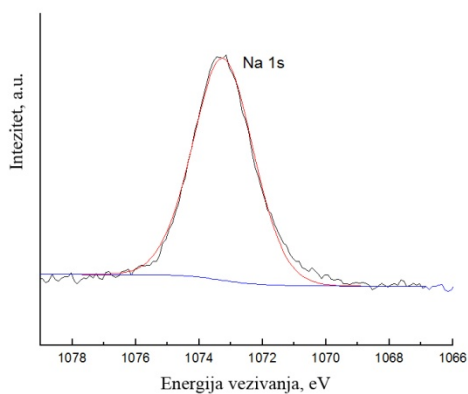
Fotoelektronska spektroskopija (XPS) se pokazala kao pogodna tehnika za ispitivanje kako elementarnog sastava površine čestica, tako i prisustva određenih funkcionalnih grupa na samoj čestici, načina njihovog vezivanja za česticu i njihovu površinsku koncentraciju.

Na slici 83 a prikazan je pregledni XPS spektar na kome su detektovani svi elementi retkih zemalja (Y, Yb, Er), kao i Na, F, C, N i O. Pikovi koji se nalaze na 1073,5 eV i 685,71 eV odgovaraju Na *1s* i F *1s*, redom stoji, slika 83 b i c [100, 130]. Spektralne linije (slika 83 d) čiji su maksimumi na 185,72 eV, 174,29 eV, 161 eV i 159 eV odgovaraju energiji veze Yb *4d*, Er *4d*, Y *3d<sub>3/2</sub>* i Y *3d<sub>5/2</sub>* redom stoji [131]. Dekonvolucija C *1s* signala, slika 83 e, pokazuje prisustvo tri maksimuma: 248,8 eV koji je tipičan za vezu ugljenika sa ugljenikom i vodonikom [C-(C,H)]; 282,92 eV veza između ugljenika i kiseonika ili azota [C-(O,N)], i na 286,59 eV koji je karakterističan za acetalnu ili amidnu grupu [O-C-O, N-C=O]. Kiseonične površinske grupe su određene razlaganjem O *1s* signala (slika 83 f). U regionu XPS spektra u kojem se javlja signal kiseonika, maksimumi na 532,70 i 531,4 eV pripisani su kiseoniku koji pripada polisaharidnom lancu i amidnoj grupi, redom stoji [132]. Sa druge strane razlaganjem N *1s* signala (slika 83 g) prva dva pika na 399,71 eV i 397,9 eV pripadaju protonovanim odnosno neprotonovanim amino grupama [132]. Na osnovu površine od 25 % (pik na 399,71 eV) odnosno 30 % (pik na 397,9 eV) koju zauzimaju, može se zaključiti da je skoro polovina terminalnih amino grupa hitozana kovalentno vezan za površinu UC-CS-5-EG čestica.

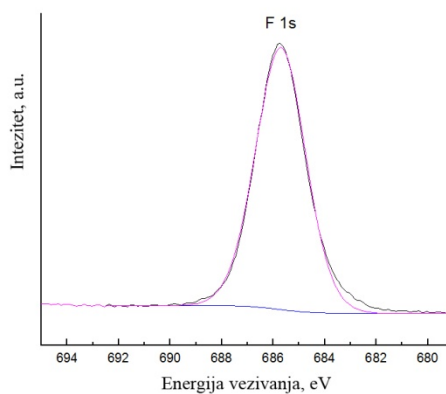
a



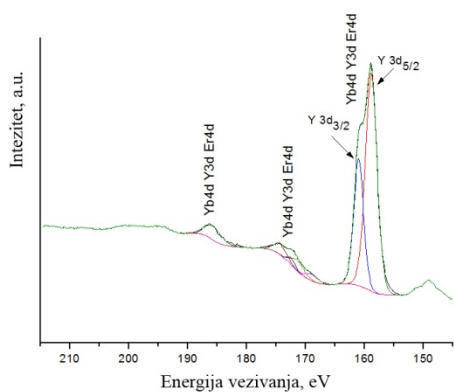
b



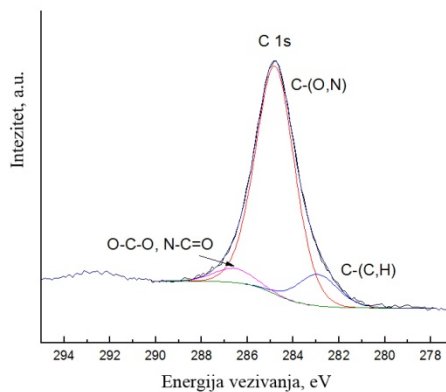
c

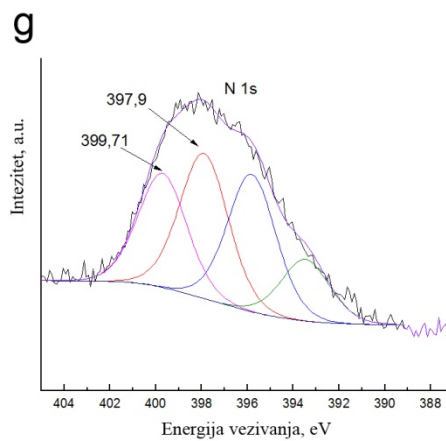
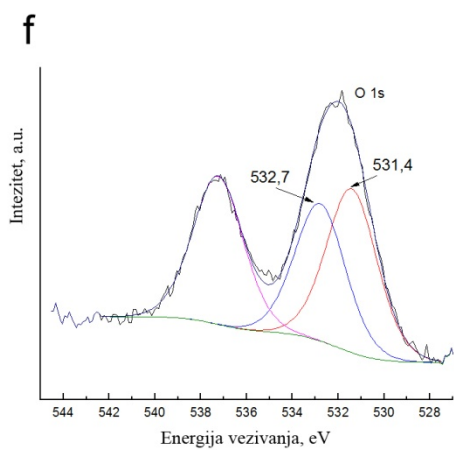


d



e





**Slika 83** XPS analiza uzorka UC-CS-5-EG a) pregledni spektar; i spektri unutrašnjih nivoa atoma b) Na 1s; c) F 1s; d) Y 3d, Yb 4d Er 4d; e) C 1s; f) O 1s i g) N 1s



## 5. ZAKLJUČAK

Poslednjih godina optički aktivne nanočestice privlače veliku pažnju naučne javnosti zbog svoje uspešne primene u vizualizaciji i karakterizaciji bioloških procesa na ćelijskom i molekulskom nivou. Optička aktivnost ovih materijala posledica je prisustva dopanata koji omogućavaju „up“- konvertorsku (anti-štoks) emisiju svetlosti nakon pobude infracrvenim izvorom zračenja. Među njima fluoridi elemenata retkih zemalja predstavljaju idealan izbor zbog toga što su se pokazali kao najpogodniji materijali domaćini za dopiranje jona retkih zemalja, što poseduju veliki indeks refrakcije, i nisku energiju fonona ( $\sim 350 \text{ cm}^{-1}$ ). Sami joni retkih zemalja imaju uske emisione linije u vidljivom delu spektra koji potiču od elektronskih prelaza unutar  $4f$  orbitala, pri čemu veliki broj elektronskih nivoa sa dugim vremenima života emisije dodatno omogućava emitovanje fotona veće energije od pobudne.

