



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



INTERAÇÃO DE COMPLEXOS LUMINESCENTES COM SÍLICA MESOPOROSA

Juliana Jorge

Orientador: Prof. Dr. Marco Antonio Utrera Martines

Campo Grande – 2012



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



INTERAÇÃO DE COMPLEXOS LUMINESCENTES COM SÍLICA MESOPOROSA

Juliana Jorge

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química – Nível de Mestrado – da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul para obtenção do título de Mestre em Química (área de concentração: Físico-Química).

Orientador: Prof. Dr. Marco Antonio Utrera Martines

Campo Grande - 2012



CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO – NÍVEL DE MESTRADO EM QUÍMICA

**TERMO DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO
DE
JULIANA JORGE**

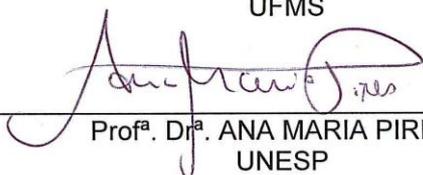
INTERAÇÃO DE COMPLEXOS LUMINESCENTES EM SÍLICA MESOPOROSA

Dissertação de Mestrado em Química submetida à Comissão Examinadora designada pelo Colegiado do Curso de Pós-Graduação – Nível de Mestrado em Química (**Resolução nº 4/2012**) da Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Mestre em Química.

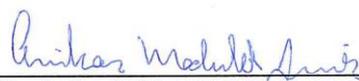
Aprovada com revisão pelos professores doutores:



Prof. Dr. MARCO ANTONIO UTRERA MARTINES
Orientador e Presidente da Comissão Examinadora
UFMS



Prof.^a. Dr.^a. ANA MARIA PIRES
UNESP



Prof. Dr. AMILCAR MACHULEK JUNIOR
UFMS

Campo Grande, 24 de fevereiro de 2012.

"Less is more"

Ludwig Mies van der Rohe

Dedicada a meus pais (Hélio e Vilma) que me permitiram ir além.

AGRADECIMENTOS

Pode parecer praxe ou, até mesmo, uma “frase feita”, como costumam me dizer, mas é impossível colocar em tão poucas linhas os nomes de todas as pessoas que participaram, mesmo que indiretamente, deste trabalho. Mas, tentarei da melhor forma possível:

ao Prof. Dr. Marco Antonio Utrera Martines, acima de tudo pela sua confiança em mim e pela inestimável contribuição ao meu crescimento pessoal e profissional, ao longo de todos esses anos de orientação;

a todos os colegas do LP6, em especial aos membros do grupo de pesquisa em que faço parte, Química de Superfície e Moléculas Bioativas;

ao Prof. Dr. Marc Verelst, pelo convite de estágio, por todo o suporte e acompanhamento que me prestou durante meu estágio no CEMES e durante minha estadia em Toulouse;

a todas as pessoas do laboratório *NanoMatériaux* pela assistência e apoio, especialmente Séverine Lechevallier, Semiyou Osseni, Prof. Dr. Robert Mauricot e Dra. Jeannette Dexpert-Ghys;

à David Neumayer, Nicolas Ratel-Ramond e Laure Noé, pelas medidas de SEM, BET, SAXS e TEM, respectivamente;

a todas as pessoas que fazem parte do CEMES, em Toulouse, por fazer deste lugar um ambiente agradável para a convivência e propício ao trabalho e estudos;

ao Prof. Dr. Gustavo Rocha de Castro, pela sempre disposta colaboração;

ao LNLS e LME-LNLS, em Campinas, pela caracterização das amostras por SAXS e SEM-FEG;

aos secretários da Pós-Graduação em Química, Sr. Celestino e Sr. Ademar;

aos novos amigos que vieram com esse Mestrado, pela amizade e convivência prazerosa;

à Maíra M. Esselin, pela presença especial, por ser o braço direito e, às vezes, também o esquerdo (poderia dizer até mais);

aos velhos amigos da época de Graduação, ainda que estejamos longe somos aquela mesma família que conviveu alegremente por 5 maravilhosos anos (saudades de todos);

à Larissa S. Mendes, pelas discussões sobre o trabalho, apoio e motivação constante, (ainda bem que existe o Skype, não Lari?);

à minha família, meus pais e minha irmã, por seu amor e apoio incondicional à carreira que resolvi seguir;

a Deus pelas bênçãos constantes em minha vida;

e ao CNPq, ao fim, mas não menos importante, pelo apoio financeiro e a bolsa de Mestrado.

RESUMO

Biomarcadores, ou marcadores biológicos, são moléculas que podem ser medidas experimentalmente e indicam a ocorrência de um determinado processo em um organismo. São instrumentos que possibilitam identificar a substância tóxica ou uma condição adversa antes que sejam evidenciados danos à saúde. Materiais mesoporosos, são denominados assim devido ao seu tamanho de poros, que se encontra entre 2 e 50 nm. A sílica mesoporosa apresenta características que a torna uma boa matriz hospedeira de moléculas e biomoléculas, e que fazem dela um material promissor para inúmeras aplicações seja em catálise, adsorção de metais pesados para descontaminação ambiental, liberação controlada de medicamentos, materiais para regeneração óssea e de tecidos, e no desenvolvimento de biomarcadores, entre outras inúmeras aplicações. Para a construção de um biomarcador baseado em sílica mesoporosa, é preciso ligar um composto luminescente dentro dos poros desse material, assim, no âmbito dos compostos luminescentes existentes, os mais promissores são os complexos de íons lantanídeos, que apresentam linhas pontuais de emissão e absorção da luminescência, entre outras propriedades. Os objetivos desse trabalho é contribuir para o desenvolvimento de novas sondas luminescentes para aplicações biológicas, por meio de síntese de matrizes sólidas de partículas de sílica mesoporosa e o aperfeiçoamento de suas propriedades luminescentes para que sejam aplicadas em biomarcadores. Para as micropartículas, são notados deslocamentos nas bandas de excitação e de emissão da luminescência quando se modifica a superfície destas; micropartículas luminescentes podem ser sintetizadas sem perda da propriedade óptica do íon, importante aspecto para aplicação como biomarcadores. As nanopartículas aparentam pouca aglomeração; a superfície porosa diminui com a dopagem com Eu^{3+} ; as nanopartículas obtidas apresentam bom potencial para aplicação como biomarcadores.

Palavras-chave: sílica mesoporosa; micropartículas; nanopartículas; fotoluminescência; lantanídeos.

ABSTRACT

Biomarkers are molecules that may be measure experimentally and indicate the event of process determined in organism. Are instruments to identify the toxic substance or adverse condition before health's damages. Mesopores, this technical term is applied to porous with diameter size between micro and macro scale, range from 2 to 50 nm. Mesoporous silica is an excellent matrix host for molecules and biomolecules, that make this material very promising for several applications in industry scale, chemical engineering, environmental, medicine and biology; for example, catalysis; adsorption of heavy metals (environmental decontamination); drug delivery; materials for bone regeneration and tissue; self-diagnostic kits; and developing of biomarkers. In order to build a biomarker using mesoporous silica, a luminescent complex attached inside its porous is needed, in that way as interesting alternative for the biomarkers in use today; the lanthanide ions complex could be hosted. They are interesting luminescent centers due to their photostability and to several peculiar emission characteristics, such as narrow lines; large Stokes' shifts; long decay times. The goals of this work is to contribute for the development of news luminescent probes for biological applications, by means of synthesis of solid matrix of mesoporous silica and of improvement the luminescent properties for utilization as biomarkers. For microparticles, are noted shifts on excitation and emission bands when the surface are modified; luminescent microparticles may be synthesized without lost of optical properties of the ion, a important aspect for utilization as biomarkers. The nanoparticles shows few agglomeration; the porous surface decrease with Eu^{3+} doped; and also display good potential for utilization as biomarkers.

Keywords: mesoporous silica; microparticles; nanoparticles; photoluminescence; lanthanide.

ÍNDICE

Prólogo	xvi
Introdução	01
Estado da arte.....	02
A sílica mesoporosa e suas aplicações	04
Biocompatibilidade e atoxicidade	11
Os Biomarcadores	15
Os diferentes tipos de marcadores luminescentes	17
Terras-raras	21
A Funcionalização	25
Por que o tamanho é importante?	27
Técnicas utilizadas para caracterização das amostras	29
Objetivos	34
Capítulo 1.....	35
O Térbio	36
Metodologia	39
Resultados e Discussão	42
Conclusões	53
Capítulo 2	54
O Európio	55
Metodologia	58
Resultados e Discussão	65
Conclusões	87

Conclusões gerais	88
Referências bibliográficas	89

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Interações entre as espécies inorgânicas e os grupos “cabeças” do surfactante considerando as possíveis vias de síntese em meio ácido, básico, neutro, e eletrostáticas: S^+I^- , S^+XI^+ , $S^-M^+I^-$, S^-I^+ ; e, através de ligações de hidrogênio: S^0I^0/N^0I^0 , $S^0(XI)^{[14]}$	06
Figura 2. Formação de materiais mesoporosos por agentes direcionadores de estruturas: (a) mecanismo de molde por cristal-líquido verdadeiro; (b) mecanismo de molde por cristal-líquido cooperativo ^[14]	08
Figura 3. Estruturas dos materiais mesoporosos: a) MCM-41 (hexagonal 2D, grupo espacial $p6mm$), b) MCM-48 (cúbico, grupo espacial $la3d$) e c) MCM-50 (lamelar, grupo espacial $p2$) ^[14]	09
Figura 4. Suspensões de pontos quânticos de CdSe de diferentes diâmetros. Do menor (esquerda) ao maior diâmetro ^[30]	18
Figura 5. Corantes orgânicos fluorescentes, “cascade blue”, SAB (azul brilhante), fluoresceína, Rodamina WT, e Cy3 amidita (da esquerda para a direita) ^[32]	19
Figura 6. Complexos luminescentes de Eu^{3+} , Tb^{3+} , Dy^{3+} e Sm^{3+} ^[33]	20
Figura 7. Espectros de luminescência de alguns lantanídeos ^[35]	22
Figura 8. Representação da molécula de APTES.....	26
Figura 9. Representação da molécula de GPTMS.....	26
Figura 10. Os cinco tipos de isotermas Segundo a classificação de Brunauer ^[43]	32
Figura 11. Diagrama de energia para o íon Tb^{3+} . Modificado de ^[46]	38
Figura 12. Esquema de formação de sílica do tipo MSU-X.....	39
Figura 13. Imagem da sílica pura lavada.....	43
Figura 14. Histograma do diâmetro de partículas pelo número de partículas contadas... ..	43
Figura 15. Isoterma de adsorção-dessorção da sílica mesoporosa lavada, com distribuição do tamanho de poros inserido.....	44

Figura 16. Isoterma de adsorção-dessorção da sílica mesoporosa calcinada, com distribuição do tamanho de poros inserido.....	45
Figura 17. Isoterma de adsorção-dessorção da sílica mesoporosa funcionalizada com APTES, com distribuição do tamanho de poros inserido.....	45
Figura 18. Isoterma de adsorção-dessorção da sílica mesoporosa funcionalizada com GPTMS, com distribuição do tamanho de poros inserido.....	46
Figura 19. Espectros da sílica lavada, calcinada, funcionalizada com APTES e funcionalizada com GPTMS.....	47
Figura 20. Espectros de excitação, $\lambda_{em} = 543$ nm, das sílicas lavada, calcinada, funcionalizada com APTES, e funcionalizada com GPTMS, impregnadas com Tb^{3+} -ácido L-glutâmico.....	48
Figura 21. Espectros de emissão, $\lambda_{exc} = 377$ nm das sílicas lavada, calcinada, funcionalizada com APTES, e funcionalizada com GPTMS, impregnadas com Tb^{3+} -ácido L-glutâmico.....	49
Figura 22. Curvas de decaimento de transição para a luminescência do íon Tb^{3+} (transição $^5D_4 \rightarrow ^7F_5$) nas matrizes de sílica calcinada e lavada. Os espectros foram adquiridos pela emissão a 543 nm e excitação a 377 nm.....	51
Figura 23. Curvas de decaimento de transição para a luminescência do íon Tb^{3+} (transição $^5D_4 \rightarrow ^7F_5$) nas matrizes de sílica funcionalizada com APTES e funcionalizada com GPTMS. Os espectros foram adquiridos pela emissão a 543 nm e excitação a 377 nm.....	52
Figura 24. Diagrama de energia para o íon Eu^{3+} . Modificado de ^[3]	56
Figura 25. Esquema do modelo de sistema reacional para síntese de sílica mesoporosa (esquerda), e foto do sistema no laboratório (direita).....	59
Figura 26. Esquema de formação de sílica do tipo MCM-41, JJ3.....	61
Figura 27. Esquema de formação de sílica do tipo MCM-41, JJ5.....	62
Figura 28. Estrutura molecular da 1,10 – fenantrolina.....	63
Figura 29. Microscopia eletrônica de varredura da amostra JJ3.....	65

Figura 30. Histograma do diâmetro de partículas pelo número de partículas.....	66
Figura 31. Microscopia eletrônica de varredura com FEG da amostra JJ3.....	66
Figura 32. Microscopia eletrônica de varredura da amostra JJ12.....	67
Figura 33. Microscopia eletrônica de varredura com FEG da amostra JJ12.....	67
Figura 34. Microscopia eletrônica de varredura (SEM-FEG) da amostra JJ122.....	68
Figura 35. Microscopia eletrônica de varredura da amostra JJ5.....	69
Figura 36. Histograma do diâmetro de partículas pelo numero de partículas.....	69
Figura 37. Microscopia eletrônica de varredura com FEG da amostra JJ5.....	70
Figura 38. Microscopia eletrônica de varredura da amostra JJ13.....	71
Figura 39. Histograma do diâmetro de partículas pelo número de partículas.....	71
Figura 40. Microscopia eletrônica de varredura com FEG da amostra JJ13.....	72
Figura 41. Microscopia eletrônica de varredura (SEM-FEG) da amostra JJ131.....	72
Figura 42. Espectros de SAXS das amostras JJ3, JJ12 e JJ122.....	73
Figura 43. Espectro de SAXS da amostra JJ5.....	74
Figura 44. Espectros de SAXS das amostras JJ13 e JJ131.....	75
Figura 45. Microscopia eletrônica de transmissão de JJ3.....	76
Figura 46. Microscopia eletrônica de transmissão de JJ5.....	77
Figura 47. Microscopia eletrônica de transmissão de JJ12.....	78
Figura 48. Microscopia eletrônica de transmissão de JJ133-2.....	79
Figura 49. Isoterma de adsorção/dessorção (BET) e distribuição do diâmetro de poros da amostra JJ3.....	80
Figura 50. Isoterma de adsorção/dessorção (BET) e distribuição do diâmetro de poros da amostra JJ12.....	80
Figura 51. Isoterma de adsorção/dessorção (BET) e distribuição do diâmetro de poros	81

da amostra JJ5.....	
Figura 52. Isoterma de adsorção/dessorção (BET) e distribuição do diâmetro de poros da amostra JJ13.....	82
Figura 53. Espectros de Excitação, $\lambda_{em} = 612$ nm, das amostras JJ12 e JJ122.....	83
Figura 54. Espectros de Emissão das amostras JJ12 ($\lambda_{exc} = 394$ nm) e JJ122 ($\lambda_{exc} = 328,5$ nm)...	84
Figura 55. Espectros de Excitação, $\lambda_{em} = 612$ nm, das amostras JJ13 e JJ134.....	85
Figura 56. Espectros de Emissão das amostras JJ13 ($\lambda_{exc} = 395$ nm) e JJ143 ($\lambda_{exc} = 331$ nm)....	86

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Visão geral dos materiais baseados em sílica e suas propriedades relevantes. Adaptado de ^[26]	28
Tabela 2. Valores dos tamanhos de poros das medidas de porosidade, picos de difração (d_1 1 0 0) de SAXS, e espessura estimada da parede.....	48
Tabela 3. Todos os tempos de vida da luminescência em cada comprimento de onda medido.....	50
Tabela 4. Nomenclatura e descrição das amostras.....	58
Tabela 5. Nomes, Descrição e Rendimento total de cada amostra preparada.....	60
Tabela 6. Resumo dos principais resultados após caracterização por SEM, SAXS e medidas de porosidade.....	82

PRÓLOGO

Esta Dissertação está organizada da seguinte maneira, na Introdução, são apresentados vários tópicos onde é discutido o estado da arte para os objetivos deste trabalho, um apanhado geral sobre a matriz utilizada, a sílica mesoporosa, uma discussão sobre as questões de biocompatibilidade e toxicidade da sílica, uma definição bem abrangente do que são os biomarcadores, também contém uma apresentação sobre os diferentes tipos de marcadores luminescentes utilizados atualmente, sobre os íons “terras-raras”, a importância e, o que é a funcionalização da sílica, contém também uma discussão sobre a importância do tamanho da partícula em aplicações biológicas, e finalmente, são apresentadas as técnicas utilizadas para a caracterização dos materiais obtidos, finalizando a Introdução. Todos os tópicos apresentados e discutidos nesta Introdução estão baseados em dados da literatura obtidos após exaustiva revisão bibliográfica.

A metodologia está dividida em duas partes. A primeira parte se refere à obtenção de micropartículas de sílica mesoporosa; este trabalho foi realizado no primeiro semestre deste Mestrado. A caracterização destes materiais foi realizada pelas técnicas de microscopia eletrônica de varredura (SEM), espalhamento de raios X a baixo ângulo (SAXS), medidas de porosidade e espectroscopia de excitação e de emissão da luminescência.

A segunda parte deste trabalho foi realizada durante período de estágio em Toulouse, no *Centre d'Elaboration de Matériaux et d'Etudes Structurales* (CEMES). Duas metodologias foram escolhidas após pré-caracterização por apresentarem o tamanho e a morfologia de partículas mais próximas do esperado, na ordem de nanômetros. A caracterização destes materiais foi realizada pelas técnicas de SEM, SAXS, medidas de porosidade, microscopia eletrônica de transmissão (TEM) e espectroscopia de excitação e de emissão de luminescência.

INTRODUÇÃO

Estado da arte

Para entender melhor a estrutura e função dos sistemas biológicos, os biólogos e bioquímicos necessitam de métodos que perturbem minimamente os sistemas vivos^[1], o que constitui um grande desafio a essa área de pesquisa. O desenvolvimento de sondas ópticas emissivas e não invasivas é essencial para o melhoramento da observação dos processos de sinalização e reconhecimento celular^[2]. Após a excitação da sonda luminescente, os fótons emitidos e detectados pelas técnicas de espectroscopia ou microscopia fornecem informações do ambiente em que estão, em função do ambiente químico, da energia, do tempo de vida e da polarização. Tais sondas ópticas podem ser baseadas em fluoróforos orgânicos, pontos quânticos, proteínas recombinantes ou complexos de metais emissivos^[1].

A maioria das sondas ópticas é baseada em fluoróforos e têm sido desenvolvidas para monitorar mudanças locais no pH, ou no pM (M = Ca, Mg ou Zn, em sua maior parte), ou para analisar o ambiente físico fornecendo informações sobre fluidez, polaridade ou geometria da célula. A maioria das sondas ópticas pode ser considerada como um ponto celular que localiza organelas particulares ou locais sub-celulares. A luminescência destes pontos fornece informações estruturais e sobre a disposição da célula. Estes parâmetros são independentes da concentração da sonda e evitam problemas associados com medidas de intensidade de emissão. Isto inclui perturbações induzidas por mudanças na concentração local da sonda, no pH, temperatura, espalhamento de luz ou dimensão do fotobranqueamento ou supressão local^[2].

Reconhecer organelas-alvo específicas ainda é o principal desafio na biologia e na medicina. Muitas mudanças características na composição celular dentro de uma dada organela ainda não foram descobertas, porque não há sondas capazes de registrar estas mudanças seletivamente^[2].

Complexos metálicos luminescentes têm surgido como sondas alternativas aos corantes orgânicos e proteínas recombinantes fluorescentes, e entre eles, os complexos de lantanídeos luminescentes (Ln^{3+}), para o qual um grande número e uma ampla escala de sistemas sensíveis têm sido definidos^[2], dadas as suas características únicas que são vantajosas em seu uso como sondas luminescentes tais como, linhas pontuais de emissão e absorção, alto rendimento quântico, tempo de vida da fluorescência e

fotoestabilidade longos. Em particular, os lantanídeos são conhecidos por exibir propriedades eficientes dos processos de conversão descendente e ascendente de energia^[3].

A sílica mesoporosa e suas aplicações

Em 1992, uma nova classe de materiais foi descoberta pelos pesquisadores da Mobil Research and Development Corporation^[4,5]. Surgiam então os materiais cristalinos mesoporosos^[4,5,6,7]; na verdade, a primeira síntese desses materiais foi relatada na literatura já em 1969, mas devido à falta de análise destes novos materiais, a descoberta não foi reconhecida^[8,9]. E logo essa descoberta despertou o interesse dos cientistas que trabalhavam nas áreas de síntese de zeólitas e materiais relacionados, catálise, e ciências dos materiais^[10,11]. Estas duas publicações despertaram um interesse incomum para a pesquisa ao longo dos últimos anos. Na síntese original, uma fonte molecular ou coloidal de sílica, um surfactante catiônico e básico, e condições hidrotermais foram utilizadas^[12]. Desde então, mais de 4000 estudos^[12] a respeito de sua formação e propriedades foram publicados, devido a seu forte potencial para aplicações no campo da adsorção, separação^[13,14], catálise e materiais avançados^[14,15,16].

O sistema de tamanho de poros para materiais nanoporosos estabelece-se entre 1 e 1000 nm (1000 nm = 1 μ m). De acordo com a IUPAC, três categorias podem ser obtidas a partir dessa escala^[12]:

- **Materiais microporosos:** poros com 0 a 2 nm;
- **Materiais mesoporosos:** poros com 2 a 50 nm;
- **Materiais macroporosos:** poros com mais de 50 nm.

A ordem não é uma regra para todos estes tipos de materiais, que podem ter sistemas randômicos de organização de poros^[12]. No campo dos materiais mesoporosos, em particular, o equívoco ocorre às vezes por se confundir materiais mesoporosos com materiais ordenados^[12]. Em muitos casos um material pode possuir mais de um tipo de porosidade. Que pode ser:

- **Em materiais microporosos:** uma meso ou macroporosidade causada pelo empacotamento randômico das partículas;
- **Em materiais mesoporosos:** uma macroporosidade adicional causada por empacotamento randômico de partículas, ou uma microporosidade adicional na rede contínua;
- **Em materiais macroporosos:** uma meso e microporosidade adicionais.

Estes fatores podem ser levados em consideração quando os materiais são classificados de acordo com sua homogeneidade. Um material que possui apenas um tipo de poro, mesmo quando os poros são desordenados, pode ser mais homogêneo do que tendo apenas uma fração de poros bem ordenados^[12].

Materiais mesoporosos são caracterizados por uma etapa conhecida como condensação capilar e uma histerese (a diferença entre a adsorção e a dessorção)^[12].

Podemos, portanto, desenvolver três principais critérios:

- Tamanho de poros;
- Tipo de rede de material;
- Estado de ordem: materiais ordenados ou desordenados^[12].

Isto faz dos materiais mesoporosos ordenados de sílica um campo de pesquisa muito ativo^[12].

Sua síntese está baseada no uso de micelas de surfactante que agem como moldes para a policondensação da sílica. De acordo com a natureza do surfactante e do pH do meio de síntese, três principais tipos de interações estão envolvidas. Em meio alcalino, Figura 1 (a), onde as espécies de silício possuem cargas negativas (I^-), as interações com surfactante catiônico S^+ são eletrostáticas (S^+I^-). Em meio ácido, a interação entre a sílica e o surfactante é mediada por ânions X^- , descrita por $S^+X^-I^-$ (Figura 1 (b)). Há ainda, as interações nas quais um mediador é adicionado à reação (M^+) para assegurar as interações entre as espécies com cargas igualmente negativas ($S^-M^+I^-$), Figura 1 (c). De volta, em meio ácido, a interação entre a sílica e o surfactante pode ser descrita por S^-I^- (Figura 1 (d)), onde o surfactante S ou é um surfactante catiônico (S^+) ou um surfactante não-iônico baseado em óxido de polietileno S^0 (H_3O^+) com átomos de oxigênio etoxi ligados a H_3O^+ . Surfactantes não-iônicos (S^0), usados em meio neutro, permitem ligações de hidrogênio e interações de van der Waals (S^0I^0), Figura 1 (e) e (f). As diferentes estruturas que são formadas dependem da geometria molecular do surfactante, modulada pela concentração, temperatura e pH, e da presença de co-surfactantes e outros produtos químicos como sais ou moléculas orgânicas^[14,17].

