



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Daniel Valdágua Malva

ESTUDO E CARACTERIZAÇÃO DE NOVOS MATERIAIS
PIEZOFOTÓNICOS APRIMORADOS COM INOVADORES
NANOTUBOS DE CARBONO FUNCIONALIZADOS

Dissertação no âmbito do Mestrado em Química Medicinal,
orientada pelo Senhor Professor Carlos Soares Serpa,
e apresentada ao Departamento de Química da Faculdade de Ciências e Tecnologia
da Universidade de Coimbra.

Setembro de 2019

Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra

Estudo e caracterização de novos materiais piezofotónicos aprimorados com inovadores nanotubos de carbono funcionalizados

Daniel Valdágua Malva

Dissertação de Mestrado na área científica de Química Medicinal orientada pelo
Senhor Professor Carlos Soares Serpa e apresentada ao Departamento de Química
da Faculdade de Ciências Tecnologia da Universidade de Coimbra.

Setembro de 2019

Agradecimentos

A realização desta tese de mestrado contou com importantes incentivos e apoios pessoais, que sem os quais não teria sido possível a sua realização.

Primeiro que tudo aos meus pais, família e namorada por o total apoio, paciência, incentivo e ajuda demonstrado para a realização deste trabalho. Sem eles nada disto seria possível, sendo eles os influenciadores deste meu trabalho.

Ao professor Carlos Soares Serpa, pela sua orientação, total apoio, capacidade de resposta para solucionar problemas que me foram surgindo e pela oportunidade da realização deste trabalho

Ao Alexandre Silva pela sua ajuda imprescindível, companheirismo, dedicação e por me transmitir todos os seus conhecimentos.

E por último, e não menos importante, aos meus colegas de grupo pela alegria, força e apoio nos momentos difíceis.

Índice

Índice de Figuras	iii
Índice de Tabelas	v
Abreviaturas	vi
Resumo	vii
Abstract	ix
Introdução	2
1.1-Conceito de ultrassom	2
1.1.1-Conceitos básicos de ultrassom e ultrassom terapêutico	2
1.1.2-Propagação das ondas ultrassônicas nos tecidos biológicos	3
1.1.3 Regime dos ultrassons	4
1.2- Luz laser pulsada.....	5
1.2.1- Modos de geração da luz pulsada.....	6
1.2.2- Parâmetros associados a luz pulsada laser~	7
1.2.3- Interação da luz pulsada laser com diferentes tipos de filmes.....	8
1.3- Importância do efeito piezofotônico	9
1.3.1- Entrega de moléculas por via transdérmica.....	10
1.3.2- Transfeção de genes in vitro	12
1.4- Material piezofotônico	13
1.5 Nanotubos de Carbono como material piezofotônico.....	15
1.6-Comparação entre os filmes de referência e os filmes em estudo	16
1.6.1- Ensaio relativos à amplitude de onda produzida por cada filme	17
1.6.2- Ensaio relativos à frequência das ondas produzidas por cada filme	19
1.6.3- Ensaio de Pressão.....	19
Materiais e Métodos	24
2.1-Produção dos diferentes tipos de nanotubos funcionalizados	24

2.1.1- Produção de materiais piezofotônicos com nanotubos de carbono funcionalizados através da técnica de <i>Casting</i>	28
2.2- Geração e medição de ondas de pressão	31
2.3- Ensaio de Pressão	32
Resultados e Discussão.....	36
3.1- Excitação a 532 nm	36
3.1.1- Laser de 8 nanosegundos de pulso.....	37
3.1.2- Laser de 30 picosegundos de pulso	41
3.1.3-Conclusões relativas ao 532 nm.....	44
3.2- Excitação a 1064 nm	45
3.2.1- Laser de 8 nanosegundos de pulso.....	46
3.2.2- Laser de 30 picosegundos de pulso	50
3.2.3-Conclusões relativas a 1064 nm.....	53
3.3- Ensaio de pressão com hidrofone de agulha	54
3.3.1- Excitação a 532 nm	55
3.3.2- Excitação a 1064 nm	57
3.4- Discussão	58
3.4.1-Tabela resumo dos resultados obtidos	58
Conclusão	62
Bibliografia.....	64
Anexos	68

Índice de Figuras

Figura 1 Representação esquemática de radiação eletromagnética (Adaptado de 19)	5
Figura 2: Efeito do uso de ondas fotoacusticas num excerto de pele de stratum corneum	11
Figura 3: Configuração experimental para gerar ondas de pressão.....	14
Figura 4: Procedimento de irradiação Frontal para formação das ondas fotoacústicas detetadas por um transdutor dielétrico e processado por um osciloscópio.....	18
Figura 5: Procedimento de deteção de ondas de pressão com o uso de um hidrofone de agulha.....	21
Figura 6: Nanotubos de Carbono funcionalizados com grupo COOH	25
Figura 7: Conversão do grupo químico COOH no grupo CONH ₂ anexada aos nanotubos de carbono.....	26
Figura 8: Estrutura Química dos nanotubos de carbono “PDMS-A” (MW: 2500 gmol ⁻¹).	27
Figura 9: Estrutura química dos nanotubos de carbono “PDMS-D” (MW: 20000 gmol ⁻¹).	27
Figura 10: Filmes de Carbono após técnica de Spin Casting.....	30
Figura 11: Esquema sintético das experiências realizadas para caracterização das ondas fotoacústicas	32
Figura 12: Comparação entre amplitudes de ondas produzidas por diferentes materiais piezofotónicos para laser de 8 nanosegundos de pulso a 532 nm ...	37
Figura 13: Comparação entre frequências de ondas produzidas por diferentes materiais piezofotónicos para laser de 8 nanosegundos de pulso a 532 nm ...	38
Figura 14: Comparação entre amplitudes de ondas produzidas por diferentes materiais piezofotónicos para laser de 8 nanosegundos de pulso a 532 nm ...	39
Figura 15: Comparação entre frequências de ondas produzidas por diferentes materiais piezofotónicos para laser de 8 nanosegundos de pulso a 532 nm ...	40
Figura 16: Comparação entre amplitudes de ondas produzidas por diferentes materiais piezofotónicos para laser de 30 picosegundos de pulso a 532 nm...	41
Figura 17: Comparação entre frequências de ondas produzidas por diferentes materiais piezofotónicos para laser de 30 picosegundos de pulso a 532 nm...	42

Figura 18: Comparação entre amplitudes de ondas produzidas por diferentes materiais piezofotônicos para laser de 30 picosegundos de pulso a 532 nm...	43
Figura 19: Comparação entre frequências de ondas produzidas por diferentes materiais piezofotônicos para laser de 30 picosegundos de pulso a 532 nm...	44
Figura 20: Comparação entre amplitudes de ondas produzidas por diferentes materiais piezofotônicos para laser de 8 nanosegundos de pulso a 1064 nm .	46
Figura 21: Comparação entre frequências de ondas produzidas por diferentes materiais piezofotônicos para laser de 8 nanosegundos de pulso a 1064 nm .	47
Figura 22: Comparação entre amplitudes de ondas produzidas por diferentes materiais piezofotônicos para laser de 8 nanosegundos de pulso a 1064 nm .	48
Figura 23: Comparação entre frequências de ondas produzidas por diferentes materiais piezofotônicos para laser de 8 nanosegundos de pulso a 1064 nm .	49
Figura 24: Comparação entre amplitudes de ondas produzidas por diferentes materiais piezofotônicos para laser de 30 picosegundos de pulso a 1064 nm.	50
Figura 25: Comparação entre frequências de ondas produzidas por diferentes materiais piezofotônicos para laser de 30 picosegundos de pulso a 1064 nm.	51
Figura 26: Comparação entre amplitudes de ondas produzidas por diferentes materiais piezofotônicos para laser de 30 picosegundos de pulso a 1064 nm.	52
Figura 27: Comparação entre frequências de ondas produzidas por diferentes materiais piezofotônicos para laser de 30 picosegundos de pulso a 1064 nm.	53
Figura 28: Comparação entre pressão de ondas fotoacusticas produzidas por diferentes materiais piezofotônicos com um laser de 8 nanosegundos (acima) e 30 picosegundos (abaixo) a um comprimento de onda de 532 nm	55
Figura 29: Comparação entre pressão de ondas fotoacusticas produzidas por diferentes materiais piezofotônicos com um laser de 8 nanosegundos (acima) e 30 picosegundos (abaixo) a um comprimento de onda de 1064 nm	57

Índice de Tabelas

Tabela 1: Espessuras e absorvâncias de filmes utilizados no estudo.....	30
Tabela 2: Tabela resumo sobre resultados obtidos.....	58

Abreviaturas

CNT	Nanotubos de carbono (do inglês <i>Carbon Nanotubes</i>)
MnTPP	Mn(III) 5,10,15,20-tetrafenilporfirinato
PA	Fotoacústica (do inglês <i>Photoacoustic</i>)
PAW	Ondas Fotoacústicas (do inglês <i>Photoacoustic Waves</i>)
PDMS	Polidimetilsiloxanos
PS	Poliestireno
THF	Tetrahidrofurano

Resumo

A excitação de moléculas e materiais de alta absorção pode levar a muitos mecanismos de desativação tais como emissão de radiação, libertação de calor no ambiente circundante, variação conformacionais, etc. Quando espécies excitadas libertam energia de forma não radiativa, libertando calor para o ambiente circundante podem, dependendo das características da fonte de luz pulsada utilizada da luz pulsada e do material alvo, originar dois tipos de ondas de pressão: ondas de choque e ondas fotoacústicas (PA). As ondas de choque são produzidas pela ablação do material e propagam-se a velocidade ultrassônica. As ondas PA, produzidas pela expansão termoelástica de um material confinado, propagam-se nos materiais à velocidade do som com aumento moderado da pressão do sistema, mas potencialmente com escalas temporais curtas e larguras de banda de ondas mais amplas¹.

As características únicas das ondas PA, especialmente a alta frequência das ondas geradas, permitiram-nos desenvolver tecnologias inovadoras no campo da transfecção de genes com o uso de ondas fotoacústicas² e da administração de fármacos por via transdérmica^{1,3} sem a existência de toxicidade e efeitos adversos em qualquer um desses dois casos. São utilizados materiais que foram desenvolvidos para converter pulsos de laser de nanossegundos em ondas de PA, de forma a permeabilizar o *stratum corneum* e melhorar a administração transdérmica de medicamentos¹.

Neste trabalho pretendemos corresponder à necessidade de desenvolver especificamente materiais para o uso em entrega intracelular de genes³, com características mais eficientes e otimizadas para lasers pulsados de picosegundos, gerando ondas PA de pressão absoluta mais altas e uma mais ampla banda de frequências, designadamente para frequências elevadas (mais do que 100 MHz). Adicionalmente pretende-se que os materiais absorvam eficientemente na zona do infravermelho próximo, designadamente a 1064 nm, comprimento de onda típico de lasers pulsados acessíveis (Nd-YAG)

Apresentamos pela primeira vez os resultados relativos a novos nanotubos de carbono funcionalizados, com diferentes tamanhos de PDMS

(polidimetilsiloxano), que absorvem fortemente a radiação, e dissipam rapidamente o excesso de energia em calor, conjugado com polímeros com alto coeficiente de expansão térmica. Conjugados esses dois fatores, podemos gerar ondas PA intensas e de alta frequência, ou seja, com comprimentos de onda acústicos menores do que os já relatados na literatura e mais próximos das dimensões celulares, antecipando o aumento da eficiência da transfecção genica sem causar toxicidade adicional.

No decorrer no trabalho conseguiu-se obter resultados motivadores, conseguindo, com os materiais de carbono, produzir resultados semelhantes aos produzidos por os materiais de referência, tanto a 532 nm, como a 1064 nm conseguindo assim trabalhar com os materiais de carbono na zona do infravermelho próximo. Porém a frequência das ondas fotoacústicas produzidas não foram aumentadas de forma constante, sendo este um resultado a tentar melhorar num futuro próximo.

Abstract

Excitation of highly absorbing molecules and materials can lead to many deactivation mechanisms, such as radiation emission, release of heat into the surrounding environment, conformational variation, etc. When excited species release energy by non-radiative ways, releasing heat for surrounding environment, depending on the characteristics of the utilized source of the pulsed light and the target material, originated two types of the pressure waves: shock waves and photoacoustic waves (PA). The shock waves are produced by ablation of material and propagate themselves a ultrasonic speed. The PA waves, that are produced by thermoelastic expansion of a confined material, propagate into the materials at the speed of sound with moderate rise in system pressure but with short rise times and broader wave bandwidths¹.

The unique characteristics of the PA waves, especially the high frequency of the generated waves, have enabled us to develop innovative technologies in the field of photoacoustic gene transfection² and drug delivery by transdermal way^{1,3} not existing toxicity and adverse effects in any of these two cases. We used materials that were developed to convert nanosecond laser pulses into PA waves capable of permeabilizing the stratum corneum and enhance transdermal drug delivery¹.

In this paper we intend to respond to the need to develop specifically materials for intercellular gene delivery² with more efficient and optimized features for picoseconds pulsed lasers generating PA waves with higher pressure ranges and higher broadband frequency, namely for high frequencies (more than 100 MHz). It is also intended that materials absorb efficiently in the near infrared zone, namely at 1064 nm, typical wavelength of accessible pulsed lasers (Nd-YAG).

For the first time, we present the results of new functionalized carbon nanotubes, with different size of PDMS (polydimethylsiloxane) strongly absorb radiation closerd rapidly dissipate the excess energy into heat, conjugated with polymers that have a high thermal expansion coefficient. Conjugated these two factors we can generated intense PA waves and high frequency, this is, acoustic wavelengths smaller than those already reported in the literature and closer to

the cellular dimensions, thus anticipating the increased efficiency of the genetic transfection without causing additional toxicity.

In the course of the work, motivating results were achieved, with our materials producing results similar to those produced by the reference materials at both 532 nm and 1064 nm and thus working with carbon materials, near infrared zone. However, the frequency of the produced photoacoustic waves has not been steadily increased, which is a result that we are trying to improve in the near future.

Capítulo 1:

Introdução

Introdução

1.1-Conceito de ultrassom

1.1.1-Conceitos básicos de ultrassom e ultrassom terapêutico

O primeiro químico a reconhecer o efeito inusual de ondas sonoras de viajando através de um líquido, foi Alfred L. Lommis em 1927. O renascimento do ultrassom teve lugar em 1980, após a criação de geradores de grande intensidade⁴.

Mais tarde, precisamente 14 anos após a descoberta de Curie, Thornycroft e Barnaby constataram que na propulsão de mísseis uma fonte de vibração era gerada, causando implosão de bolhas e cavidades na água. Essa vibração ficou conhecida, então, como cavitação⁴.

O ultrassom aquando da propulsão dos misseis cria agitação das bolhas de ar o que leva ao aumento do seu diâmetro, em que passa de 5 microns para 50 microns. Este aumento repentino de diâmetro, diminuiria drasticamente a densidade da bolha fazendo com que a pressão externa exercida pelo líquido fosse superior à pressão dentro das bolhas de ar, fazendo com que estas implodam.

O som tem por base essas mudanças de pressão no ar, o que leva à criação de vibrações. O ultrassom é um som que tem como característica possuir uma frequência superior aquela que o ouvido humano pode captar, que é cerca de 20000 Hz.

O facto de os ultrassons não serem audíveis pelo ouvido humano, faz deles especiais como método terapêutico, uma vez que eles não perturbam o ser humano surgindo, desta forma, os ultrassons terapêuticos.

Os ultrassons terapêuticos são vibrações acústicas, não audíveis, de alta frequência que podem gerar efeitos fisiológicos térmicos ou atérmicos nos tecidos biológicos. O principal objetivo deste método terapêutico consiste em estabelecer limiares de intensidade ultrassônica, abaixo dos quais não se causa lesões.

1.1.2-Propagação das ondas ultrassônicas nos tecidos biológicos

A propagação energética ultrassônica nos tecidos depende de dois fatores fundamentais: as características de absorção do meio biológico e a reflexão da energia ultrassônica nas interfaces teciduais.

A velocidade de propagação da onda é maior onde existe maior agregação molecular, assim sendo podemos dizer que os ultrassons se propagam melhor em sólidos do que em líquidos, isto é, a velocidade de propagação do ultrassom é maior em sólidos do que em líquidos⁵. Desta forma, podemos afirmar que os tecidos biológicos são, assim, bons condutores dos ultrassons.

O segundo fator, chamado de impedância acústica, é caracterizado pela resistência oferecida pelos tecidos à passagem das ondas. Neste ponto, a agregação molecular cria uma maior impedância acústica uma vez que as ondas vão ser mais absorvidas, e, portanto, leva ao aumento do estado de movimento molecular, o que leva a um maior choque e vibração, entre as moléculas, e, por conseguinte, leva ao aumento do aquecimento tecidual. A impedância acústica é uma característica de um dado tecido ou material. Diferenças de impedância acústica entre meios por onde se propagam os ultrassons dão origem a reflexão da respetiva onda, voltando ao meio de origem conservando a sua frequência e velocidade. Quando o ultrassom encontra uma interface, com propriedades acústicas diferentes entre as fases ou materiais de contacto, parte da onda é refletida e parte é transmitida. Se os dois meios possuírem a mesma impedância acústica a reflexão não ocorrerá e quanto maior a diferença de impedância acústica entre os meios, maior a reflexão.

Outra característica, e não menos importante, que pode ter influência na capacidade de penetração da onda nos tecidos é a própria frequência da onda. Ondas com maior frequência, vão penetrar menos nos tecidos⁶.