Predmet istraživanja ove doktorske disertacije bio je razvijanje i optimizacija *in situ* sinteze biokompatibilnih  $\text{NaY}_{0.8}\text{Yb}_{0.17}\text{Er}_{0.03}\text{F}_4$  čestica definisane morfologije i željenih optičkih karakteristika tokom hidro/solvo-termalnog tretmana. Ispitan je uticaj biokompatibilnih polimera EDTA, PVP, PEG, PAA, hitozana i PLGA na proces nukleacije i prostornu orijentisanost  $\text{NaY}_{0.8}\text{Yb}_{0.17}\text{Er}_{0.03}\text{F}_4$  faze, kao i antimikrobna i citotoksična svojstva sintetisanih nanočestica iz sistema dobijenih u prisustvu PLGA i hitozana. Mogućnost *in vitro* vizuelizacije ćelija korišćenjem ovih čestica ispitana je na zdravim gingivalnim ćelijama korena pulpe i skvamoznim ćelijama kancera jezika.

Rendgeno-strukturna analiza sintetisanih prahova pokazala je da svi uzorci imaju dobru kristaliničnost i odgovarajući fazni sastav. Uzorci UC-EDTA-100-0,5-aq, UC-EDTA-10-2-Et, UC-PVP-5-EG, UC-PEG-10-aq, UC-PAA-5-Et, UC-CS-5-EG, UC-CS-5-EG-PVP kristališu u kubnoj  $\alpha$ -  $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}$  strukturi, dok se heksagonalna  $\beta$ -  $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}$  faza javlja kod UC-EDTA-100-2-aq uzorka, kao i termički tretiranim uzorcima UC-PVP-5-Et-TT i UC-PEG-10-aq-TT. Kristalizacija kubne i heksagonalne faze primećena je u uzorcima UC-EDTA-100-20-aq, UC-PVP-10-Et, UC-PVP-5-Et, UC-PVP-5-Et-NaOH i UC-PLGA-5-Ac, i posledica je promene koncentracije prekursora, korišćenja etanola kao rastvarača ili porasta pH vrednosti u ovim sistemima.

Skenirajuća i transmisiona elektronska mikroskopija sa energetske disperzionom spektroskopijom X-zraka je pokazala da su najbolje morfološke karakteristike čestica, sa stanovišta primene ovih čestica u biomedicini, postignute u uzorcima UC-EDTA-100-0,5-aq, UC-EDTA-10-2-Et, UC-CS-5-EG i UC-PLGA-5-Ac, jer su ovi uzorci sačinjeni od sferičnih, neaglomerisanih čestica veličine od 50 do 200 nm.

FTIR analizom je potvrđeno prisustvo funkcionalnih grupa odgovarajućih polimera korišćenih tokom procesa sinteze.

Optička svojstva prahova ispitana su fotoluminescentnom spektroskopijom pri eksitaciji od 980 nm. Dobijeni spektri su sačinjeni od emisionih linija koji potiču od  $f-f$  elektronskih prelaza erbijuma i to:  ${}^2\text{H}_{9/2} \rightarrow {}^4\text{I}_{15/2}$  (plava emisija 405-409 nm),  $({}^2\text{H}_{11/2}, {}^4\text{S}_{3/2}) \rightarrow {}^4\text{I}_{15/2}$  (zelena emisija 510-540 nm) i  ${}^4\text{F}_{9/2} \rightarrow {}^4\text{I}_{15/2}$  (crvena emisija na 640-670 nm). U zavisnosti da li u sistemu preovlađuje kubna ili heksagonalna faza menja se odnos crvene i zelene emisije, kao i finalne CIE koordinate. U sistemima koji sadrže kubnu fazu (UC-EDTA-100-0,5-aq, UC-EDTA-10-2-Et, UC-PVP-5-EG, UC-PEG-10-aq, UC-PAA-5-Et, UC-CS-5-EG, UC-CS-5-EG-PVP) preovladava emisija u žuto-crvenom delu spektra, dok u sistemima gde heksagonalna faza preovlađuje (UC-EDTA-100-2-aq, UC-EDTA-100-20-aq, UC-PVP-10-Et, UC-PVP-10-Et-TT, UC-PVP-5-Et, UC-PVP-5-Et-NaOH, i UC-PLGA-5-Ac) finalna emisija svetlosti je zelene boje. Kod uzorka UC-PEG-10-aq i UC-PAA-5-Et primećeno je slabljenje svetlosnog odziva usled prisustva velikog broja hidroksilnih grupa na njihovoj površini.

Za dodatna ispitivanja biokompatibilnosti (antimikrobne i citotoksične aktivnosti) kao i moguće primene sintetisanih optički aktivnih nanočestica fluorida retkih zemalja u vizuelizaciji ćelija izabrane su nanočestice sastava  $\text{NaY}_{0.8}\text{Yb}_{0.17}\text{Er}_{0.03}\text{F}_4$  koje su sintetisane u prisustvu hitozana (uzorak UC-CS-5-EG) i poli(laktid-ko-glikolida), (uzorak UC-PLGA-5-Ac).

Dobijeni rezultati pokazuju uspešnu internalizaciju obe vrste čestica u koncentraciji od 10  $\mu\text{g/ml}$  u zdrave gingivalne ćelije korena pulpe i skvamozne ćelije kancera jezika. Značajno viša citotoksičnost prema kancer ćelijama je dobijena u koncentraciji od 50  $\mu\text{g/ml}$ , dok je vijabilnost zdravih gingivalnih ćelija bila očuvana pri istoj koncentraciji. U cilju ispitivanja mogućnosti dodatne modifikacije sintetisanih čestica izabranim antigenom (koji bi dalje omogućio selektivnu internalizaciju, odnosno vizuelizacija samo određenog tipa ćelija, ali i širi spektar primene), za UC-CS-5-EG nanočestice je utvrđen i stepen raspoloživih amino grupa koje mogu vezati takav antigen. Naime, XPS analizom je pokazano da je samo polovina terminalnih amino grupa hitozana kovalentno vezana za površinu UCNPs dok je preostala polovina slobodna za dalju interakciju.

Ova činjenica otvara mogućnost za dodatna istraživanja koja bi išla u pravcu *in situ* sinteze biokompatibilnih UCNPs i njihove dodatne funkcionalizacije antitelima sa ciljem selektivne konjugacije biomolekula, odnosno selektivne vizuelizacije određenog tipa ćelija, radi njihove detekcije i ciljanog lečenja.