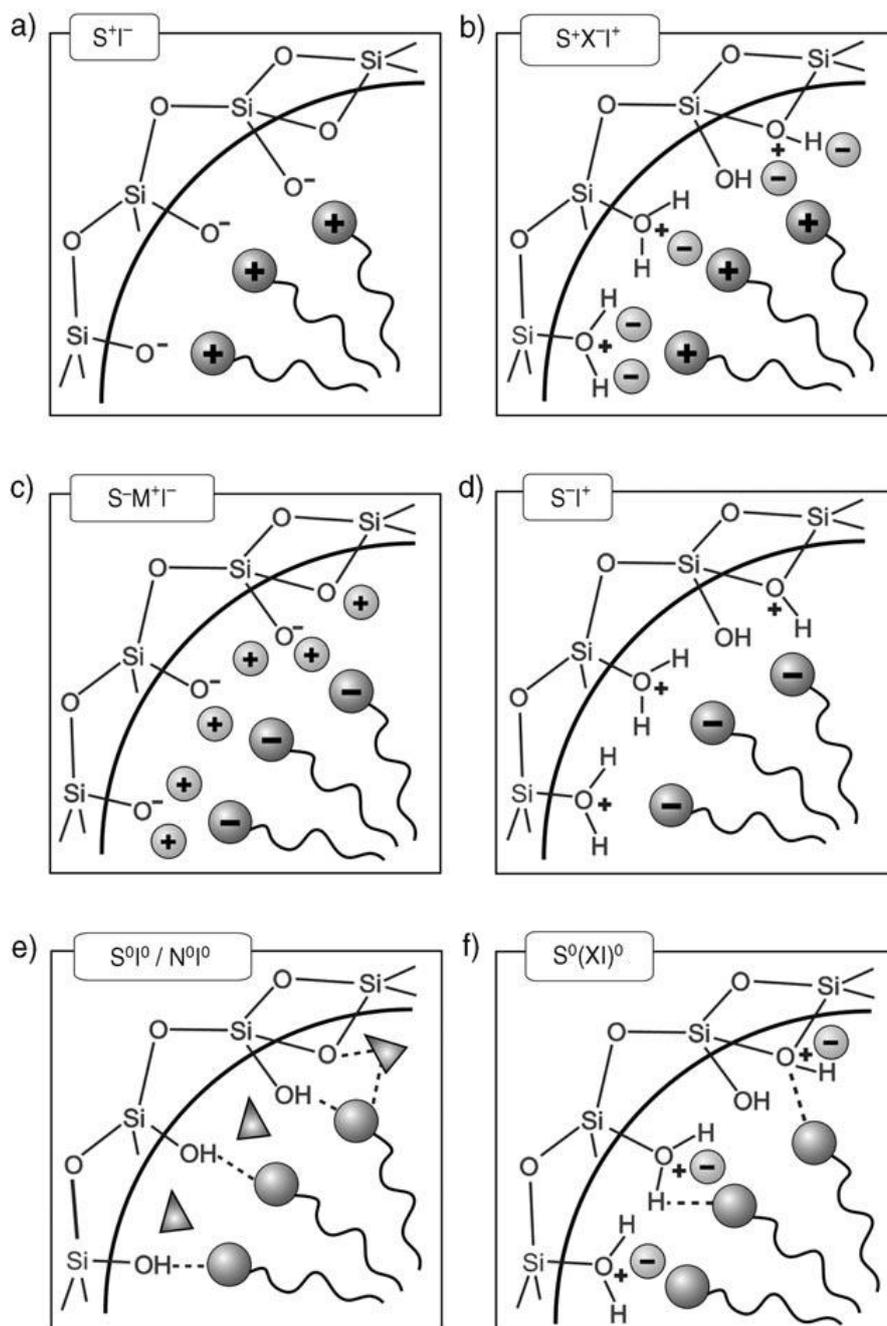


Figura 1. Interações entre as espécies inorgânicas e os grupos “cabeças” do surfactante considerando as possíveis vias de síntese em meio ácido, básico, neutro e eletrostáticas: S^+I^- , S^+XI^- , $S^+M^+I^-$, S^+I^- ; e, através de ligações de hidrogênio: S^0I^0/N^0I^0 , $S^0(XI)^0$, retirada de ^[17].

Como mencionado anteriormente, o mecanismo de formação de materiais mesoporosos^[18], a partir de TEOS (tetraetoxissilano), CTAB (brometo de cetilmetilamônio) e água, envolve um mecanismo cooperativo em que as interações eletrostáticas entre os íons inorgânicos e as moléculas de surfactante determinam a

mesofase obtida. Este processo envolve basicamente três etapas (Figura 2a): A primeira etapa, governada pelas interações eletrostáticas, é a formação de pares de íons entre as espécies inorgânicas policarregadas e polidentadas de um lado e surfactante de outro lado. Os pares de íons organizam-se em uma mesofase, sendo que a maioria possui uma estrutura cristal-líquido, por exemplo, hexagonal, lamelar, ou cúbica. A estrutura da mesofase depende da composição da mistura, do pH e da temperatura. A última etapa é a condensação das espécies inorgânicas que resulta em uma estrutura rígida. Na presença de surfactantes neutros, as ligações de hidrogênio, no lugar das interações eletrostáticas, tornam-se de importância crucial para a formação da mesofase orgânica/inorgânica^[18].

Os tamanhos de poros (ou distâncias intercamadas) dos materiais mesoporosos são facilmente ajustáveis no intervalo de aproximadamente 2 a 10 nm. O tamanho de poros pode ser controlado por três diferentes caminhos: (i) pela mudança no comprimento da cadeia alquila da molécula de surfactante, (ii) pela adição de moléculas espaçadoras como o 1,3,5-trimetilbenzeno que se dissolve numa região hidrofóbica das micelas, deste modo, aumentam o seu tamanho, ou (iii) pelo envelhecimento do material preparado a baixa temperatura (por exemplo 70°C) em seu sobrenadante a temperatura maior (por exemplo 150°C) por diferentes períodos de tempo. Além disso, o tamanho de poros de silicatos pode ser ajustado pela silanização pós-síntese. A calcinação desta fase estável (silicato + surfactante) proporciona materiais com área de superfície extremamente alta, frequentemente excedendo 1000 m².g⁻¹. Além disso, estes materiais podem ser facilmente modificados pela incorporação de diferentes cátions, tornando-os com propriedades ácida ou redox^[19].

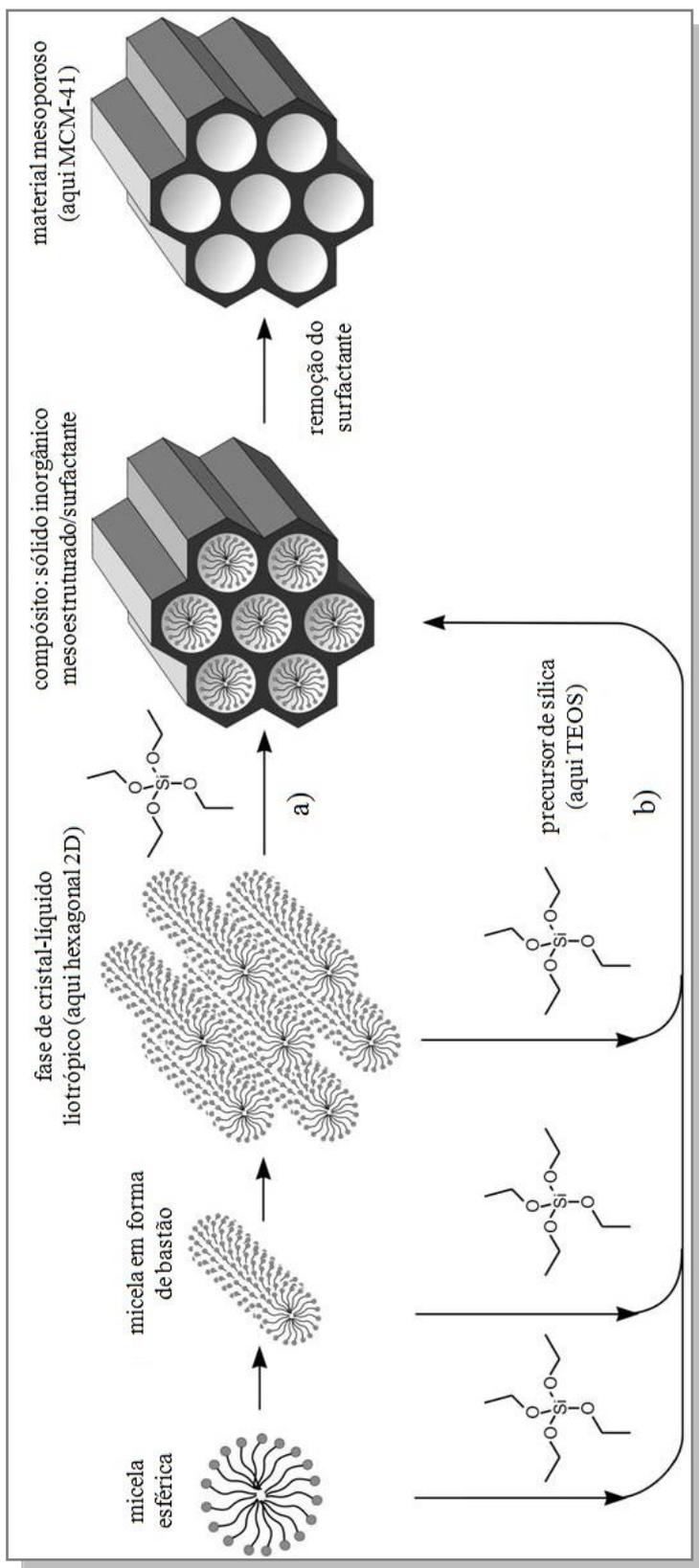


Figura 2. Formação de materiais mesoporosos por agentes direcionadores de estruturas: (a) mecanismo de molde por cristal-líquido verdadeiro; (b) mecanismo de molde por cristal-líquido cooperativo. Modificada de [17].

Ainda de acordo com a natureza e o tipo de surfactante, é possível obter tipos de estruturas onde os materiais, pertencentes à família M41S, apresentam arranjo hexagonal de poros unidimensionais (MCM-41), arranjo tridimensional de poros cúbico (MCM-48) e estrutura lamelar (MCM-50). A Figura 3 representa um esquema destes arranjos.

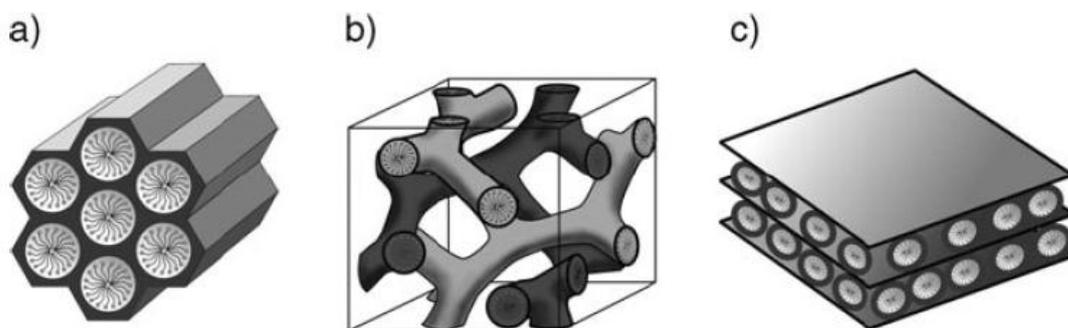


Figura 3. Estruturas dos materiais mesoporosos: a) MCM-41 (hexagonal 2D, grupo espacial $p6mm$), b) MCM-48 (cúbico, grupo espacial $Ia3d$) e c) MCM-50 (lamelar, grupo espacial $p2$)^[17].

A sílica mesoporosa é um típico polímero inorgânico que apresenta grupos siloxanos, Si-O-Si, em seu interior e uma vasta população de grupos silanóis, Si-OH, cobrindo toda a sua superfície. Os grupos silanóis apresentam um comportamento do tipo ácido de Brönsted e, como são os responsáveis pela reatividade da superfície da sílica^[20,21], é desejável que os grupos silanóis estejam livres de possíveis interações antes de efetuar quaisquer reações^[22].

A presença destes grupos silanóis livres permite a este material a interação e reatividade com inúmeros tipos de moléculas, e é o que o torna um material potencial para inúmeras aplicações em várias áreas de estudo e conhecimento, seja em indústrias, na engenharia química, ambiental, nas áreas médica e biológica. A possibilidade de ligar biomoléculas aos grupos silanóis da sílica mesoporosa possibilita seu uso como biomarcador em diagnósticos médicos por imagem, imunoenaios, diagnósticos de doenças como câncer, por exemplo.

Nanopartículas de sílica mesoporosa não possuem somente algumas propriedades comuns como a fácil multifuncionalização, mas também várias características únicas tais como alta área de superfície específica, grande volume de poros, poros de estruturas reguláveis, e excelente estabilidade físico-química,

comparadas à sílica-gel comercial. Assim, estudos de aplicação das nanopartículas de sílica mesoporosas no campo biomédico têm atraído grande atenção. As nanopartículas têm sido intensivamente sugeridas para liberação controlada de drogas, sondagem de biossinais, transporte e expressão de genes, biomarcação e muitas outras importantes bioaplicações. Consequentemente, como é uma espécie excelente de biocarregador, seus potenciais bioefeitos, em relação à citotoxicidade, biodistribuição, biorretenção, biodegradação, biocompatibilidade e hemólise, tem também chamado muita atenção^[23].

Um dos muitos materiais nanoporosos disponíveis, cobrindo um espectro de tamanho de poros que vai de 0,5 a 500 nm, aqueles de mesoescala (2-50 nm), são de particular interesse em biotecnologia devido à larga proporção de biomoléculas que estão dentro deste alcance de tamanho.^[24]

De fato, há uma hipótese comum de que o tamanho pequeno das nanopartículas permite que elas entrem e atravessem facilmente os tecidos, células e organelas uma vez que o tamanho atual usado na bioengenharia de nanopartículas é similar ao de muitas moléculas biológicas (por exemplo, proteínas) e estruturas (como, vírus). Entretanto, as nanopartículas não podem cruzar livremente ou indiscriminadamente todas as barreiras biológicas, mas estes processos podem, em vez disso, ser governados por propriedades físico-químicas específicas das próprias nanopartículas, bem como, de moléculas funcionais aderidas em suas superfícies^[25].

Biocompatibilidade e atoxicidade

A sílica, ou dióxido de silício (SiO_2) está, sob muitas formas, abundantemente presente em nosso ambiente natural. Os efeitos adversos à saúde, incluindo câncer de pulmão, de ocorrência natural devido à exposição a sílicas cristalinas, como o quartzo e a cristobalita, foram exaustivamente documentadas em ambientes ocupacionais. A maioria das sílicas sintéticas usadas em uma grande variedade de aplicações é amorfa. Para a sílica em geral, a propriedade mais significativamente relacionada ao potencial toxicológico é a cristalinidade. Para as microssílicas cristalinas, o estresse oxidativo, e ligado a este, os danos oxidativos ao DNA e às membranas, são provavelmente os mecanismos mais importantes envolvidos nas atividades inflamatória, fibrogênica e/ou carcinogênica, por exemplo. Estes mecanismos não se aplicam à sílica amorfa, que tem sido pouco estudada. Além do mais, os efeitos adversos à saúde da sílica amorfa natural são, geralmente, atribuídos a certo grau de contaminação com a sílica cristalina. A sílica amorfa sintética não está envolvida nos processos de fibrose progressiva do pulmão, entretanto, altas doses de sílica amorfa podem resultar em respostas inflamatórias pulmonares agudas^[26].

A maioria das pesquisas relacionadas à toxicidade concentra-se em sistemas de cultura de células, ou seja, *in vitro*^[27], e relacionadas à via respiratória, no entanto, os dados destes estudos poderiam ser enganadores e requerem verificação de experimentos com animais, bem como avaliar a toxicidade em órgãos como coração, rins, pâncreas e cérebro, por exemplo. Sistemas *in vivo* são extremamente complicados e as interações das nanoestruturas com componentes biológicos, tais como proteínas e células, poderiam levar à biodistribuição única, depuração, resposta imune e metabolismo^[27].

O interesse no uso de nanopartículas de sílica é crescente no mundo todo, especialmente para aplicações biomédicas e biotecnológicas, tais como as terapias contra o câncer, transfecção de DNA, liberação controlada de fármacos e imobilização de enzimas. Em geral, as nanopartículas de sílica são sintéticas, as quais possuem algumas vantagens sobre as partículas de sílica naturais. As sintéticas não contêm, ou contêm poucas impurezas em relação às naturais, e as propriedades físico-químicas são conhecidas e podem ser controladas durante a síntese, no caso das sintéticas^[26].

Resultados de um crescente número de estudos *in vitro* indicam que a área superficial pode desempenhar um importante papel na toxicidade da sílica. A atividade de citotoxicidade das partículas de sílica pode estar relacionada à sua superfície de interface com o meio biológico. Os grupos silanóis na superfície estão diretamente envolvidos na hemólise e toxicidade epitelial alveolar da célula. O efeito de outras propriedades físico-químicas das nanopartículas de sílica na saúde, como porosidade, pureza química, superfície química e solubilidade, são menos estudadas e, portanto, nenhuma conclusão definitiva pode ser formulada. Comparações entre estudos publicados levam à conclusão que até mesmo uma pequena modificação na superfície pode resultar em uma maior ou menor mudança em um efeito biológico. Poucos estudos *in vitro* têm enfatizado que a resposta às nanopartículas de sílica varia de acordo com o tipo celular^[26].

O sucesso do uso de nanopartículas na área médica requer elaborados e exaustivos estudos *in vivo* das nanopartículas. Pois, a toxicidade destas pode depender não apenas do material que as compõe, mas também da rota de administração destas nanopartículas no corpo^[26].

Até agora, os efeitos das nanopartículas de sílica à saúde têm sido estudados principalmente, em termos da exposição via trato respiratório, após exposição aguda ou sub-aguda, porém outras rotas de exposição também precisam ser estudadas. As informações são insuficientes para identificar e caracterizar claramente os riscos à saúde, e definir as condições apropriadas para o uso seguro destes materiais^[26].

Poucos estudos sobre a toxicidade das nanopartículas estão disponíveis, especialmente se comparados ao vasto número de estudos sobre os nanotubos de carbono e dióxido de titânio. Além da relativa falta de informações sobre a segurança e os riscos das nanopartículas, às vezes surgem evidências conflitantes na literatura como resultado de uma falta geral de procedimentos padrão, bem como caracterização insuficiente dos nanomateriais em sistemas biológicos^[26].

A discussão de numerosas questões ainda necessita ser aprofundada antes que as nanopartículas sejam amplamente aplicadas ao campo da medicina. Por exemplo, qual a relação entre tamanho, forma, e superfície química das nanopartículas e seu comportamento *in vivo*? Além disso, qual é o destino final que as nanopartículas carregadoras de drogas seguem após a liberação das drogas no sítio de ação, isto é, os

nanomateriais são degradados ou metabolizados, e os nanomateriais e/ou seus produtos são efetivamente excretados do corpo? É importante também, avaliar se os efeitos adversos das nanopartículas são específicos dos nanomateriais, isto é, produzir nanopartículas causa novos tipos de efeitos não vistos antes com grandes partículas ou volume químico? Além disso, se este é realmente o caso, como é possível medir ou prever tais efeitos nano-específicos?^[25]

Materiais porosos tais como as sílicas mesoporosas estão sendo utilizados em uma variedade de aplicações biológicas devido as suas características singulares, como alta área de superfície, elevado volume de poros, superfícies adaptáveis, e altas estabilidade química e térmica. Em ciências da vida, materiais mesoporosos podem oferecer mais vantagens aos materiais utilizados atualmente em sistemas liberação de drogas, engenharia de tecidos, biomarcação e biosseparação de materiais, e dispositivos de transfecção^[24].

Dos muitos materiais porosos disponíveis, cobrindo uma escala de tamanho de poro de 0,5 a 500 nm, aqueles de mesoescala (2 - 50 nm) são de particular interesse em biotecnologia porque uma grande proporção de biomoléculas está dentro desta escala de tamanho^[24].

Alguns trabalhos iniciais têm sido realizados para identificar comportamentos de efeitos toxicológicos dos materiais de sílica, mas isto está relacionado, principalmente, às zeólitas cristalinas ou a vidros bioativos. Sua introdução no campo médico requer um estudo aprofundado dos possíveis perigos ou efeitos imunológicos. Porque as propriedades físico-químicas dos nanomateriais são diferentes daquelas de seus homólogos em volume, espera-se que sua interação com os sistemas biológicos seja diferente. Os efeitos podem variar entre diferentes espécies de nanopartículas, dependendo, por exemplo, da composição química, cristalinidade, tamanho, forma e área de superfície^[24].

De fato, há o senso comum de que o tamanho pequeno das partículas permite a estas entrar facilmente e atravessar tecidos, células e organelas, uma vez que o tamanho atual na construção de nanopartículas é similar ao de muitas moléculas biológicas (por exemplo, proteínas) e estruturas (como, vírus). Entretanto, nanopartículas podem não cruzar livremente ou indiscriminadamente todas as barreiras biológicas, mas estes processos podem, em vez disso, serem governados pelas propriedades físico-químicas

específicas das nanopartículas, bem como a identidade das moléculas funcionais adicionadas às suas superfícies. Claramente, então, um maior entendimento dos mecanismos que ditam no comportamento e no destino (biodistribuição) das nanopartículas introduzidas no corpo, contribui não apenas para o desenvolvimento de nanopartículas para liberação controladas de drogas-alvo, mas também, para a predição de potenciais respostas toxicológicas a tais nanomateriais (biocompatibilidade)^[25].

No entanto, os efeitos sobre o organismo são totalmente desconhecidos e, muitas vezes, visto como um possível risco. De estudos epidemiológicos, sabe-se há muito tempo que as nanopartículas no ar exercem efeitos negativos ao sistema cardiovascular e nervoso central (SNC). É provável que essas nanopartículas recém-desenvolvidas podem ter também um impacto negativo no sistema cardiovascular sob exposição. Investigações usando inalação e instilação de nanopartículas inequivocamente mostraram toxicidade respiratória e reações de inflamação^[28].

Em nível celular, diferentes testes são rotineiramente usados. Estes testes possuem diferentes pontos finais e elucidam apenas um parâmetro. Por isso, eles não podem prever com exatidão uma resposta *in vivo*, necessariamente. Entretanto, até este ponto, testes de toxicidade relacionados às nanopartículas em órgãos internos não têm sido descritos, mas o estabelecimento destes é destacadamente requisitado^[28].

São necessários ainda, muitos estudos *in vivo* para determinar a biodistribuição das nanopartículas. Ao fazer isso, uma atenção especial deve ser dedicada à interação com o sistema imunológico, como a provável distribuição das nanopartículas pode determinar e influenciar o seu potencial tóxico no organismo^[25].

Os Biomarcadores

Para se quantificar uma exposição química a agentes nocivos à saúde, seus efeitos e a suscetibilidade desses efeitos em um indivíduo exposto, bem como obter e confirmar um diagnóstico clínico, a efetividade de seu tratamento, avaliar prognósticos, além de buscar informações e se estudar os processos celulares com mais precisão, é necessário a utilização de biomarcadores.

A detecção precoce a uma exposição perigosa, ou de uma doença, pode diminuir significativamente a ocorrência de efeitos adversos na saúde^[29].

Um biomarcador compreende toda substância ou seu produto de biotransformação, bem como qualquer alteração bioquímica precoce, cuja determinação nos fluidos biológicos, tecidos ou ar exalado, avalie a intensidade da exposição e o risco à saúde^[29].

Ou ainda, é em geral uma substância utilizada como um indicador de um estado biológico. É uma característica que é objetivamente medida e avaliada como indicador de processos biológicos normais, processos patogênicos ou respostas farmacológicas a uma intervenção terapêutica. Ele é usado em muitos campos científicos e pode ser luminescente ou não.

Quando se pretende utilizar um biomarcador, pontos importantes devem ser levados em consideração, como por exemplo, devem ser fáceis de detectar, apresentar alta precisão, e sua utilização deve ser minimamente invasiva.

Os biomarcadores podem ser usados para vários propósitos, dependendo da finalidade do estudo. Podem ter como objetivos avaliar a exposição, avaliar os efeitos das substâncias químicas e também a suscetibilidade individual^[29].