O efeito térmico das ondas ultrassônicas tem sido usado em processos anti-inflamatórios⁷, processos de cicatrização⁸ e da redução da zona abdominal com aplicação de massagens⁹ e tratamento de lesões^{10,11}.

Porém, não é só ao efeito térmico, que se deve o uso das ondas ultrassônicas para fins terapêuticos. As ondas ultrassônicas ao penetrarem no tecido provocam vibrações ao nível celular, acelerando a difusão de íons e moléculas através das membranas celulares¹², o que conduzia aos processos de difusão e metabolismo celular. As ondas ultrassônicas aumentam, ainda, a libertação de moléculas vasodilatadoras, o que facilita a dispersão de líquidos e desagregação de moléculas complexas^{12,13}.

1.1.3 Regime dos ultrassons

De acordo com o regime de emissão das ondas sonoras, o ultrassom pode ser contínuo ou pulsado.

No regime de ultrassom contínuo a intensidade sonora permanece constante ao longo da irradiação e a energia do ultrassom é produzida em 100 % do tempo, apresentando, assim, efeito térmico dominante.

Já no regime pulsado, a energia do ultrassom é interrompida periodicamente, não permitindo que o efeito dominante seja o térmico, mas sim o efeito mecânico, sendo este o regime que vai ser utilizado neste trabalho.

1.2- Luz laser pulsada

Laser é um acrónimo para “Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation”, que tem como tradução “amplificação da luz por emissão estimulada da radiação”. Em termos práticos denominamos Laser a todo o dispositivo que gera e amplia luz unidirecional de alta intensidade¹⁴.

A radiação eletromagnética é uma onda que se propaga no espaço resultante da interação de campos elétricos e magnéticos¹⁵.

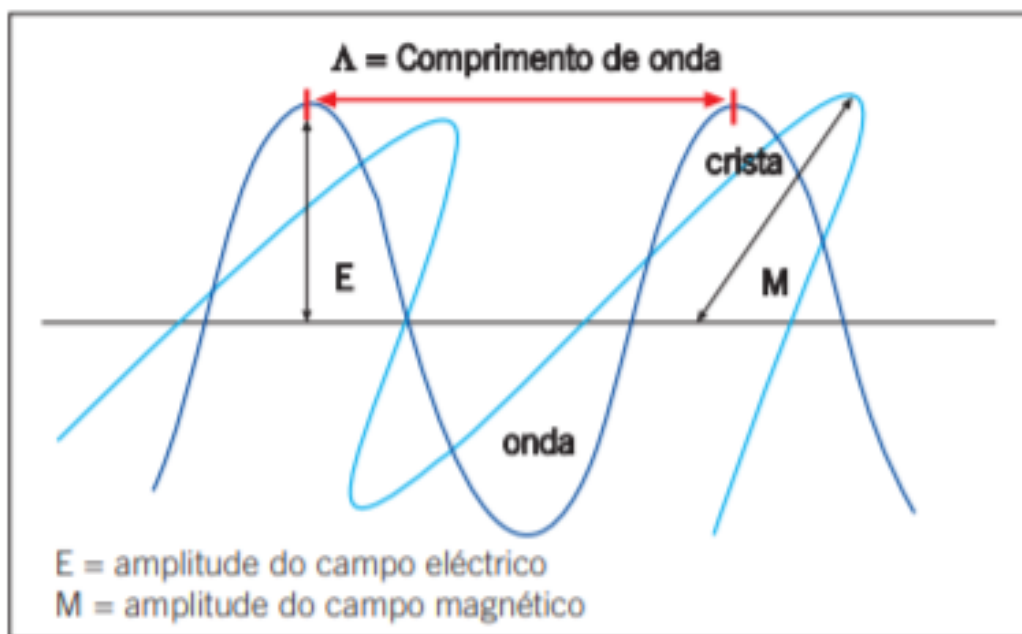


Figura 1 Representação esquemática de radiação eletromagnética (Adaptado de ¹⁵)

No início do século XX o trabalho de cientistas como N.Bohr, L. De Broglie e A. Einstein (entre outros) permitiu compreender como as moléculas e os átomos absorvem e emitem radiação, estabelecendo as bases e princípios matemáticos da denominada Teoria Quântica, teoria que está no funcionamento de um laser.

Segundo esta teoria, os átomos encontram-se no estado fundamental e ao serem bombardeados com fótons (= energia), passam para um nível energético excitado, instável e tende a regressar novamente para o estado fundamental, emitindo os fótons instantaneamente. Como aos fótons iniciais fornecidos a partir

duma fonte externa de energia se juntam os fótons reemitidos pelos átomos adjacentes, gera-se um efeito de cascata em que esses fótons estimulam os átomos vizinhos — “amplificação da radiação” ¹⁵.

Assim, quando falamos de luz no termo laser, estamos a falar da radiação electromagnética, onde a unidade fundamental desta luz é o fóton.

1.2.1- Modos de geração da luz pulsada

Existem dois métodos para obter a luz pulsada:

1. Através de um modelador externo: A luz é emitida continuamente, mas está associado a ele um obturador, que permite apenas a passagem da luz por um período curto de tempo.

Este método é simples, porém possui algumas desvantagens. A luz emitida continuamente é ineficiente porque existe perda de energia quando há bloqueio da radiação.

Outra desvantagem neste método é que o valor máximo de energia não pode passar o valor estável da energia continua.

2. O esquema mais eficiente de obter luz pulsada tem na sua constituição um modelador, mas agora interno, que liga e desliga o laser de forma periódica. Neste método, o laser restaura a energia quando este se encontra desligado para que depois seja libertada, durante a emissão da radiação. Este esquema possibilita gerar pulsos curtos de alta potência de pico, muito superiores à potência obtida por um laser continua.

Estes dois métodos podem, por sua vez, gerar quatro tipos de emissão de luz pulsada laser:

1. Laser pulsado relaxado: consiste em ligar e desligar o sistema de bombeamento do meio ativo do laser o que leva à emissão de pulsos longos de baixa energia.

2. *Q-switched*: Baseia-se na presença de obturadores foto-ópticos que acumulam a energia e a libertam toda de uma só vez. Deste modo a energia armazenada sai como uma explosão. Estes lasers permitem a obtenção de pulsos curtos de alta energia da ordem dos nanossegundos
3. *Cavity dumping*: a radiação produzida é armazenada em cavidade fechada, a cavidade óptica, que abre periodicamente deixando sair toda a radiação. Também produz impulsos curtos, mas de menor energia que o laser Q-switched.
4. *Mode-locking*: os fótons estão agrupados em “modos” e parte deles é emitida quando bate no espelho semi-refletor gerando impulsos muito curtos. Os fótons que não foram emitidos dão outra volta à cavidade até se reiniciar o processo.

Os lasers utilizados neste estudo, são lasers pulsados com modelador interno com emissão de radiação Q-switched.

1.2.2- Parâmetros associados a luz pulsada laser

Alguns dos parâmetros que estão associados à luz pulsada laser são essenciais para tentar perceber o efeito criado por este tipo de radiação.

Um desses parâmetros, referidos em cima é a energia total da radiação. Esta está relacionada com a quantidade de fótons emitidos, sendo proporcional ao aumento de fótons.

Porém, o tempo de exposição pode alterar entre ensaios, o que leva à alteração da potência da radiação.

Outro parâmetro é a fluência que corresponde a energia fornecida por unidade de área.

$$Fluência \left(\frac{J}{cm^2} \right) = \frac{Potência \text{ do laser } (w) * duração \text{ do pulso } (s)}{Tamanho \text{ do pulso } (cm^2)}$$

Estes parâmetros quando alterados, produzem efeitos variados na interação da radiação eletromagnética com filmes finos. As ondas produzidas pelos filmes,

por sua vez, vão produzir efeitos terapêuticos que também podem ser alterados com a alteração destes parâmetros.

1.2.3- Interação da luz pulsada laser com diferentes tipos de filmes

Chegando a este ponto, deparamo-nos com o objetivo primordial deste trabalho, a interação da radiação com diferentes materiais, materiais esses dispersos em forma de filmes finos.

A interação da luz pulsada laser com filmes finos, mais propriamente o efeito térmico criado por esta radiação, têm atraído nas últimas décadas, um interesse crescente¹⁶.

Inicialmente, este efeito térmico era utilizado para uma técnica de evaporação onde se podia estudar propriedades únicas das matérias, como a estequiometria de evaporação de um sistema multicomplexo e descobrir a natureza de um material¹⁷.

Este efeito térmico era ainda utilizado para produzir plasma de um determinado metal, colocado sobre um filme dielétrico para que esse plasma se depositasse sobre o filme e aquando do arrefecimento, obtêm-se filmes semicondutores de alta qualidade¹⁸.

Naquilo que concerne o presente trabalho o efeito térmico da radiação tem por fim a expansão de um determinado material levando à geração de ondas de pressão (ultrassom). Esse material é denominado por material piezofotónico.

1.3- Importância do efeito piezofotônico

A fotoexcitação é o fenômeno em que uma molécula absorve energia (sob a forma de onda eletromagnética) para que os seus elétrons passem para um estado excitado de energia.

O decaimento das moléculas anteriormente excitadas procede através de dois mecanismos diferentes: decaimento radiativo e o decaimento não-radiativo.

O decaimento radiativo é o que está na base da fluorescência e da fosforescência ao contrário do decaimento não-radiativo, que tem por base a capacidade de formação de calor com o excesso energético obtido por a excitação da molécula.

O denominado efeito piezofotônico, de uma maneira simplista, é a capacidade de um material em produzir impulsos de pressão quando um material designado por piezofotônico é irradiado por um pulso de luz laser.

Este fenômeno, inicialmente, era útil para compreender os fundamentos dos materiais e conceber aplicações para os determinados dispositivos¹⁹ sendo que, o campo do piezofotônico tem vindo a ganhar, ao longo destes anos, uma maior importância, devido à maior aplicabilidade que lhe tem vindo a ser atribuída.

Os mecanismos de decaimento não-radiativo da molécula levam à produção de ondas com características únicas sendo caracterizadas, especialmente, pelas suas elevadas frequências (na ordem dos 100 MHz) que permitiram desenvolver uma tecnologia inovadora para entrega de moléculas por via transdérmica^{1,3} e para transfecção de genes *in vitro*², não existindo evidências de toxicidade ou efeitos adversos em qualquer um dos ensaios realizados.

Essas ondas são, portanto, denominadas de ondas fotoacústicas sendo o material piezofotônico essencial para produção das mesmas.

1.3.1- Entrega de moléculas por via transdérmica

A pele é o maior órgão do ser humano e possui funções de homeostase que são essenciais à sobrevivência do indivíduo entre elas, a proteção contra seres patogénicos e o seu desempenho nas funções metabólicas.

Este órgão possui uma camada fina e bem compactada de células mortas que é designado por *stratum corneum*, que restringe as vias de administração transdérmica de um fármaco.

A permeabilização de moléculas através da pele, de forma natural, possui algumas restrições tais como o tamanho das moléculas que a atravessam. Assim sendo, existe a necessidade em desenvolver novos métodos físicos que aumentem essa permeabilização. Este aumento de permeabilização pode ser obtido através de produção de formulações tópicas ou adesivos transdérmicos. Porém, estes últimos provocam irritação da pele devido aos constituintes que estão na base da sua constituição.

Assim sendo, a necessidade em aumentar permeabilização da pele passa, também, por criar métodos que não provoquem quaisquer irritações na mesma.

Nos trabalhos de G.Sá e co-autores^{1,3} são utilizadas as ondas fotoacústicas como método físico que tem como fim aumentar a permeabilização de moléculas de maior tamanho como é o caso da bacterioclorina utilizada no mesmo ensaio de massa molecular relativamente elevada (1,1 kDa).

A geração de gradientes de pressão repentinos ($> 1 \text{ bar / ns}$) com fluências de luz laser baixas (menores que 100 mJ/cm^2) e o facto da intensidade das ondas obtidas ser baixa, são características das ondas fotoacústicas, que as tornam inofensivas para as células da pele.

Os referidos autores propõem ¹ que, após irradiar a pele com ondas fotoacusticas criam-se lacunas entre as células constituintes do stratum

corneum, o que leva ao aumento da permeabilização e a perda de água trans epidérmica.

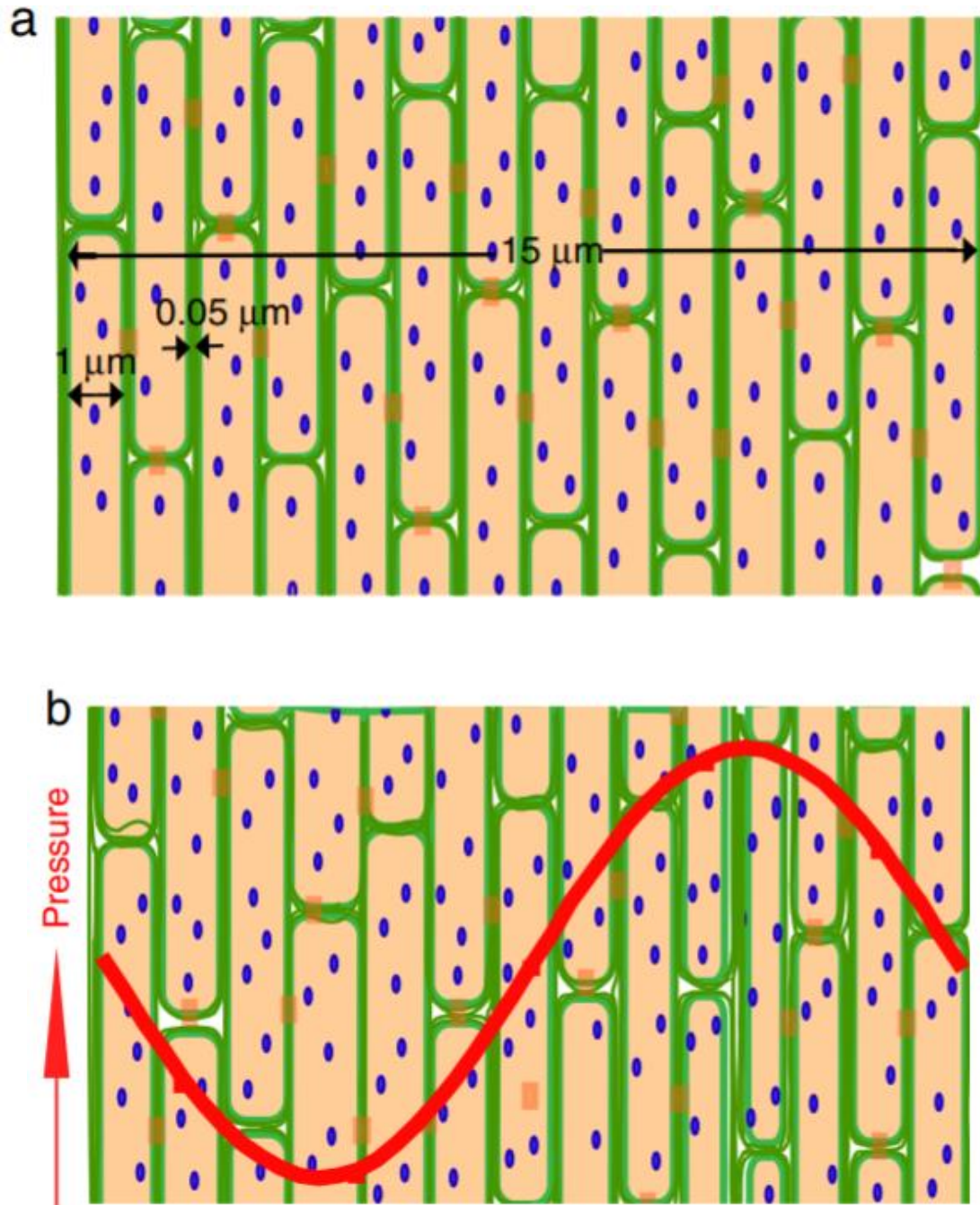


Figura 2: Efeito do uso de ondas fotoacústicas num excerto de pele de *stratum corneum* (adaptado de ¹)

1.3.2- Transfeção de genes in vitro

O aumento na capacidade de se estudar o material genético levou-nos à identificação de várias centenas de genes incorretos, assim como à identificação de várias doenças genéticas.

Quando aplicamos as ondas fotoacústicas a células, elas destabilizam-se de forma reversível, mas sem alterar a viabilidade da membrana das mesmas o que permite desta maneira a transfeção de novas moléculas para o interior da célula. A molécula de maior interesse de estudo é a molécula de DNA, uma vez que permite a alteração/remoção dos genes incorrectos identificados no material genético de uma célula, reduzindo, portanto, o risco de proliferação do erro e, por conseguinte, diminuir o risco de doenças genéticas.

Assim, a transfeção genética mediada por ondas de pressão é uma outra aplicação possível e atual das ondas fotoacusticas.

Este estudo² obteve excelentes resultados, porém, as ondas fotoacústicas em termos de frequência (20 MHz) correspondem a aproximadamente a um comprimento de onda de 100000 micrómetros, um tamanho 10000 vezes superior ao da célula fazendo com que o tamanho da onda fotoacústico não seja muito específico para este efeito.

Assim, era pertinente para o desenvolvimento deste estudo a produção de novos materiais piezofotónicos que produzissem ondas de maior frequência, sendo este o objetivo central do estudo realizado.