## 6. PUBLIKACIJE PROIZAŠLE IZ DOKTORSKE DISERTACIJE

1. Ivana Z Dinic, Maria Eugenia Rabanal, Kazuhiro Yamamoto, Zhenquan Tan, Satoshi Ohara, Lidija T. Mancic, Olivera B. Milosevic, *PEG and PVP assisted solvothermal synthesis of NaYF<sub>4</sub>:Yb<sup>3+</sup>/Er<sup>3+</sup> up-conversion nanoparticles*, *Advanced Powder Technology*, 27 (2016) 845-853, DOI: 10.1016/j.appt.2015.11.010, IF (2.478)
2. Ivana Z. Dinic, Lidija T. Mancic, Maria Eugenia Rabanal, Kazuhiro Yamamoto, Satoshi Ohara, Sayaka Tamura, Tomita Koji, Antonio M. L. M. Costa, Bojan A. Marinkovic, Olivera B. Milosevic, *Compositional and structural dependence of up-converting rare earth fluorides obtained through EDTA assisted htdro/solvothermal synthesis*, *Advanced Powder Technology*, 28 (2017) 73-82, DOI: 10.1016/j.appt.2016.09.021. IF (2.478)
3. I. Dinic, L. Mancic, O. Milosevic, Hidrotermalna sinteza optički aktivnih čestica fluorida dopiranih jonima retkih zemalja u prisustvu etilendiamintetrasirćetne kiseline (EDTA), *Tehnika 4* (2016) 513-518
4. Lidija Mancic, Aleksandra Djukic -Vukovic, Ivana Dinic, Marko G. Nikolic, Mihailo D. Rabasovic, Aleksandar J. Krmpot, Antonio M. L. M. Costa, Dijana Trisic, Milos Lazarevic, Ljiljana Mojovic, Olivera Milosevic, *NIR photo-driven upconversion in NaYF<sub>4</sub>:Yb,Er/PLGA particles for in vitro bioimaging of cancer cells*, *Materials Science & Engineering C* 91 (2018) 597-605, DOI: 10.1016/j.msec.2018.05.081
5. Lidija Mancic, Aleksandra Djukic -Vukovic, Ivana Dinic, Marko G. Nikolic, Mihailo D. Rabasovic, Aleksandar J. Krmpot, Antonio M. L. M. Costa, Bojan A. Marinkovic, Ljiljana Mojovic, Olivera Milosevic, *One-step synthesis of amino-functionalized upconverting NaYF<sub>4</sub>:Yb,Er nanoparticles for in vitro cell imaging*, *RSC Advanced*, 2018, 8, 27429, DOI: 10.1039/c8ra04178d

## 7. LITERATURA

1. F. Auzel, Upconversion and Anti-Stokes Processes with f and d Ions in Solids, *Chem. Rev.* 2004, 104, 139-173
2. M. Haase, H. Schäfer, Upconverting nanoparticles, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2011, 50, 5808-5829
3. G. Liu, B. Jacquier, Spectroscopic Properties of Rare Earth in Optical Materials, Springer, Berlin, 2005
4. X. Wang, Y. Li, Rare-Earth-Compound Nanowires, Nanotubes, and Fullerene-Like Nanoparticles: Synthesis, Characterization, and Properties, *Chem. Eur. J.* 2003, 9, 5627-5635
5. C. Li, J. Lin, Rare earth fluoride nano-/microcrystals: synthesis, surface modification and application, *J. Mater. Chem.* 2010, 20, 6831-6847
6. L. Wang, X. Xue, H. Chen, D. Zhao, W. Qin, Unusual radiative transitions of  $\text{Eu}^{3+}$  ions in Yb/Er/Eu tri-doped  $\text{NaYF}_4$  nanocrystals under infrared excitation, *Chem. Phys. Lett.* 2010, 485 (1-3), 183-186
7. D. Vennerberg, Z. Lin, Upconversion nanocrystals: Synthesis, properties, assembly and applications, *Sci. Adv. Mater.* 2011, 3 (1), 26-40
8. H. Chen, Z. Zhen, T. Todd, P. K. Chu, J. Xie, Nanoparticles for improving cancer diagnosis, *Mater. Sci. Eng. R Rep.* 2013, 74 (3), 35-69
9. A. L. Ouellette, J. J. Li, D. E. Cooper, A. J. Ricco, G. T. A. Kovacs, Evolving point-of-care diagnostics using up-converting phosphor bioanalytical systems, *Anal. Chem.* 2009, 81 (9), 3216-3221
10. X. Zhu, B. Da Silva, X. Zou, B. Shen, Y. Sun, W. Feng, F. Li, Intra-arterial infusion of PEGylated upconversion nanophosphors to improve the initial uptake by tumors in vivo, *RSC Adv.* 2014, 4 (45), 23580-23584
11. X. Wu, G. Chen, J. Shen, Z. Li, Y. Zhang, G. Han, Upconversion Nanoparticles: A Versatile Solution to Multiscale Biological Imaging, *Bioconjugate Chem.* 2015, 26, 166-175
12. J. Zhou, Z. Liu, F. Li, Upconversion nanophosphors for small-animal imaging, *Chem. Soc. Rev.* 2012, 41, 1323-1349
13. J. Lu, Y. Chen, D. Liu, W. Ren, Y. Lu, Y. Shi, J. Piper, I. Paulsen, D. Jin, One-Step Protein Conjugation to Upconversion Nanoparticles, *Anal. Chem.* 2015, 87, 10406-10413

14. M. D. Galanin, *Luminescence of Molecules and Crystals*, Cambridge International Science Publishing, England, 1996
15. W. M. Yen, S. Shionoya, H. Yamamoto, *Phosphor Handbook 2nd Edition*, CRC Press, New York, 2006
16. M. Gaft, R. Reisfeld, G. Panczer, *Modern Luminescence Spectroscopy of Minerals and Materials*, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 2005
17. X. Zhu, Q. Su, W. Feng, F. Li, Anti-Stokes shift luminescent materials for bio-applications, *Chem. Soc. Rev*, 2017, 46, 1025-1039
18. L. Aarts, B. M. van der Ende, A. Meijerink, Downconversion for solar cells in NaYF<sub>4</sub>:Er,Yb, *Journal of applied physics*, 2009, 106, 023522
19. G. Alombert -Goget, D. Ristic, A. Chiasera, S. Varas, M. Ferrari, G. C. Righini, B. Dieudonne, B. Boulard, Rare-earth doped materials enhance silicon solar cell efficiency, *SPIE newsroom*, 2011
20. A. Lakshmanan, *Luminescence and display phosphors: phenomena and applications*, Nova science publishers, inc New York, 2008
21. M. Wang, G. Abbineni, A. Clevenger, C. Mao, S. Xu, Upconversion nanoparticles: Synthesis, surface modification and biological applications, *Nanomedicine: NBM*, 2011, 7 (6), 710 - 729
22. R. Brundle, C. A. Evans, Jr, S. Wilson, *Materials characterization series surfaces, Interfaces, Thin Films*, Butxetworch-Heinemann, Inc USA, 1992
23. G. Blasse, B. C. Grabmaier, *Luminescent Materials*, Springer Verlag, Berlin, 1994
24. K. Franz, *Ulmans Encyclopedia of Industrial Chemistry, Luminescent Materials*, Wiley InterScience, 7<sup>th</sup> Edition, 2009
25. G. Liu, B. Jacquier, *Spectroscopic Properties of Rare Earths in Optical Materials*, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 2005
26. V. Zepf, *Rare Earth Elements, A New Approach to the Nexus of Supply, Demand and Use: Exemplified along the Use of Neodymium in Permanent Magnets* Springer Theses, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, 2013
27. J. Shen, L. -D. Sun, C. -H. Yan, Luminescent rare earth nanomaterials for bioprobe applications, *Dalton Trans*, 2008, 5687-5697
28. B. L. Wang, P. Li, Y. Li, Down- and Up- Conversion Luminescent Nanorods, *Adv. Mater.* 2007, 19, 3304-3307
29. F. Wang, X. Liu, Recent advances in the chemistry of lanthanide - doped upconversion nanocrystals, *Chem. Soc. Rev*, 2009, 38 (4), 976 - 989