O uso dos biomarcadores na avaliação de risco fornece uma ligação crítica entre exposição à substância química, dose interna e prejuízo à saúde, e são valiosos na avaliação de risco. Mas, existe uma necessidade de identificar e validar estes parâmetros característicos para cada sistema orgânico para que sejam, de fato, indicativos de indução de disfunção orgânica, alteração clínica e toxicidade patológica, além de estabelecer a especificidade e sensibilidade de cada biomarcador e seu método para determinação^[29].

Eles podem ser classificados em três tipos:

- **Biomarcadores de Exposição** podem ser usados para confirmar e avaliar a exposição individual ou de um grupo, para uma substância em particular, estabelecendo uma ligação entre a exposição externa e a quantificação da exposição interna^[29].
- **Biomarcadores de Efeito** podem ser usados para documentar as alterações pré-clínicas ou efeitos adversos à saúde decorrentes da exposição e absorção da substância química. Dessa forma, a ligação dos biomarcadores entre exposição e efeitos contribui para a definição da relação dose-resposta^[29].
- **Biomarcadores de Suscetibilidade** permitem elucidar o grau de resposta da exposição provocada nos indivíduos^[29].

Os biomarcadores podem ser de diversos tipos, tais como, fisiológicos (funções de órgãos), físicos (alterações de características em estruturas biológicas), histológicos (amostras de tecido obtidas por biópsia) e anatômicos. Podem ser células específicas, moléculas, genes, enzimas ou hormônios. Provavelmente os mais relevantes em investigação médica são os marcadores bioquímicos que podem ser obtidos com relativa facilidade a partir de fluidos corporais e que estão ao dispor dos pesquisadores.

Os diferentes tipos de marcadores luminescentes

Os compostos usados na marcação biológica são chamados fluoróforos, que são substâncias capazes de absorver energia e emití-la em forma de luz na região visível do espectro eletromagnético, e podem ser divididos em três classes principais: **nanopartículas metálicas (pontos quânticos, do inglês *quantum dots*)**, **corantes orgânicos** e marcadores à base de **íons lantanídeos**. Em cada uma destas classes, os processos relacionados ao fenômeno da luminescência são diferentes. A seguir são descritas as principais características de cada uma destas três classes:

Nanopartículas metálicas (Pontos Quânticos): nanocristais metálicos ou semi-condutores constituídos por uma associação de elementos das Famílias II-B, III-A, IV-A, V-A e VI-A da Tabela Periódica. Em razão de seu pequeno tamanho, geralmente entre 1 e 10 nm, os pontos quânticos apresentam propriedades particulares e suscitam grande interesse, mesmo após 40 anos de sua descoberta. De fato, sob excitação luminosa em luz ultravioleta, estes nanocristais emitem fótons no espectro visível, com um comprimento de onda que vai do vermelho até o azul à medida que seu tamanho diminui (Figura 4). Nos semi-condutores, a estrutura eletrônica é representada por bandas de energia. Os pontos quânticos apresentam um bom rendimento da luminescência e uma banda larga de absorção, o que rende sua fácil excitação. Os pontos quânticos mais utilizados são à base de cádmio (CdSe, CdS, CdTe), ou de zinco (ZnSe, ZnS) que englobam todo o domínio visível do espectro óptico. Mais recentemente, um grande interesse tem se voltado aos pontos quânticos com propriedades de emissão no infravermelho próximo, como CdTe/CdSe, InAs ou PbS, que já são utilizados para bioimagem em animais. Mas os pontos quânticos apresentam algumas inconveniências como toxicidade, geralmente são muito caros, e muitas vezes luminescência descontínua.



Figura 4. Suspensões de pontos quânticos de CdSe de diferentes diâmetros. Do menor (esquerda) ao maior diâmetro. Retirada de ^[30].

Corantes orgânicos: a segunda classe de marcadores luminescentes é constituída pelas moléculas orgânicas (Figura 5), tais como isotiocianato de fluoresceína (FITC), as rodaminas, e ainda as cianinas, que são empregadas normalmente na biologia. Uma molécula absorve energia, os elétrons são excitados e vão para níveis energéticos superiores descritos como níveis eletrônicos associados aos níveis rotacionais e vibracionais. Aqui se distinguem dois tipos de emissão: a fluorescência entre níveis singletos $S_1 \rightarrow S_0$, e a fosforescência a partir de um estado tripleto $T_1 \rightarrow S_0$. Elas se distinguem por causa das probabilidades de transição (W em s^{-1}) muito diferentes. Entre estados singletos ($S_1 \rightarrow S_0$) a transição é permitida segundo as regras de seleção impostas pela mecânica quântica ($\Delta S = 0$). A probabilidade $W_{S_1 \rightarrow S_0}$ é muito elevada e o declínio da emissão é observado após ter atingido o máximo de excitação em uma escala de ns (10^{-9} s). Em contrário, a transição $T_1 \rightarrow S_0$ não é permitida pela regra ΔS , a probabilidade $W_{T_1 \rightarrow S_0}$ não se aplica, e o decaimento da emissão numa escala de tempo varia de ms à s. A transição permitida é muito mais intensa e, conseqüentemente, os marcadores orgânicos são amplamente utilizados. Suas principais limitações provêm de sua fraca fotoestabilidade e do fato de que sua luminescência própria é semelhante à autofluorescência do meio biológico: mesmas emissões em bandas largas no visível e mesmas probabilidades de decaimento de ns. Em contra-partida, apenas um número restrito de moléculas de fluoróforos podem ser ligados às biomoléculas sem interferir

em seu funcionamento. Para aumentar o número de centros luminescentes ligados a essas moléculas tem-se procurado associá-las a partículas de polímeros ou de sílica. Os corantes são então ligados à superfície da nanopartícula ou incorporados em seu interior^[31].

O caráter hidrofóbico das nanopartículas de polímeros e corantes é uma limitação à sua utilização como biomarcadores, já que a aplicação necessita de um ambiente aquoso. Mas as nanopartículas de sílica são hidrófilas, o que facilita sua utilização em meio biológico.



Figura 5. Corantes orgânicos fluorescentes, “cascade blue”, SAB (azul brilhante), fluoresceína, Rodamina WT, e Cy3 amidita (da esquerda para a direita). Retirada de ^[32].

Marcadores à base de íons lantanídeos: os lantanídeos apresentam propriedades intrínsecas de emissão que são muito interessantes para sua utilização como biomarcadores. Mas as propriedades de absorção destes elementos não são favoráveis porque as bandas de absorção dos lantanídeos no espectro UV-visível são pouco eficientes. Em certos complexos orgânicos de lantanídeos, ao contrário, uma intensa emissão dos íons Ln^{3+} pode ser obtida via “efeito antena”. Esses complexos aliam então as vantagens das moléculas orgânicas (bandas largas de absorção) às dos lantanídeos (linhas finas de emissão no visível com uma duração de vida da emissão que pode ir até várias dezenas de ms). Estes cromóforos têm a propriedade de coletar a energia de excitação situada no domínio do comprimento de onda do visível e transferi-la ao cátion lantanídeo. Em competição com o decaimento radiativo $T_1 \rightarrow S_0$, há em certas condições, a transferência de energia não radiativa após T_1 através dos níveis eletrônicos dos íons

Ln^{3+} , como é o caso do Eu^{3+} e Tb^{3+} , pelo decaimento radiativo deste íon que é o responsável pela emissão^[31].



Figura 6. Complexos luminescentes de Eu^{3+} , Tb^{3+} , Dy^{3+} e Sm^{3+} . Retirada de ^[33].

Terras-raras

As terras-raras são, de acordo com a classificação da IUPAC, um grupo relativamente abundante de 17 elementos químicos, dos quais 15 estão localizados no grupo dos lantanídeos (geralmente referidos como Ln^{3+} , elementos com número atômico entre $Z = 57$ e $Z = 71$, que vai do lantânio ao lutécio, na Tabela Periódica), e que incluem o escândio ($Z = 21$) e o ítrio ($Z = 39$), elementos que ocorrem nos mesmos minérios e apresentam propriedades físico-químicas semelhantes^[34].

As propriedades ópticas intrínsecas dos íons lantanídeos trivalentes (Ln^{3+}) são fascinantes e têm origem em características especiais das configurações eletrônicas $[\text{Xe}] 4f^n$ ($n = 0 - 14$). Estas configurações geram uma rica variedade de níveis eletrônicos, número que é dado por $[14!/n!(14 - n)!]$, traduzindo-se em 3003 níveis para os íons Eu^{3+} e Tb^{3+} , por exemplo. Eles são caracterizados por três números quânticos, S, L e J, que se encaixam no esquema de acoplamento spin-órbita de Russel-Saunders. As energias destes níveis são bem definidas devido à blindagem dos orbitais $4f$ pelo preenchimento dos subníveis $5s^2 5p^6$, e eles são sensíveis aos ambientes químicos nos quais são inseridos. Como consequência, as transições $4f-4f$ da camada interior que se estende em ambas as escalas, do visível e do infravermelho, são definidas e facilmente reconhecíveis (Figura 7). Além do mais, como estas transições são formalmente e igualmente proibidas, os tempos de vida dos estados excitados são longos, os quais permitem o uso da detecção resolvida no tempo, uma vantagem definitiva para bioensaios e microscopia de luminescência^[35].

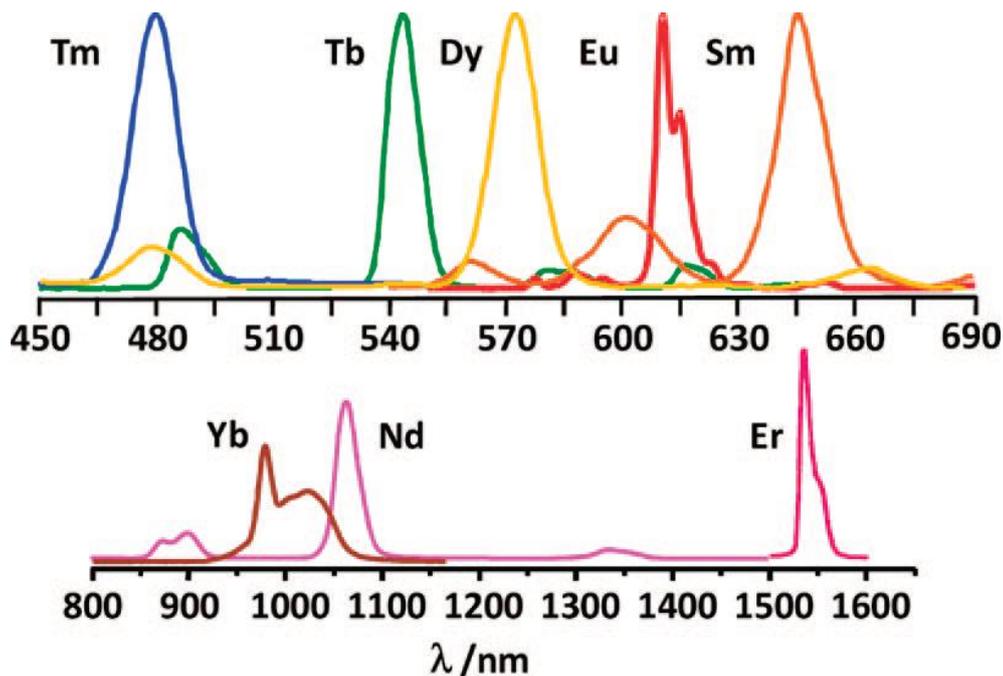


Figura 7. Espectros de luminescência de alguns lantanídeos, sob excitação no UV-visível. Figura retirada de [35].

A única desvantagem das transições $f-f$ são suas forças de oscilação fracas que podem, no entanto, se tornar uma vantagem. Weissman demonstrou, em 1942, que a excitação dos complexos lantanídeos em estados ligantes resulta na luminescência do metal central. Parte da energia absorvida pelos receptores é transferida para os estados excitados dos Ln^{3+} , e as bandas de emissão definidas originadas do íon metálico são detectadas após uma rápida conversão interna ao nível emitente. O fenômeno é expresso por uma sensibilização da luminescência do metal central (também referida como “efeito antena”) e é bem complexo. Várias vias de migração de energia podem ser envolvidas, por exemplo, troca ou super-troca, mecanismos de dipolo-dipolo, ou dipolo-multipolo, que implicam a participação de vários níveis ligantes, estados singletos, tripletos, e/ou transferência de carga intra-ligante. Uma via de migração de energia comumente observada, no entanto, passa através do estado tripleto de longa vida do ligante. Alternativamente, outros estados podem diminuir a energia no íon metálico como estado de transferência de carga intracomplexo ligante-metal, os estados $4f5d$; ou estado de transferência metal-ligante de cromóforos contendo íons de metais de transição d , como Cr^{3+} , Re^+ , Ru^{2+} , Os^{2+} , Co^{3+} , Ir^{3+} ou Pt^{2+} . Estes íons d são essencialmente usados para sensibilização da luminescência no infravermelho próximo.

O processo de sensibilização gera duas vantagens. A primeira é que, enquanto íons Ln^{3+} demonstram deslocamento Stokes desprezível sob excitação direta, devido aos seus orbitais $4f$ internos, a excitação do ligante resulta em pseudos deslocamentos Stokes que, às vezes, são maiores que os daqueles de fluoróforos orgânicos, doravante permitindo fácil discriminação espectral da luz emitida. A segunda vantagem é, os íons Ln^{3+} são geralmente bons supressores de estados tripleto, tal que, o fotobranqueamento é substancialmente reduzido^[35].

Os íons lantanídeos estão envolvidos em três tipos de transições, transferência de carga intracomplexo ligante-metal, $4f-5d$, e $4f-4f$ intraconfiguracional. Os dois anteriores geralmente ocorrem em altas energias, sendo relevantes para aplicações biológicas. Nota-se, entretanto, que estados de transferência de carga intracomplexo ligante-metal mais abaixo podem ter efeito prejudicial nas propriedades emissivas de íons Ln^{3+} facilmente reduzíveis (por exemplo, Eu^{3+} , Sm^{3+} , ou Yb^{3+}). Alguns íons são fluorescentes ($\Delta S = 0$), alguns são fósforescentes ($\Delta S > 0$), e alguns fluorescentes e fósforescentes. Similar à absorção, a emissão da luz se deve a dois tipos principais de transições, as transições por dipolo-magnético permitidas por paridade (regras de seleção: $\Delta L = 0$, $\Delta J = 0, \pm 1$, mas $J = 0$ a $J' = 0$ são proibidas), transições dipolo-elétrico proibidas por paridade ($\Delta L, \Delta J \leq 6$; 2, 4, 6, se J ou $J' = 0$; $J = 0$ a $J' = 0$ são proibidas). Quando íons Ln^{3+} estão inseridos em um ambiente químico, interações não centro-simétricas permitem a mistura de estados eletrônicos de paridades opostas dentro de funções de onda $4f$ e transições dipolo-elétrico proibidas por paridade se tornam parcialmente permitidas; elas são denominadas transições dipolo-elétrico proibidas por paridade induzida (ou forçada). A intensidade de algumas destas interações é particularmente sensível à natureza do ambiente íon-metal, e estas transições são chamadas “hipersensíveis”; um exemplo típico é o $\text{Eu}(^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_2)$. Em geral, as transições contêm ambas as contribuições das transições de dipolo-elétrico proibidas por paridade e das transições de dipolo-magnético permitidas por paridade. Os parâmetros importantes que caracterizam a emissão da luz de um íon Ln^{3+} são o tempo de vida do estado excitado $\tau_{\text{obs}} = 1/k_{\text{obs}}$, que é o tempo decorrido para que a intensidade de emissão decaia a $1/e$ do valor inicial, e o rendimento quântico Φ , que é dado pela razão entre o número de fótons emitidos e o número de fótons absorvidos; Φ está relacionado à k_{obs} (constante de velocidade observada)^[35].

Neste trabalho foram estudadas as propriedades luminescentes de duas terras-raras específicas, íons Térbio e Európio, quando impregnadas/dopadas em sílica mesoporosa, devido às suas propriedades luminescentes extremamente sensíveis ao meio, e que permitem sua utilização como sondas ópticas pontuais. Portanto, as principais características de cada um destes elementos utilizados serão destacadas nos Capítulos 1 e 2, respectivamente.

A Funcionalização

Embora a aplicabilidade de partículas de sílica mesoporosa como biomarcadores seja muito promissora e possua inúmeras vantagens, o uso direto destas partículas, ou seja, o uso de partículas *in natura* é muito difícil. Desse modo, é necessário modificá-las para que suas propriedades de superfície atendam às condições biológicas, como o meio aquoso, temperatura, pH humano, e também para haver uma seletividade destas partículas às células-alvo.

Existem dois métodos de funcionalização: o pós-síntese, muito utilizado e conhecido como “grafting”, e a funcionalização durante a síntese, durante o processo sol-gel. No processo de funcionalização pós-síntese, primeiro há a obtenção da sílica mesoporosa pelo processo sol-gel com o auxílio de um agente direcionador de estrutura e o agente de grupamento desejado é ancorado posteriormente à sílica mesoporosa. No processo de funcionalização durante o processo sol-gel, o agente de grupamento desejado é incorporado à sílica durante o próprio processo de co-condensação^[36]. Neste trabalho, o método de funcionalização utilizado foi o de pós-síntese.

A funcionalização pós-síntese de trialcóxissilanos é um dos métodos mais populares para modificação de sílica mesoporosa. Aminopropilalcoxissilanos são frequentemente empregados com este propósito, permitindo reações subsequentes com uma variedade de grupos funcionais, tais como isotiocianato ou cloreto de sulfonila. As sílicas mesoporosas amino-funcionalizadas têm sido investigadas em termos de suas potenciais aplicações em biomarcadores, liberação controlada, catálise e adsorção. A identificação de parâmetros que controlam a distribuição dos grupos amino ligados tem sido tópico de publicações relativamente recentes, que têm demonstrado que a polaridade do solvente usado na reação de alcoxissilanos amino-substituídos com sílica mesoporosa tem uma influência pronunciada na distribuição de grupos amino ancorados à superfície^[37].

O processo de pós-inserção através de ligações covalentes dos grupos silanóis da superfície e moléculas corantes tem sido considerado uma rota alternativa para a preparação de materiais mesoporosos dopados com compostos luminescentes. Comparado com outros métodos de síntese, as vantagens do processo de pós-inserção

são óbvios, por exemplo, reduz a influência negativa da introdução de heteroátomos nas mesoestruturas ordenadas, e evita agregação do composto luminescente^[38].

O 3-aminopropiltriétoxissilano (APTES), Figura 8, tem sido amplamente usado em biosensores baseados na afinidade, devido ao grupo silano que pode se ligar hermeticamente a substratos de vidro ou sílica, enquanto seu grupo amina pode formar ligações covalentes com grupos carboxílicos (grupos funcionais que são comumente encontrados em biomoléculas). Uma série de experimentos com múltiplas biomoléculas revela a capacidade das cadeias funcionalizadas de executar plataformas de biosensoriamento^[39].

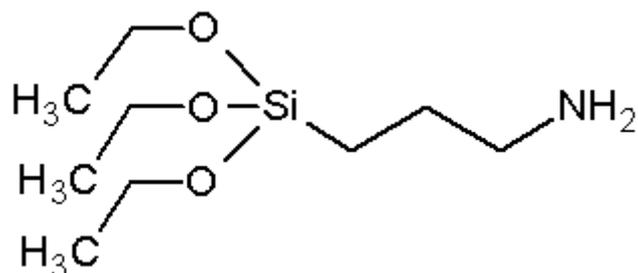


Figura 8. Representação da molécula de APTES.

O 3-glicidoxipropiltrimetoxissilano (GPTMS), Figura 9, é um alcóoxido monofuncional organicamente modificado que produz uma unidade epóxi ao final da cadeia orgânica funcional. A química do GPTMS é complexa, e várias reações secundárias podem ser observadas em diferentes ambientes químicos; em condições de alto pH, a abertura do grupo epóxi e as reações de condensação da sílica são ambas abrandadas. Isto favorece a formação de espécies em ponte via reação dos grupos epóxi que formam espécies em ponte de dioxano^[40].

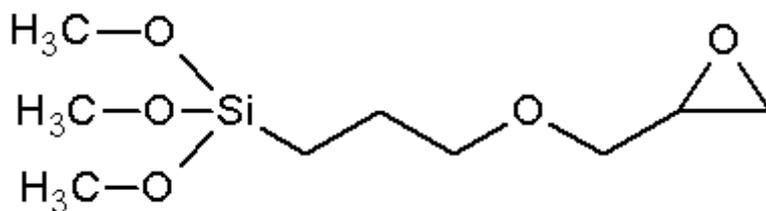


Figura 9. Representação da molécula de GPTMS.

Por que o tamanho é importante?

É bem conhecido que as propriedades físico-químicas dos materiais mudam com o tamanho, por exemplo, em pontos quânticos há uma variação no comprimento de onda de emissão da luz dependendo de seu tamanho. A área superficial de uma dada partícula micrométrica pode ser menor se comparada a uma partícula nanométrica se esta possuir uma superfície recoberta de poros.

Até recentemente, a maioria das pesquisas eram focadas em partículas de sílica com 0,5 a 10 μm , principalmente nas formas cristalinas, mas as nanossílicas podem ter propriedades toxicológicas quando comparadas às partículas grandes. As propriedades físico-químicas singulares das nanopartículas de sílica que as tornam atrativas para a indústria podem apresentar riscos potenciais à saúde humana, incluindo uma maior capacidade de penetrar alvos intracelulares no pulmão e circulação sistêmica^[26]. Portanto, o tamanho das partículas para uso em aplicações biológicas é muito importante.

O tamanho da partícula é determinado pelos parâmetros de síntese. Partículas de sílica amorfa no estado sol tendem a adotar um formato esférico de forma a alcançar um mínimo de área de superfície interfacial. O tamanho da partícula da sílica comercial preparada a partir de silicato de sódio é de 10 a 25 nm. Sóis com partículas primárias grandes podem ser preparados a partir de TEOS pelo método de Stöber, por exemplo. Os processos de trituração e moagem reduzem o tamanho da partícula, e são geralmente aplicadas para quartzo, sílica gel e sílica vítrea^[26].

A seguir encontra-se uma tabela que mostra o tamanho médio de partículas de materiais baseados em sílica dependendo do tipo de material que é obtido, Tabela 1.

Tabela 1. Visão geral dos materiais baseados em sílica e suas propriedades relevantes. Adaptado de [26].

Material	Natureza	Cristalinidade	Tamanho da partícula	Porosidade
Sílica coloidal	Sol	Amorfa	1 - 1000 nm	Densa
Sílica Stöber	Sol	Amorfa	10 - 1000 nm	Porosidade regulável
Sílica precipitada	Pó	Amorfa	5 - 6 nm partículas primárias a 500 nm - 50 μ m agregadas	Porosidade regulável
Sílica gel	Pó	Amorfa	0,5 - 5 nm partículas primárias a 500 μ m - 6 mm agregadas	Regulável
Sílica mesoporosa	Pó	Amorfa	50 - 1000 nm agregadas por causa da calcinação	Mesoporosa
Sílica pirogênica	Pó	Amorfa	2 - 50 nm partículas primárias a 1 - 250 μ m agregadas	Regulável
Sílica vítrea	Pó	Amorfa	50 - 2000 μ m	Densa
Quartzo	Pó	Cristalina	50 nm - vários μ m	Densa
Cristobalita	Pó	Cristalina	1 μ m - vários cm	Densa
Zéólits	Pó	Cristalina	0,05 - 5000 μ m	Porosa (diam. 0,4 - 1,2 nm)
Cathrasils	Pó	Cristalina	0,5 - 5000 μ m	Porosa (diam. 0,2 - 0,3 nm)
“Diatomeus eatrh”	Pó	Amorfa	5 - 120 μ m	Densa

Técnicas Utilizadas para Caracterização das Amostras

Espalhamento de Raios X a Baixo Ângulo (SAXS)

Um experimento de espalhamento de raios X a baixos ângulos (SAXS) envolve a detecção de raios X provenientes de uma amostra posicionada entre uma fonte de raios X e um detector. Os raios X provenientes de uma fonte atravessam a amostra e atingem um detector posicionado a uma distância D . Um *beam-stopper* é posicionado entre a amostra e o detector para atenuar o feixe direto, ou seja, o feixe formado pelos fótons que não são espalhados na amostra, cuja intensidade pode danificar o detector.

As fontes mais comuns de raios X são tubos, que geram a radiação através da excitação dos átomos de um alvo por um feixe de elétrons emitido de um filamento e acelerados por um campo elétrico. Os elementos mais comumente utilizados na construção de *beam-stopper* são o Cobre (Cu), Molibdênio (Mo) e Tungstênio (W).