Um outro objetivo deste trabalho é que estes mesmos materiais piezofotónicos consigam absorver energia na ordem dos 1064nm, conseguindo produzir o mesmo efeito que os filmes produzem a 532 nm, sendo este o comprimento de onda a que foram realizados os ensaios dos outros dois estudos referidos anteriormente.

1.4- Material piezofotónico

Um material piezofotónico é um material fino que absorve de forma linear um pulso energético de um laser e que por processos de decaimento não radiativos cria ondas de pressão, ondas estas designadas por ondas fotoacústicas (PAW).

As ondas fotoacústicas, são ondas de frequências ultrassónicas, periódicas, geradas pela absorção de luz irradiada por um laser de baixa fluência, por parte de um corante integrado num dado material.

A absorção de energia leva a alterações da distribuição eletrónica deste corante para estados excitados, que após relaxamento para o estado fundamental converte o excesso energético em calor²⁰. Este decaimento, para que ocorra produção de ondas, deve ser rápido e ocorrer durante a duração do pulso laser para que esta rápida deposição de energia aumente apenas o volume do material, sem que exista perda de energia para as redondezas.²⁰

Inicialmente, existem cinco mecanismos de interação entre a luz e o material que podem ser responsáveis pela formação de ondas, entre eles, a rutura dielétrica, ablação do material, processos termoelásticos, eletrostrição e, por fim, e não menos importante, a pressão de radiação.²¹

O terceiro mecanismo, mencionada em cima, é o ponto central da formação das nossas ondas, estando este relacionado com o mecanismo de decaimento não-radioativo do material.

Quando o corante faz a conversão da energia em calor, um determinado polímero existente no filme vai expandir devido aos efeitos termoelásticos do mesmo.

Existindo essa expansão, vai existir, também, pressão sobre o um espelho e uma janela ótica, que se encontra retratado na figura 3, onde o nosso material piezofotónico está confinado, criando assim ondas de pressão.

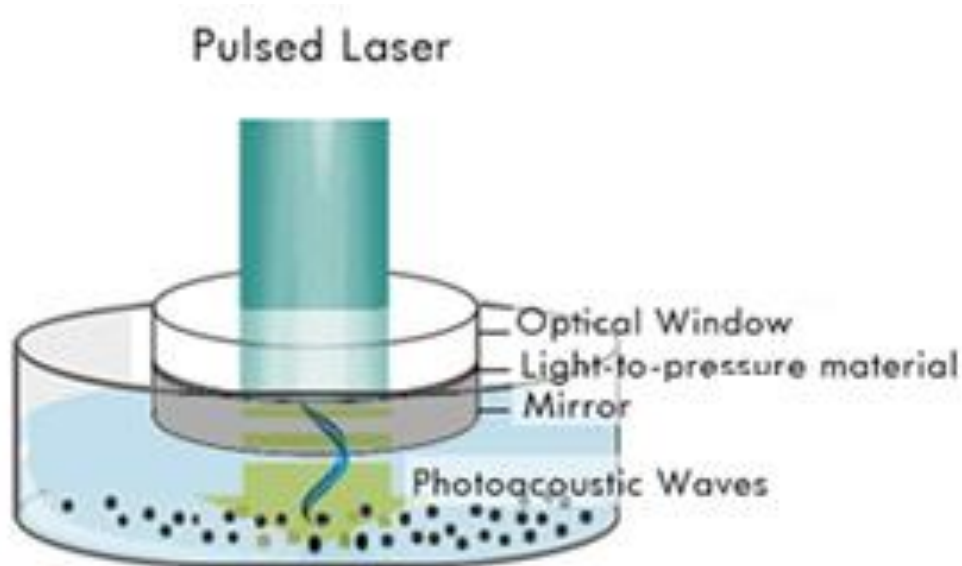


Figura 3: Configuração experimental para gerar ondas de pressão. (Adaptado de ²)

A primeira referência para produção deste tipo de ultrassons de alta frequência com filmes finos, foi demonstrada por Melcher e Gutfeld¹⁹. Estes utilizavam um laser de longo pulso, cerca de 5 segundos, sobre um material piezofotônico constituído por metais.

Mais tarde, Oksanen e Wu²² estudaram o mesmo efeito, mas agora usando um laser de pulsos de nanossegundos.

Este estudo²³ demonstrou que quanto mais fino fosse o filme maior era a eficiência de conversão da energia do pulso laser em ondas ultrassónicas, usando filmes com a mesma absorção. Porém, outro estudo²⁴ percebeu que a geração termoelástica envolvendo filmes de metal era de eficiência muito baixa devido ao baixo coeficiente de expansão térmica do metal.

Este coeficiente está inteiramente relacionado com o coeficiente de Grüneisen (γ) de um material, como se pode ver pela expressão abaixo:

$$\gamma_G = \frac{\alpha}{C_p \rho \beta}$$

Onde C_p é a quantidade de calor específico e β o coeficiente de dilatação superficial do material que se assumem, geralmente, como constantes e ρ a densidade do material.

A necessidade em criar novos materiais piezofotônicos, levou ao surgimento de materiais que utilizam filmes com compósitos de polidimetilsiloxanos (PDMS), devido ao elevado coeficiente de expansão térmica que este material possui (cerca de $310 \cdot 10^{-6} \mu\text{m}/^\circ\text{C}$), sendo este valor 5 vezes maior que os metais.

Exemplos de corantes utilizados para a produção deste tipo de material são os seguintes: Mn^{III} 5,10,15,20-tetrafenilporfirinato (MnTPP)¹ ou Epolight 1178 (disponível comercialmente na Epolin Inc.) homogeneamente disperso numa matriz de poliestireno, sendo que estes materiais são utilizados apenas a 532nm e a 1064 nm, respetivamente.

Utilizaremos neste trabalho estes corantes embebidos numa matriz de poliestireno como medida de comparação com os novos materiais piezofotônicos aqui propostos ((ver seção 1,6).

1.5 Nanotubos de Carbono como material piezofotónico

A estrutura dos nanotubos de carbono pode ser visualizada e idealizada a partir do enrolamento de uma folha de grafeno.

A beleza da estrutura de um nanotubo de carbono está inteiramente relacionada com as suas propriedades, algumas delas bastante imperativas para este estudo²⁵:

- O coeficiente de absorção linear do carbono faz com que ele seja capaz de absorver linearmente radiação numa vasta gama de comprimentos de onda;
- A condutividade térmica dos nanotubos de carbono é das mais elevadas, conhecida atualmente. Esta particularidade faz com que a grafite conduza energia térmica de forma rápida e eficiente, ou seja, dispersa bastante calor para a vizinhança, dando origem a uma eficiente e ultrarrápida deposição de calor;

- A ligação Csp² – Csp² é a ligação mais forte existente na natureza o que confere uma resistência extremamente elevada para os nanotubos de carbono;

Algumas destas propriedades enunciadas são essenciais para possuímos um material piezofotônico ótimo sendo, por isso, os nanotubos de carbono a nossa primeira escolha para tentar formular novos materiais que produzissem ondas fotoacústicas com as características pretendidas.

Porém, como é sabido, os nanotubos de carbono aquando da deposição de calor não tendem a expandir mas sim a contrair (e com eficiências de contração baixas), característica essa que vamos contrariar incorporando um componente com alto coeficiente de expansão térmica, o polidimetilssiloxano (PDMS).

Temos, assim, os compostos necessários para a formulação de um material piezofotônico ótimo, para a obtenção daquelas que poderão a vir a ser consideradas como as ondas fotoacústicas pretendidas.

1.6-Comparação entre os filmes de referência e os filmes em estudo

Para além da produção de ondas de maior frequência é essencial que os materiais CNT produzam ondas de amplitude semelhante às produzidas pelos materiais de referência, assim como a pressão exercida por cada onda.

Para compararmos os filmes de CNT em estudo com os materiais de referência vai ser necessário efetuar estudos relativamente a estes parâmetros, nos dois comprimentos de onda relativos aos materiais piezofotônicos de referência assim como a frequência das ondas produzidas por cada filme.

1.6.1- Ensaios relativos à amplitude de onda produzida por cada filme

O despertar de interesse, por novas alternativas, surgiu quando se percebeu que as características termoelásticas do material e a sua espessura possuíam uma forte influência na intensidade da onda produzida pelo material logo, a quantidade de luz absorvida está intimamente relacionada à sua espessura e forte absorção do pulso do laser²³.

Podemos referir, então, que quanto mais fino for o material e quanto maior for a sua absorvância, e tendo em conta as propriedades termoelásticas, como é o caso do decaimento não radiativo e do coeficiente de Grüneisen, maior é a amplitude de onda produzida²⁶.

Outra dos fatores que influencia a amplitude da onda fotoacústica produzida é a fluência de irradiação do laser. Estudos ²⁷demonstram que existe uma relação de linearidade entre a fluência do laser e a amplitude das ondas fotoacústicas.

Através de um procedimento de irradiação frontal desenvolvido para testes anteriores²⁶, que envolve a configuração experimental da Figura 4, vai ser estudado, desta forma, a amplitude máxima da onda produzida por cada filme.

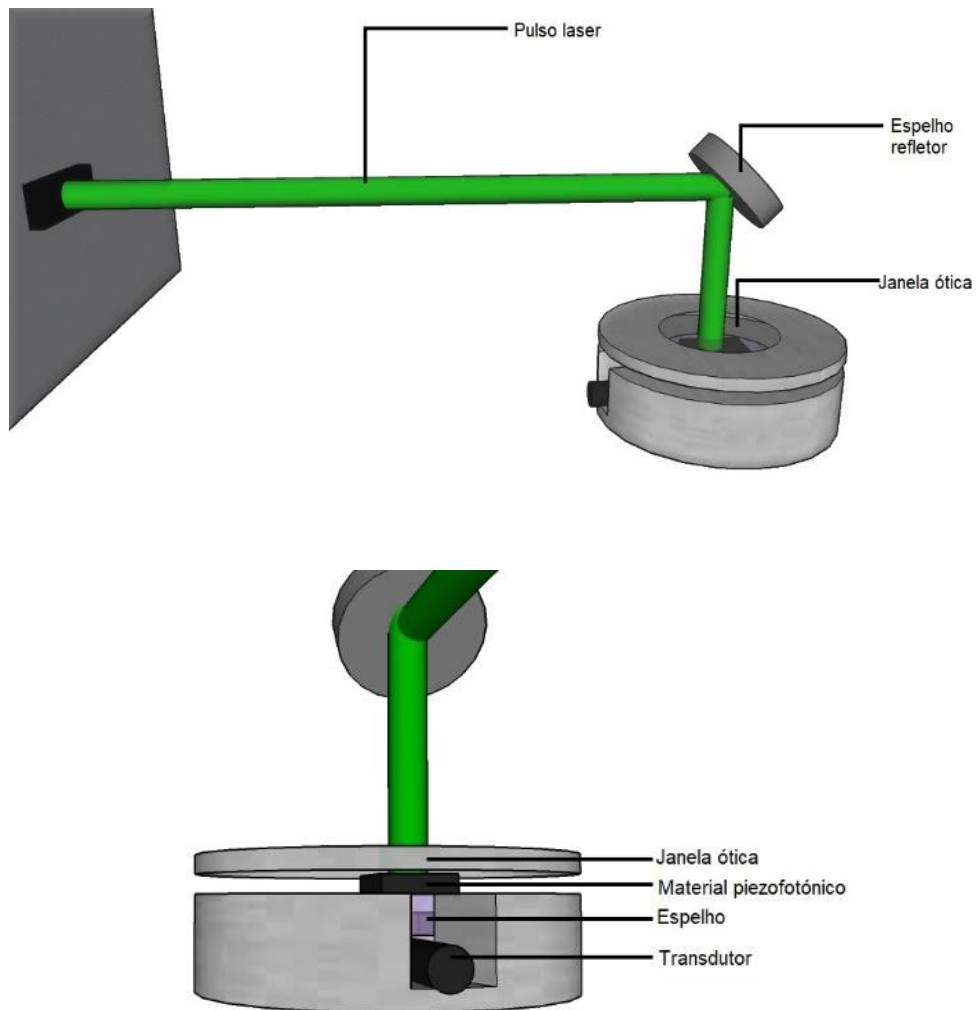


Figura 4: Procedimento de irradiação Frontal para formação das ondas fotoacústicas detetadas por um transdutor dielétrico e processado por um osciloscópio

O laser pulsado liberta radiação que é redirecionada para o material piezofotônico por um espelho. Quando o material piezofotônico absorve essa energia, verifica-se a ocorrência de processos termoelásticos e, por conseguinte, verifica-se a criação de ondas de pressão. Essas ondas de pressão vão ser detetadas e convertidas numa grandeza elétrica, pelo transdutor, sendo depois a onda representada no osciloscópio.

1.6.2- Ensaios relativos à frequência das ondas produzidas por cada filme

Com os dados recolhidos pelo osciloscópio, relativamente aos valores de amplitude das ondas, podemos recorrer ao programa computacional “Origin Pro 8” que através de cálculos, que tem por base a Transformada de Fourier, consegue retirar a frequência normalizada das ondas através desses mesmos valores de amplitude.

A transformada de Fourier converte o sinal com domínio temporal no seu sinal de contrapartida com domínio de frequência.

$$F_n = \sum_{i=0}^{N-1} x_i e^{-\frac{2\pi j}{N} n i}$$

A partir do uso desta equação e através de aproximações, o programa consegue calcular a frequência das ondas fotoacústicas produzidas, e por fim obter um gráfico de distribuição de frequência para cada filme em função das ondas fotoacústicas produzidas.

1.6.3- Ensaios de Pressão

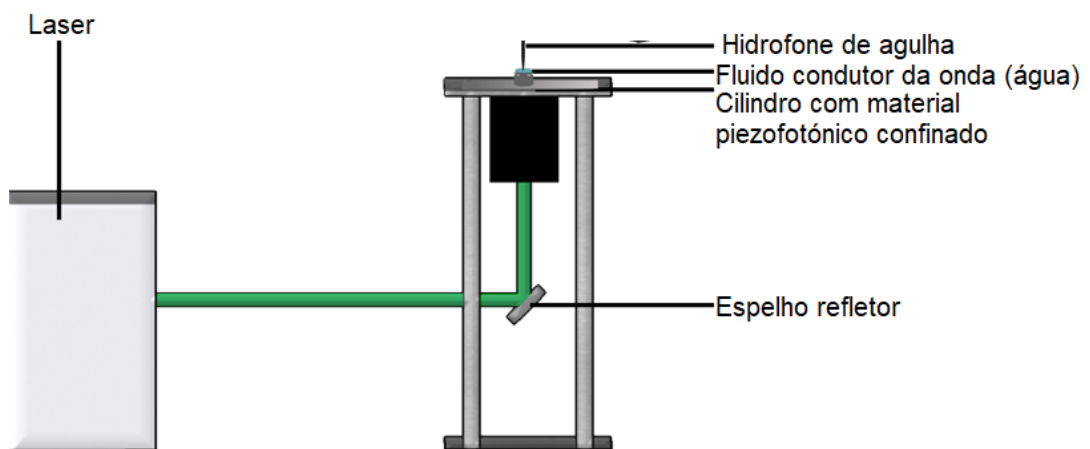
Como referido em cima, a expansão termoelástica tem sido considerada um método eficiente para converter luz em ondas de pressão. Contudo, é necessário explorar a dependência das ondas de pressão nas propriedades específicas dos materiais piezofotónicos otimizando a eficiência de conversão da luz em pressão.

Inicialmente foi comprovado²⁰ que ao confinar um material piezofotónico entre um material rígido e uma janela transparente aumentamos numa razão de 100 vezes, a pressão das ondas produzidas, assim como também os fatores de Grüneisen (γ), a espessura do material (h) e a quantidade de energia libertada

por unidade de área (ΔH) que se encontram relacionados com a pressão da onda produzida.

$$P_{\text{máx}} = \frac{\gamma}{h} \Delta H$$

A pressão da onda produzida pelos materiais de CNT foi obtida num ensaio em que colocamos o material piezofotónico, imerso num fluido (no caso do nosso estudo, imerso em água), sobre radiação de um laser pulsado, onde se encontra um hidrofone de agulha que vai medir a pressão da onda produzida pelo nosso material.