30. T. Riuttamäki, *Upconverting Phosphor technology: Exceptional Photoluminescent Properties Light Up Homogeneous Bioanalytical Assays*, Turku, Finland, 2011
31. P. Hagemuller, *Inorganic Solid Fluorides, Chemistry and Physics*, By academic press, INC, 1985
32. R. Lacmann, A. Herden, Chr. Mayer, *Kinetics of Nucleation and Crystal Growth*, *Chem. Eng. Technol*, 1999, 4, 22
33. T. Kawasaki, H. Tanaka, *Formation of a crystal nucleus from liquid*, *PNAS*, 2010, 107 (32), 14036-14041
34. S. Karthika, T. K. Radhakrishnan, P. Kalaichelvi, *A Review of Classical and Nonclassical Nucleation Theories*, *Cryst. Growth Des.* 2016, 16, 6663–6681
35. J. Cejka, A. Corma, S. Zones, *Zeolites and Catalysis, Synthesis, Reactions and Applications. Vol. 1*, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2010
36. L. Wang, X. Li, Z. Li, W. Chu, R. Li, K. Lin, H. Qian, Y. Wang, C. Wu, J. Li, D. Tu, Q. Zhang, L. Song, J. Jiang, X. Chen, Y. Luo, Y. Xie, Y. Xiong, *A New Cubic Phase for a NaYF<sub>4</sub> Host Matrix Offering High Upconversion Luminescence Efficiency*, *Adv. Mater.* 2015, 27, 5528-5533
37. S. Yasyrkina, S. V. Kuznetsov, A. V. Ryabova, D. V. Pominova, V. V. Voronov, R. P. Ermakov, P. P. Fedorov, *Dependence of quantum yield of up-conversion luminescence on the composition of fluorite-type solid solution NaY<sub>1-x-y</sub>Yb<sub>x</sub>Er<sub>y</sub>F<sub>4</sub>*, *Nanosystems: physics, chemistry, mathematics*, 2013, 4 (5), 648-656
38. B. Szefczyk, R. Roszak, S. Roszak, *Structure of the hexagonal NaYF<sub>4</sub> phase from first-principles molecular dynamics*, *RSC Adv*, 2014, 4, 22526-22535
39. D. Hudry, A. M. M. Abeykoon, E. Dooryhee, D. Nykypanchuk, J. H. Dickerson, *Probing the Crystal Structure and Formation Mechanism of Lanthanide-Doped Upconverting Nanocrystals*, *Chem. Mater.* 2016, 28, 8752–8763
40. J. Zhuang, L. Liang, H. H. Y. Sung, X. Yang, M. Wu, I. D. Williams, S. Feng, Q. Su, *Controlled Hydrothermal Growth and Up- Conversion Emission of NaLnF<sub>4</sub> (Ln) Y, Dy -Yb*, *Inorg. Chem*, 2007, 46 (13), 5404-5410
41. Z. Li, Y. Zhang, *An efficient and user-friendly method for the synthesis of hexagonal-phase NaYF<sub>4</sub>:Yb, Er/Tm nanocrystals with controllable shape and upconversion fluorescence*, *Nanotechnology*, 2008, 19, 345606
42. Z. Cheng, J. Lin, *Synthesis and Application of Nanohybrids Based on Upconverting Nanoparticles and Polymers*, *Macromol. Rapid Commun*, 2015, 36, 790–827

43. C. Li, J. Lin, Rare earth fluoride nano-/microcrystals: synthesis, surface modification and application, *J. Mater. Chem*, 2010, 20, 6831-6847
44. F. Vetrone, R. Naccache, A. Juarranz de la Fuente, F. Sanz-Rodríguez, A. Blazquez-Castro, E. Martin Rodriguez, D. Jaque, J. Garcia Sole, J. A. Capobianco, Intracellular imaging of HeLa cells by non-functionalized  $\text{NaYF}_4:\text{Er}^{3+}, \text{Yb}^{3+}$  upconverting nanoparticles, *Nanoscale*, 2010, 2, 495-498
45. S. Heer, K. Kompe, H. -U. Gudel, M. Haase, Highly efficient multicolour upconversion emission in transparent colloids of lanthanide-doped  $\text{NaYF}_4$  nanocrystals, *Adv. Mater*, 2004, 16 (23-24), 2102-2105
46. R. B. Anderson, S. J. Smith, P. S. May, M. T. Berry, M. T. Revisiting the NIR-to-Visible Upconversion Mechanism in  $\beta\text{-NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$ , *J. Phys. Chem. Lett*, 5 (2014), 5, 36-42
47. M. T. Berry, P. S. May, Disputed Mechanism for NIR-to-Red Upconversion Luminescence in  $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$ , *Journal of Physical Chemistry A*, 119 (2015) 9805-9811
48. S. F. Lim, W. S. Ryu, R. H. Austin, Particle size dependence of the dynamic photophysical properties of  $\text{NaYF}_4:\text{Yb}, \text{Er}$  nanocrystals, *Opt. express*, 2010, 18 (3), 2309-2316
49. F. Zhang, Near Infrared Nanomaterials Preparation, Bioimaging, and Therapy Applications, The Royal Society of Chemistry, 2016
50. X. Chen, D. Peng, Q. Ju, F. Wang, Photon upconversion in core-shell nanoparticles, *Chem. Soc. Rev*, 2015, 44, 1318
51. Z. Gu, L. Yan, G. Tian, S. Li, Z. Chai, Y. Zhao, Recent Advances in Design and Fabrication of Upconversion Nanoparticles and Their Safe Theranostic Applications, *Adv. Mater*, 2013, 25, 3758-3779
52. Y. Liu, D. Tu, H. Zhu, X. Chen, Lanthanide-doped luminescent nanoprobe: Controlled synthesis, optical spectroscopy, and bioapplications, *Chem. Soc. Rev*, 2013, 42 (16), 6924 - 6958
53. Q. Tian, K. Tao, W. Li, K. Sun, Hot-Injection Approach for Two-Stage Formed Hexagonal  $\text{NaYF}_4:\text{Yb}, \text{Er}$  Nanocrystals, *J. Phys. Chem. C*, 2011, 115, 22886-22892
54. J. C. Boyer, F. Vetrone, L. A. Cuccia, J. A. Capobianco, Synthesis of colloidal upconverting  $\text{NaYF}_4$  nanocrystals doped with  $\text{Er}^{3+}, \text{Yb}^{3+}$  and  $\text{Tm}^{3+}, \text{Yb}^{3+}$  via thermal decomposition of lanthanide trifluoroacetate precursors, *J. Am. Chem. Soc*, 2006, 128 (23), 7444 - 7445