O gráfico tipicamente obtido é composto pelo espalhamento de raios X a baixo ângulo proveniente de inomogeneidades eletrônicas não correlacionadas (fator de forma) e por um padrão de interferência entre objetos de diferentes densidades eletrônicas (fator de estrutura).

O espalhamento de raios X a baixo ângulo sonda inomogeneidades esparsas estruturais da densidade eletrônica da amostra na região de nanômetros a frações de micrômetros em ângulos próximos a 0° .

Para materiais porosos, o resultado observado no detector é uma convolução do espalhamento de cada partícula presente na amostra e do espalhamento da sua estrutura porosa, seja ela ordenada ou não.

Esta é uma técnica bem estabelecida para estudos da forma e organização espacial de objetos de escala nano com tamanhos variando de 1 a 100 nm. Alguns dos materiais mais popularmente analisados são: colóides, cristais líquidos e géis; polímeros semicristalinos e misturas; macromoléculas biológicas e agregados em condições ou próximas a condições fisiológicas; e, nanopartículas e materiais nanoporosos. Se o SAXS for combinado com WAXS (espalhamento de raios X a amplos ângulos), é também uma poderosa técnica usada para determinar a microestrutura e o

comportamento de fase de sistemas multicomponentes envolvidos em cosméticos, detergentes, remédios, polímeros e outros materiais de interesse industrial^[41].

Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM)

A microscopia eletrônica de varredura é a técnica de caracterização microestrutural mais versátil disponível hoje, encontrando aplicações em diversos campos do conhecimento, particularmente na engenharia e ciências dos materiais, engenharias metalúrgicas e de minas, geociências e ciências biológicas, dentre outros. A interação de fino feixe de elétrons focalizado sobre a área ou o microvolume a ser analisado gera uma série de sinais que podem ser utilizados para caracterizar propriedades da amostra, tais como composição, superfície topográfica, cristalografia, etc.

Na microscopia eletrônica de varredura os sinais de maior interesse referem-se usualmente às imagens de elétrons espalhados e de elétrons retroespalhados, ao passo que na microsonda eletrônica o sinal de maior interesse corresponde aos raios X característico, resultante do bombardeamento do feixe de elétrons sobre a amostra, permitindo a definição qualitativa ou quantitativa dos elementos químicos presentes em um microvolume.

A versatilidade do microscópio eletrônico de varredura deve-se à diversidade de interações que ocorrem quando o feixe de elétrons atinge a amostra. Estas interações avaliadas por diferentes detectores fornecem informações sobre a composição, topografia, cristalografia, potencial elétrico e campos magnéticos locais, entre outras^[42].

SEM/FEG

Um microscópio eletrônico de varredura equipado com feixe de elétrons gerado por emissão de campo (SEM/FEG), opera de 0,5 a 30 kV com resolução definitiva de 1,0 nm, e gama de ampliação de 10 a 700000 vezes. Modos de imagem disponíveis incluem a imagem de elétrons secundários e retroespalhados.

Suas aplicações incluem o exame de superfícies de fratura, exame e quantificação de testes de nano-esclerometria, estereo-imagem de superfícies,

microestrutura de sistemas surfactantes, medidas da espessura de camadas de dispositivos de leitura magnética, caracterização de grãos ligantes de cerâmicas^[42].

Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM)

Em microscopia eletrônica de transmissão a imagem observada é a projeção de uma determinada espessura do material, havendo uma diferença com relação ao observado numa superfície.

Durante a passagem de elétrons através de uma lâmina fina de sólido amorfo ocorre espalhamento dos elétrons em praticamente todas as direções. Este espalhamento é causado pela interação do elétron incidente com o núcleo dos átomos da amostra. Ele é tanto mais intenso quanto mais denso for o material, mais espessa a amostra e maior o número atômico do material da amostra.

Enquanto que para sólidos amorfos é razoável supor uma distribuição uniforme de elétrons espalhados, para sólidos cristalinos a transparência a elétrons depende das condições de difração que diferem bastante conforme a direção. Quando um feixe de elétrons passa por uma lâmina de material cristalino, somente aqueles planos quase paralelos ao feixe incidente contribuem para a figura de difração.

Conforme se utiliza elétrons difratados ou elétrons transmitidos para se fazer a imagem, obtêm-se os chamados campo escuro e campo claro, respectivamente^[42].

Medidas de porosidade e superfície específica

A determinação da superfície específica através das isotermas de BET (Brunauer, Emmet, Teller) está baseada no fenômeno de adsorção física de gases nas superfícies externa e interna de um material poroso. Tal material que é circundado e está em equilíbrio com certo gás que possui certa temperatura, T , e pressão de vapor relativa, p/p_0 , absorve fisicamente certa quantidade de gás. A quantidade de gás adsorvido é dependente de sua pressão relativa e é proporcional ao total das superfícies externa e interna do material. A conexão entre pressão relativa de vapor e quantidade de gás adsorvido a uma temperatura constante é chamada de *isoterma de adsorção*.

Brunauer dividiu as isotermas de adsorção física em cinco tipos, Figura 10. Do ponto de vista teórico, as isotermas do tipo II e III são válidas apenas para sólidos não-porosos, mas na prática são às vezes aplicáveis igualmente a sólidos porosos. A maioria dos materiais constituintes vistos possui isotermas do tipo II, pelo menos quando o adsorbato é o vapor d'água. Isotermas do tipo IV e V são válidas apenas para materiais porosos, e são modificações de isotermas do tipo II e III, respectivamente. As modificações a pressões de vapor relativas altas são dependentes de restrições relacionadas à adsorção pela largura dos poros. Materiais constituintes usuais possuem um grande volume de poros largos, o qual esta restrição é desprezível. A distinção entre isotermas do tipo II e IV (ou III e V) é sem significância prática em baixa pressão.

Por outro lado, o fenômeno da condensação capilar ocorre em materiais porosos quando o adsorbato é espesso o suficiente para formar um menisco curvado no poro. Portanto, a isoterma de um material poroso em alta pressão possui um intervalo diferente de um material não-poroso. Entretanto, isto não tem importância no cálculo da superfície específica de acordo com a teoria de BET. A isoterma do tipo I é dificilmente aplicável aos materiais constituintes. Isso é válido apenas para um sólido com poros extremamente estreitos como os de alguns géis.

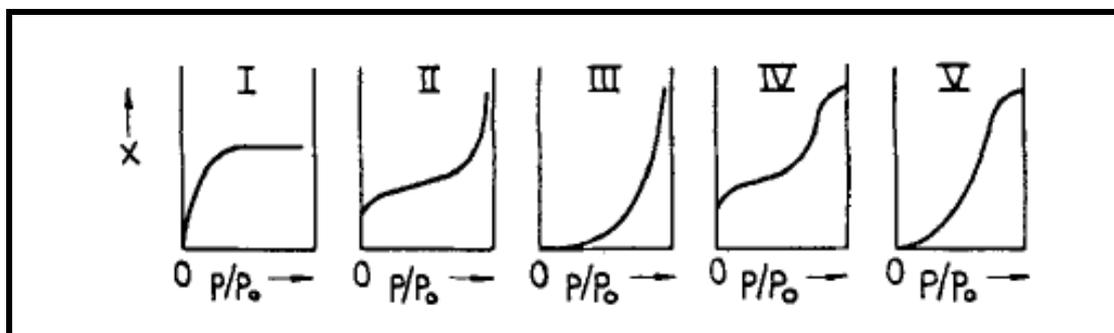


Figura 10. Os cinco tipos de isotermas Segundo a classificação de Brunauer^[43].

Espectroscopia de Luminescência

Os métodos baseados em fluorescência e fosforescência são aqueles nos quais a excitação da molécula é conduzida pela absorção de fótons. Como consequência, os dois fenômenos são muitas vezes referidos e/ou classificados como métodos fotoluminescentes. Neste caso, a molécula é inicialmente excitada e promovida para um estado eletrônico de maior energia, cujo retorno ao estado fundamental é acompanhado

pela emissão de radiação eletromagnética. Contudo, é importante salientar que a absorção do fóton em fluorescência e fosforescência envolve transições eletrônicas diferentes. A energia eletrônica responsável pela transição fluorescente não envolve uma mudança no número quântico de spin do elétron, e passa do nível $S_0 \rightarrow S_1$, emitindo radiação desde o nível excitado S_1 para algum dos níveis vibracionais do estado eletrônico S_0 . Como consequência, a fluorescência possui tempos de vida extremamente curtos, com a luminescência cessando quase que imediatamente, por volta de 10^{-9} a 10^{-6} s (ns a μ s). A fluorescência é emitida em comprimentos de onda maiores àqueles de excitação, deslocando-se entre 50 e 150 nm, quando comparado ao comprimento de onda da luz usado para a excitação da molécula.

Por outro lado, uma mudança no número quântico de spin do elétron acompanha as emissões fosforescentes, envolvendo transições proibidas de elétrons provenientes de um estado excitado tripleto (com spin diferente ao original) para um estado fundamental singleto ($T_1 \rightarrow S_0$). Como consequência, a radiação existe por um tempo no qual pode ser facilmente detectável após o término da irradiação, entre 10^{-4} e 10 s. Contudo, este tipo de transição é menos provável que a transição envolvendo dois estados singletos (fluorescência), já que processos paralelos de desativação como a conversão interna e externa, e o relaxamento vibracional, podem competir com ela. Desta forma, a emissão de transições fosforescentes tem sido comumente observada apenas em baixas temperaturas, em meios altamente viscosos ou em moléculas adsorvidas em superfícies sólidas para introduzir rigidez ao sistema^[44].

OBJETIVOS

O objetivo geral desse trabalho é contribuir para o desenvolvimento de novas sondas luminescentes para aplicações biológicas.

Como objetivos específicos, sintetizar matrizes sólidas de partículas de sílica mesoporosa variando parâmetros e condições como, tempo de reação e quantidade de precursor de silício, e aperfeiçoar suas propriedades luminescentes para que estas sejam utilizadas como biomarcadores.

CAPÍTULO 1

Micropartículas de sílica

mesoporosa

O Térbio (Tb^{3+})

Como já discutido nos tópicos “Os diferentes tipos de marcadores luminescentes” e “Terras-raras”, da Introdução, os lantanídeos apresentam propriedades intrínsecas e singulares de emissão que são muito interessantes para sua utilização como biomarcadores, tais como linhas pontuais de emissão, alto rendimento quântico, tempo de vida da fluorescência e fotoestabilidade longos, quando encontram-se coordenados com ligantes. Em particular, exibem propriedades eficientes dos processos de conversão ascendente de energia.

Porém, quando em complexação com moléculas de água, suas propriedades de absorção destes elementos não são interessantes porque as bandas de absorção dos lantanídeos no espectro visível são de baixa eficiência. Em certos complexos orgânicos de lantanídeos, ao contrário, uma intensa emissão dos íons Ln^{3+} pode ser obtida via “efeito antena”. Esses complexos aliam então as vantagens das moléculas orgânicas (bandas largas de absorção) às dos lantanídeos (linhas finas de emissão no visível com uma duração de vida da emissão que pode ir até várias dezenas de ms).

O íon Tb^{3+} faz parte dos íons lantanídeos e, por consequência, apresenta as vantagens e características singulares que fazem destes íons promissores para aplicações como sondas luminescentes. Como características próprias, o íon Tb^{3+} apresenta luminescência em soluções aquosas (em coordenação com as moléculas de água apenas) e em complexos com ligantes (coordenando-se com moléculas de ligante), exhibe múltiplas emissões (devido às suas várias transições eletrônicas), e quando em complexos com ligantes, as intensidades relativas e as características das bandas de emissão são influenciadas pelo ligante^[45].

Para ser usado em sistemas biomoleculares é necessário e desejável que as propriedades ligantes tenham algum grau de seletividade, e isso é uma característica que o íon Tb^{3+} apresenta a uma ampla variedade de sistemas biomoleculares, e que levou nos últimos anos a um considerável interesse no uso deste íon como sonda luminescente para investigação de estruturas biomoleculares^[45].

Os números de coordenação para o Tb^{3+} em água, são 8 e 9.

Em sistemas biomoleculares, os seguintes pontos são de especial importância^[45]:

- *Sítio de seletividade*: Os sítios de ligação preferidos serão aqueles com grupos doadores contendo átomos de oxigênio negativamente carregados (por exemplo, grupos carboxilato ou fosfato). Em soluções aquosas, apenas estes tipos de sítios podem competir efetivamente com as moléculas de água na coordenação dos Ln^{3+} ;
- *Tamanho e Geometria dos Sítios de Ligação*: Para os números de coordenação 8 ou 9, o raio iônico efetivo é de $\sim 1,04 - 1,10 \text{ \AA}$. Este número é uma estimativa do tamanho necessário para os sítios de ligação do Tb^{3+} em complexos de sistemas biomoleculares.
- *Forças de Ligação*: Espera-se que sejam muito menores que as dos íons metais de transição, mas levemente maiores que as dos íons metais alcalinos e alcalinos terrosos.
- *Sítios de Distorção*: Dada a baixa capacidade polarizante dos íons Ln^{3+} e a natureza iônica de suas interações com os ligantes, é indesejável induzir mudanças significantes nas distribuições das cargas eletrônicas nos sítios de ligação. Entretanto, distorções do tipo mecânicas são possíveis e necessárias para acomodar interações “estéricas” no sítio de coordenação^[45].

Os pontos apresentados acima sugerem que o Tb^{3+} se ligaria a uma ampla variedade de sistemas de interesse biológico e que estas ligações exibiriam um alto grau de seletividade. E mais, não se espera que estas ligações resultem em maiores perturbações nas características estruturais inerentes ao sistema hospedeiro^[45].

A configuração eletrônica do Tb^{3+} ($Z = 65$) é $[\text{Xe}] 4f^9 6s^2$, e na Figura 11 são mostradas as transições eletrônicas associadas ao íon Tb^{3+} , com multipletos de baixa energia com configuração eletrônica $4f^8$.

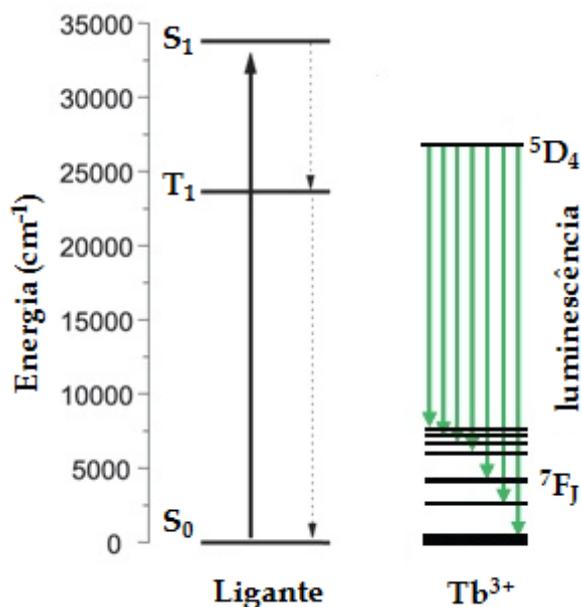


Figura 11. Diagrama de energia para o íon Tb^{3+} . Modificado de [46].

Para complexos com íon Tb^{3+} em soluções aquosas, todas as emissões provêm essencialmente do nível 5D_4 quando a excitação é a $\nu > 490$ nm (20400 cm^{-1}). A emissão pode ser vista em cada uma das regiões de transição $^5D_4 \rightarrow ^7F_J$ ($J = 0, 1, 2, 3, 4, 5$ ou 6), mas a emissão mais intensa invariavelmente é observada na transição $^5D_4 \rightarrow ^7F_5$ que ocorre em torno de $540 - 555$ nm. As emissões $^5D_4 \rightarrow ^7F_{0,1}$ são sempre fracas, e as intensidades relativas das emissões restantes decresce na seguinte ordem: $^5D_4 \rightarrow ^7F_6 > ^7F_4 > ^7F_3 > ^7F_2$.

O tempo de vida da luminescência do estado emissor 5D_4 de complexos com Tb^{3+} em solução aquosa, $\tau_{Tb} (^5D_4)$, geralmente decai de $0,4$ a $5,0$ ms. O tempo de vida é influenciado pela natureza complexa do ambiente ligante, e especialmente pelo número de moléculas de água ocupando o interior dos sítios de coordenação [45].

Assim, de acordo com as características e vantagens apresentadas pelo íon Tb^{3+} , esta terra-rara foi escolhida para utilização nesta parte do trabalho, que consistiu na síntese e caracterização de micropartículas de sílica mesoporosa com diferentes superfícies e impregnadas com complexo de íon lantanídeo.

Metodologia

Todos os reagentes foram comprados da Aldrich ou Fluka e usados como recebidos.

Síntese das micropartículas de sílica mesoporosa

A obtenção das micropartículas, de acordo com a Figura 12 a seguir, consistiu em misturar surfactante Tween 60 (2,6 g), água (98 mL), e 2 mL de ácido clorídrico (HCl), 1 mol.L⁻¹ (para ajuste do pH em 2); após isto 3,3 g do precursor de sílica, tetraetilortossilicato (TEOS), foram adicionadas, e a mistura foi mantida em hidrólise à temperatura ambiente sem agitação por 12 h, e então 2,5 g do catalisador da reação, fluoreto de sódio (NaF), foram adicionadas e a reação permaneceu em condensação por 72 h a 65° C sob agitação. Ao final deste período o precipitado obtido foi filtrado^[47].

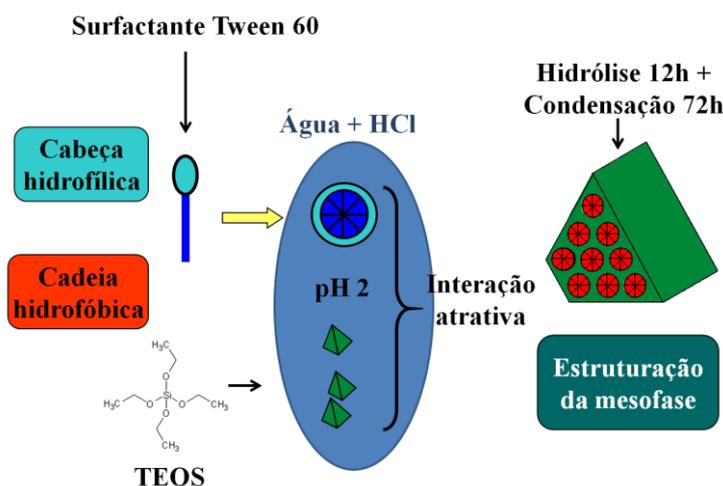


Figura 12. Esquema de formação de sílica do tipo MSU-X.

Neste trabalho foram usadas micropartículas de sílica com diferentes superfícies, provenientes de várias sínteses (para obtenção de material em quantidade adequada), calcinada a 600° C para remoção completa do surfactante, lavada em extrator Soxhlet com a mesma proposta, funcionalizada com 3-aminopropil trietoxissilano (APTES) e funcionalizada com 3-glicidoxipropil trimetoxissilano (GPTMS), para acoplar grupos funcionais.

Funcionalização das micropartículas

Para a funcionalização da sílica com APTES, 5 g de micropartículas de sílica mesoporosa foram secas a 150° C sob vácuo por 24 h, e logo após foram misturadas a 70 mL de n-dimetilformamida (DMF)^[48]. A reação de pré-hidrólise do APTES foi realizada com 19,3 mL de água destilada, 1,9 mL de HCl (1×10^{-2} mol.L⁻¹) e 22,5 mL APTES, por 1 h sob agitação magnética. Após isto, a solução de pré-hidrólise foi adicionada à sílica com DMF para a funcionalização. A mistura permaneceu em refluxo por 72 h a 120° C.

O mesmo procedimento foi adotado para a funcionalização das micropartículas de sílica com GPTMS. Mas as quantidades usadas foram diferentes, 3 g de micropartículas, 41,3 mL de DMF, 83 mL de água destilada, 8,32 mL HCl (1×10^{-2} mol.L⁻¹) e 10,98 mL de GPTMS.

Impregnação do Complexo Luminescente

Todas as sílicas foram impregnadas com o complexo Tb³⁺ - ácido L-glutâmico, a razão molar das concentrações das soluções usadas foi de 1:4 (íon térbio para ácido L-glutâmico)^[49]. A solução de térbio foi preparada usando etanol como solvente, a concentração da solução foi 5×10^{-2} mol.L⁻¹. A solução de ácido L-glutâmico foi preparada usando etanol como solvente, a concentração da solução foi 2×10^{-1} mol.L⁻¹. Após esta etapa, a solução do ácido L-glutâmico foi adicionada à solução de Tb³⁺ (na razão 1:1), para a formação completa do complexo lantanídeo-aminoácido.

A impregnação do complexo luminescente nas sílicas foi realizado pela adição de 5 mL do complexo luminescente em 0,15 g de sílica mesoporosa, a mistura foi mantida sob agitação para solubilização; após isto o precipitado foi lavado 3 vezes e seco a 50°C, para remoção do excesso de complexo luminescente.

Caracterização

Os materiais obtidos passaram pelas seguintes técnicas de caracterização: Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM), para observar a morfologia e tamanho das partículas, em um microscópio eletrônico JEOL SJM 6490, as medidas foram realizadas no Laboratório de Microscopia Eletrônica do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LME/LNLS, em Campinas). Medidas de porosidade, para coletar informações sobre a área de superfície e diâmetros de poros), em um Micromeritics 2010 usando procedimento de padrão contínuo, com degasagem inicial das amostras a 150° C por 15 h, a 77 K. As áreas de superfície foram determinadas pelo método de Brunauer-Emmett-Teller (BET) dentro de uma escala de pressão de 0,05 – 0,2. As distribuições de tamanho de poros foram calculadas apenas para tamanhos acima de 2,5 nm da curva de dessorção, usando uma correlação polinomial entre a pressão relativa e o diâmetro de poros deduzido do modelo de Broekhoff e Boer (BdB) ^[50,51]. Para facilitar as comparações, as curvas de adsorção reduzidas (isotermas divididas pela quantidade adsorvida a uma pressão relativa de 0,8) foram demonstradas^[52]. O efeito da absorção foi corrigido para todas as amostras. Espalhamento de raios X a baixo ângulo (SAXS), para analisar a organização e o arranjo de poros, as medidas foram realizadas no Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS, em Campinas), foram usadas uma fenda assimétrica e um monocromador de silício (111), com feixe monocromático ($\lambda=1,488 \text{ \AA}$) e foco horizontal. A intensidade espalhada foi coletada com um “imaging plate” localizado a 849,64 mm da amostra. O comprimento da câmera corresponde a um vetor de espalhamento q que vai de 0,018 a 0,39 \AA^{-1} . Os *beam-stoppers* horizontal e vertical foram usados para absorver o feixe de raios X direto e totalmente refletido, respectivamente. A maioria dos padrões exibiu um pico de difração único que foi atribuído à distância de correlação dos poros^[47]. Esta distância de correlação do centro de um poro a outro é referido como *d-spacing*. Espectroscopia de luminescência, para estudar as propriedades luminescentes e possíveis interações entre o complexo luminescente e a superfície da sílica, foi realizada em um espectrofluorímetro SPEX-FluoroLog, com lâmpada de xenônio de 450 W, sem correção dos espectros, com incremento e abertura de fenda variando por amostra.

Resultados e Discussão

Os resultados experimentais são apresentados e discutidos inicialmente com a microscopia eletrônica de varredura (SEM). A imagem de SEM, Figura 13, mostra partículas de sílica pura lavada de tamanho micrométrico com formato heterogêneo, variando de bastonetes a esferas, o que é característica de sílica mesoporosa do tipo MSU-X. Este tipo de material é denominado Michigan State University, ou MSU-X (o X refere-se à natureza do surfactante, que pode ser: 1 para alquil-PEO, 2 para alquilaril-PEO, 3 para copolímero em bloco polipropilenóxido-PEO, e 4 para éster de sorbitan etoxilado do tipo não-iônico – Tween), e é preparado sob condições neutras ou moderadamente ácidas. O tamanho médio das partículas foi estimado pelo programa *ImageJ*^[53], foram utilizadas 2 imagens e 185 partículas foram contadas, com esta estimativa foi construído um histograma para mostrar a distribuição do tamanho das partículas, o tamanho médio estimado foi de 3,3 μm com um desvio-padrão de 0,91 μm (Figura 14). A morfologia e estrutura final do material tipo MSU-X são altamente dependentes dos parâmetros do meio reacional, tais como interação local criada pelo equilíbrio lipofílico/hidrofílico, o movimento Browniano que destrói a rede, a cinética de hidrólise e a polimerização da sílica. Síntese de sílica mesoporosa do tipo MSU-X baseada em ligações de hidrogênio ilustra perfeitamente a versatilidade desta abordagem, desde que a estrutura final do material (diâmetro de poro, tamanho de partícula) possa ser prontamente modificada pelo ajuste dos vários parâmetros de sínteses, com o mesmo meio de reação^[54].