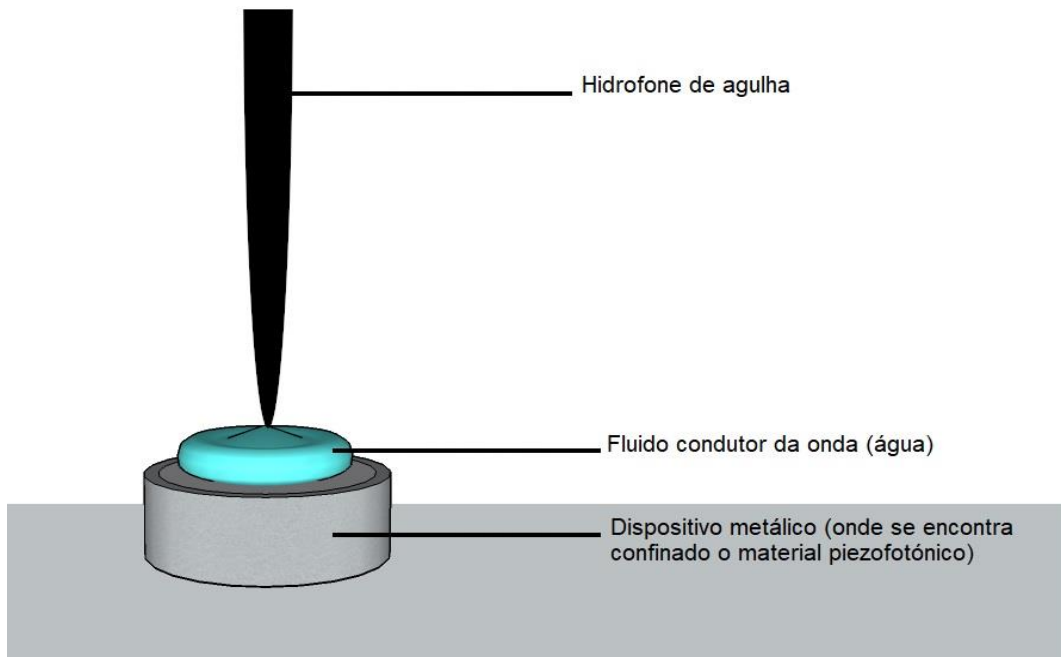


Figura 5: Procedimento de detecção de ondas de pressão com o uso de um hidrofone de agulha

Para relacionarmos os valores de frequência máxima e a pressão temos que recorrer a uma conversão simples que é característica do hidrofone de agulha que é utilizado. No caso do hidrofone de agulha utilizado neste estudo essa conversão é feita através da expressão:

$$223.9 \left(\frac{nV}{Pa} \right) * 10^{\frac{frequmáx}{20}} = P(Pa) * 1.18$$

Capítulo 2:

Materiais e métodos

Materiais e Métodos

2.1-Produção dos diferentes tipos de nanotubos funcionalizados

A funcionalização de nanotubos de carbono através das suas paredes, pontas ou por encapsulamento têm sido vistos como forma de explorar o potencial dos nanotubos de carbono na nanotecnologia²⁵, adquirindo novas propriedades que os nanotubos não funcionalizados não possuem.

A funcionalização realizada pelo grupo de Catálise e Química Fina do Departamento de Química da Universidade de Coimbra teve por objetivo aumentar a solubilidade dos nanotubos de carbono através da inserção de grupos polares e inserção de um polímero que aumentasse o coeficiente de expansão térmica dos materiais de carbono, o polidimetilsiloxano (PDMS).

Estudos anteriores²⁸ revelaram que o coeficiente de expansão térmica dos nanotubos é negativo e relativamente baixo, ou seja, há contração do comprimento do nanotubo quando estes são sujeitos a aumentos de temperatura.

Esta é a razão pela qual foi necessário adicionar aos nanotubos de carbono um material com grande coeficiente de expansão térmica.

Aquando do processo de formação das ondas de pressão o nosso material vai estar confinado entre um espelho e uma janela ótica, sendo necessário que sobre elas existe pressão. Essa pressão é criada quando o PDMS expande com o aumento da temperatura, propriedade que se deve ao coeficiente de expansão térmica elevado do material.

A primeira funcionalização, e a mais simples, é a de colocação de um grupo químico carboxílico - COOH. Este liga-se covalentemente através do átomo de carbono do COOH aos carbonos do nanotubo.

A adição do grupo carboxílico permite a ligação de moléculas com potencial interesse para o nosso estudo, como é o caso do PDMS.

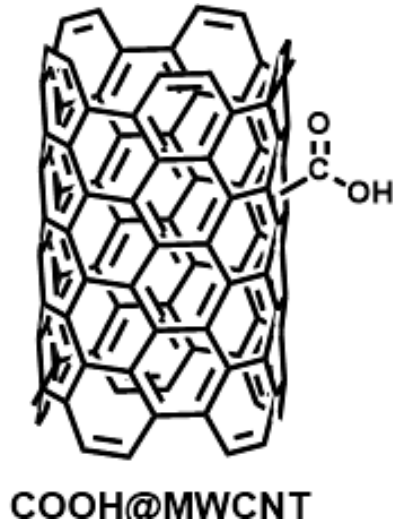


Figura 6: Nanotubos de Carbono funcionalizados com grupo COOH

Porém, a adição do grupo COOH não aumenta o coeficiente de expansão térmica do material, aumenta apenas a sua reatividade.

Este aumento de reatividade é usado para anexar outros grupos aos nanotubos e, subsequentemente, convertê-los em outros grupos radicais desejados, como o grupo amina CO-NH_2 ²⁵

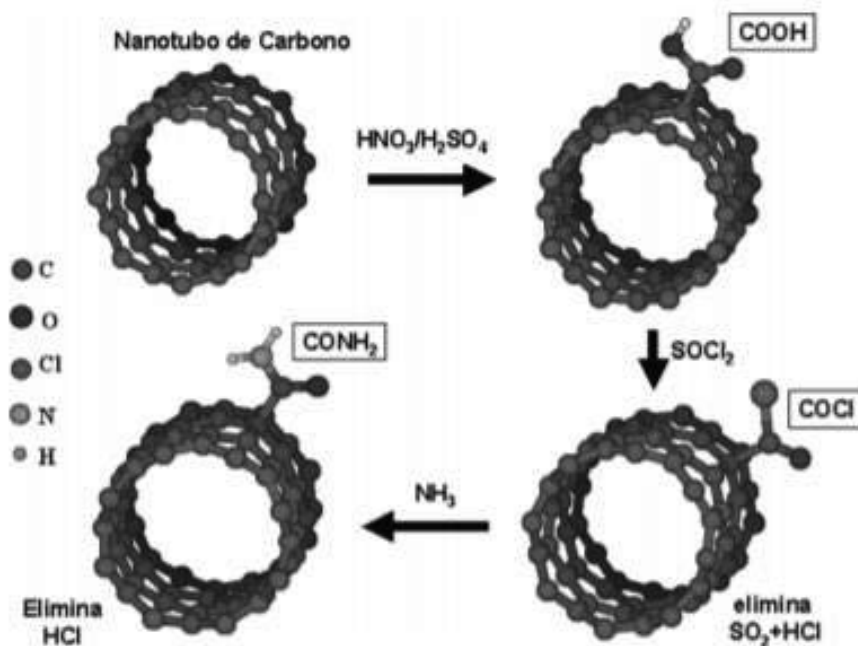


Figura 7: Conversão do grupo químico COOH no grupo CONH₂ anexada aos nanotubos de carbono

Já com o grupo carboxílico CO-NH₂ adicionado aos nanotubos podemos, então, fazê-los reagir com o grupo silano do polímero de PDMS e assim anexá-lo ao nanotubo de carbono.

A fórmula química do PDMS é CH₃[Si(CH₃)₂O]_nSi(CH₃)₃, em que n é o número das unidades repetidas [SiO(CH₃)₂]. A diferença entre os outros dois tipos de nanotubos de carbono está no aumento da quantidade destas unidades alterando o tamanho do PDMS, e por conseguinte, o efeito produzido por cada tipo de nanotubo

O primeiro nanotubo possui um PDMS curto e de baixo peso molecular, cerca de 2500 g/mol⁻¹, sendo este rotulado de “PDMS-A”.

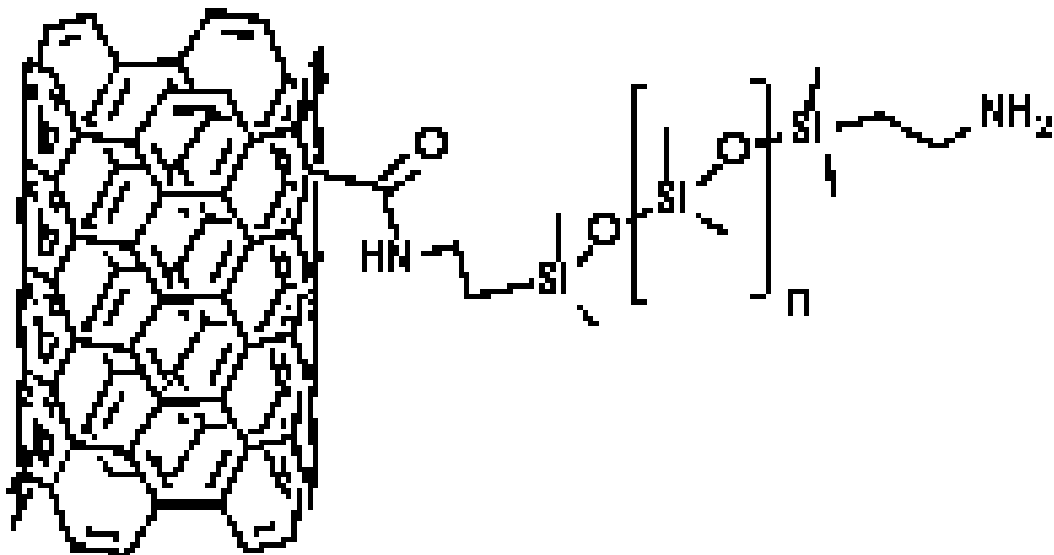


Figura 8: Estrutura Química dos nanotubos de carbono “PDMS-A” ($MW_{\text{polímero}}$: 2500 g mol^{-1}).

Temos, ainda, um nanotubo que na sua constituição possui um siloxano diferente, o “PDMS-D”, com um peso molecular entre 18000-20000 g mol^{-1} .

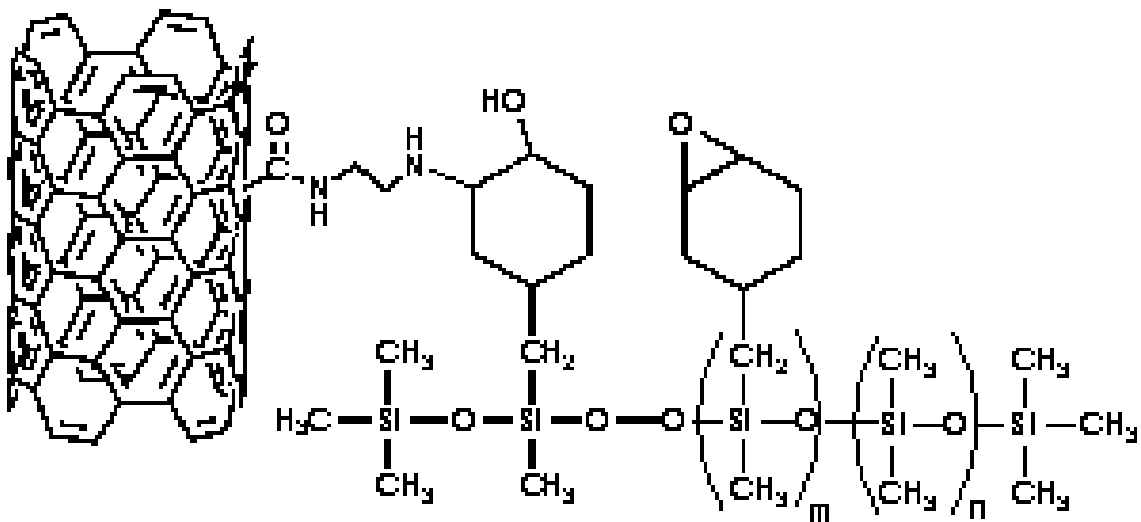


Figura 9: Estrutura química dos nanotubos de carbono “PDMS-D” ($MW_{\text{polímero}}$: 18000-20000 g mol^{-1}).

Ao modificarmos os polímeros ancorados aos nanotubos de carbono vamos tentar perceber se este tem influência na eficiência da produção das ondas fotoacústicas. Era de esperar que quanto maior fosse o polímero, maior fosse a eficiência da produção das ondas fotoacústicas, isto porque quanto maior é o polímero maior será a sua capacidade de expansão, e quanto maior a expansão, maior vai ser a pressão criada na produção de ondas fotoacústicas.

2.1.1- Produção de materiais piezofotónicos com nanotubos de carbono funcionalizados através da técnica de *Casting*

O uso de nanotubos de carbono homogeneamente incorporados numa matriz de um material de alto coeficiente de expansão (como o PDMS), já foi comprovado anteriormente como material de referência para produção de ultrassons de grandes amplitudes e de grandes frequências³, porém, os nanotubos de carbono funcionalizados com esse mesmo elastómero e com um alto coeficiente de expansão, ainda não foram estudados.

Assim, para este estudo foram produzidos compósitos dos diferentes tipos de nanotubos de carbono funcionalizados que foram embebidos numa matriz de poliestireno.

O poliestireno (PS), da marca Aldrich (MW=23000 g/mol) e de coeficiente de expansão térmica de $70 \times 10^{-6} \mu\text{m}/^\circ\text{C}^{-1}$ é adicionado ao nanotubo “COOH”.

O PS adicionado ao nanotubo “COOH” serviu de termo de comparação para possuímos um composto de grande coeficiente de expansão térmica neste tipo de nanotubo, pois, sem este material, o nosso nanotubo de “COOH” não expandiria e não existia meio de comparação com os nanotubos funcionalizados com PDMS, de coeficiente de expansão térmica de $310 \times 10^{-6} \mu\text{m}/^\circ\text{C}^{-1}$. A quantidade de PS adicionada ao nanotubo “COOH” foi, também adicionada a todos os outros tipos de nanotubo para que as condições entre filmes fossem idênticas para futuras comparações

Utilizamos tetrahidrofurano (THF), da marca Fisher, para dissolver o os nanotubos produzidos e o polistireno sendo depois aplicada a técnica de deposição de *Casting*.

Na técnica de Casting, usa-se o aplicador de filmes 0-1000 μM , da marca Elcometer, para se arrastar uniformemente a solução de nanotubos e PS em THF. Após isto, deixamos a solução que foi arrastada a repousar durante um dia. Verifica-se que nesse dia de repouso, o THF evapora à temperatura ambiente, resultando daí um filme sólido composto pelos nanotubos de carbono e o poliestireno.

Devido à dificuldade em se obter um filme uniforme e homogêneo foram, portanto, produzidos vários lotes para cada filme, variando os parâmetros de cada um dos mesmos.

Inicialmente, para tentar obter uma viscosidade perfeita para aplicar a técnica de Casting variámos a proporção de THF em relação ao poliestireno. Após isto, fomos alterando outros parâmetros como a concentração de nanotubos para obtermos materiais de diferentes absorvâncias ao mesmo tempo utilizamos diferentes moldes de espessura para conseguir diferentes espessuras dos filmes produzidos.

Foi, então, conseguida uma dispersão uniforme do filme sobre a superfície, com uma proporção de 1 grama de PS, da marca Aldrich ($MW=23000 \text{ g/mol}$), de 2.5 mililitros de THF, da marca Fisher ($MW= 72.11 \text{ g/mol}$).



Figura 10: Filmes de Carbono após técnica de deposição por Casting

Todos os outros parâmetros foram alterados até conseguirmos obter filmes com características próximas dos materiais de referência (filmes de MnTPP e Epolight em PS) fornecidos pela empresa LaserLeap Technologies.

A espessura do material foi medida com um micrômetro digital e a absorvância foi registada no espectrofotômetro Cary 5000 Series UV-Vis-NIR da Agilent Technologies.

Tabela 1: Espessuras e absorvâncias de filmes utilizados no estudo

Tipo de Filme	Absorvância	Espessura (μm)
MnTPP	1,23	60-80
Epolight	2,05	60-80
COOH	1,6-2,1	35-40
PDMS A	1,8-1,9	35-40
PDMS D	1,8-2,0	35-40

2.2- Geração e medição de ondas de pressão

Para a geração e medição das ondas de pressão utilizamos um método de irradiação frontal (figura 4),

Assim sendo, são utilizados dois tipos de laser para este processo: um laser de 8 nanossegundos de pulso (Spectra Physics Quanta Ray GCR-130) a um comprimento de onda de 532 nm e 1064nm e um segundo laser de 30 picossegundos de pulso (EKSPLA PL 2143)) com os mesmos comprimentos de onda. Ambos lasers do estado sólido tendo como meio activo um cristal de Nd:YAG.

O feixe laser tem a forma de uma elipse com 0.6 cm e 0.7cm de diâmetro dando uma área aproximada de 0.33 cm². Foram utilizados dois valores de energia de pulso que são eles de 6.1 mJ e 12 mJ, para possuímos cerca de 25mJ/cm² e 50mJ/cm² de fluência para que a energia de pulso seja constante para todos os ensaios.

O material piezofotónico está confinado entre um espelho e uma janela de quartzo. O espelho reflete a luz de volta ao material piezofotónico para que a absorção de luz seja duplicada e ao mesmo tempo evita que a luz não absorvida atinga as interfaces seguintes (por exemplo o transdutor).

A onda gerada é detetada por um transdutor piezoelétrico de contacto da Panametrics / Olympus (100 MHz e 225 MHz). A voltagem é enviada para um osciloscópio para ser ampliada e visualizada num computador.

Assim, para este estudo vamos ter para cada filme cerca de 8 ondas fotoacústicas obtidas para os dois comprimentos de onda e nas diferentes fluências utilizadas e detetadas pelos dois transdutores.

Com estes dados, podemos perceber qual é a frequência preferencial das ondas produzidas e o valor de intensidade das mesmas e como estas propriedades dependem das características dos materiais piezofotónicos produzidos.