55. B. Xu, X. Wang, Solvothermal synthesis of monodisperse nanocrystals, Dalton Trans, 2012, 41, 4719
56. J. Chen, J. X. Zhao, Upconversion nanomaterials: Synthesis, mechanism, and applications in sensing (2012) Sensors, 12 (3), pp. 2414 - 2435
57. K. Byrappa, T. Adschiri, Hydrothermal technology for nanotechnology, Prog. Cryst. Growth Charact. Mater, 2007, 53 (2), 117 - 166
58. W. L. Suchanek, R. E. Riman, Hydrothermal Synthesis of Advanced Ceramic Powders, Adv. Sci. Tech, 2006, 45, 184-193
59. L. Wang, Y. Li, Na(Y<sub>1.5</sub>Na<sub>0.5</sub>)F<sub>6</sub> Single-Crystal Nanorods as Multicolor Luminescent Materials, Nano Lett, 2006, 6 (8), 1645-1649
60. F. Zhang, J. Li, J. Shan, L. Xu, D. Zhao, Shape, Size, and Phase-Controlled Rare-Earth Fluoride Nanocrystals with Optical Up- Conversion Properties, Chem. Eur. J. 2009, 15, 11010-11019
61. M. Wang, J. -L. Liu, Y. -X. Zhang, W. Hou, X. -L. Wu, S. -K. Xu, Two-phase solvothermal synthesis of rare-earth doped NaYF<sub>4</sub> upconversion fluorescent nanocrystals, Mater. Lett, 2009, 63, 325-327
62. C. Bharti, U. Nagaich, AK. Pal, N. Gulati, Mesoporous silica nanoparticles in target drug delivery system: A review, Int. J. Pharma Investig, 2015, 5, 124-133.
63. M. Deng, Y. Ma, S. Huang, G. Hu, L. Wang, Monodisperse Upconversion NaYF<sub>4</sub> Nanocrystals: Syntheses and Bioapplications, Nano Res. 2011, 4(7), 685-694
64. J. -C. Boyer, M. -P. Manseau, J. I. Murray, F. C. J. M. van Veggel, Surface Modification of Upconverting NaYF<sub>4</sub> Nanoparticles with PEG-Phosphate Ligands for NIR (800 nm) Biolabeling within the Biological Window, Langmuir, 2010, 26(2), 1157-1164
65. C. Li, Z. Quan, J. Yang, P. Yang, J. Lin, Highly Uniform and Monodisperse  $\alpha$ -NaYF<sub>4</sub>:Ln<sup>3+</sup> (Ln ) Eu, Tb, Yb/Er, and Yb/Tm) Hexagonal Microprism Crystals: Hydrothermal Synthesis and Luminescent Properties, Inorg. Chem. 2007, 46, 6329-6337
66. T. Jiang, W. Qin, W. Di, R. Yang, D. Liu, X. Zhai, G. Qin, Citric acid-assisted hydrothermal synthesis of  $\alpha$ - NaYF<sub>4</sub>:Yb<sup>3+</sup>,Tm<sup>3+</sup> nanocrystals and their enhanced ultraviolet upconversion emissions, Cryst .Eng. Comm, 2012, 14, 2302-2307
67. M. Ding, S. Yin, Y. Ni, C. Lu, D. Chen, J. Zhong, Z. Ji, Z. Xu, Controlled synthesis of  $\beta$ - NaYF<sub>4</sub>:Yb<sup>3+</sup>/Er<sup>3+</sup> microstructures with morphology-and size-dependent upconversion luminescence, Ceram. Int, 2015, 41, 7411-7420



68. F. Wang, D. K. Chatterjee, Z. Li, Y. Zhang, X. Fan, M. Wang, Synthesis of polyethylenimine / NaYF<sub>4</sub> nanoparticles with upconversion fluorescence, *Nanotechnology*, 2006, 17 (23), 5786 - 5791
69. Y. Sun, Y. Chen, L. Tian, Y. Yu, X. Kong, J. Zhao, H. Zhang, Controlled synthesis and morphology dependent upconversion luminescence of NaYF<sub>4</sub>:Yb, Er nanocrystals, *Nanotechnology*, 2007, 18 (27), 275609
70. M. Wang, C. -C. Mi, J. -L. Liu, X. -L. Wu, Y. -X. Zhang, W. Hou, F. Li, S. -K. Xu, One-step synthesis and characterization of water-soluble NaYF<sub>4</sub>:Yb,Er/polymer nanoparticles with efficient up- conversion fluorescence, *J.Alloys Compd*, 2009, 485 (1-2), L24-L27
71. K. C. Lanigan, K. Pidsosny, Reflectance FTIR spectroscopic analysis of metal complexation to EDTA and EDDS, *Vib. Spectrosc*, 2007, 45, 2-9
72. I. Hyppänen, J. Hölsä, J. Kankare, M. Lastusaari, L. Pihlgrena, T. Soukka, Preparation and Up- Conversion Luminescence Properties of NaYF<sub>4</sub>:Yb<sup>3+</sup>,Er<sup>3+</sup> Nanomaterials, *Terrae Rarae*, 2009, 16, 1-6
73. T. J. Daou, L. Li, P. Reiss, V. Jossierand, I. Texier, Effect of poly (ethylene glycol) length on the in vivo behavior of coated quantum dots, *Langmuir*, 2009, 25 (5), 3040-3044
74. M. J. Roberts, M. D. Bentley, J. M. Harris, Chemistry for peptide and protein PEGylation, *Adv. Drug Deliv. Rev*, 2002, 54 (4), 459-476
75. A. A. Tomei, V. Manzoli, C. A. Fraker, J. Giraldo, D. Velluto, M. Najjar, J. A. Hubbell, Device design and materials optimization of conformal coating for islets of Langerhans, *Proc. Nat. Acad. Sci*, 2014, 111(29), 10514-10519
76. D. K. Chatterjee, A. J. Rufaihah, Y. Zhang, Upconversion fluorescence imaging of cells and small animals using lanthanide doped nanocrystals, *Biomaterials*, 2008, 29 (7), 937-940
77. V. Bühler, Polyvinylpyrrolidone - Excipients for Pharmaceuticals, Springer Verlag, Berlin, 2005
78. S. H. Lim, J. Kim, S. -G. Lee, Y. S. Kim, Water-soluble polymer dielectric with potential for high performance organic thin-film transistors, *Chem. Commun*, 2010, 46 (22), 3961-3963
79. P. K. Dutta, J. Dutta, V. S. Tripathi, Chitin and chitosan, Chemistry, properties and application, *J. Sci. Ind. Res*, 2004, 63, 20-31