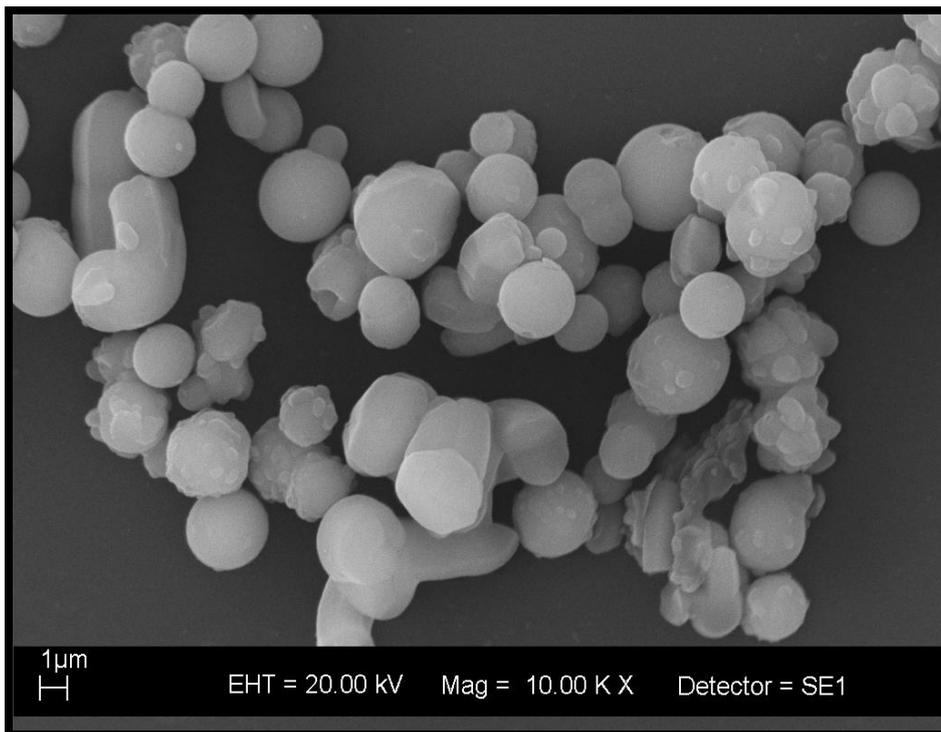


Figura 13. Imagem da sílica pura lavada.

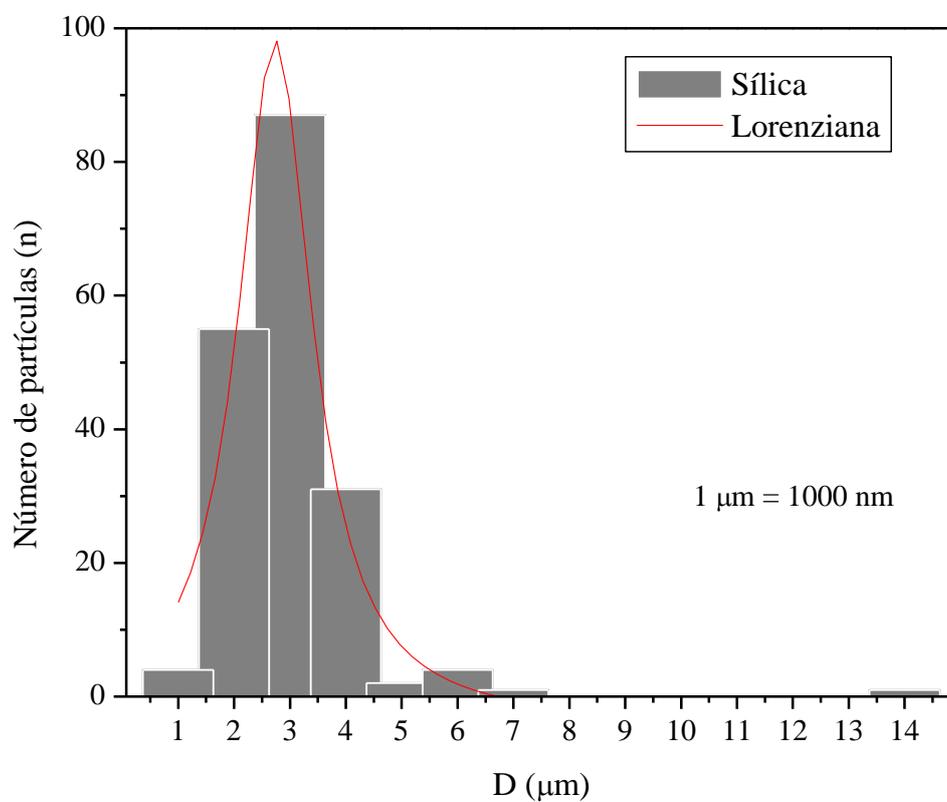


Figura 14. Histograma do diâmetro de partículas pelo número de partículas contadas.

Os gráficos das Medidas de porosidade, Figuras 15, 16, 17 e 18, mostram isotermas de adsorção-dessorção de Nitrogênio a 77 K. A histerese e o formato das curvas revelam características de materiais mesoporosos. As Figuras também mostram que a área de superfície não foi alterada em todas as amostras, apresentando uma alta área superficial ($1200 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$), alterando-se apenas os tamanhos médios de poros: para a sílica lavada 3,5 nm; para a sílica calcinada 4,4 nm; para a sílica funcionalizada com APTES 4 nm, e para a sílica funcionalizada com GPTMS 3,9 nm. Portanto, as amostras exibem estrutura substancial de mesoporos confinados. As isotermas de adsorção para a sílica lavada não exibe histerese, característica de poros uniformes, a adsorção não aumenta em pressão relativa alta, característica de porosidade textural, e de poros em formato de “pescoço”. Além do mais, uma tendência paralela é observada para as isotermas de adsorção-dessorção das outras sílicas, onde a curva de adsorção assume um desvio em direção a pressão relativa alta, que é característica de tamanho de poros grandes. As amostras mostram distribuição estreita de poros, típica de materiais estruturados por moldes (do inglês, *materials template structured* – MTS), com isotermas de adsorção-dessorção de Nitrogênio do tipo IV^[47].

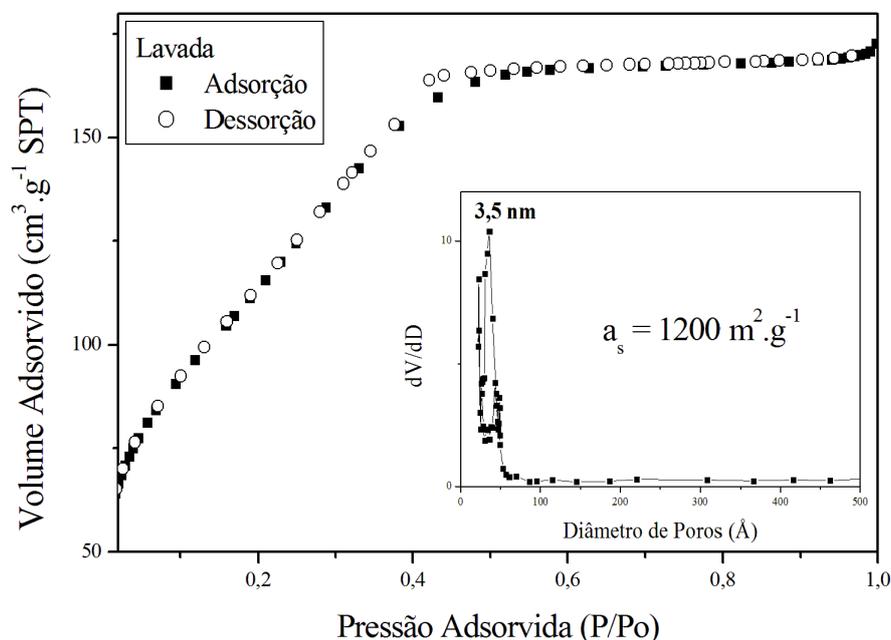


Figura 15. Isoterma de adsorção-dessorção da sílica mesoporosa lavada, com distribuição do tamanho de poros inserido.

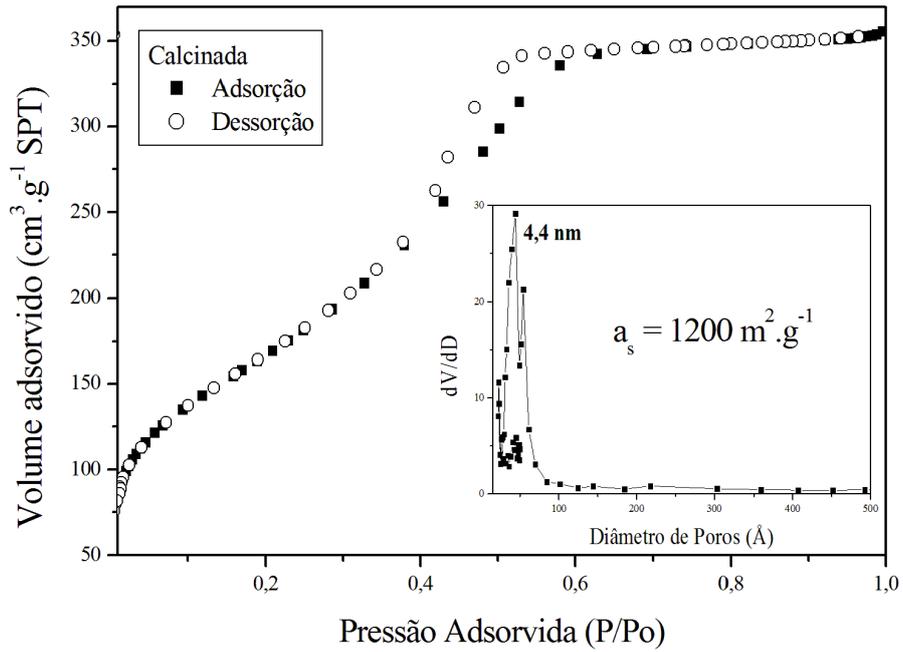


Figura 16. Isotherma de adsorção-dessorção da sílica mesoporosa calcinada, com distribuição do tamanho de poros inserido.

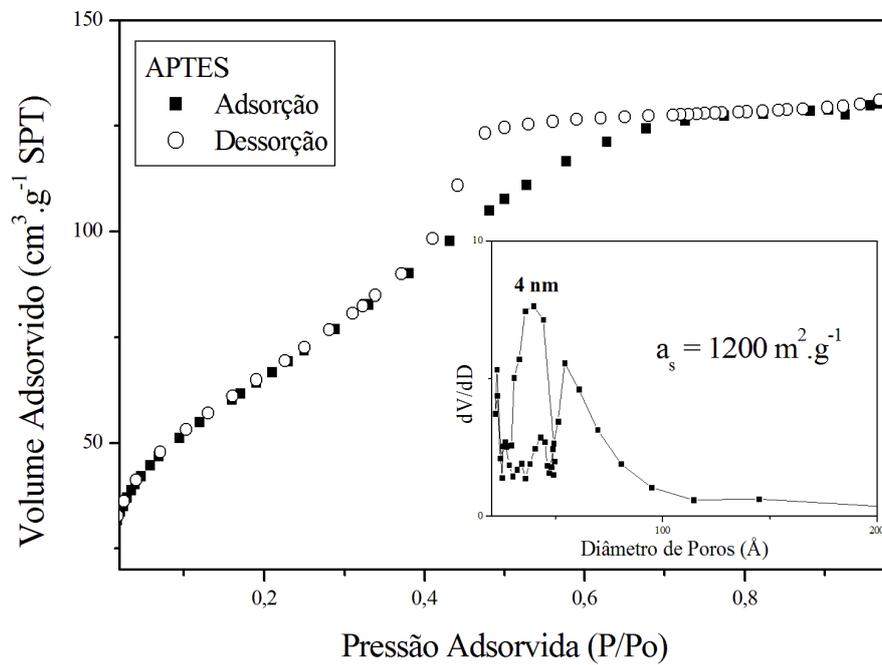


Figura 17. Isotherma de adsorção-dessorção da sílica mesoporosa funcionalizada com APTES, com distribuição do tamanho de poros inserido.

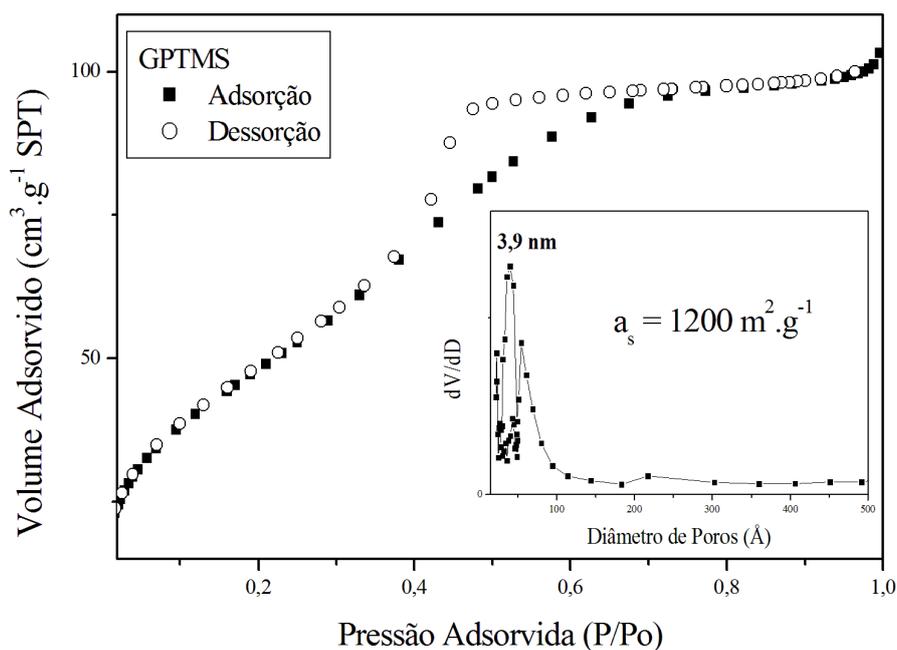


Figura 18. Isotherma de adsorção-dessorção da sílica mesoporosa funcionalizada com GPTMS, com distribuição do tamanho de poros inserido.

As medidas de SAXS, Figura 19, foram realizadas para coletar informações sobre a estrutura e arranjo de poros. Uma visão dos espectros demonstra o pico de difração d_1 1 0 0 para as sílicas lavada, calcinada e funcionalizada com GPTMS. A presença de apenas um pico de difração, para todas as sílicas (exceto funcionalizada com APTES), denota material com arranjo de poros do tipo “vermicular” em 3D, mesoestrutura ordenada, e a qualidade da amostra pode ser estimada pela intensidade da linha de difração^[51, 55]. As espessuras das paredes foram estimadas por cálculo usando a equação de^[47] (**Espessura da parede** = $d_{\text{spacing}} - d_{\text{poro}}$; onde d é o diâmetro), os valores foram estimados em 2,3 nm para sílica funcionalizada com GPTMS; 3,5 nm para a sílica calcinada, e 1,6 nm para a sílica lavada.

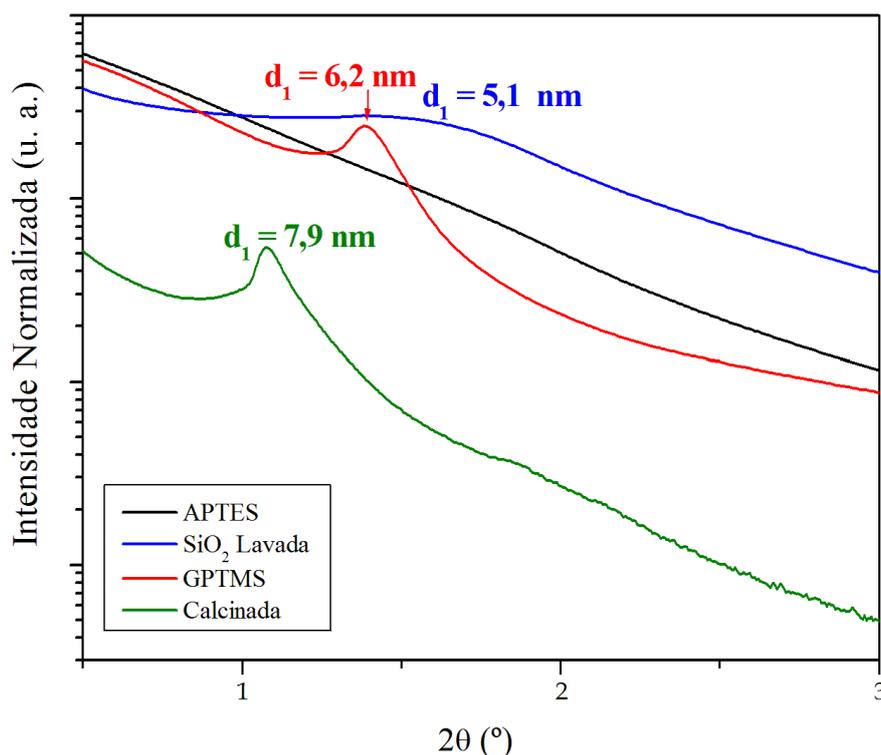


Figura 19. Espectros de SAXS da sílica lavada, calcinada, funcionalizada com APTES e funcionalizada com GPTMS.

Na Tabela 2, estão distribuídos os valores dos tamanhos de poros, que foram obtidos nas medidas de porosidade e se encontram nos gráficos anteriores; os valores dos picos de difração (d_1 1 0 0), obtidos a partir das medidas de SAXS (apresentados no gráfico anterior), e as espessuras estimadas da parede.

Espera-se que com a calcinação a alta temperatura o tamanho de poros diminua ocasionado pelo fechamento destes, porém neste trabalho foram utilizadas sílicas provenientes de diferentes sínteses, o que explica porque o tamanho de poros da sílica calcinada é maior que o da sílica lavada, e conseqüentemente os tamanhos de poros das sílicas funcionalizadas. Também referente à sílica calcinada pode ter ocorrido o colapso dos poros, onde uma espessura de parede inicialmente fina pode ter sido aberta e dois poros vizinhos se tornaram apenas um, o que aumentou também o tamanho da espessura da parede. Um tamanho de parede maior em sílicas funcionalizadas devido ao aumento do tamanho de poros, porém na sílica funcionalizada com APTES não foi possível estimar o tamanho de parede devido a ausência do pico de difração d_1 , nesta sílica é

possível que tenha havido o fechamento de poros por um excesso do agente de grupamento funcional utilizado, o que explica a ausência de valores.

Tabela 2. Valores dos tamanhos de poros das medidas de porosidade, picos de difração (d_1 1 0 0) de SAXS, e espessura estimada da parede.

Amostras de sílica mesoporosa	Tamanho de poro (nm)	Pico de Difração d_1 (nm)	Espessura da Parede (nm)
Lavada	3,5	5,1	1,6
Calcinada	4,4	7,9	3,5
Funcionalizada APTES	4,0	-	-
Funcionalizada GPTMS	3,9	6,2	2,3

Com relação à espectroscopia de luminescência, na Figura 20, estão os espectros de excitação para as diferentes sílicas impregnadas com complexo de ácido L-glutâmico e Tb^{3+} e para a solução do complexo puro. Observa-se o aparecimento de uma banda larga e intensa entre 250 e 300 nm que pode ser atribuída à matriz de sílica, o pico em 400 nm refere-se à transição $^7F_6 \rightarrow ^5D_4$ ^[10].

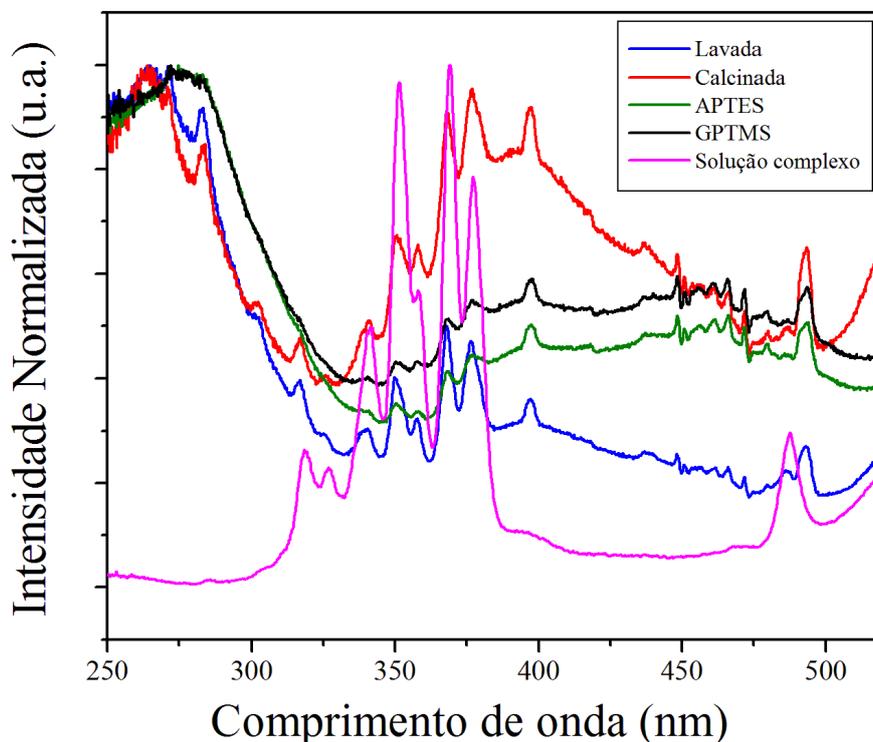


Figura 20. Espectros de excitação, $\lambda_{em} = 543$ nm, da solução de Tb^{3+} -ácido L-glutâmico; das sílicas lavada, calcinada, funcionalizada com APTES, e funcionalizada com GPTMS, impregnadas com Tb^{3+} -ácido L-glutâmico.

Os espectros de emissão (Figura 21), correspondentes às mesmas amostras, mostram os picos de transição característicos dos níveis de energia do íon trivalente térbio $^5D_4 \rightarrow ^7F_J$ ($J= 6, 5$ e 4) em 470 nm ^[3,7,56,57]. Picos com diferentes intensidades de luminescência são observados, a banda larga de energia maior que a transição $^5D_4 \rightarrow ^7F_6$ pode ser atribuída à interação entre o complexo e a superfície da sílica. Além do mais, a baixa linha de base indica que a absorção da rede Si-O poderia ser desprezada, a perda das moléculas bioativas é evitado e uma transferência de energia efetiva toma lugar entre os ligantes orgânicos modificados e o quelato de íon térbio. Os materiais híbridos mesoporosos mostram uma emissão relativamente intensa devido à estrutura da rede molecular Si-O covalentemente ligada, entre o complexo e a sílica mesoporosa^[56].

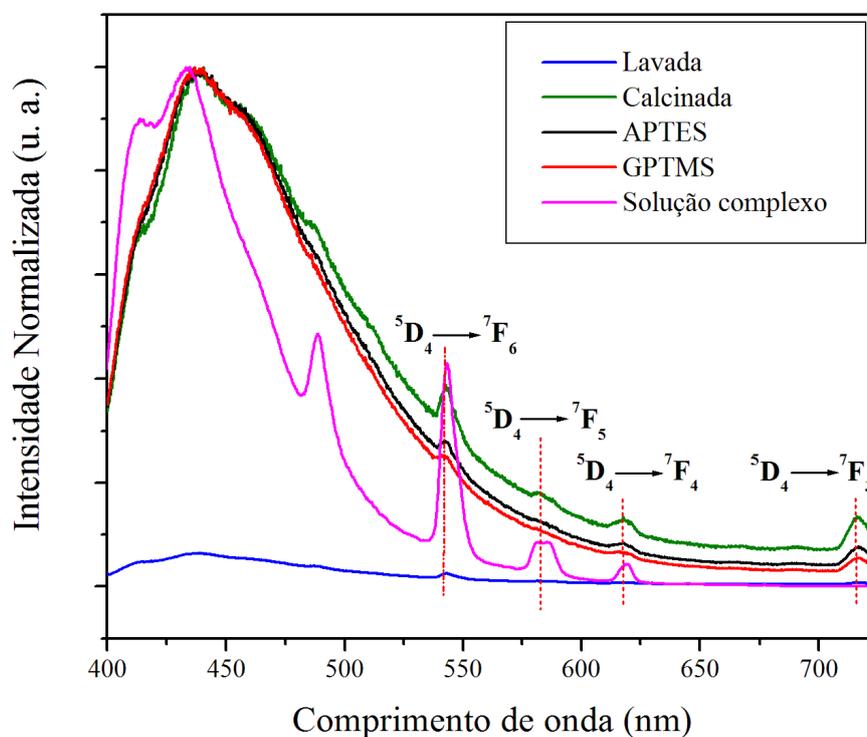


Figura 21. Espectros de emissão, $\lambda_{\text{exc}} = 377 \text{ nm}$, da solução de Tb^{3+} -ácido L-glutâmico; das sílicas lavada, calcinada, funcionalizada com APTES, e funcionalizada com GPTMS, impregnadas com Tb^{3+} -ácido L-glutâmico.