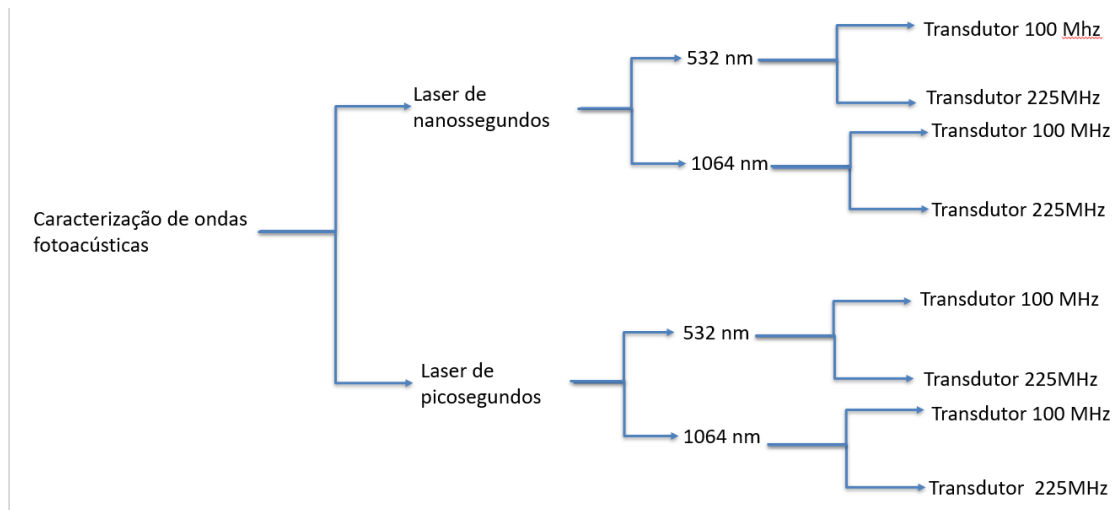


Figura 11: Esquema sintético das experiências realizadas para caracterização das ondas fotoacústicas

2.3- Ensaios de Pressão

A pressão das ondas fotoacústicas criadas foi estudada através de um ensaio com o uso de um microfone de agulha calibrado para detetar valores entre 1MHz e 20Mhz (modelo MH28 de Force Technologies). Estes ensaios foram realizados com os mesmos materiais piezofotónicos, os mesmos lasers e os mesmos comprimentos de onda que o ensaio descrito anteriormente.

Para que a obtenção da informação seja máxima o microfone de agulha é alinhado com o centro do feixe do laser que está a irradiar o nosso material piezofotónico.

A ponta da agulha está mergulhada sobre uma pequena quantidade de água para que esta sirva de veículo de propagação da onda.

Escolhemos a água para este efeito pois o único stress criado por um fluido não viscoso é a pressão hidrostática. A pressão hidrostática faz com que a zona de foco do feixe laser seja alterada que pode ser contrariada, em parte, variando a posição da agulha.

O material piezofotônico está confinado entre uma janela ótica (1.0mm de espessura) e um espelho (0.6 mm de espessura), usando um silicone como acoplador acústico. O espelho reflete a luz não absorvida de volta para o material piezofotônico e protege o hidrofone da luz laser. Estas três interfaces estão acopladas num dispositivo desenvolvido no Departamento de Química da Universidade de Coimbra.

A frequência do sinal é amplificada e adquirida por um osciloscópio digital. Por fim, a informação é transferida para um computador pessoal para ser processada e analisada.

Capítulo 3:

Resultados e discussão

Resultados e Discussão

3.1- Excitação a 532 nm

Inicialmente apresenta-se os resultados das ondas produzidas por diferentes materiais para o comprimento de onda de excitação de 532 nm, tanto para o laser de 8 nanosegundos como para o laser de 30 picosegundos, quando irradiados com uma fluência de 50 mJ/cm².

Estudos realizados para nanopartículas de prata²⁹, mostram que o comprimento de onda tem influência na eficiência de ablação do material. Essa dependência diz-nos que a eficiência de ablação é maior para comprimentos de onda menores.

Porém para este tipo de estudo, têm se em conta o processo de ablação do material. No estudo realizado o método de produção das ondas fotoacústicas é um método termoelástico. Neste sentido o comprimento de onda terá influência apenas na maior absorção da molécula aos dois comprimentos de onda. O carbono absorve linearmente a radiação a todos os comprimentos de onda e por esta razão os resultados esperados são semelhantes para os dois comprimentos de onda.

Porém, o nosso estudo não passa só por comparar os resultados que obtivemos para os diferentes comprimentos de onda, passa, também por comparar os resultados obtidos pelos materiais de CNT e os materiais de referência dos diferentes comprimentos de onda.

O material de referência para este comprimento de onda é o MnTPP, sendo que é com este material que vamos comparar os materiais de nanotubos de carbono (CNT).

Esperamos obter ondas de maior amplitude e maior frequência, para os materiais de CNT comparativamente às ondas de MnTPP, para que as ondas sejam mais específicas para a dimensão das células.

3.1.1- Laser de 8 nanosegundos de pulso

3.1.1.1-Ensaio relativos à amplitude de onda produzida por cada filme e respectiva frequência

1. Transdutor de 100 MHz

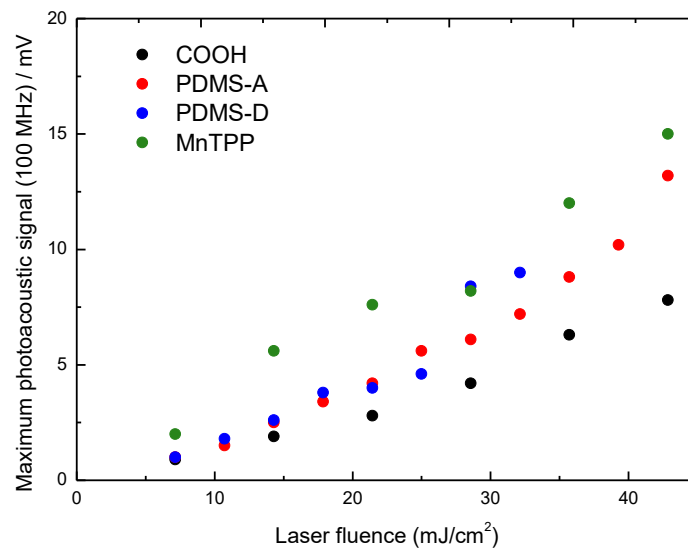


Figura 12: Comparação entre amplitudes de ondas produzidas por diferentes materiais piezofotônicos para laser de 8 nanosegundos de pulso a 532 nm e transdutor de 100 MHz

Como podemos verificar através da análise do gráfico da figura 12, todos os materiais aumentam o sinal fotoacústico quando aumentamos a fluência do laser, algo que já era esperado, pois a fluência tem uma relação de linearidade com a amplitude da onda fotoacústica produzida, estando esta relacionada com a quantidade de energia libertada.

Apercebemo-nos, desta forma, que os filmes de CNT criam ondas de amplitudes muito próximas aos materiais de referência, o MnTPP (que é uma referência fotoacústica).

O filme de PDMS-D apenas tem resultados até aos 30 mJ/cm² pois após este valor existe degradação do mesmo, porém à fluência de 30mJ/cm² o valor de amplitude de onda é igual à referência e superior ao PDMS-A. Este resultado pode ser explicado pelo maior tamanho do polímero do PDMS-D, e, por isso, possui uma melhor capacidade de expansão e eficiência de conversão de luz em pressão do que o polímero do PDMS-A.

Para valores superiores a 30 mJ/cm², o PDMS-A comporta-se de forma semelhante ao MnTPP sendo, por isso, o PDMS-A uma melhor hipótese que o PDMS-D, para energias superiores.

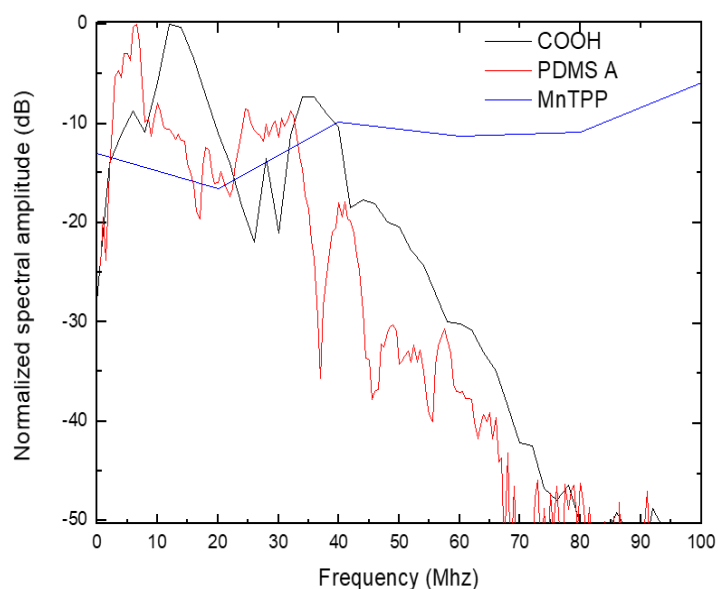


Figura 13: Comparação entre frequências de ondas produzidas por diferentes materiais piezofotônicos para laser de 8 nanosegundos de pulso a 532 nm com transdutor de 100 MHz

Em relação à distribuição de frequências dos filmes o MnTPP possui frequências mais elevadas que os filmes de CNT, possuindo ondas com frequências até 200 MHz.

Os filmes de CNT possuem frequências muito próximas com máximos até 60 MHz.

O transdutor de 100 MHz deteta frequências entre os 0 e 200 MHz (centradas a 100 MHz) de frequência. A frequência máxima detetada pelos filmes de CNT é de cerca de 60MHz e a frequência detetada para os filmes de MnTPP é cerca de 200 MHz. Estes máximos de frequência indicam que de todas as ondas produzidas por estes dois tipos de filmes para os filmes de CNT as ondas com frequências de 60 MHz foram as mais detetadas por o transdutor e as de frequência de 200 MHz as mais detetadas pelo transdutor para o filme de MnTPP.

2. Transdutor de 225 MHz

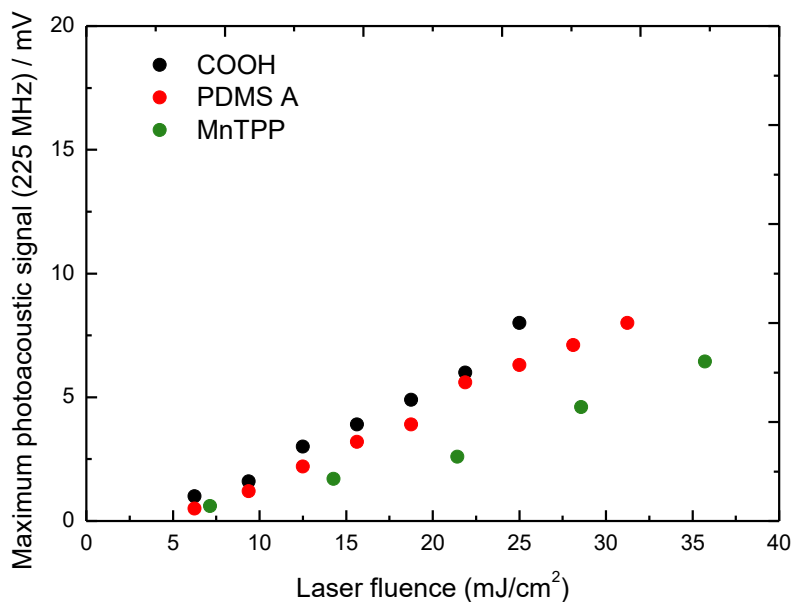


Figura 14: Comparação entre amplitudes de ondas produzidas por diferentes materiais piezofotônicos para laser de 8 nanosegundos de pulso a 532 nm para transdutor de 225 MHz

Quando utilizamos um transdutor de maior frequência percebemos que a amplitude máxima da onda é de menor intensidade.

Isto pode acontecer porque existe menor quantidade de ondas de elevadas frequências, no local onde este transdutor tem melhor capacidade de resposta, ou apenas devido á menor sensibilidade do transdutor.

Ainda assim, os resultados são semelhantes para todos os filmes.

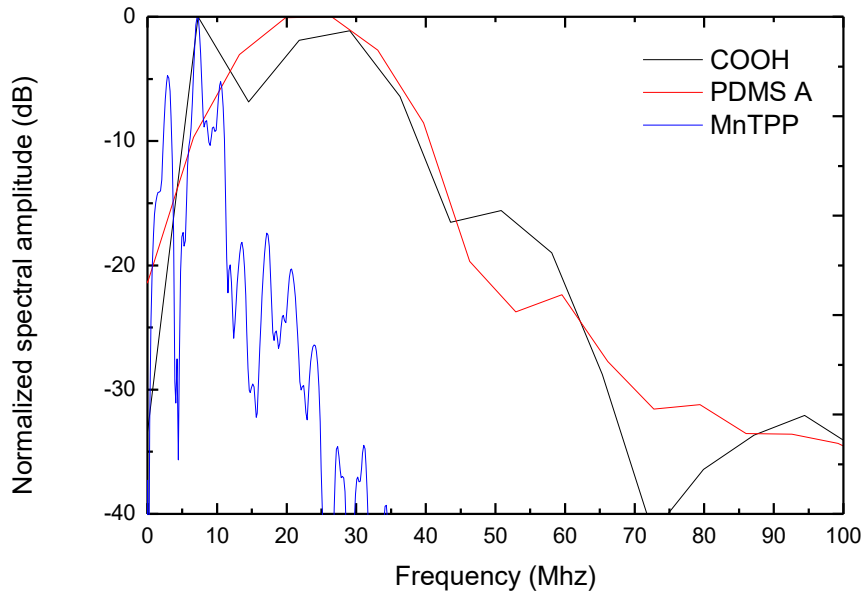


Figura 15: Comparação entre frequências de ondas produzidas por diferentes materiais piezofotônicos para laser de 8 nanosegundos de pulso a 532 nm para transdutor de 225 MHz

O gráfico apresentado acima é fulcral pois nele estão apresentados os resultados esperados para este trabalho: para os filmes de CNT temos maiores frequências (centradas nos 40 MHz) quando comparados com o material de referência, MnTPP, (centradas a 10 MHz).

Assim apercebemo-nos que na faixa onde este transdutor tem melhor capacidade de resposta (entre 88 e 318 MHz) os filmes de CNT produzem ondas de maior frequência que a referência, pois o valor de frequência máxima é maior para os filmes de CNT que os filmes de MnTPP.

3.1.2- Laser de 30 picosegundos de pulso

3.1.2.1-Ensaio relativos à amplitude e frequência de onda produzida por cada filme

1. Transdutor de 100 MHz

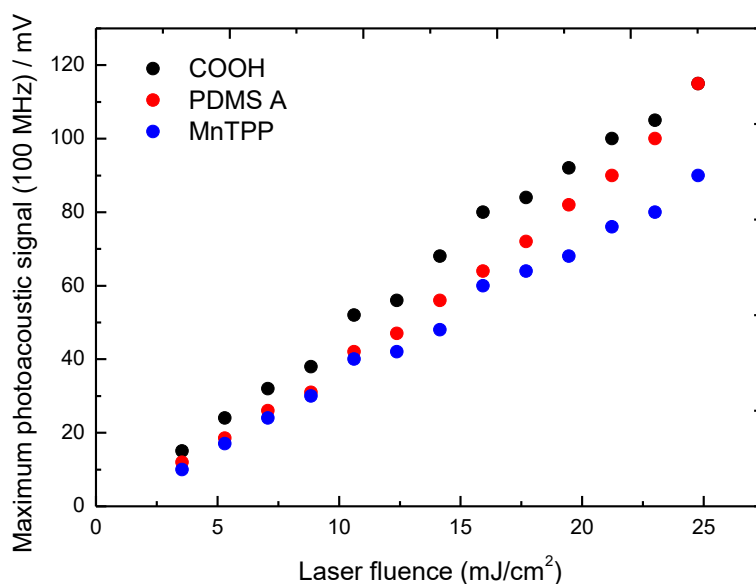


Figura: Comparação entre amplitudes de ondas produzidas por diferentes materiais piezofotônicos para laser de 30 picosegundos de pulso a 532 nm para transdutor de 100 MHz

Para o laser de 30 picosegundos de pulso as amplitudes de onda para os filmes de CNT possuem sinal fotoacústico muito semelhante ao sinal do filme de referência.

O comportamento é semelhante para todos os filmes piezofotônicos, existindo um aumento linear do sinal fotoacústico à medida que existe aumento da fluência do laser.

Quando comparamos o aumento linear, do sinal fotoacústico, no laser de 30 picosegundos com o aumento observado no laser de nanossegundos o aumento linear do sinal acústica no laser de 30 picosegundos é mais acentuado. Essa diferença reflete a maior densidade de potência ótica, IL, do laser de 30 picosegundos na fluência de 50 mJ/cm² (IL = 0.0125 GW/cm² e 3.33 GW/cm² para o laser de 8 nanossegundos e 30 picosegundos, respetivamente)

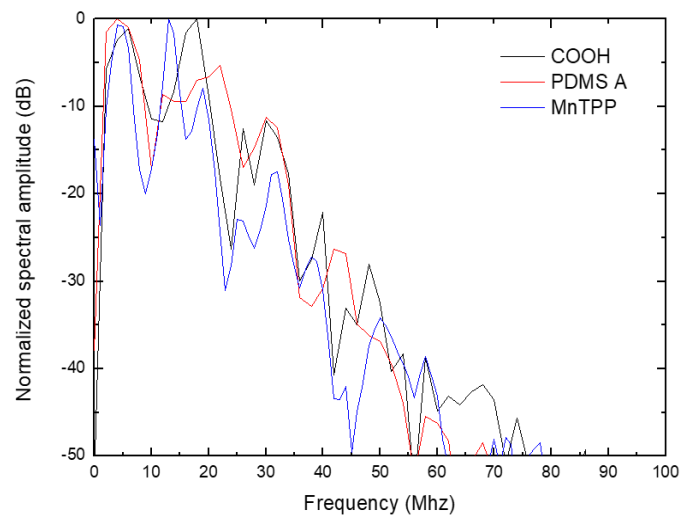


Figura 16: Comparação entre frequências de ondas produzidas por diferentes materiais piezofotônicos para laser de 30 picosegundos de pulso a 532 nm para transdutor de 100 MHz

A frequência das ondas produzidas está de acordo com a amplitude de onda, sendo muito semelhante para todos os materiais.