80. H. K. Makadia, S. J. Siegel, Poly Lactic-co-Glycolic Acid (PLGA) as Biodegradable Controlled Drug Delivery Carrier, *Polymers*, 2011, 3, 1377-1397
81. *Encyclopedia of Biomaterials and Biomedical Engineering*, 2005 by Taylor & Francis
82. D. Karley, D. Gupta, A. Tiwari, Biomarkers: The Future of Medical Science to Detect Cancer, *J. Mol. Biomark. Diagn*, 2011, 2, 118,
83. R. Scatena, *Advances in Cancer Biomarkers, Advances in Experimental Medicine and Biology 867*, Springer Science+Business Media Dordrecht, 2015
84. M. Chen, M. Yin, Design and development of fluorescent nanostructures for bioimaging, *Prog. Polym. Sci*, 2014, 39, 365-395
85. N. Khemthongcharoen, R. Jolivot, S. Rattanavarin, W. Piyawattanametha, Advances in imaging probes and optical microendoscopic imaging techniques for early in vivo cancer assessment, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2014, 74, 53-74
86. H. S. Mader, P. Kele, S. M. Saleh, O. S. Wolfbeis, Upconverting luminescent nanoparticles for use in bioconjugation and bioimaging, *Curr. Opin. Chem. Biol*, 2010, 14, 582-596
87. D. J. Naczynski, M. C. Tan, R. E. Riman, P. V. Moghe, Rare earth nanoprobe for functional biomolecular imaging and theranostics, *J. Mater. Chem. B*, 2014, 2, 2958
88. N. Vigneswaran, M. D. Williams, Epidemiological Trends in Head and Neck Cancer and Aids in Diagnosis, *Oral Maxillofac. Surg. Clin. North Am.* 26 (2) (2014) 123-141
89. A. K. Markopoulos, Current aspects on oral squamous cell carcinoma, *Open Dent. J*, 2012, 6, 126-130
90. J. H. Wang, B. Wang, Q. Liu, Q. Li, H. Huang, L. Song, T. Y. Sun, H. Wang, X. F. Yu, C. Li, P. K. Chu, Bimodal optical diagnostics of oral cancer based on Rose Bengal conjugated gold nanorod platform, *Biomaterials*, 2013, 34, 4274-4283
91. R. M. Mainardes, M. P. D. Gremião, R. C. Evangelista, Thermoanalytical study of praziquantel-loaded PLGA nanoparticles, *Braz. J. of Pharm. Sci*, 2006, 42 (4), 523-530.
92. R. W. Cheary, A. Coelho, A Fundamental Parameters Approach to X-ray Line-Profile Fitting, *J. Appl. Cryst*, 1992, 25, 109-121

93. Srpski standard SRPS N.AO.845:1995, Osvetljenje - Termini i definicije Zračenje - Veličine i jedinice, koji je identičan međunarodnom rečniku osvetljenja CIE (Commission Internationale d'Eclairage), publikacija CIE 17.4:1987 International Lighting Vocabulary
94. V. Pozzi, D. Sartini, R. Rocchetti, A. Santarelli, C. Rubini, S. Morganti, R. Giuliante, S. Calabrese, G. Di Ruscio, F. Orlando, M. Provinciali, F. Saccucci, L. Lo Muzio, M. Emanuelli, Identification and characterization of cancer stem cells from head and neck squamous cell carcinoma cell lines, *Cell. Physiol. Biochem*, 2015, 36, 784-798
95. S. Castiglioni, C. Caspani, A. Cazzaniga, J. A. Maier, Short- and long-term effects of silvernanoparticles on human microvascular endothelial cells, *World J. Biol. Chem*, 2014, 5, 457-464
96. K. Bukara, S. Jovanic, I. T. Drvenica, A. Stancic, V. Ilic, M. D. Rabasovic, D. Pantelic, B. Jelenkovic, B. Bugarski, A. J. Krmpot, Mapping of hemoglobin in erythrocytes and erythrocyte ghosts using two photon excitation fluorescence microscopy, *J. Biomed. Opt*, 2017, 22 (2), 026003 (8 pages)
97. A. Aebischer, M. Hostettler, J. Hauser, K. Kramer, T. Weber, H. U. Gudel, H. -B. Burgi, Structural and spectroscopic characterization of active sites in a family of light-emitting sodium lanthanide tetrafluorides, *Angew. Chem. Int*, 2006, 45, 2802-2806
98. P. P. Fedorov, A. A. Luginina, S. V. Kuznetsov, V. V. Osiko, Nanofluorides, *J. Fluorine Chem*, 2011, 132, 1012-1039
99. V. R. Sastri, J. R. Perumareddi, V. R. Rao, G. V. S. Rayudu, J. -C. G. Bünzli, *Modern Aspects of Rare Earths and their Complexes*, Elsevier, 2003
100. M. Ding, D. Chen, S. Yin, Z. Ji, J. Zhong, Y. Ni, C. Lu, Z. Xu, Simultaneous morphology manipulation and upconversion luminescence enhancement of  $\beta$ -NaYF<sub>4</sub>:Yb<sup>3+</sup>/Er<sup>3+</sup> microcrystals by simply tuning the KF dosage, *Sci. Rep*, 2015, 5, 12745
101. F. Tao, F. Pan, Z. Wang, W. Caic, Lianzeng Yao, Synthesis and photoluminescence properties of hexagonal Lanthanide(III)-doped NaYF<sub>4</sub> microprisms, *Cryst.Eng.Comm*, 2010, 12, 4263-4267
102. R. Manimekalai, C. R. Raja, EDTA effect on copper sulphate penta hydrate - a NLO material, *Int. Res. J. Pure Appl. Chem*, 2013, 3 (4), 391-403

103. Y. E. Zhao, C. Y. Cai, Y. Y. Luo, Z. H. He, FTIR spectra of the M(EDTA)<sub>n</sub> complexes in the process of sol-gel technique, *J. Supercond*, 2004, 17 (3), 383-387
104. K. C. Lanigan, K. Pidosny, Reflectance FTIR spectroscopic analysis of metal complexation to EDTA and EDDS, reflectance FTIR spectroscopic analysis of metal complexation to EDTA and EDDS, *Vib. Spectrosc*, 2007, 45 (1), 2-9
105. F. Vetrone, J. C. Boyer, J. A. Capobianco, A. Speghini, M.J. Bettinelli, Significance of Yb<sup>3+</sup> concentration on the upconversion mechanisms in codoped Y<sub>2</sub>O<sub>3</sub>:Er<sup>3+</sup>, Yb<sup>3+</sup> nanocrystals, *J. App. Phys*, 2004, 96, 661-667
106. C. Renero -Lecuna, R. Martín -Rodríguez, R. Valiente, J. González, F. Rodríguez, K. W. Krämer, H. U. Güdel, Origin of the high upconversion green luminescence efficiency in β- NaYF<sub>4</sub>:2 % Er<sup>3+</sup>, 20 % Yb<sup>3+</sup>, *Chem. Mater*, 2011, 23, 3442-3448.
107. D. B. Williams, C. B. Carter, *Transmission Electron Microscopy A Textbook for Materials Science*, Springer Science+Business Media, LLC 1996, 2009
108. T. Rinkel, J. Nordmann, A. M. Raj, M. Haase, Ostwald-ripening and particle size focusing of sub-10 nm NaYF<sub>4</sub> upconversion nanocrystals, *Nanoscale*, 2014, 6 (23), 14523-14530
109. Y. Borodko, S. E. Habas, M. Koebel, P. Yang, H. Frei, G. A. Somorjai, Probing the interaction of poly(vinylpyrrolidone) with platinum nanocrystals by UV-Raman and FTIR, *J. Phys. Chem. B*, 2006, 110, 23052-23059
110. Y. Borodko, H. -S. Lee, S. -H. Joo, Y. Zhang, G. Somorjai, Spectroscopic study of the thermal degradation of PVP-capped Rh and Pt nanoparticles in H<sub>2</sub> and O<sub>2</sub> environments, *J. Phys. Chem. C*, 2010, 114, 1117-1126
111. A. P. Savikin, A. V. Budruev, A. N. Shushunov, I. A. Grishin, E. L. Tikhonova, Visualization of IR radiation by fluoride ceramics, *Russ. J. Appl. Chem*, 2013, 86 (9), 1459-1462
112. R. E. Thoma, H. Insley, G. M. Hebert, The sodium fluoride-lanthanide trifluoride systems, *Inorg. Chem*, 1966, 5 (7), 1222-1229
113. Z. -L. Wang, J. H. Hao, H. L. W. Chan, Controllable synthesis and formation mechanism of luminescent monodispersed NaEuF<sub>4</sub> submicron disks through assembled nanocrystals, *Cryst. Eng. Commun*, 2010, 12, 1373-1376
114. J. Manson, D. Kumar, B. J. Meenan, D. Dixon, Polyethylene glycol functionalized gold nanoparticles: the influence of capping density on stability in various media, *Gold Bull*, 2011, 44 (2), 99-105