Tabela 3. Todos os tempos de vida da luminescência em cada comprimento de onda medido.

Sílicas	λ_{exc} (nm)	λ_{em} (nm)	τ_1 (ms)	τ_2 (ms)
APTES	250	488	0,49	0,76
	270	488	0,47	0,68
	369	488	0,36	-
	377	488	0,35	-
	250	543	0,60	-
	270	543	0,59	-
	369	543	0,36	0,52
	377*	543*	0,31*	0,50*
GPTMS	250	488	0,43	0,62
	270	488	0,42	0,59
	377	488	0,36	-
	250	543	0,54	-
	270	543	0,53	0,80
	377*	543*	0,34*	0,58*
Calcinada	250	488	0,34	-
	270	488	0,34	-
	373	488	0,31	-
	377	488	0,31	-
	250	543	0,36	-
	270	543	0,36	-
	373	543	0,33	-
	377*	543*	0,32*	-
Lavada	250	488	0,33	-
	270	488	0,33	-
	373	488	0,33	-
	377	488	0,32	-
	250	543	0,33	-
	270	543	0,32	-
	373	543	0,33	-
	377*	543*	0,33*	-

*O asterisco indica os lambdas de excitação e emissão utilizados para construção dos gráficos apresentados anteriormente.

Estudando as curvas de tempo de vida da luminescência, Figura 22, é possível ver que as sílicas não modificadas, calcinada e lavada, têm apenas um tempo de vida. Este único tempo de vida apresentado sugere que o íon Tb^{3+} esteja ocupando apenas um sítio.

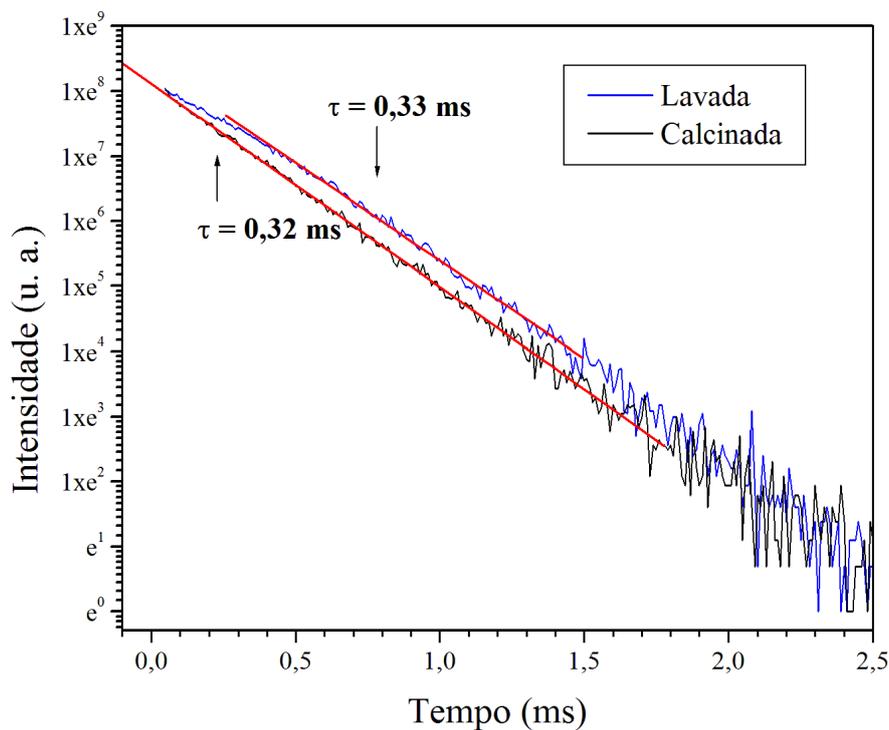


Figura 22. Curvas de decaimento de transição para a luminescência do íon Tb^{3+} (transição $^5D_4 \rightarrow ^7F_5$) nas matrizes de sílica calcinada e lavada. Os espectros foram adquiridos pela emissão a 543 nm e excitação a 377 nm.

Por outro lado, para as sílicas modificadas, funcionalizada com APTES e com GPTMS, (Figura 23) têm dois tempos de vida. Estes dois tempos de vida para as sílicas modificadas sugerem que o íon lantanídeo esteja ocupando dois diferentes sítios, um devido à adsorção da sílica pelo complexo, e o outro devido à interação entre a superfície da sílica e o complexo.

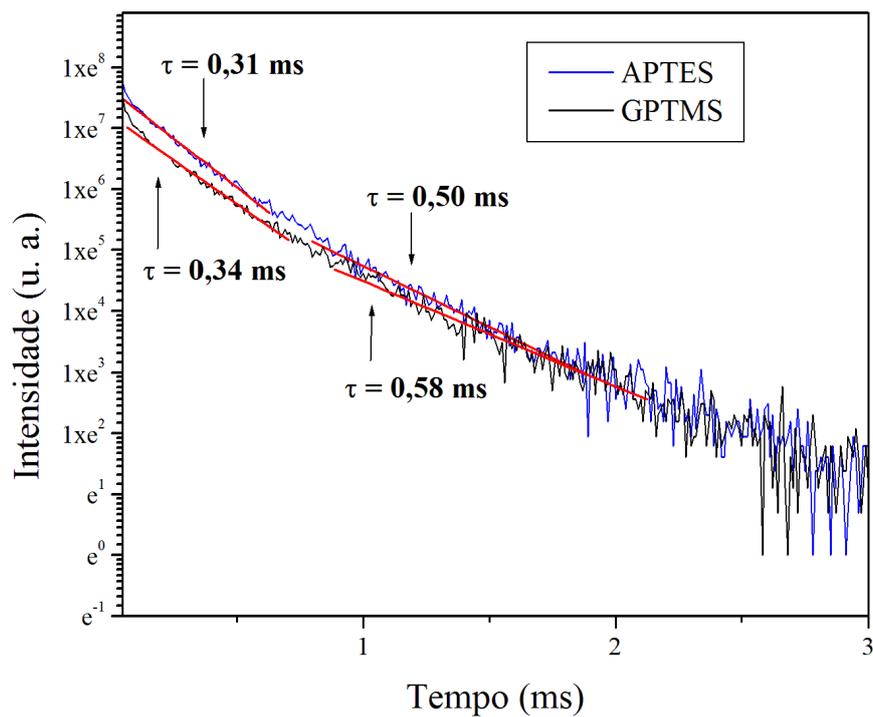


Figura 23. Curvas de decaimento de transição para a luminescência do íon Tb^{3+} (transição $^5D_4 \rightarrow ^7F_5$) nas matrizes de sílica funcionalizada com APTES e funcionalizada com GPTMS. Os espectros foram adquiridos pela emissão a 543 nm e excitação a 377 nm.

Conclusões

As medidas de porosidade e de SAXS mostraram que as matrizes sólidas obtidas pelo método sol-gel (sílica mesoporosa) possuem organização de poros e tamanhos definidos que as caracterizam como materiais mesoporosos, mesmo após a modificação da superfície dos canais das sílicas obtidas.

Quando se modifica a superfície das micropartículas, deslocamentos nas bandas de excitação são notados.

Os complexos luminescentes podem ser ligados às micropartículas de sílica mesoporosa sem perdas significantes das propriedades de luminescência do íon lantanídeo, o que é confirmado pelos espectros de excitação e emissão, o que reforça sua importância como uma alternativa promissora aos biomarcadores existentes.

CAPÍTULO 2

Nanopartículas de sílica

mesoporosa

O Európio (Eu³⁺)

O íon Eu³⁺, assim como o íon Tb³⁺ apresentado no Capítulo anterior, faz parte do grupo dos lantanídeos e exibe as características e vantagens próprias deste grupo, além de ser luminescente quando forma complexos com ligantes, como o íon Tb³⁺. Também exibe múltiplas emissões (devido às suas várias transições eletrônicas), e assim como o íon Tb³⁺, quando em complexos com ligantes, as intensidades relativas e as características das bandas de emissão são influenciadas pelo ligante. Sua propriedade luminescente o torna, também, um ótimo candidato para o uso como sondas luminescentes em sistemas biomoleculares. Para ser usado em sistemas biomoleculares é necessário e desejável que suas propriedades ligantes tenham algum grau de seletividade, e isso também é satisfeito pelo íon Eu³⁺[45].

Os números de coordenação para o Eu³⁺ em água, são 8 e 9, os mesmos do íon Tb³⁺. Como discutido no Capítulo anterior, em relação aos sistemas biomoleculares, os seguintes pontos são de especial importância: *sítio de seletividade, tamanho e geometria dos sítios de ligação* (~1,07 - 1,12 Å, para Eu³⁺), *forças de ligação, sítios de distorção*[45].

Estes pontos sugerem que o Eu³⁺ se ligaria a uma ampla variedade de sistemas de interesse biológico e que estas ligações exibiriam um alto grau de seletividade. E mais, não se espera que estas ligações resultem em maiores perturbações nas características estruturais inerentes ao sistema hospedeiro[45].

A configuração eletrônica do Eu³⁺ (Z = 63) é [Kr] 4d¹⁰ 4f⁶ 5s² 5p⁶ e os níveis de energia da transição 4f⁶ são apresentados no diagrama da Figura 24 com a notação ^{2S+1}L_J.

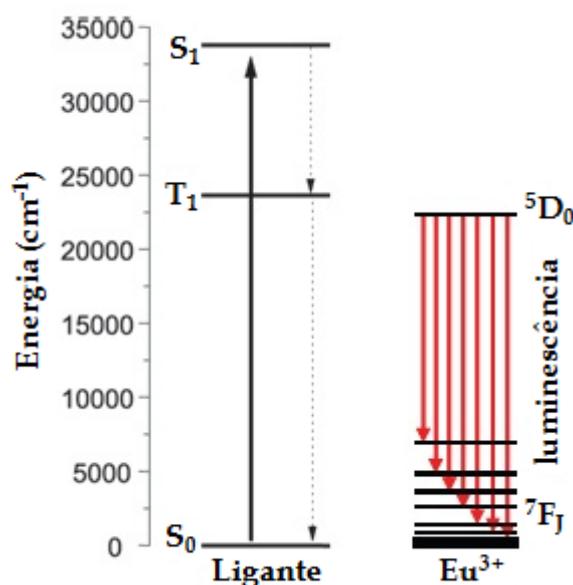


Figura 24. Diagrama de energia para o íon Eu^{3+} . Modificado de [3].

Em complexos de Eu^{3+} em soluções aquosas, toda emissão provém essencialmente do nível não-degenerado $^5\text{D}_0$ quando a excitação é a $\nu > 578 \text{ nm}$ (17300 cm^{-1}). As emissões mais intensas são invariavelmente observadas nas regiões de transição $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_1$ e $^7\text{F}_2$, a emissão $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_4$ é frequentemente observada com menor intensidade. As intensidades das emissões restantes, $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_J$, são geralmente ou muito fracas ou não-observáveis. As intensidades relativas das emissões das transições $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_1$ e $^7\text{F}_2$ são muito sensíveis à natureza complexa do ambiente ligante, refletindo o caráter hipersensível da transição $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_2$. Mesmo em sistemas de baixa simetria a transição $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_1$ retém seu caráter dipolo-magnético, e sua probabilidade de transição radiativa não é afetada pelo ambiente ligante. Em contraste, as transições $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_2$ e $^7\text{F}_4$ são predominantemente de caráter dipolo-elétrico, e suas probabilidades de transições radiativas são sensíveis à natureza complexa do ambiente ligante. A transição $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_0$ é formalmente permitida apenas em sistemas de baixa simetria, e adquire sua intensidade via mecanismo de dipolo-elétrico. Embora a emissão de $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_0$ seja de intensidade relativamente fraca, é igualmente sensível à complexidade do ambiente ligante, podendo indicar a presença de mais de um sítio de coordenação^[45].

Em complexos de Eu^{3+} presentes em soluções não-aquosas, às vezes é possível observar emissões dos níveis $^5\text{D}_1$ e $^5\text{D}_2$ quando a excitação é a $\nu > 523 \text{ nm}$ (19100 cm^{-1}) (para emissão de $^5\text{D}_1$) ou $\nu > 465 \text{ nm}$ (21500 cm^{-1}) (para emissão de $^5\text{D}_2$). Embora estas emissões sejam de fraca intensidade, quando comparadas àquelas originadas do nível $^5\text{D}_0$, sua presença

pode complicar a interpretação dos resultados de decaimento da emissão e dos padrões espectrais^[45].

As transições de mais intensidade para complexos de Eu^{3+} são ${}^5\text{D}_0 \rightarrow {}^7\text{F}_1$ e ${}^7\text{F}_2$.

O tempo de vida da luminescência de ${}^5\text{D}_0$ de complexos de Eu^{3+} em solução aquosa, $\tau_{\text{Eu}}({}^5\text{D}_0)$, geralmente decai de 0,1 a 1,0 ms.

Portanto, de acordo com as características e vantagens apresentadas pelo íon Eu^{3+} , esta terra-rara foi escolhida para utilização nesta parte do trabalho, que consistiu na síntese e caracterização de nanopartículas de sílica mesoporosa dopadas com íon lantanídeo acopladas a um ligante a 1,10-fenantrolina e recobertas com sílica e 3-aminopropiltrimetoxissilano (APTMS).

Metodologia

Todos os reagentes foram utilizados como recebidos, das marcas PRS Panreac, Rhône-Poulenc, Ega-Chemie e Aldrich.

Síntese de nanopartículas de sílica mesoporosa

Os nomes das amostras correspondem às iniciais do nome e ao número da síntese, e encontram-se no decorrer do texto como na Tabela 4 a seguir. O agitador magnético com chapa de aquecimento utilizado é o modelo 10516 da Fisherbrand (com controle de agitação de 0 a 10).

Tabela 4. Nomenclatura e descrição das amostras.

Nome	Descrição
JJ3	Sílica pura calcinada.
JJ5	Sílica pura calcinada.
JJ12	Sílica JJ3 dopada com Eu^{3+} .
JJ13	Sílica JJ5 dopada com Eu^{3+} .
JJ122	Sílica JJ12 impregnada com 1,10-fenantrolina.
JJ131 e JJ134	Sílica JJ13 impregnada com 1,10-fenantrolina, os números diferentes indicam sínteses diferentes.
JJ133-2	Sílica JJ131 ou JJ134 recoberta com APTMS e TEOS.

A reação foi mantida sob controle em um sistema reacional para síntese de sílica mesoporosa, como mostra o modelo e a foto, na Figura 25, abaixo:

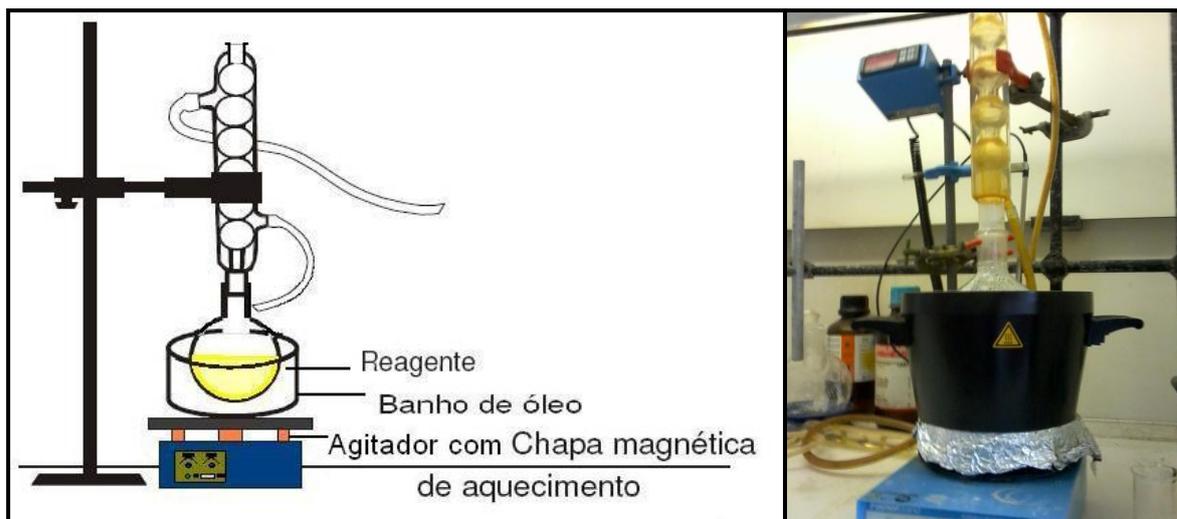


Figura 25. Esquema do modelo de sistema reacional para síntese de sílica mesoporosa (esquerda), e foto do sistema no laboratório (direita).

Foram realizadas 23 sínteses de nanopartículas de sílica mesoporosa, e duas amostras foram selecionadas, após a caracterização de todas elas por SEM e SAXS, para dar prosseguimento aos estudos de luminescência, as sílicas escolhidas são as denominadas **JJ3** e **JJ5**. Os protocolos de síntese das nanopartículas escolhidas foram modificados de ^[23].

A seguir é apresentada a Tabela 5 contendo todos os nomes e descrição das amostras sintetizadas.

Tabela 5. Nomes, Descrição e Rendimento total de cada amostra preparada.

Nome	Descrição	Rendimento
JJ1	Sílica MCM-41, síntese de 20 h, via sol-gel, 5 ml de TEOS.	1,0 g
JJ2	Sílica MCM-41, síntese de 20 h, via sol-gel, 1 ml de TEOS.	0,2 g
JJ3*	Sílica MCM-41, síntese de 20 h, via sol-gel, 90°C (reação), agitação mínima.	1,0 g
JJ4	Sílica MCM-41, síntese de 20 h, via sol-gel, 60°C (reação).	1,0 g
JJ5*	Sílica MCM-41, síntese de 20 h, via sol-gel, 80°C agitação máxima.	1,0 g
JJ6	Sílica MCM-41, síntese de 20 h, via sol-gel, agitação mínima.	1,1 g
JJ7	Sílica MCM-41, síntese de 20 h, via sol-gel, 2 ml de TEOS.	0,2 g
JJ8	Sílica MCM-41, síntese de 20 h, via sol-gel, 2 ml de TEOS, base amônia.	0,4 g
JJ9	Sílica MCM-41, síntese de 20 h, via sol-gel, base amônia.	1,2 g
JJ10	Sílica MCM-41, síntese de 2 h, via sol-gel, reprodução de ^[58] (A).	0,2 g
JJ11	Sílica MCM-41, síntese de 24 h, via sol-gel, reprodução de ^[58] (G).	0,18 g
JJ12*	Síntese de JJ3 + dopagem com Eu(NO₃)₃ (5%).	0,7 g
JJ13*	Síntese de JJ5 + dopagem com Eu(NO₃)₃ (5%).	1,5 g
JJ14	Síntese de JJ10 + dopagem com Eu(NO ₃) ₃ (5%).	0,3 g
JJ15	Sílica MCM-41, síntese de 48 h, via sol-gel, 2 surfactantes, reprodução de ^[59] .	0,7 g
JJ16	Sílica MCM-41, síntese de 48 h, via sol-gel, 2 surfactantes, reprodução de ^[59] .	0,8 g
JJ17	Sílica MCM-41, síntese de 48 h, via sol-gel, 2 surfactantes, reprodução de ^[59] .	0,52 g
JJ18	Sílica MCM-41, síntese de 48 h, via sol-gel, 2 surfactantes, reprodução de ^[59] .	0,67 g
JJ19	Sílica MCM-41, síntese de 1 h, via sol-gel, agitação máxima.	1,0 g
JJ20	Sílica MCM-41, síntese de 2 h, via sol-gel, agitação máxima.	1,0 g
JJ21	Sílica MCM-41, síntese de 1 h, via sol-gel, 90°C (reação).	0,805 g
JJ22	Sílica MCM-41, síntese de 2 h, via sol-gel, 90°C (reação).	0,862 g
JJ23	Sílica MCM-41, síntese de 2h, via sol-gel, agitação máxima.	1,0 g
JJ24	Sílica MCM-41, síntese de 15 min, via sol-gel, agitação máxima.	1,0 g
JJ25	Sílica MCM-41, síntese de 30 min, via sol-gel, agitação máxima.	1,0 g
JJ26	Sílica MCM-41, síntese de 6 h, via sol-gel, agitação máxima.	0,977 g

*O asterisco indica que as sínteses apresentadas neste trabalho foram destacadas em vermelho.

O protocolo de síntese de JJ3 utilizado foi o seguinte: em um balão volumétrico foram dissolvidos 0,2821 g de hidróxido de sódio (NaOH) e 1,048 g de brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB) em 480 mL de água destilada. Em seguida, a mistura foi agitada e sua temperatura foi elevada a 90°C, sob agitação constante. Ao chegar à 90°C, foi adicionada à mistura 5 mL de TEOS, gota a gota lentamente, em um tempo de 20 minutos. A mistura foi deixada sob agitação no nível 4 do agitador magnético por 20 h. Após 20 h, o aquecimento e a agitação foram desligados e esperou-se a temperatura da reação esfriar até atingir a temperatura ambiente. O produto da reação foi então centrifugado e lavado por 4 vezes a 4500 rpm por 5 minutos cada vez. O material sedimentado foi levado para rápida secagem em estufa à temperatura entre 50-70°C, e após este período de secagem, o material foi levado para o forno onde ficou para tratamento térmico de 1° C por minuto até 500° C, esta temperatura foi mantida por 5 h, como representado na Figura 26, abaixo.

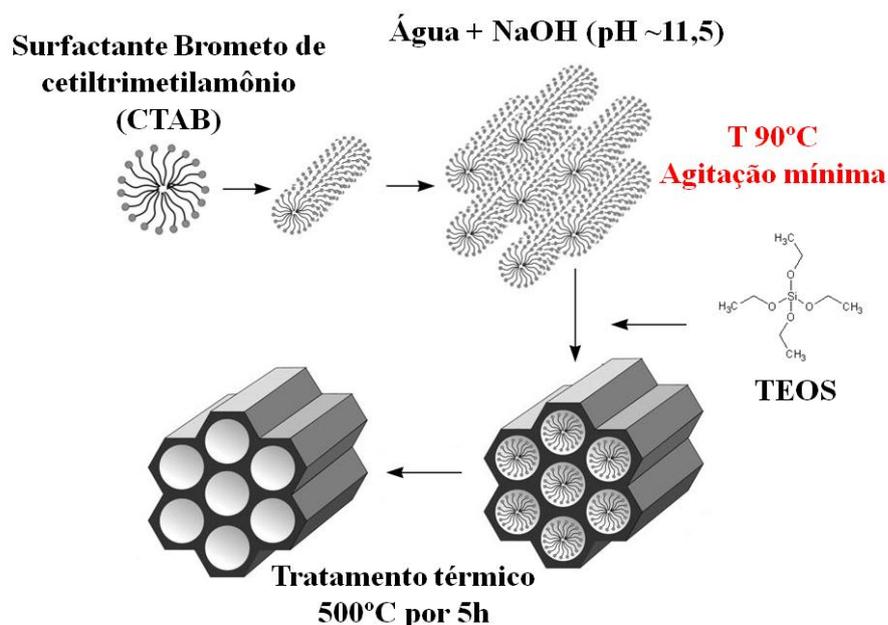


Figura 26. Esquema de formação de sílica do tipo MCM-41, JJ3.

O peso final do material recuperado após tratamento térmico foi de 1 g.

O mesmo protocolo de síntese utilizado para JJ3 foi utilizado para JJ5, mas a temperatura utilizada na síntese foi de 80°C, com velocidade máxima de agitação magnética, as quantidades e reagentes utilizados foram os mesmos, como mostrado na Figura 27.