2. Transdutor de 225 MHz

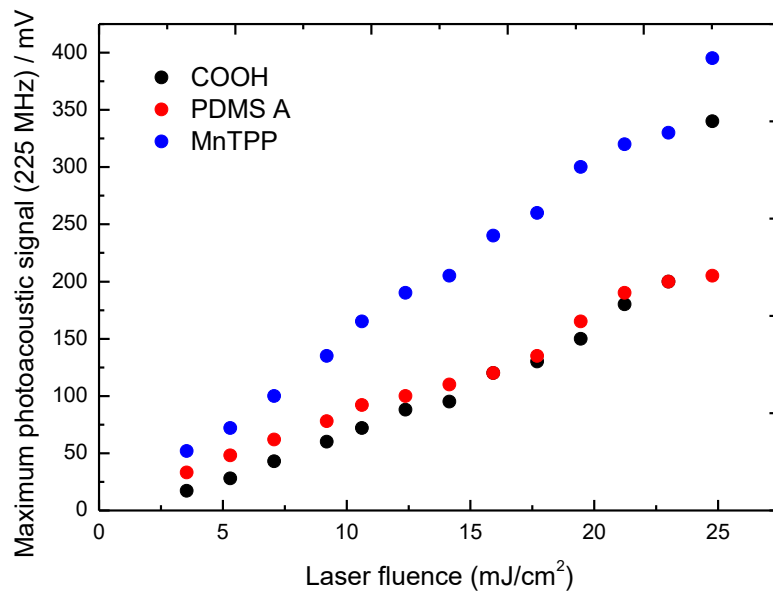


Figura 17: Comparação entre amplitudes de ondas produzidas por diferentes materiais piezofotônicos para laser de 30 picosegundos de pulso a 532 nm para transdutor de 225 MHz

As amplitudes das ondas a 225 MHz para os filmes de CNT são menores, porém com um comportamento semelhante à referência, tal como aconteceu anteriormente.

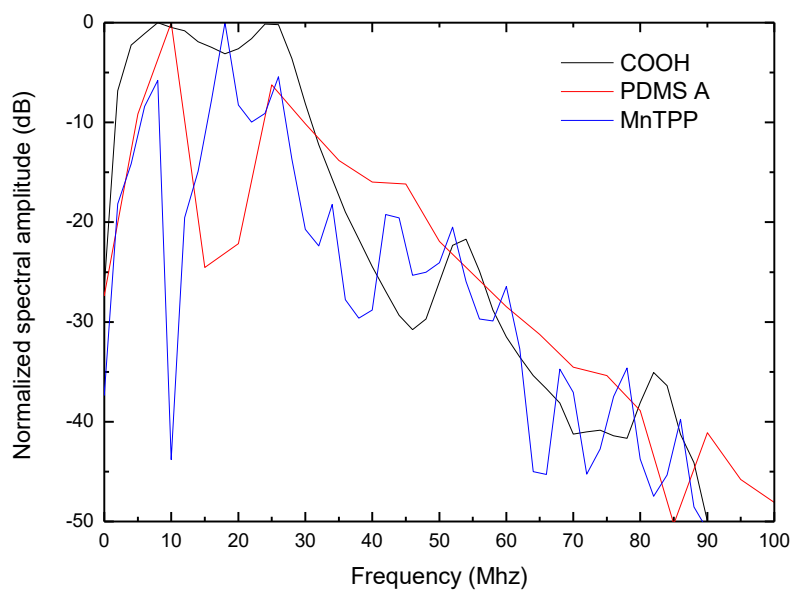


Figura 18: Comparação entre frequências de ondas produzidas por diferentes materiais piezofotônicos para laser de 30 picosegundos de pulso a 532 nm para transdutor de 225 MHz

Verifica-se mais uma vez que a frequência das ondas produzidas pelos filmes de CNT é semelhante à referência.

3.1.3-Conclusões relativas ao 532 nm

Em forma de conclusão, verificou-se que para comprimentos de onda de 532 nm, tanto para o laser de 8 nanosegundos de pulso como para o laser 30 picosegundos, as ondas produzidas pelos filmes de CNT têm amplitudes semelhantes às ondas produzidas pelo material piezofotônico de referência.

Porém, em alguns resultados é mostrado que o COOH possui maiores amplitudes que o filme de PDMS A. Este resultado não era esperado uma vez que o COOH não possui nenhum grupo de elevado coeficiente de expansão térmica. Este resultado pode ter acontecido pois a quando da irradiação do filme de COOH, podemos ter irradiado o nosso filme numa zona de maior absorvância

($abs= 2,1$), sendo este o valor mais elevado dos diferentes filmes, e por isso obtivemos ondas de maior amplitude.

Em relação às frequências, os resultados são semelhantes sendo que num dos ensaios (laser de 8 nanosegundos e transdutor de 225 MHz) os filmes de CNT produzem ondas de maior frequência que o material piezofotônico de referência.

3.2- Excitação a 1064 nm

Outro dos objetivos deste trabalho passava por produzir um material que obtivesse resultados semelhantes, ou até melhores, aos obtidos a 532 nm mas a um comprimento de onda diferente.

Os lasers de 1064 nm são lasers de baixo custo, estes não necessitam de harmônicas que separam a luz de 1064 nm em outros comprimentos de onda, quando comparados com lasers de outros comprimentos de onda. Esta é a razão que nos leva a dizer que seria vantajoso criar um material que originasse resultados ótimos para o comprimento de onda de 1064nm, sendo este comprimento de onda utilizado ao longo de trabalho.

3.2.1- Laser de 8 nanosegundos de pulso

3.2.1.1-Ensaio relativos à amplitude de onda produzida por cada filme e respectiva frequência

1. Transdutor de 100 MHz

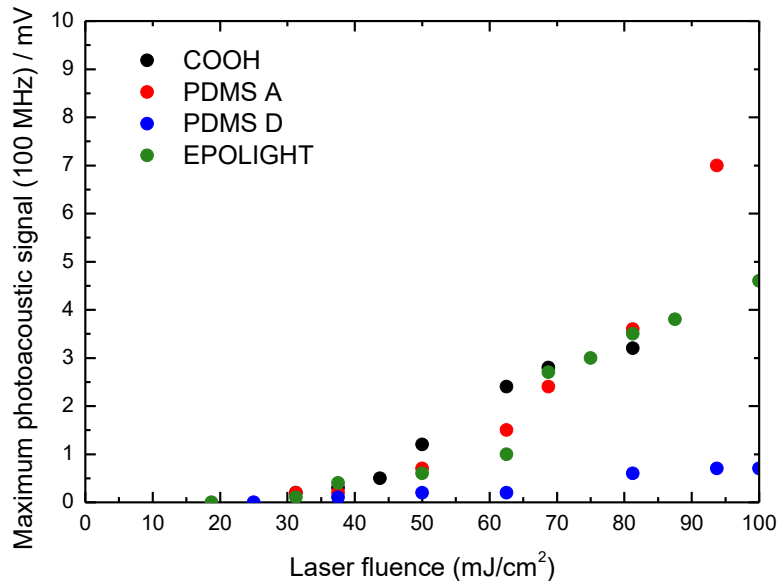


Figura 19: Comparação entre amplitudes de ondas produzidas por diferentes materiais piezofotônicos para laser de 8 nanosegundos de pulso a 1064 nm transdutor de 100 MHz

Como podemos observar pelo gráfico da figura 20, as amplitudes das ondas produzidas pelos diferentes filmes CNT são semelhantes quando comparadas com o Epolight, material de referência para 1064 nm.

Podemos perceber, também, que a amplitude máxima para 1064 nm é menor que a 532 nm algo que já era esperado devido à menor energia dos fótons no comprimento de onda de 1064 nm quando comparado com 532 nm.

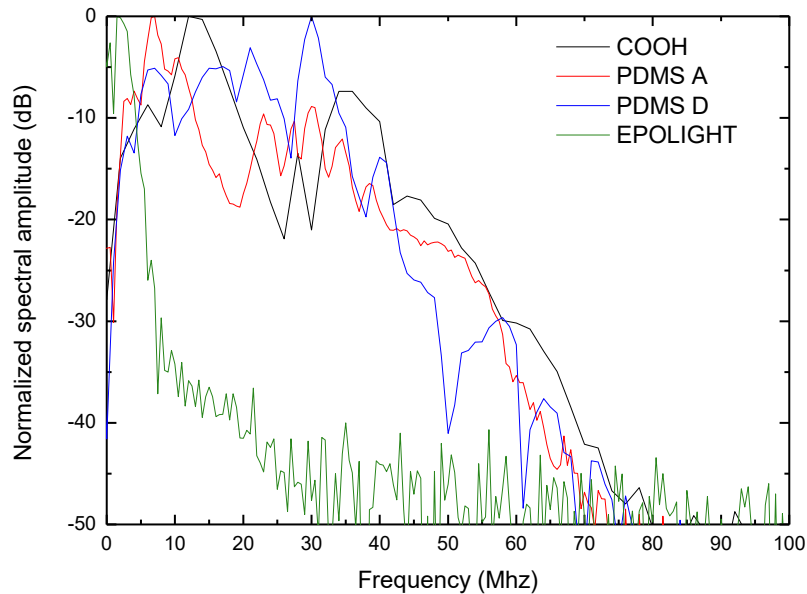


Figura 20: Comparação entre frequências de ondas produzidas por diferentes materiais piezofotônicos para laser de 8 nanosegundos de pulso a 1064 nm para transdutor de 100 MHz

Quando falamos em relação à frequência das ondas, percebemos que temos maiores frequências para os filmes de CNT em relação à referência.

Este é mais um dos resultados positivos do nosso estudo, pois estamos a conseguir produzir um material que produz ondas num comprimento de onda diferente e com maior frequência que o material de referência.

2. Transdutor de 225 MHz

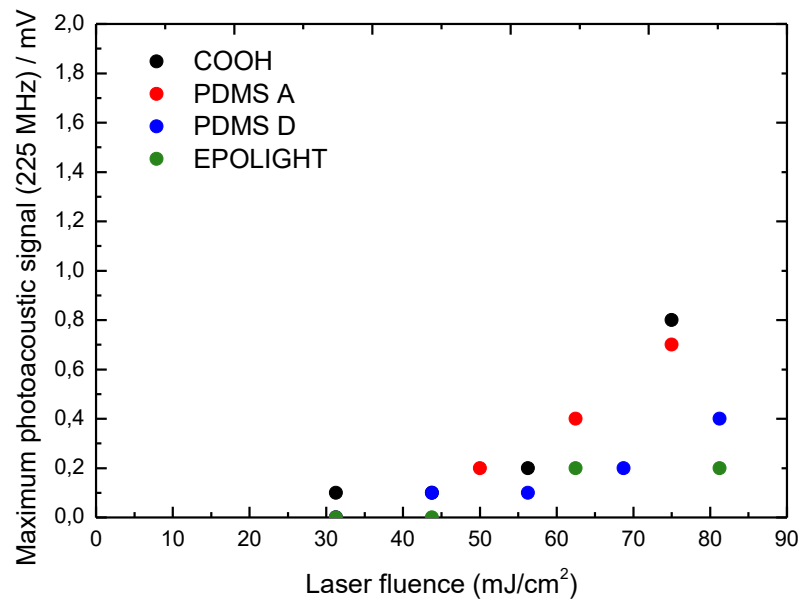


Figura 21: Comparação entre amplitudes de ondas produzidas por diferentes materiais piezofotônicos para laser de 8 nanosegundos de pulso a 1064 nm para transdutor de 225 MHz

Tal como no laser de 8 nanosegundos quando mudamos de transdutor de 100 MHz para 225 MHz a amplitude do sinal diminui. Isto verifica-se porque existem menos ondas com frequências que são detetadas pelo transdutor de 225 MHz.

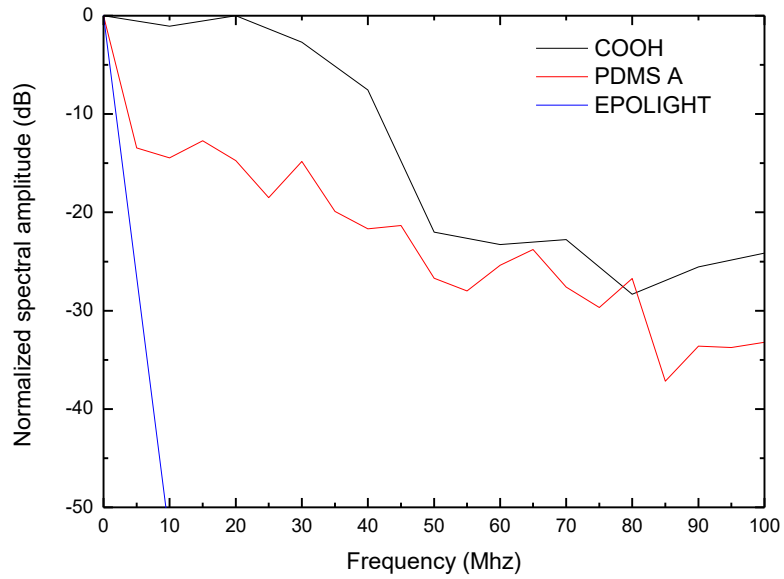


Figura 22: Comparação entre frequências de ondas produzidas por diferentes materiais piezofotônicos para laser de 8 nanosegundos de pulso a 1064 nm para transdutor de 225 MHz

Em relação às frequências para o mesmo laser e transdutor, obtivemos resultados semelhantes para os filmes de COOH e PDMS A.

Porém, em relação aos resultados do Epolight parece existir um erro experimental em relação ao gráfico de distribuição de frequências.

3.2.2- Laser de 30 picosegundos de pulso

3.2.2.1-Ensaio relativos á amplitude de onda produzida por cada filme e respetiva frequência

1. Transdutor de 100 MHz

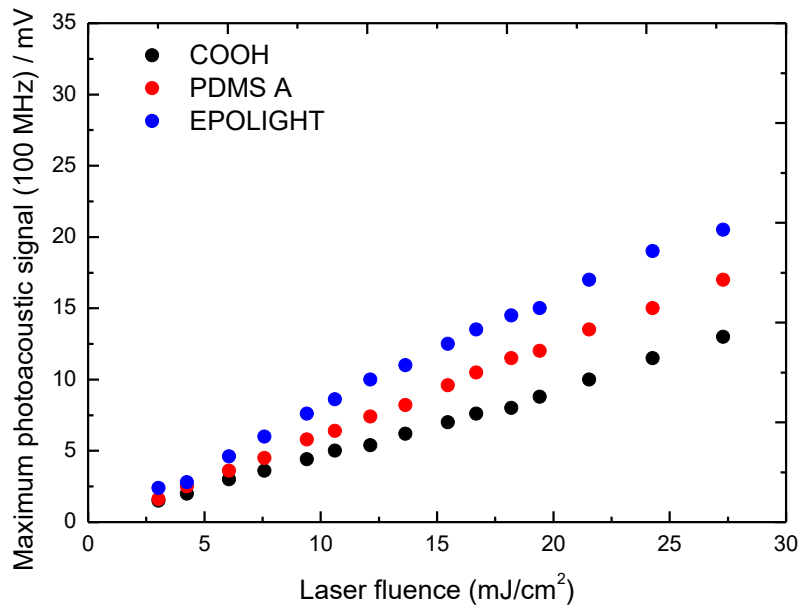


Figura 23: Comparação entre amplitudes de ondas produzidas por diferentes materiais piezofotónicos para laser de 30 picosegundos de pulso a 1064 nm para transdutor de 100 MHz

Mais uma vez, verifica-se no gráfico da figura 24 a capacidade dos filmes de CNT a produzirem resultados semelhantes à referência no comprimento de onda de 1064nm.

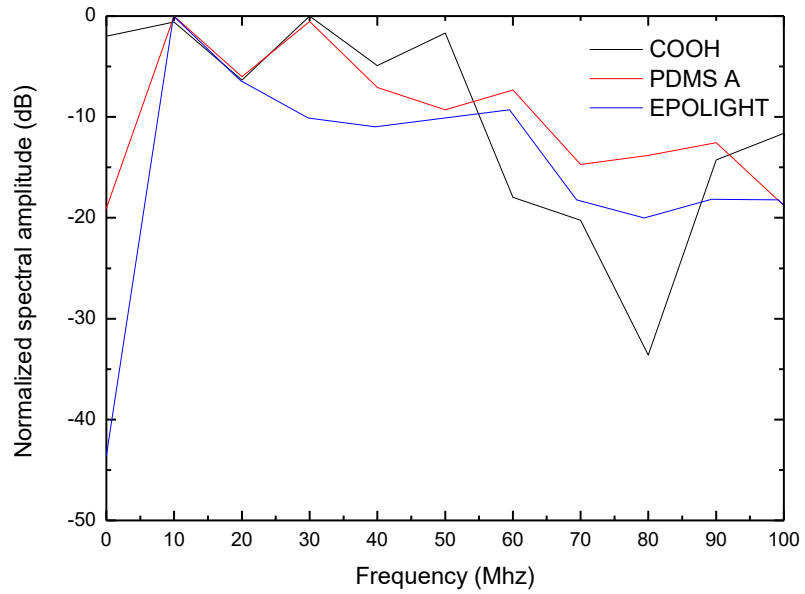


Figura 24: Comparação entre frequências de ondas produzidas por diferentes materiais piezofotônicos para laser de 30 picosegundos de pulso a 1064 nm para transdutor de 100 MHz

Resultados muito semelhantes aos das amplitudes são apresentados no gráfico de frequência para o mesmo transdutor e laser.