115. Y. Xu, D. Chen, X. Jiao, K. Xue, Nanosized Cu<sub>2</sub>O/PEG400 composite hollow spheres with mesoporous shells, *J. Phys. Chem. C*, 2007, 111, 16284-16289
116. D. Yuan, M. C. Tan, R. E. Riman, G. M. Chow, Comprehensive study on the size effects of the optical properties of NaYF<sub>4</sub>:Yb,Er nanocrystals, *J. Phys. Chem. C*, 2013, 117, 13297-13304
117. R. Arppe, I. Hyppänen, N. Perälä, R. Peltomaa, M. Kaiser, C. Würth, S. Christ, U. Resch -Genger, M. Schäferling, T. Soukka, Quenching of the upconversion luminescence of NaYF<sub>4</sub>:Yb<sup>3+</sup>,Er<sup>3+</sup> and NaYF<sub>4</sub>:Yb<sup>3+</sup>,Tm<sup>3+</sup> nanophosphors by water: the role of the sensitizer Yb<sup>3+</sup> in non-radiative relaxation, *Nanoscale*, 2015, 7, 11746-11757
118. M. Todica, R. Stefan, C. V. Pop, L. Olar, IR and Raman Investigation of Some Poly(acrylic) Acid Gels in Aqueous and Neutralized State, *Acta Phys. Pol. A*, 2015, 128
119. B. Basnar, S. Schartner, M. Austerer, A. M. Andrews, T. S. Roch, W. Schrenk, G. Strasser, Reversible switching of quantum cascade laser modes using a pH-responsive polymeric cladding as transducer, *Opt. Express*, 2008, 16 (12)
120. I. A. Latif, H. M. Abdullah, M. H. Saleem, Electrical and Swelling Study of Different Prepared Hydrogel, *American Journal of Polymer Science*, 2016, 6(2), 50-57
121. Suédina M. L. Silva, Carla R. C. Braga, Marcus V. L. Fook, Claudia M. O. Raposo, Laura H. Carvalho and Eduardo L. Canedo, Application of Infrared Spectroscopy to Analysis of Chitosan/Clay Nanocomposites, *Infrared Spectroscopy - Materials Science, Engineering and Technology*, InTech, 2012
122. Y. Yang, J. Cui, M. Zheng, C. Hu, S. Tan, Y. Xiao, Q. Yang, Y. Liu, One-step synthesis of amino-functionalized fluorescent carbon nanoparticles by hydrothermal carbonization of chitosan, *Chem. Commun*, 2012, 48, 380-382
123. A. T. C. R. Silva, B. C. O. Cardoso, M. E. S. R. Silva, R. F. S. Freitas, R. G. Sousa, Synthesis, Characterization, and Study of PLGA Copolymer in Vitro Degradation, *J. Biomater. Nanobiotechnol*, 2015, 6, 8-19
124. J. B. Lee, Y. G. Ko, D. Cho, W. H. Park, B. N. Kim, B. C. Lee, I. K. Kang, O. H. Kwon, Modification of PLGA Nanofibrous Mats by Electron Beam Irradiation for Soft Tissue Regeneration, *J. Nanomater*, 2015, Article ID 295807 (10 pages)

125. W. Shao, R. Hua, W. Zhang, Y. Tian, J. Zhao, L. Na, J. Yu, Z. Sun, Hydrothermal synthesis of poly(acrylic acid)-functionalized  $\alpha$ - ( $\beta$ -) NaYF<sub>4</sub>:Yb, Er up- conversion nano-/micro-phosphors, *Powder Technol*, 2013, 237, 326-332
126. U. Bazylińska, D. Wawrzyńczyk, J. Kulbacka, R. Frąckowiak, B. Cichy, A. Bednarkiewicz, M. Samoć, K. A. Wilk, Polymeric nanocapsules with upconverting nanocrystals cargo make ideal fluorescent bioprobes, *Sci. Rep*, 2016, 6, 29746
127. C. Guo, R. Z. Hao, H. S. Qian, S. Q. Sun, D. H. Sun, H. Yin, Z. X. Liu, X. T. Liu, Upconversion nanoparticles modified with aminosilanes as carriers of DNA vaccine for foot-and-mouth disease, *Appl. Microbiol. Biotechnol*, 2012, 95, 1253-1263
128. L. Zhao, A. Kutikov, J. Shen, C. Duan, J. Song, G. Han, Stem Cell Labeling using Polyethylenimine Conjugated ( $\alpha$ - NaYbF<sub>4</sub>:Tm<sup>3+</sup>)/CaF<sub>2</sub> Upconversion Nanoparticles, *Theranostics*, 2013, 3 (4), 249-257
129. A. E. Guller, A. N. Generalova, E. V. Petersen, A. V. Nechaev, I. A. Trusova, N. N. Landyshev, A. Nadort, E. A. Grebenik, S. M. Deyev, A. B. Shekhter, A. V. Zvyagin, Cytotoxicity and non-specific cellular uptake of bare and surface-modified upconversion nanoparticles in human skin cells, *Nano Res*, 2015, 8 (5), 1546-1562
130. H. Guo, Z. Li, H. Qian, Y. Hu, I. N. Muhammad, Seed-mediated synthesis of NaYF<sub>4</sub>:Yb, Er/NaGdF<sub>4</sub> nanocrystals with improved upconversion fluorescence and MR relaxivity, *Nanotechnology*, 2010, 21, 125602
131. X. Xu, C. Clarke, C. Ma, G. Casillas, M. Das, M. Guan, D. Liu, L. Wang, A. Tadich, Y. Du, C. Ton -That, D. Jin, Depth-profiling of Yb<sup>3+</sup> sensitizer ions in NaYF<sub>4</sub> upconversion nanoparticles, *Nanoscale*, 2017, 9, 7719
132. H. Maachou, M. J. Genet, D. Aliouche, C. C. Dupont-Gillain, P. G. Rouxhet, XPS analysis of chitosan-hydroxyapatite biomaterials: from elements to compounds, *Surf. Interface Anal*, 2013, 45, 1088-1097