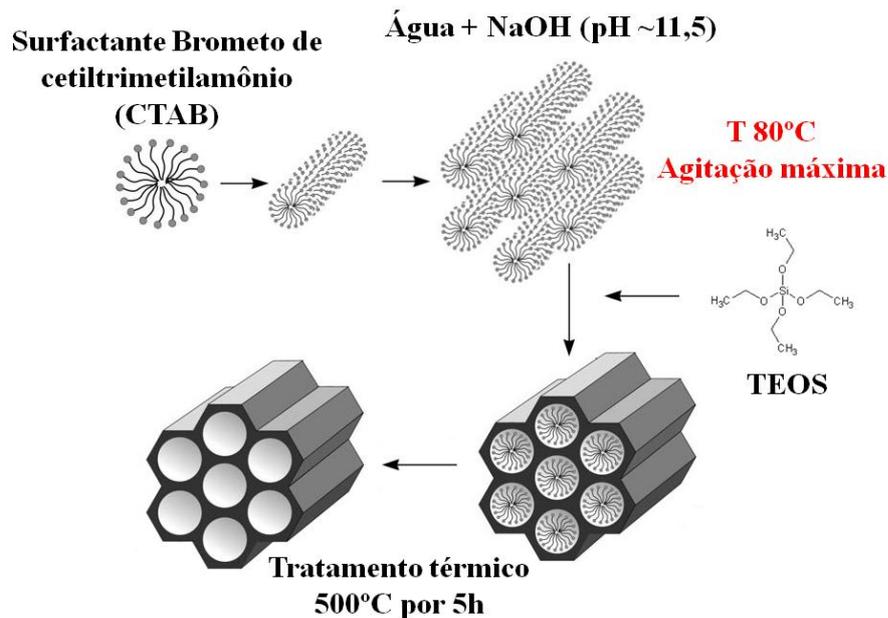


Figura 27. Esquema de formação de sílica do tipo MCM-41, JJ5.

O peso final do material recuperado após tratamento térmico foi de 1 g.

Dopagem das nanopartículas de sílica com Eu^{3+}

Após a caracterização das duas sílicas, JJ3 e JJ5 por SEM e SAXS, foram realizadas novas sínteses dessas mesmas sílicas, mas com a dopagem de nitrato de Európio ($\text{Eu}(\text{NO}_3)_3$) em solução, durante a síntese.

Foram utilizados 0,731 mL de $\text{Eu}(\text{NO}_3)_3$ para 5 mL de TEOS e 0,122 mL para 1,39 mL de TEOS, ou seja, 5% (porcentagem atômica) da quantidade de TEOS.

Após a dopagem com o Eu^{3+} as amostras foram denominadas: **JJ12** (JJ3 + Eu^{3+}) e **JJ13** (JJ5 + Eu^{3+}).

Impregnação do ligante nas nanopartículas dopadas com Eu^{3+}

O protocolo para a impregnação da 1,10-fenantrolina (estrutura molecular na Figura 28) na sílica JJ12 foi o seguinte: 50 mg de sílica mesoporosa JJ12, 50 mg de 1,10-fenantrolina e 50 mL de água destilada. A mistura permaneceu em agitação por 24 h à temperatura ambiente. Após 24 h, a mistura foi centrifugada e o precipitado obtido foi seco em sistema à

vácuo com passagem de Argônio (passagem de Argônio até a temperatura chegar a 80°C); após passagem de Argônio pela amostra, a mesma foi mantida por 2 h à temperatura de 120°C.

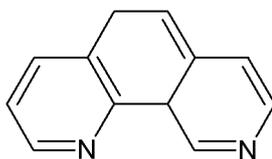


Figura 28. Estrutura molecular da 1,10 – fenantrolina.

O peso final do material recuperado após secagem na estufa foi de 38 mg. Após a impregnação com a 1,10-fenantrolina a amostra foi denominada **JJ122**.

O mesmo protocolo de síntese utilizado para a impregnação de 1,10-fenantrolina na sílica **JJ12** foi utilizado para a sílica **JJ13**.

O peso final do material recuperado após secagem na estufa foi de 43 mg. Após a impregnação com a 1,10-fenantrolina a amostra foi denominada **JJ131**.

Recobrimento das nanopartículas de sílica

O protocolo de síntese utilizado para recobrimento das nanopartículas de sílica mesoporosa dopadas com Eu^{3+} e com 1,10-fenantrolina impregnada, foi o seguinte: 30 mg de nanopartículas de sílica foram suspensas em 80mL de propanol e deixadas sob ultrassom durante 2h. Após 2h, a mistura foi retirada do ultrassom, 8,94 mL de hidróxido de amônio (NH_4OH) (28%), 7,5 mL de água destilada e 25 μL de TEOS foram adicionados à mistura e deixados em agitação em banho de óleo a 40°C durante 2 h.

Após 2 h, 100 μL de 3-aminopropiltrimetoxissilano (APTMS) foram adicionados e a mistura permaneceu em agitação por mais 1 h. Após 1 h, a mistura foi centrifugada a 3500 rpm e lavada com propanol. Em seguida, o precipitado recuperado foi levado à estufa para secagem por uma noite.

O peso final do material recuperado após secagem na estufa foi de aproximadamente 45 mg.

Caracterização

Os materiais obtidos passaram pelas seguintes técnicas de caracterização: SEM, para observar a morfologia e tamanho das nanopartículas; medidas de porosidade, para coletar informações sobre a área superficial e diâmetro de poros; SAXS, para analisar o arranjo e organização de poros; Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM), para observar a morfologia, tamanho das nanopartículas e dos poros, e arranjo de poros; espectroscopia de luminescência, para estudar as propriedades de luminescência dos materiais.

As imagens de SEM foram obtidas em um microscópio JEOL SEM FEG JSM 6330F e um microscópio JEOL 6490; as amostras foram depositadas em porta amostra de alumínio recoberto por carbono e platina.

As medidas de porosidade, obtidas através de isotermas de adsorção-dessorção de Nitrogênio foram medidas em um porosímetro Micromeritics ASAP2000, e as áreas superficiais foram determinadas pelo método de BET. Os espectros de SAXS foram obtidos usando um equipamento SEIFERT C3000, difratômetro com radiação Cu $K\alpha$.

As imagens de TEM foram obtidas usando um microscópio Philips Model CM20, as amostras foram dispersas em etanol com o auxílio do ultrassom durante 5 minutos e depositadas nas grades de microscopia com o auxílio de uma pipeta Pasteur.

A luminescência dos materiais foi estudada com um espectrofotômetro Jobin-Yvon Modelo Fluorolog FL3-22, equipado com uma fotomultiplicadora R928 Hamamatsu e uma lâmpada de excitação de Xe de 450 W, foram usados filtros 395 nm e 420 nm, e valor de incremento 0,5. Os espectros não foram corrigidos e as condições de abertura da fenda de excitação e emissão foram diferentes para cada amostra.

Resultados e Discussão

A Figura 29 apresenta uma imagem de SEM da amostra JJ3; onde estão partículas típicas de sílica mesoporosa do tipo MCM-41^[60-62]. Pela imagem de SEM é possível perceber muitas partículas agregadas que em alguns pontos formam grandes aglomerados. Foi possível estimar o tamanho de partículas usando o programa *ImageJ*^[53], sendo que foram utilizadas todas as 3 imagens obtidas e contadas um total de 242 partículas. O tamanho médio estimado (usando a medida do diâmetro Feret) foi de 116 nm com desvio padrão de 45 nm, os dados encontram-se no histograma da Figura 30. Nas imagens de SEM-FEG da Figura 31, o que se vê são partículas por vezes aglomeradas com heterogeneidade no formato e no tamanho.

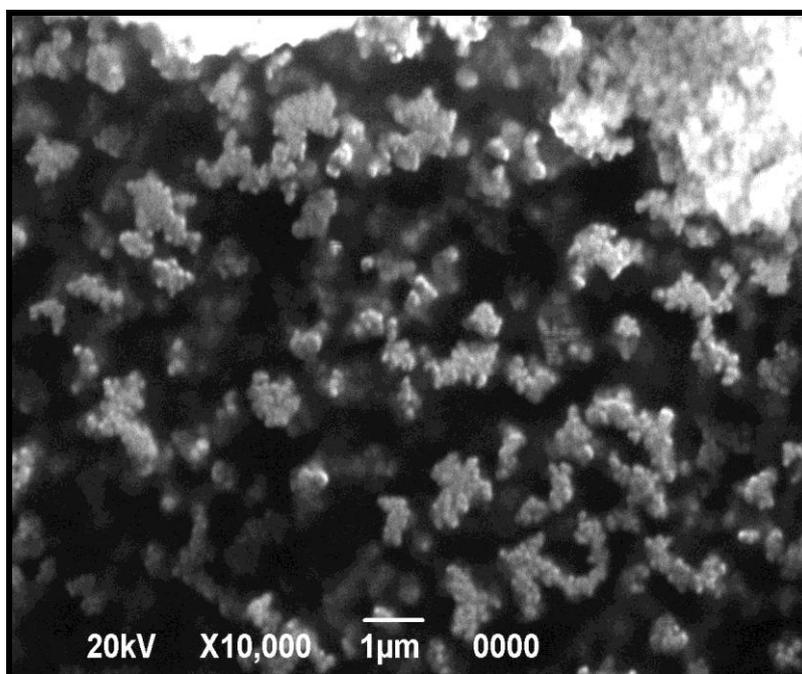


Figura 29. Microscopia eletrônica de varredura da amostra JJ3.

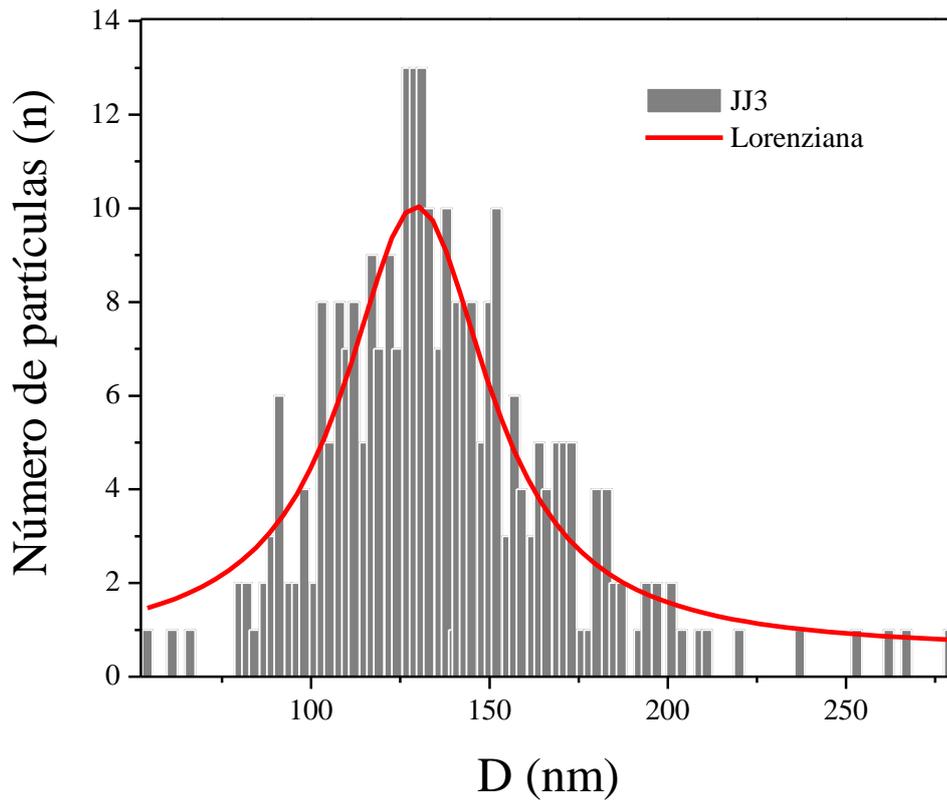


Figura 30. Histograma do diâmetro de partículas pelo número de partículas.

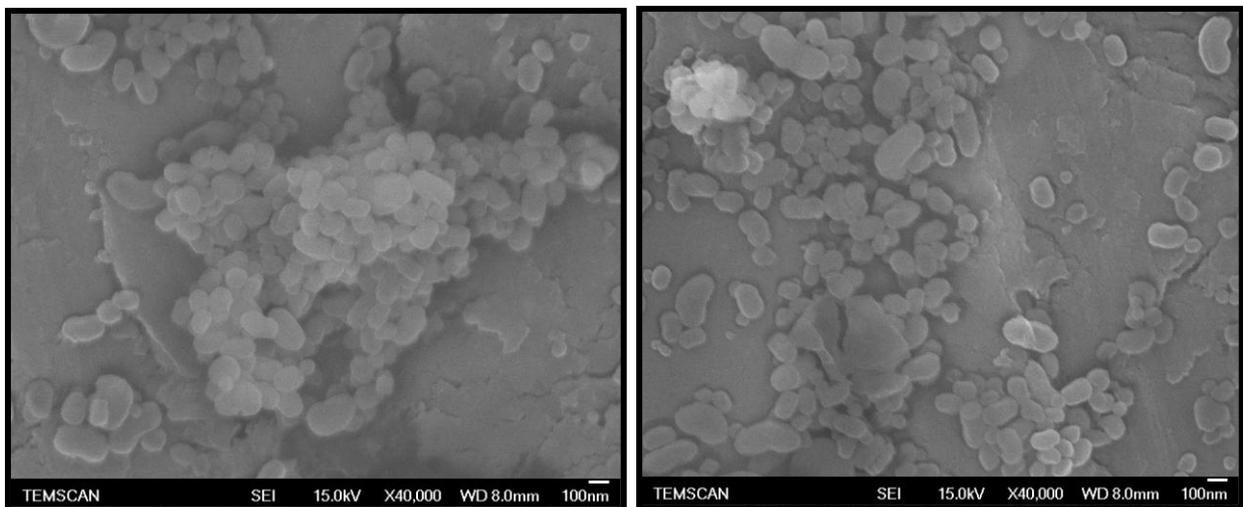


Figura 31. Microscopia eletrônica de varredura com FEG da amostra JJ3.

As Figuras 32 e 33 mostram as fotos de SEM e SEM/FEG, respectivamente, da amostra JJ12. Nas fotos de SEM e SEM/FEG é possível notar que a síntese com inserção do Európio deixou as partículas mais agregadas, formando mais aglomerados do que quando a

sílica é sintetizada sem o íon lantanídeo. O formato e o tamanho das partículas são muito heterogêneos.

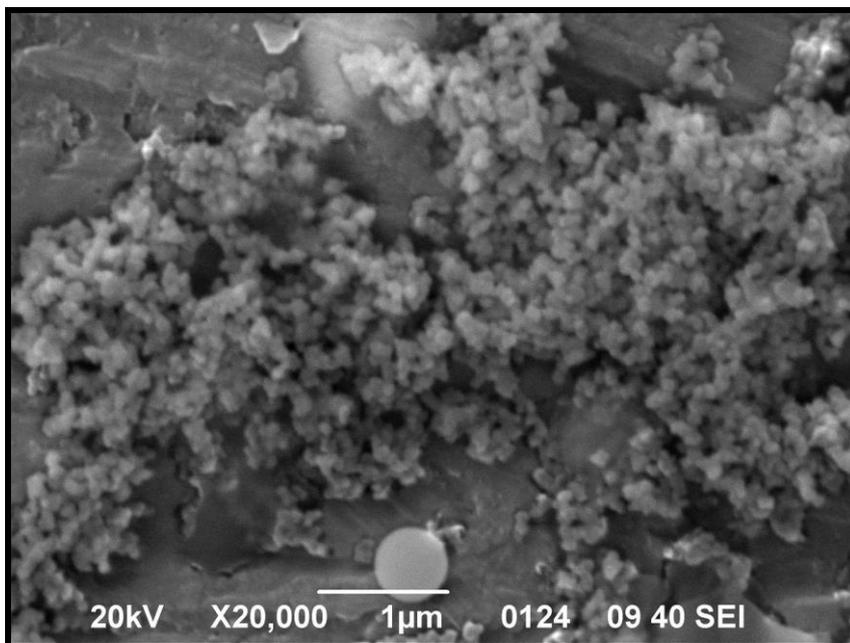


Figura 32. Microscopia eletrônica de varredura da amostra JJ12.

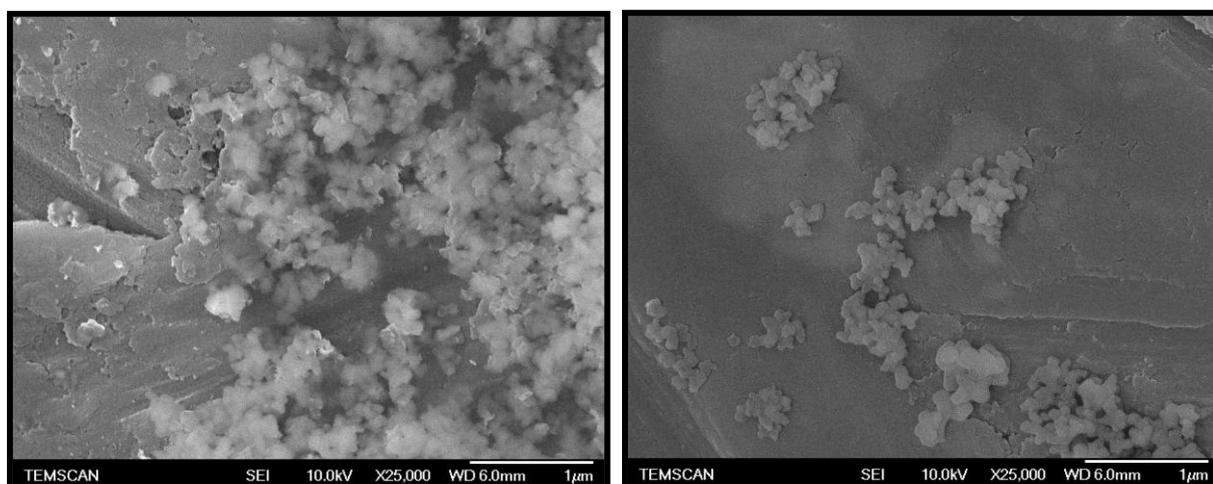


Figura 33. Microscopia eletrônica de varredura com FEG da amostra JJ12.

Já na Figura 34 tem-se fotos de SEM-FEG da amostra JJ122, respectivamente. Nas imagens nota-se que as partículas de sílica estão muito agregadas e aglomeradas, após a impregnação com a 1,10-fenantrolina, sendo que o tamanho e a forma das partículas não possui morfologia definida.

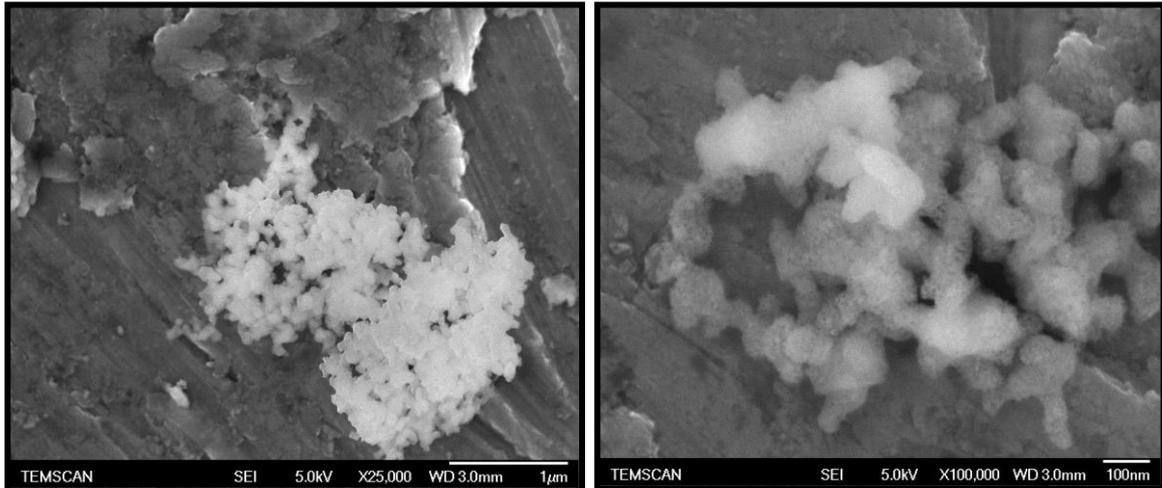


Figura 34. Microscopia eletrônica de varredura (SEM-FEG) da amostra JJ122.

A Figura 35 apresenta uma imagem de SEM da amostra JJ5, onde estão partículas típicas de sílica mesoporosa do tipo MCM-41^[60-62]. Pela imagem de SEM é possível perceber muitas partículas morfologicamente similares, formato circular, diferentemente do que ocorre com JJ3. Foi possível estimar o tamanho de partículas usando o programa *ImageJ*^[53], foram utilizadas todas as 2 imagens obtidas e foram contadas um total de 286 partículas, e o tamanho médio estimado (usando a medida do diâmetro Feret) foi de 137 nm com desvio padrão de 33 nm, os dados encontram-se no histograma da Figura 36. Nas imagens de SEM/FEG, Figura 37, o que se vê são partículas por vezes aglomeradas, e com pouca heterogeneidade no formato e no tamanho.

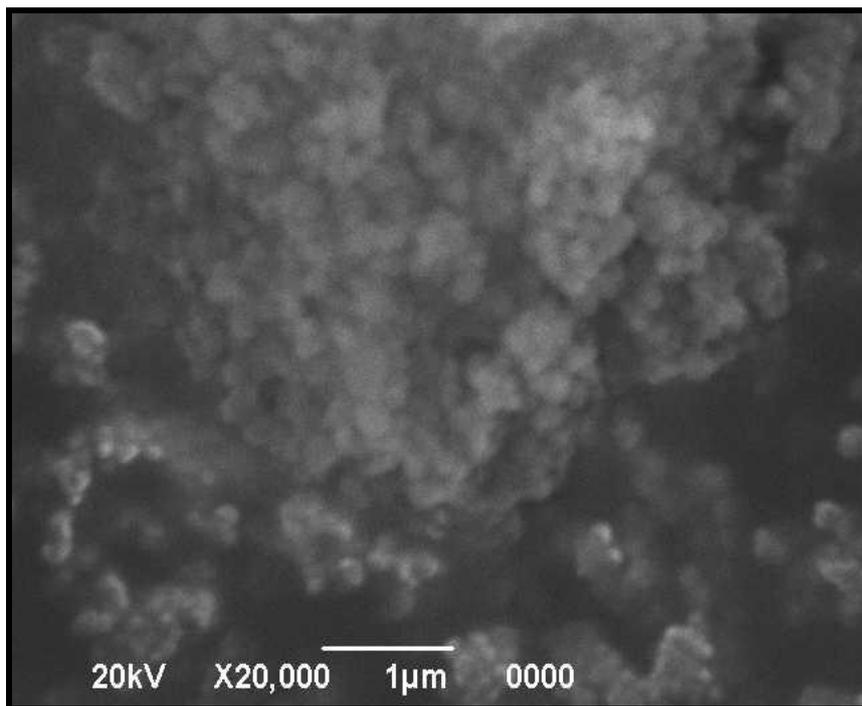


Figura 35. Microscopia eletrônica de varredura da amostra JJ5.

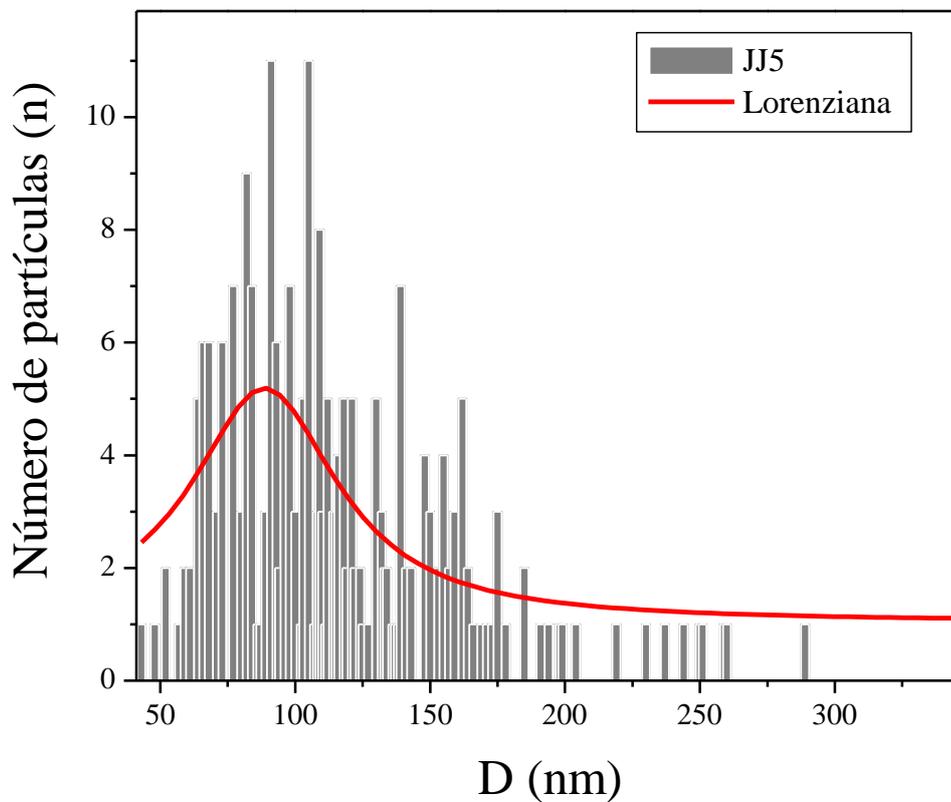


Figura 36. Histograma do diâmetro de partículas pelo numero de partículas.