2. Transdutor de 225 MHz

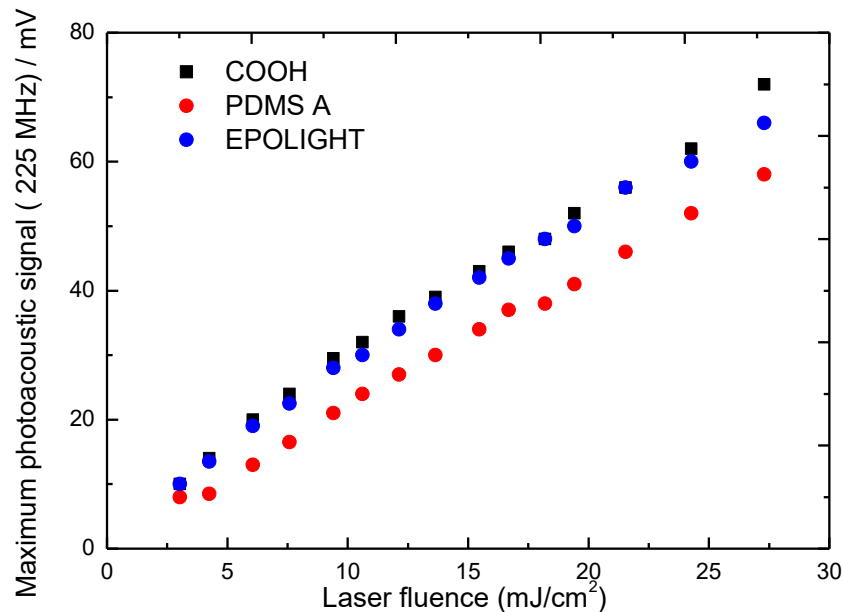


Figura 25: Comparação entre amplitudes de ondas produzidas por diferentes materiais piezofotônicos para laser de 30 picosegundos de pulso a 1064 nm para transdutor de 225 MHz

Para o transdutor de 225 MHz a amplitude das ondas produzidas pelos filmes são maiores do que no transdutor de 100 MHz.

Isto comprova que as ondas produzidas pelos materiais são de elevada frequência, pois este transdutor, deteta ondas na faixa de frequências entre 88 e 318 MHz com uma sensibilidade máxima a 225 MHz. Este resultado é contrário ao resultado descrito anteriormente para o mesmo transdutor, mas para o laser de 8 nanosegundos de pulso.

Além disso, é mantido o regime de linearidade e semelhança entre filmes de CNT e a referência.

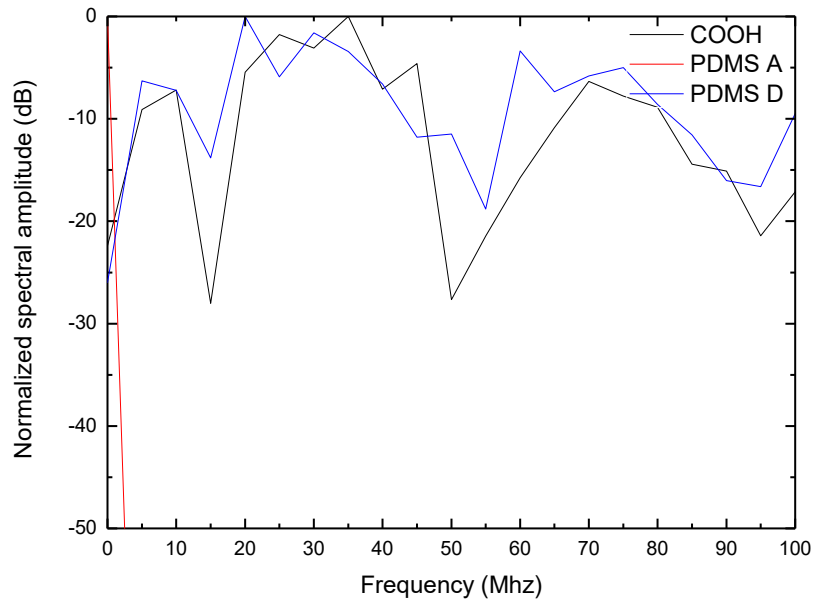


Figura 26: Comparação entre frequências de ondas produzidas por diferentes materiais piezofotônicos para laser de 30 picosegundos de pulso a 1064 nm com transdutor de 225 MHz

Por último, as frequências das ondas apresentadas são mais uma vez elevadas, sendo que para o PDMS-A obtivemos mais um erro experimental não sendo possível retirar quaisquer conclusões sobre a gama de frequências do mesmo.

3.2.3-Conclusões relativas a 1064 nm

Com os resultados alcançados, conseguimos comprovar, desta forma, que possuímos um material piezofotônico que obteve resultados semelhante à referência tanto a nível da amplitude das ondas fotoacústicas como a nível da distribuição de frequências para um comprimento de onda de 1064 nm.

3.3- Ensaios de pressão com hidrofone de agulha

O último ensaio realizado neste estudo teve em vista estudar a pressão absoluta da onda criada por cada filme piezofotônico em estudo, quando este é irradiado por uma fluência de 50 mJ/cm^2 .

Neste ensaio não se tem em conta o intervalo de tempo de detecção da onda, devido à dificuldade de colocar o hidrofone sempre na mesma zona de foco e manter a distância entre o filme e o hidrofone.

Por esta razão nos resultados que vão ser apresentados o tempo a que aparece cada onda não é o tempo real de aquisição, sendo apenas essencial estudar a pressão máxima de cada onda e compará-las entre elas.

É de esperar que a pressão das ondas produzidas pelos materiais de CNT sejam da mesma ordem ou melhores que as ondas produzidas pelos materiais de referência, pois nos materiais de CNT temos na constituição do nanotubo um material de coeficiente de Gruneissen alto, o que permite ao material uma grande expansão aquando da deposição de calor. Espera-se que a expansão vai criar uma grande expansão nos componentes que confinam os nossos filmes, criando assim ondas fotoacústicas com maiores pressões.

3.3.1- Excitação a 532 nm

3.3.1.1- Laser de 8 nanosegundos e 30 picosegundos

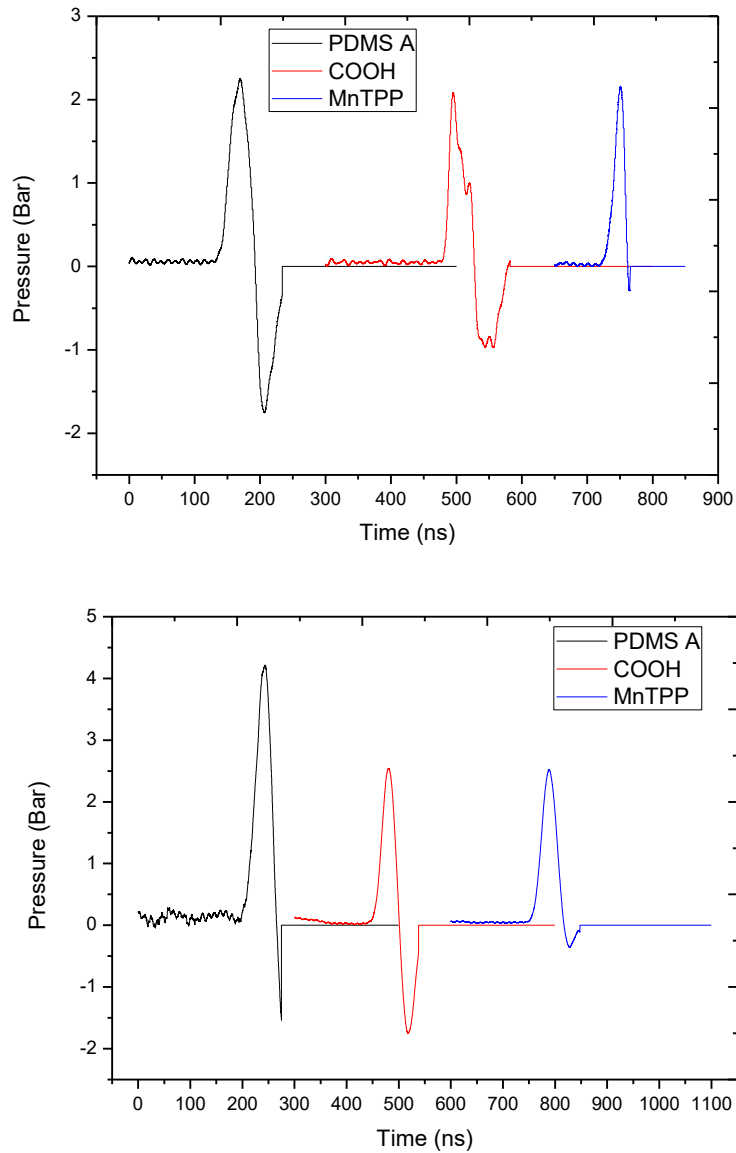


Figura 27: Comparação entre pressão de ondas fotoacusticas produzidas por diferentes materiais piezofotônicos com um laser de 8 nanosegundos (acima) e 30 picosegundos (abaixo) a um comprimento de onda de 532 nm

Quando olhamos para os resultados obtidos apercebemo-nos que as pressões das ondas produzidas pelos diferentes tipos de materiais são todas da mesma ordem de grandeza, sendo que o filme de PDMS A tem ondas de pressões superiores.

Este facto pode dever-se a maior capacidade de expansão do PDMS que não se encontra em todos os outros materiais.

3.3.2- Excitação a 1064 nm

3.3.2.1- Laser de 8 nanosegundos e 30 picosegundos

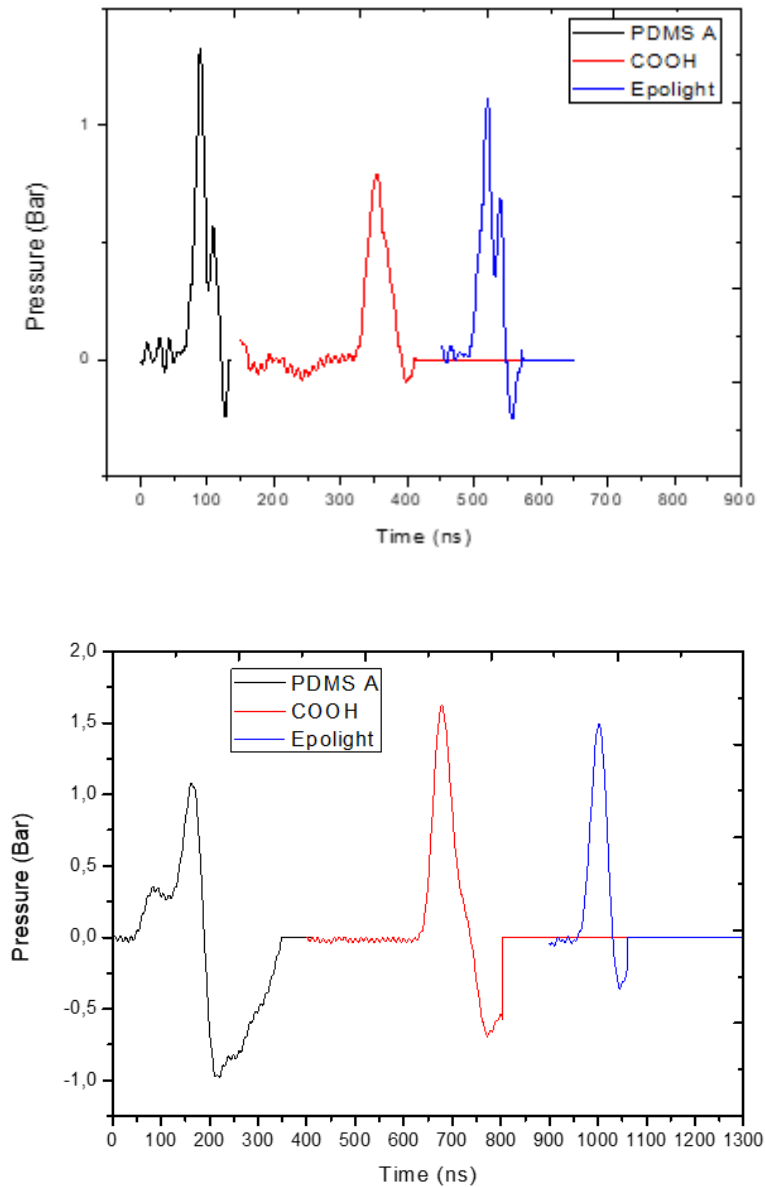


Figura 28: Comparação entre pressão de ondas fotoacusticas produzidas por diferentes materiais piezofotônicos com um laser de 8 nanosegundos (acima) e 30 picosegundos (abaixo) a um comprimento de onda de 1064 nm

Mais uma vez, a 1064 nm a pressão das ondas criadas pelos diferentes materiais piezofotônicos são de igual grandeza sendo que a intensidade de pressão é menor que a 532nm devido à menor energia dos fotões a 1064 nm.

3.4- Discussão

3.4.1-Tabela resumo dos resultados obtidos

Tabela 2: Tabela resumo dos resultados obtidos

Cdo / nm	Duração de pulso	Freq. Detector	COOH	PDMS-A	PDMS-D	REF
532	8 ns	100 MHz	Freq 40 MHz	Freq 40 Mz	Degrada >30 mJ	Onda mais intensa Freq 100 MHz
		225 MHz	Onda mais intensa Freq 30-90 MHz	Onda mais intensa Freq 30-90 MHz		Freq 10 MHz
	30 ps	100 MHz	Onda mais intensa Freq 20 MHz	Onda mais intensa Freq 20 MHz		Freq 20 MHz
		225 MHz	Freq 30-90 MHz	Freq 30-90 MHz		Onda mais intensa Freq 30-90 MHz
1064	8 ns	100 MHz	Freq 20-60 MHz	Freq 20-60 MHz	Onda menos intensa Freq 20-60 MHz	Freq 5 MHz
		225 MHz	Onda mais intensa Freq 20-100 MHz	Onda mais intensa Freq 20-100 MHz		Freq 5 MHz
	30 ps	100 MHz	Freq 20-100 MHz	Freq 20-100 MHz		Onda mais intensa Freq 10-100 MHz
		225 MHz	Onda mais intensa Freq 20-100 MHz	Freq 20-100 MHz		Onda mais intensa Freq 20-100 MHz

Quando os filmes são excitadas a 532 nm com laser de 8 nanosegundos denota-se que quando as ondas são detectadas com transdutor de 100 MHz o filme de MnTPP atinge maior intensidade, enquanto que quando detetadas com transdutor de 225 MHz as ondas de maior intensidade são dos filmes de CNT (COOH e PDMS-A), Isto parece indicar que nas mesmas condições de excitação, os filmes de CNT dão origem a ondas PA mais ricas em altas frequências. Tal é aparentemente confirmado na Figura 15.

Já quando são excitadas com um laser de 30 picosegundos de duração de pulso as frequências são extremamente idênticas entre todos os filmes e para ambos os transdutores (100 MHz e 225 MHz), porém a intensidade de onda é superior para os filmes de CNT no transdutor de 100 MHz, e maior para a referência para o transdutor de 225 MHz. Isto parece indicar que existe mais ondas PA mais ricas em altas frequências para o material em referência.

Quando se passa para o estudo de um novo comprimento de onda, 1064 nm, os resultados passam a ser mais coerentes para os dois transdutores (100 MHz e 225 MHz).

Para o laser de 8 nanosegundos, a 1064 nm, tanto o transdutor de 100 MHz, como para o transdutor de 225 MHz deteta frequências maiores para os filmes de CNT, quando comparadas com as frequências da referência, isto porque, a referência a 1064 nm, o Epolight, não é uma referência acústica e por isso o valor de frequência é muito baixo para este tipo de filme.

Porém também se apercebe que os resultados a 1064 nm e a 532 nm são muito semelhantes. Isto indica-nos que as os materiais de CNT quando irradiados com a mesma fluência, variando apenas o comprimento de onda, produzem ondas fotoacústicas de igual frequência e amplitude.

Este mesmo resultado verifica-se quando compramos a amplitude e frequência das ondas fotoacústicas produzidas pelos filmes de CNT para o comprimento de 532 nm e 1064 nm para o transdutor de 225 MHz, indicando que os filmes de CNT convertem a luz em pressão tão bem a 1064 nm como a 532 nm.

Capítulo 4:

Conclusão

Conclusão

Ao longo deste estudo apercebeu-se que os materiais de CNT são uma boa alternativa aos materiais atualmente existentes, pois as ondas fotoacústicas produzida por eles tem características semelhantes às ondas produzidas pelos materiais de referência, sendo que os materiais de CNT funcionam tanto a 532 nm como a 1064nm, algo que não é conseguido por nenhum dos outros.