## Spisak skraćenica

APTES	(3-Aminopropil)trietoksisilan
CIE	Commission Internationale d'Eclairage
CL	Kooperativna luminescencija
CR	Unakrsna relaksacija
CS	Hitozan
CoS	Kooperativna senzitacija
CT	Kompjuterska tomografija
DC	„Down“- konverzija
DLS	Dinamičko rasipanje svetlosti
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medijum
DNK	Dezoksiribonukleinska kiselina
EDAX	Energetska disperziona analiza X-zracima
EDS	Energetska disperziona spektroskopija
EDTA	Etilendiamintetrasirćetna kiselina
EFE	Transfer energije sa apsorpcijom ekscitovanog stanja
EM	Emisija
ESA	Apsorpcija ekscitovanog stanja
ET	Transfer energije
FBS	Fetalni goveđi serum
FFT	Brza Fourier-ova transformacija
FTIR	Spektroskopija sa infracrvenom Furijerovom transformacijom
GSA	Osnovno stanje apsorpcije
HGC	Zdrave gingivalne ćelije korena pulpe
HRTEM	Visokorezoluciona transmisiona elektronska mikroskopija
IK	Intersistemska konverzija
Ln	Lantanoidi
MK	Međusistemska konverzija
MRI	Magnetna rezonanca
MTT	3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolijum bromid
NF	Normalna fluorescencija
NIR	Blisko infracrveno zračenje
OSCC	Skvamosne ćelije kancera jezika
PA	Lavina fotona
PAA	Poliakrilna kiselina
PDI	Indeks disperzije
PEG	Polietilenglikol
PEI	Polietileninim
PET	Pozitronska emisiona tomografija

PL	Fotoluminescencija
PLGA	Polilaktid-ko-glikolid
PVP	Polivinilpirolidon
RE	Retke zemlje
RF	Rezonantna fluorescencija
RNK	Ribonukleinska kiselina
SAED	Elektronska difrakcija odabrane površine
SEM	Skenirajuća elektronska mikroskopija
SET	Sukcesivni prenos energije
SPECT	Jednofotonska emisiona kompjuterska tomografija
TEM	Transmisiona elektronska mikroskopija
TEOS	Tetraetoksisilikat
TGA	Termogravimetrijska analiza
UC	„Up“- konverzija
UCNPs	“Up”- konvertorske nanočestice
UK	Unutrašnja konverzija
UV	Ultraljubičasto zračenje
VIS	Vidljivo zračenje
VR	Vibraciona relaksacija
XPS	Fotoelektronska spektroskopija X-zracima
XRPD	Difrakcija praha X-zracima

## Spisak simbola

$I(t)$	Intenzitet u vremenu $t$
$I(0)$	Intenzitet u vremenu $t=0$
$\tau$	Vreme života
$t$	Vreme
$C$	Koncentracija prekursora
$\lambda$	Talasna dužina zračenja
$R_H$	Hidrodinamički prečnik



## Biografija autora

Kandidat Ivana (Zoran) Dinić je rođena 6.4.1987. godine u Zaječaru. Osnovnu i srednju medicinsku školu završila je u Zaječaru. Godine 2006. upisala je studije na Tehnološko-metalurškom fakultetu Univerziteta u Beogradu, studijski program Hemijska tehnologija, studijsko područje Farmaceutsko inženjerstvo. Diplomirala je 12.9.2011. sa završnim radom na temu „Uticaj jona bakra na difuziona svojstva bakar/poli(2-hidroksietil akrilat/itakonska kiselina) hibridnih hidrogelova“. Master akademske studije upisala je 2011. godine na studijskom programu Biohemijsko inženjerstvo i biotehnologija, Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Odbranom master rada sa temom „Optimizacija enzimske sinteze floridzil-oleata metodom odzivnih površina“ završila je master akademske studije 25.9.2012. sa prosečnom ocenom 8,88. Doktorske akademske studije upisala je školske 2012/2013 na istom fakultetu, smer Biohemijsko inženjerstvo i biotehnologija. Završni ispit pod nazivom „Sinteza optički aktivnih čestica fluorida koje imaju potencijalnu primenu u biomedicini“ odbranila je u septembru 2014. godine sa ocenom 10, pred komisijom u sastavu: dr Ljiljana Mojović, red. prof., dr Đorđe Janačković, red.prof. i dr Radoslav Aleksić, red. prof. Kandidat Ivana Dinić je 19.04.2017. stekla zvanje istraživač saradnik u Institutu tehničkih nauka SANU, a od jula 2017. godine je zaposlena u Inovacionom centru Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Angažovana je na projektu OI172035 (Racionalni dizajn i sinteza biološki aktivnih i koordinacionih jedinjenja i funkcionalnih materijala) Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja RS, u okviru kojeg je i urađena ova doktorska disertacija u Institutu tehničkih nauka SANU. Član je Srpskog keramičkog društva i član organizacionog odbora međunarodne konferencije Advanced Ceramic and Application, koja se ove godine po sedmi put održava u Beogradu.

# Изјава о ауторству

Име и презиме аутора \_\_\_\_\_ Ивана З. Динић \_\_\_\_\_

Број индекса \_\_\_\_\_ 4011/2012 \_\_\_\_\_

## Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

**Синтеза и карактеризација биокompatибилних оптички активних флуорида ретких земаља**

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да дисертација у целини ни у деловима није била предложена за стицање друге дипломе према студијским програмима других високошколских установа;
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио/ла интелектуалну својину других лица.

**Потпис аутора**

У Београду, \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

# Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора \_\_\_\_\_ Ивана З. Динић \_\_\_\_\_  
Број индекса \_\_\_\_\_ 4011/2012 \_\_\_\_\_  
Студијски програм \_\_\_\_\_ Биохемијско инжењерство и биотехнологија \_\_\_\_\_  
Наслов рада \_\_\_\_\_ Синтеза и карактеризација биокомпатибилних \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_ оптички активних флуорида ретких земаља \_\_\_\_\_  
Ментори \_\_\_\_\_ др Љиљана Мојовић и др Лидија Манчић \_\_\_\_\_

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла ради похрањена у **Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског назива доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

**Потпис аутора**

У Београду, \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

## Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

**Синтеза и карактеризација биокомпатибилних оптички активних флуорида ретких земаља** која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду и доступну у отвореном приступу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство (CC BY)
2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)
- ③. Ауторство – некомерцијално – без прерада (CC BY-NC-ND)
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)
5. Ауторство – без прерада (CC BY-ND)
6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци.  
Кратак опис лиценци је саставни део ове изјаве).

**Потпис аутора**

У Београду, \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_