O aumento da distribuição de frequências, nomeadamente para frequências mais elevadas, das ondas fotoacústicas produzidas pelos materiais de CNT em relação à referência não foi conseguida, obtendo apenas em alguns casos esse aumento.

Como perspetivas futuras para este trabalho pretendemos tentar melhorar os materiais piezofotónicos de CNT, ou criar novos materiais usando diferentes compostos, para que consigamos aumentar, de forma mais clara, a frequência das ondas obtidas pela irradiação dos materiais.

Capítulo 5:

Bibliografía

Bibliografia

1. Sá GFF, Serpa C, Arnaut LG. Stratum corneum permeabilization with photoacoustic waves generated by piezophotonic materials. *J Control Release*. 2013;167(3):290-300. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jconrel.2013.02.005>.
2. Silva AD, Serpa C, Arnaut LG. Photoacoustic transfection of DNA encoding GFP. *Sci Rep*. 2019;9:1-10. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-37759-1>.
3. Sá GFF, Serpa C, Arnaut LG. Mechanisms of interaction between very high-frequency photoacoustic waves and the skin. *Proc Spie 8553, Opt Heal care Biomed Opt V*. 2012;8553:1-7.
4. Suslick KS. The Chemical Effects of Ultrasound. *Sci Am*. 1989;260(2):80-86. doi:10.1038/scientificamerican0289-80
5. Biscegli CI. Conceitos da Física do Ultra-Som. *Instrumentação Agropecuária*. 2003;1:19.
6. Beard P. Biomedical photoacoustic imaging. *Interface Focus*. 2011;1(4):602-631. doi:10.1098/rsfs.2011.0028
7. Franco AD, Pereira LE, Groschitz M, Aimbire F, Martins RÁBL, Carvalho RA. ANÁLISE DO EFEITO DO ULTRA-SOM NO EDEMA INFLAMATÓRIO AGUDO – ESTUDO EXPERIMENTAL Analysis of ultrasound effect in acute inflammatory. *Fisioter em Mov*. 2005;18(2):19-24.
8. Olsson DC, Tognoli GK, Martins VMV, Pippi NL, Mazzanti A. Therapeutic ultrasound in the tissue healing. *Cienc Rural*. 2008;38(4):1199-1207. doi:10.1590/S0103-84782008000400051
9. Neves W, Andressa P, Forlepa J, Carolina Brandt de A. EFEITO DA APLICAÇÃO DA MASSAGEM MODELADORA E ULTRASSOM NA REGIÃO ABDOMINAL EM MULHERES SEDENTÁRIAS Effects of modeling massage and ultrasound in the abdominal located fat in sedentary. 1984;11:128-138.
10. Ciena AP, Cunha NB, Moesch J, et al. Efeitos do ultrassom terapêutico em modelo experimental de ciatalgia. *Rev Bras Med do Esporte*. 2009;15(6):424-427.
11. J.C.A. Souza; G.E.S. Alves MALF. Clinic, ultrasonographic and histopatological studies of two protocols of ultrasonic therapy on experimental tendonitis in horses. *Arq Bras Med Vet e Zootec*. 2003;55(1):27-34. doi:10.1590/S0102-09352003000100005
12. Lenart I, Ausländer D. The effect of ultrasound on diffusion through membranes. *Ultrasonics*. 1980;18(5):216-218. doi:10.1016/0041-624X(80)90123-7
13. Lai J, Pittelkow MR. Physiological effects of ultrasound mist on fibroblasts. *Int J Dermatol*. 2007;46(6):587-593. doi:10.1111/j.1365-4632.2007.02914.x
14. Windows M, Corporation M, Hori K, Sakajiri A. *Lasers and Optics*. (Trager, ed.). Springer US; 2007.
15. Tanzi EL, Lupton JR, Alster TS. Lasers in dermatology : Four decades of progress. *J AM ACAD DERMATOL*. 2003;49:1-34. doi:10.1067/mjd.2003.582
16. Bhattacharya D, Singh RK, Holloway PH. Laser-target interactions during pulsed laser deposition of superconducting thin films. *J Appl Phys*. 1991;70(10):5433-5439. doi:10.1063/1.350201
17. J. Narayan RKS. Pulsed-laser evaporation technique for deposition of thin films: Physics and theoretical model. *Phys Rev B*. 1990;41(13):8843-8859.
18. Cheung J, Horwitz J. Pulsed Laser Deposition History and Laser-Target Interactions. *MRS Bull*. 1992;17(2):30-36. doi:10.1557/S0883769400040598
19. Von Gutfeld RJ, Melcher RL. 20-MHz acoustic waves from pulsed thermoelastic expansions of constrained surfaces. *Appl Phys Lett*. 1977;30(6):257-259. doi:10.1063/1.89375
20. Sigrist MW. Laser generation of acoustic waves in liquids and gases. *J Appl Phys*. 1986;60(7):83-121. doi:10.1063/1.337089
21. Zhigilei L V., Garrison BJ. Microscopic mechanisms of laser ablation of organic solids in the thermal and stress confinement irradiation regimes. *J Appl Phys*. 2000;88(3):1281-1298. doi:10.1063/1.373816
22. Oksanen M, Wu J. Prediction of the temporal shape of an ultrasonic pulse in a

- photoacoustic sensing application. *Ultrasonics*. 1994;32(1):43-46. doi:10.1016/0041-624X(94)90079-5
23. Piovesan E, Alberto Á, Marletta A. Influência na espessura nas propriedades de absorção e emissão e na morfologia de filmes automontados de POLI(P-Fenil vinileno). *Quim Nova*. 2006;29(5):916-921.
 24. Biagi E, Margheri F, Menichelli D. Efficient laser-ultrasound generation by using heavily absorbing films as targets. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control*. 2001;48(6):1669-1680. doi:10.1109/58.971720
 25. De Souza Filho AG, Fagan SB. Funcionalização de nanotubos de carbono. *Quim Nova*. 2007;30(7):1695-1703.
 26. Serpa C, Schabauer J, Piedade AP, et al. Photoacoustic Measurement of electron injection efficiencies and energies from excited sensitizer dyes into nanocrystalline TiO₂ films. *J Am Chem Soc*. 2008;130(Iii):8876-8877.
 27. Mallidi S, Emelianov S. Photoacoustic technique to measure beam profile of pulsed laser systems. *Rev Sci Instrum*. 2009;80(5). doi:10.1063/1.3125625
 28. Guarnetti L. Expansão térmica de nanotubos de carbono de duas camadas. *Aleph*. 2014.
 29. Wang ZL. Piezotronic and Piezophototronic Effects. *J Phys Chem Lett*. 2010;1(9):1388-1393. doi:10.1021/jz100330j

Capítulo 6:

Anexos

Anexos

Ficheiros de ondas fotoacústicas produzidas por cada filme para os diferentes comprimentos de onda e para os dois transdutores de 100 e 225 MHz

8 nanosegundos – 532nm – 100 MHz

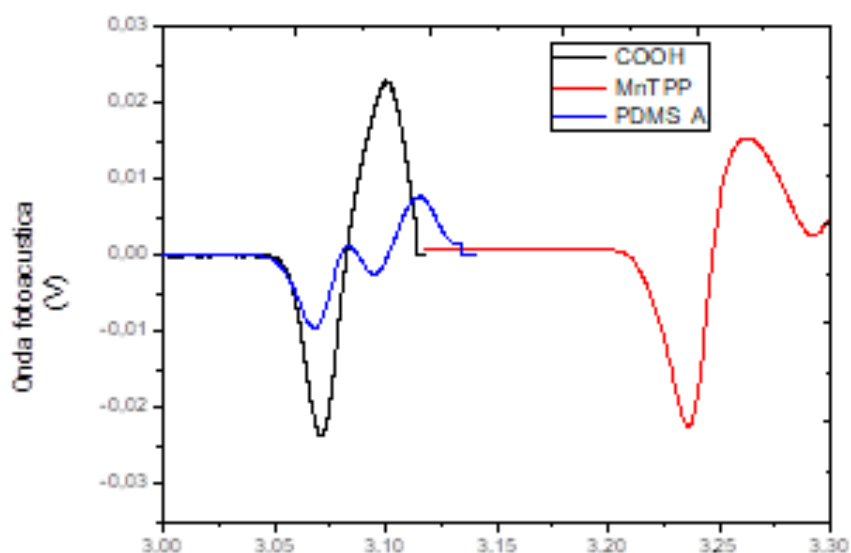


Figura A1: Ondas fotoacústicas produzidas por diferentes tipos de filmes quando excitadas a 532 nm com um laser de 8 nanosegundos de pulso e detetadas por um transdutor de 100 MHz

8 nanosegundos – 532 nm -225 MHz

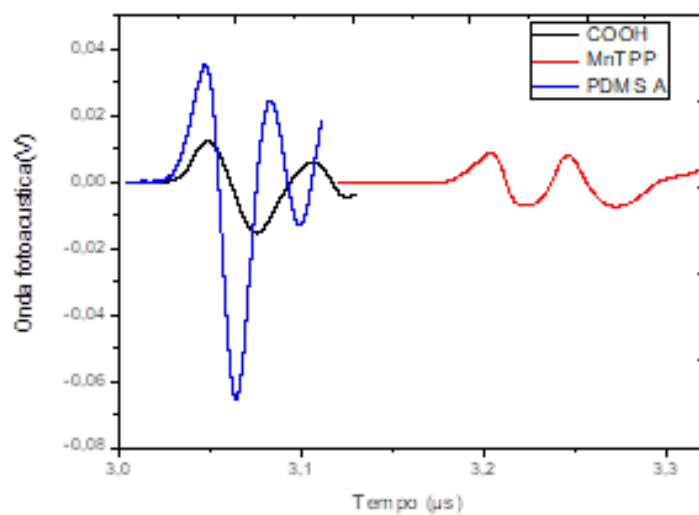


Figura A2: Ondas fotoacusticas produzidas por diferentes tipos de filmes quando excitadas a 532 nm com um laser de 8 nanosegundos de pulso e detetadas por um transdutor de 225 MHz

30 picosegundos- 532 nm- 100 MHz

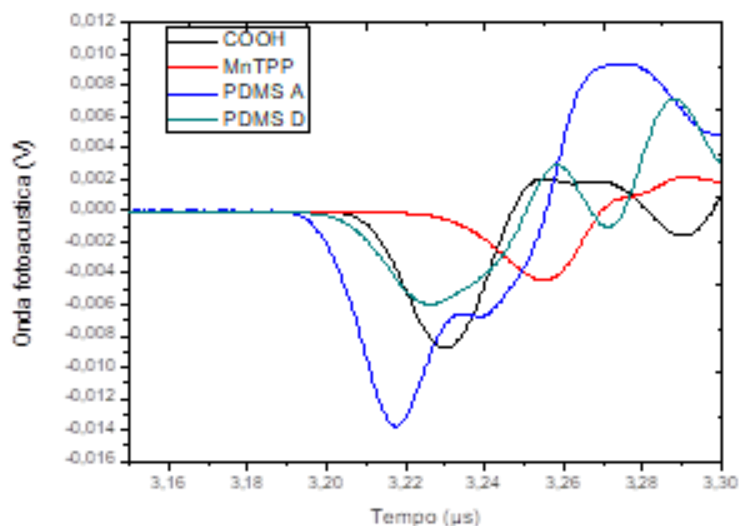


Figura A3: Ondas fotoacusticas produzidas por diferentes tipos de filmes quando excitadas a 532 nm com um laser de 30 picosegundos de pulso e detetadas por um transdutor de 100 MHz

8 nanosegundos – 1064 nm- 100 MHz

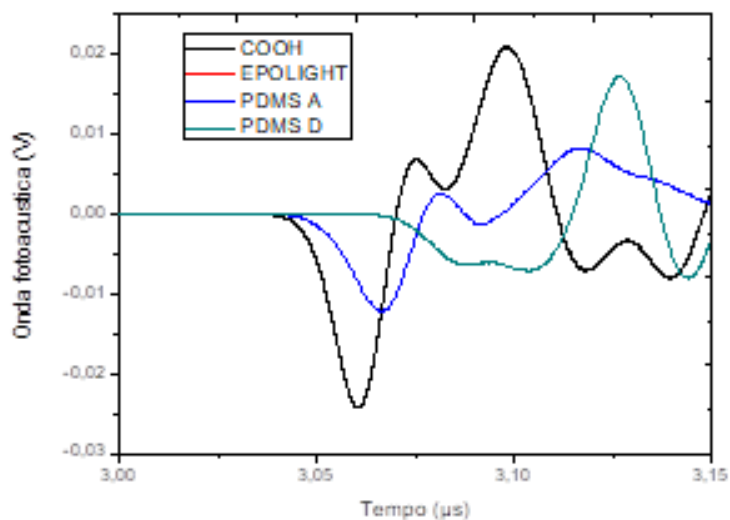


Figura A4: Ondas fotoacusticas produzidas por diferentes tipos de filmes quando excitadas a 1064 nm com um laser de 8 nanosegundos de pulso e detetadas por um transdutor de 100 MHz

8 nanosegundos – 1064 nm- 225 MHz

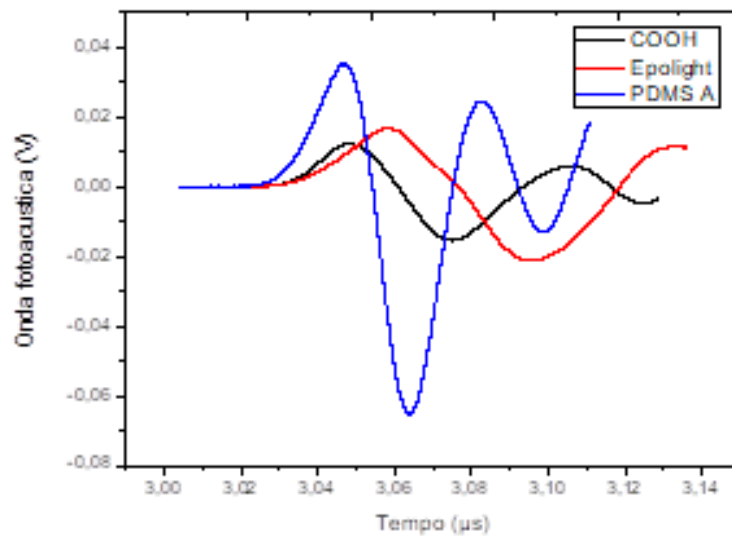


Figura A5: Ondas fotoacusticas produzidas por diferentes tipos de filmes quando excitadas a 1064 nm com um laser de 8 nanosegundos de pulso e detetadas por um transdutor de 225 MHz

30 picosegundos – 1064 nm- 100 MHz

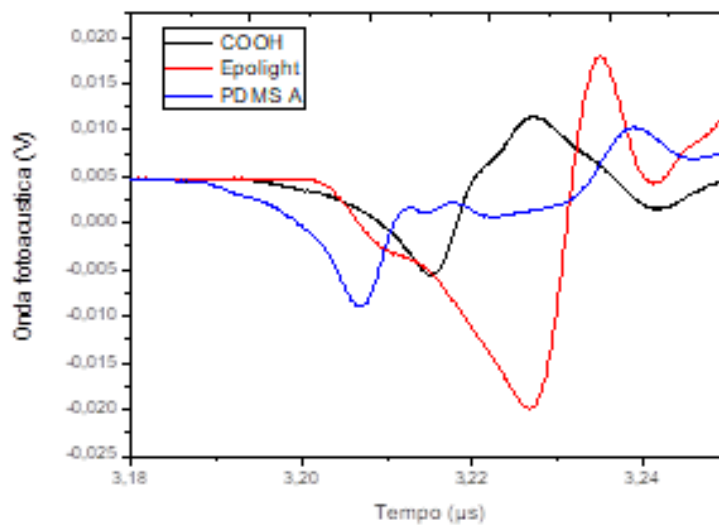


Figura A6: Ondas fotoacusticas produzidas por diferentes tipos de filmes quando excitadas a 1064 nm com um laser de 30 picosegundos de pulso e detetadas por um transdutor de 100 MHz

30 picosegundos – 1064 nm- 225 MHz

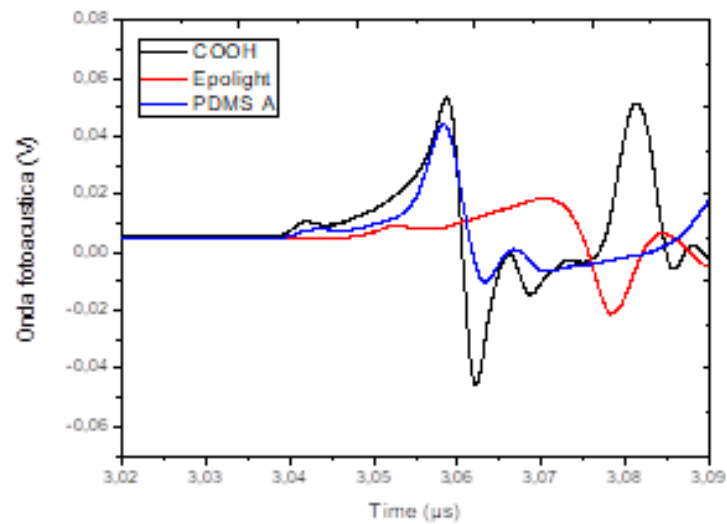


Figura A7: Ondas fotoacusticas produzidas por diferentes tipos de filmes quando excitadas a 1064 nm com um laser de 30 picosegundos de pulso e detetadas por um transdutor de 225 MHz