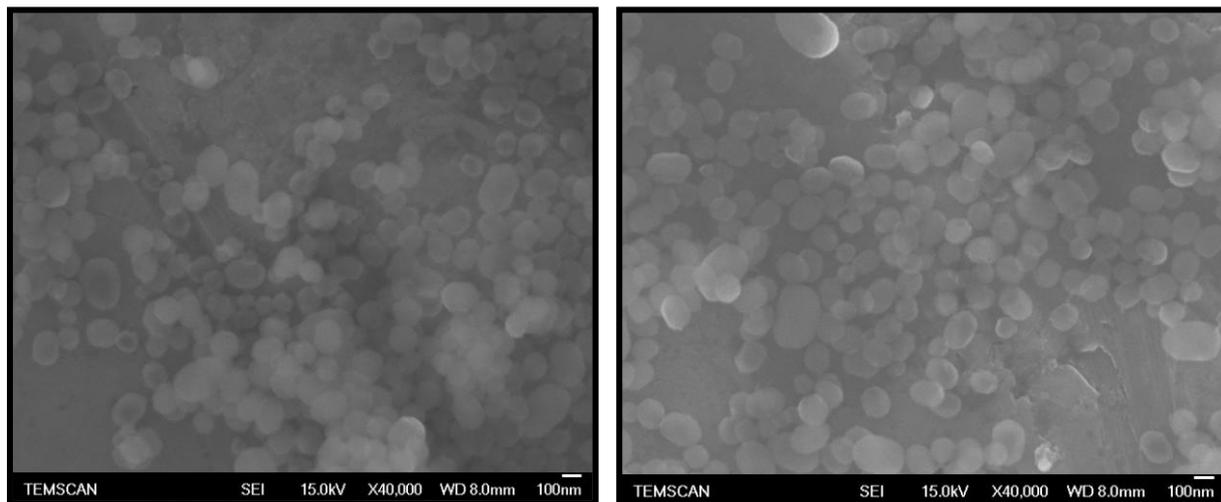


Figura 37. Microscopia eletrônica de varredura com FEG da amostra JJ5.

A Figura 38 mostra uma imagem de SEM da amostra JJ13. Na imagem de SEM é possível notar que a síntese com inserção do Európio deixou as partículas mais agregadas, formando grande aglomerado. O formato e o tamanho das partículas são heterogêneos. Foi possível estimar o tamanho de partículas com as imagens de SEM-FEG, usando o programa *ImageJ*^[53], foram utilizadas 8 imagens obtidas e foram contadas um total de 83 partículas, e o tamanho médio estimado (usando a medida do diâmetro Feret) foi de 209 nm com desvio padrão de 65 nm, os dados encontram-se no histograma da Figura 39. As imagens de SEM-FEG da Figura 40 confirmam as imagens de SEM, mostrando partículas mais agregadas, formando grande aglomerado, com formato e o tamanho heterogêneos.

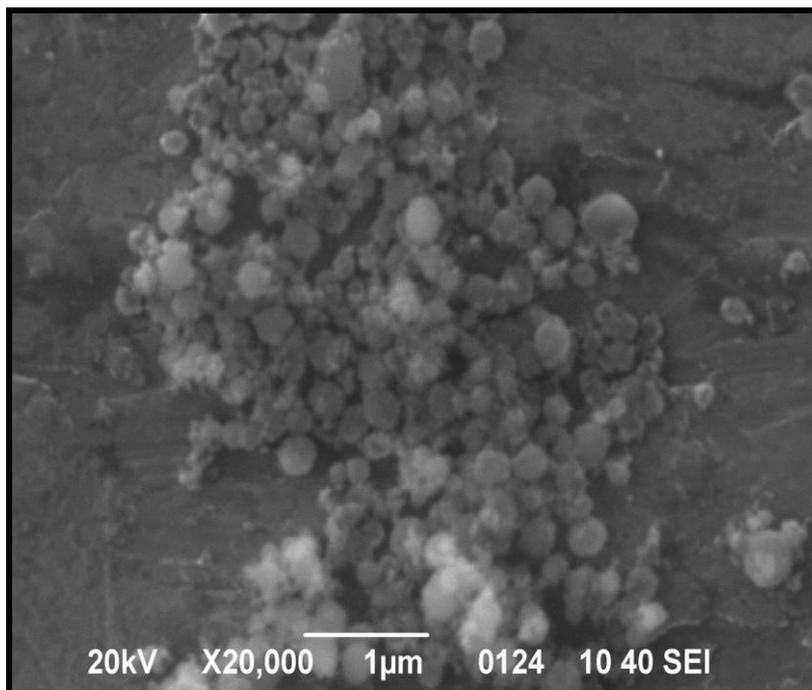


Figura 38. Microscopia eletrônica de varredura da amostra JJ13.

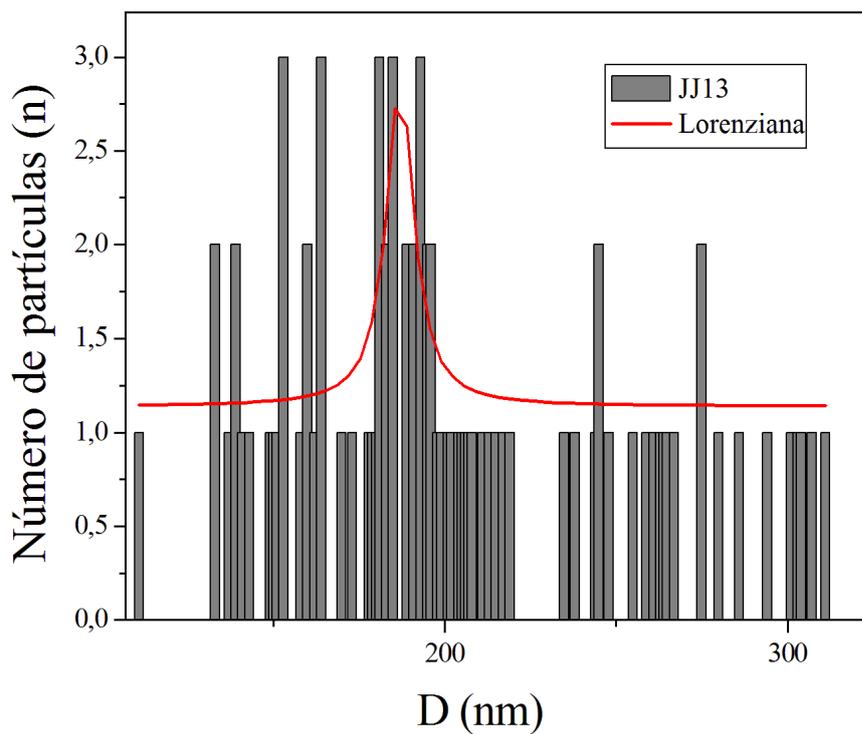


Figura 39. Histograma do diâmetro de partículas pelo numero de partículas.

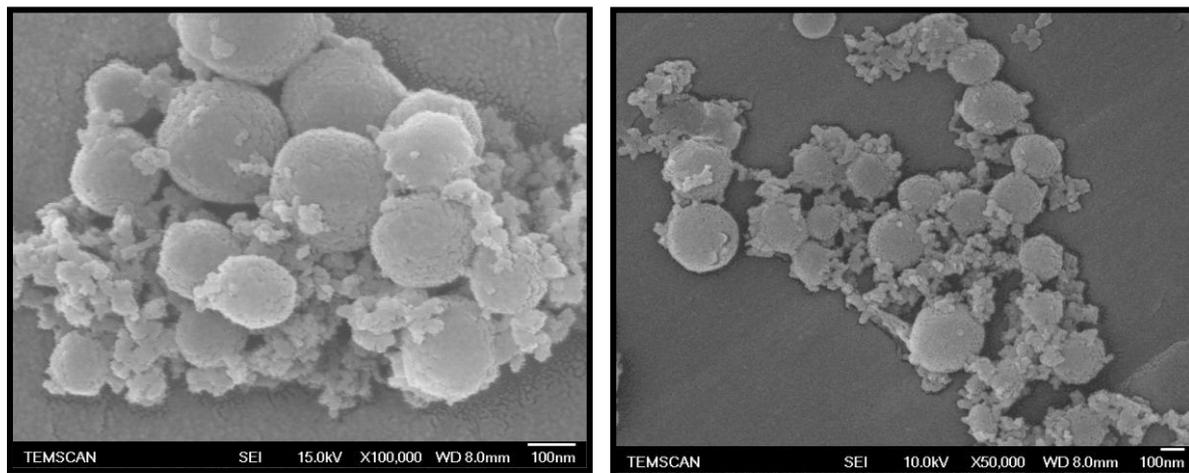


Figura 40. Microscopia eletrônica de varredura com FEG da amostra JJ13.

A Figura 41 mostra as fotos de SEM-FEG da amostra JJ131, partículas de sílica dopadas com Eu^{3+} e impregnadas com 1,10 - fenantrolina. Nas imagens nota-se que as partículas de sílica estão aglomeradas.

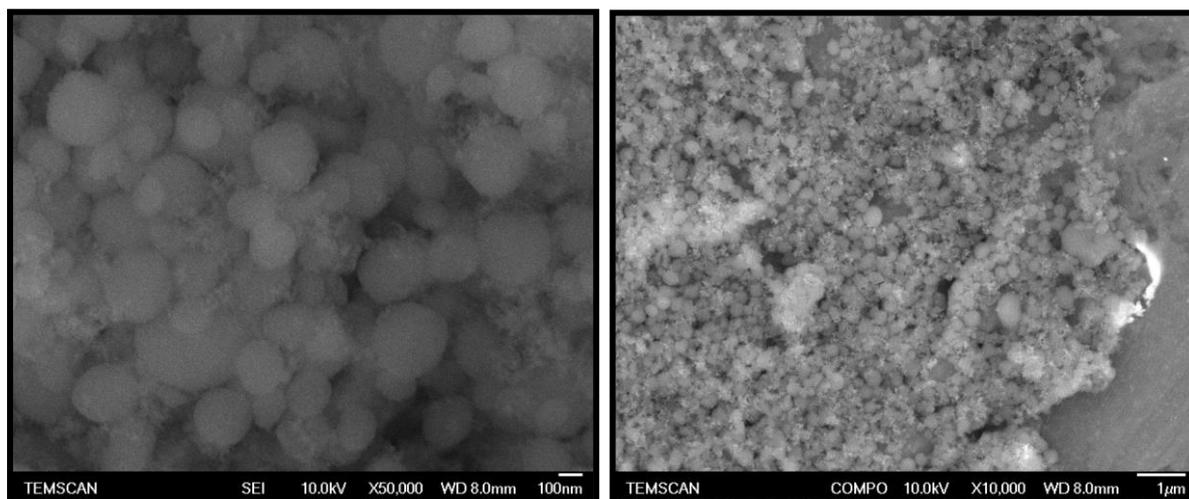


Figura 41. Microscopia eletrônica de varredura (SEM-FEG) da amostra JJ131.

A estrutura de como os poros se organizam foi estudada por SAXS e as amostras de sílica JJ3, JJ12 e JJ122 foram analisadas e comparadas no gráfico da Figura 42 a seguir. A sílica mesoporosa MCM-41 pura, sem íon lantanídeo apresenta 3 picos visíveis de espalhamento d . Pela presença destes 3 picos visíveis para a amostra JJ3 é possível calcular as distâncias de correlação entre o centro de um poro a outro, apresentados no próprio gráfico, de acordo com os dados da literatura^[23,63], podendo ser definido como material com estrutura de

poros arranjados hexagonalmente. Quando se analisa o espectro da amostra JJ12, percebe-se que esta apresenta apenas um pico. A princípio, o que se nota, portanto, é que após a inserção do íon lantanídeo durante a síntese de sílica, há uma modificação do arranjo dos poros da sílica mesoporosa, que não pode mais ser definida como um material com arranjo de poros hexagonal. Semelhante ao espectro da JJ12, tem-se o espectro para a JJ122, onde se nota que há apenas um pico de difração, de menos intensidade que JJ3, e que o valor deste pico menor que o da JJ12.

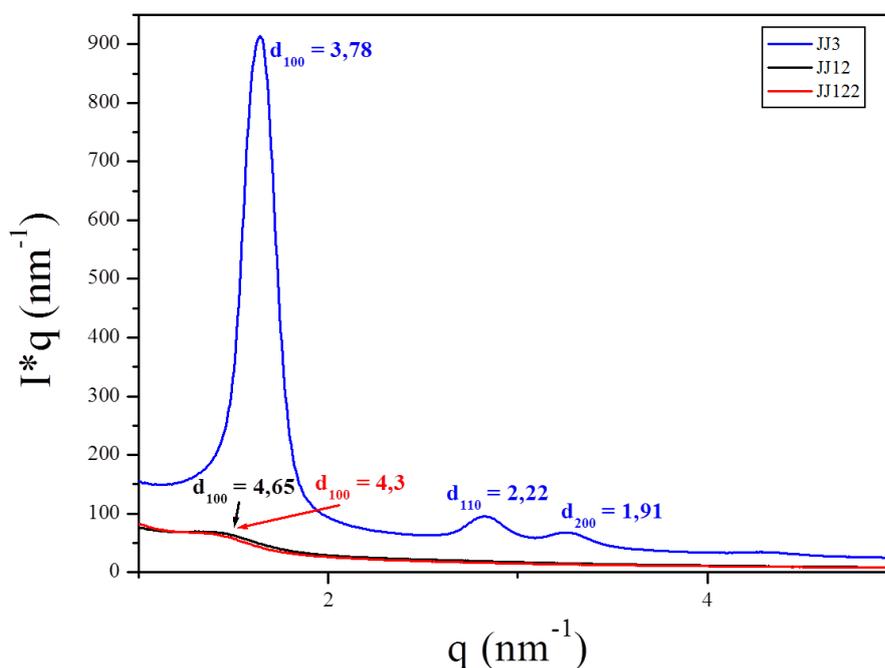


Figura 42. Espectros de SAXS das amostras JJ3, JJ12 e JJ122.

A estrutura de como os poros se organizam também foi estudada por SAXS, as amostras de sílica JJ5, JJ13 e JJ131 foram analisadas e apresentadas nos gráficos das Figuras 43 e 44, a seguir. A sílica mesoporosa MCM-41 pura, sem íon lantanídeo apresenta 3 picos visíveis de espalhamento d . Pela presença destes 3 picos visíveis para a amostra JJ5 é possível calcular as distâncias de correlação entre o centro de um poro a outro, apresentados no próprio gráfico, de acordo com os dados da literatura^[23,63], e pode ser definido como material com estrutura de poros arranjados hexagonalmente. Quando se analisa o outro espectro, da amostra JJ13, percebe-se que este também apresenta 3 picos visíveis. A princípio, o que se nota é que após a inserção do íon lantanídeo durante a síntese de sílica a estrutura e o arranjo de poros parecem inalterados, salvo pequenos desvios que ocorrem com os picos, diferente do que

ocorre com a amostra JJ12. Quanto à amostra de sílica JJ131, percebe-se que apresenta apenas um pico e de menor valor que o da JJ122, e não pode ser definida como um material com arranjo de poros hexagonal, semelhante ao que ocorre na amostra JJ122.

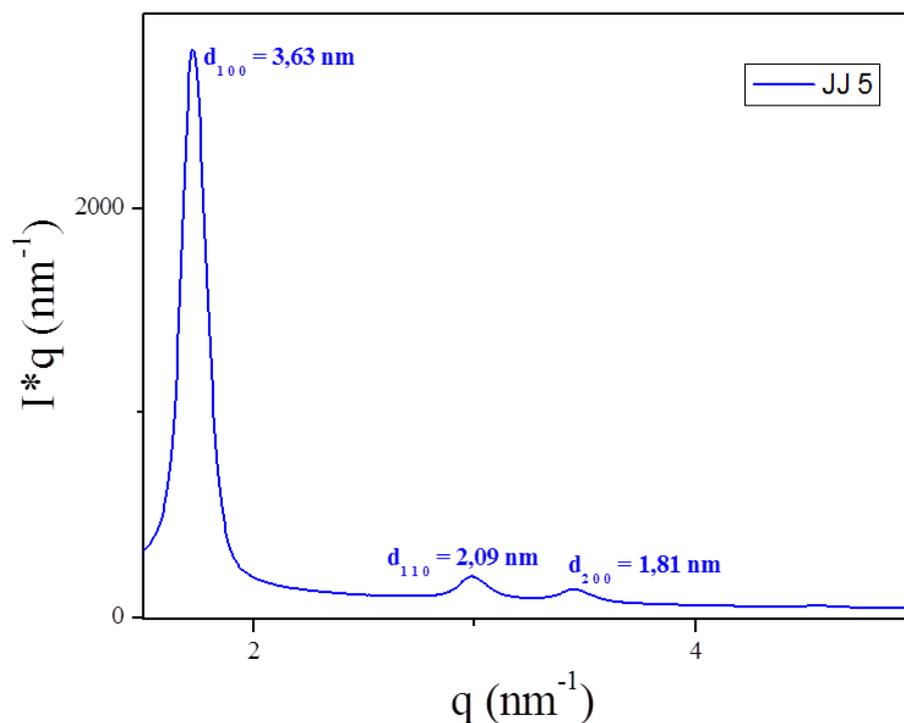


Figura 43. Espectro de SAXS da amostra JJ5.

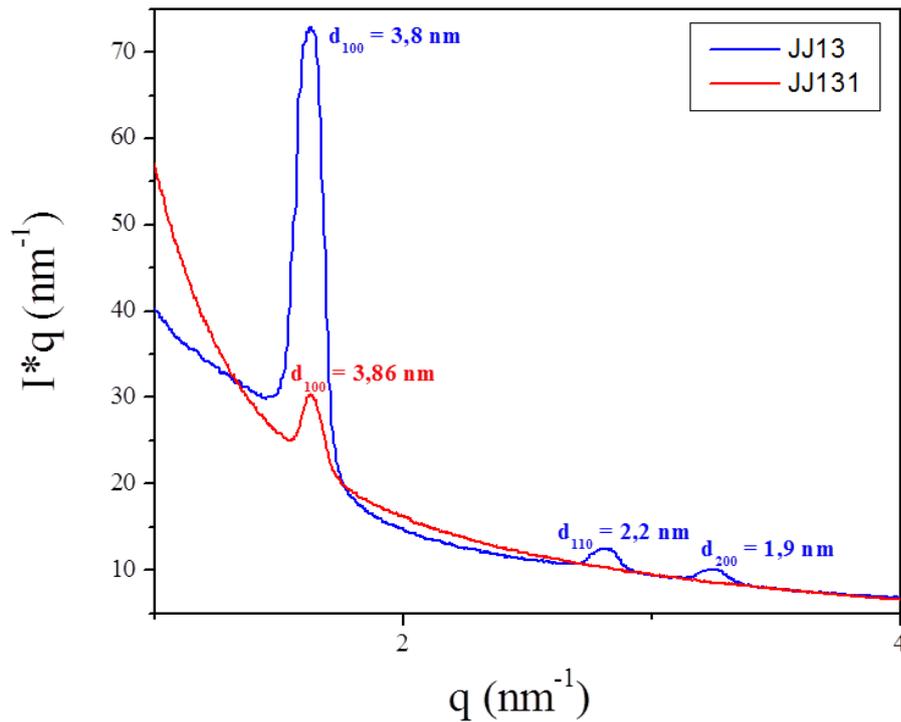


Figura 44. Espectros de SAXS das amostras JJ13 e JJ131.

As imagens de TEM confirmam o caráter mesoporoso e o perfil de sílica do tipo MCM-41^[23,58,64], das sílicas JJ3, JJ5 (Figuras 45 e 46, respectivamente), observados por BET e SAXS. Assim como, confirma a perda do padrão hexagonal e a deformação das partículas, observadas SAXS e SEM, da amostra JJ12, mostradas na Figura 47, a dopagem com Eu^{3+} não é uniforme e homogênea por toda a partícula, há áreas com maior concentração do íon do que outras, em uma mesma partícula.

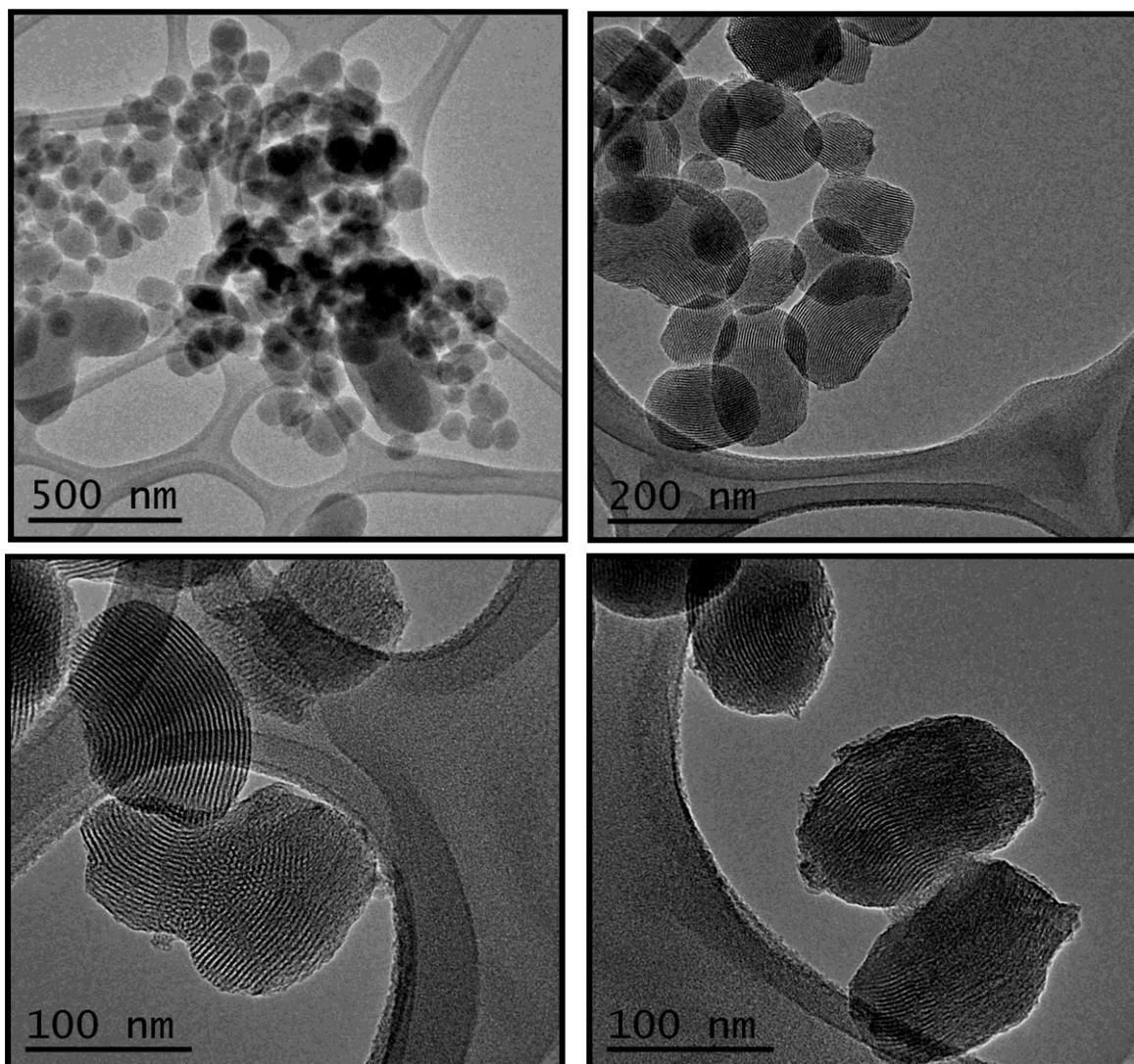


Figura 45. Microscopia eletrônica de transmissão de JJ3.

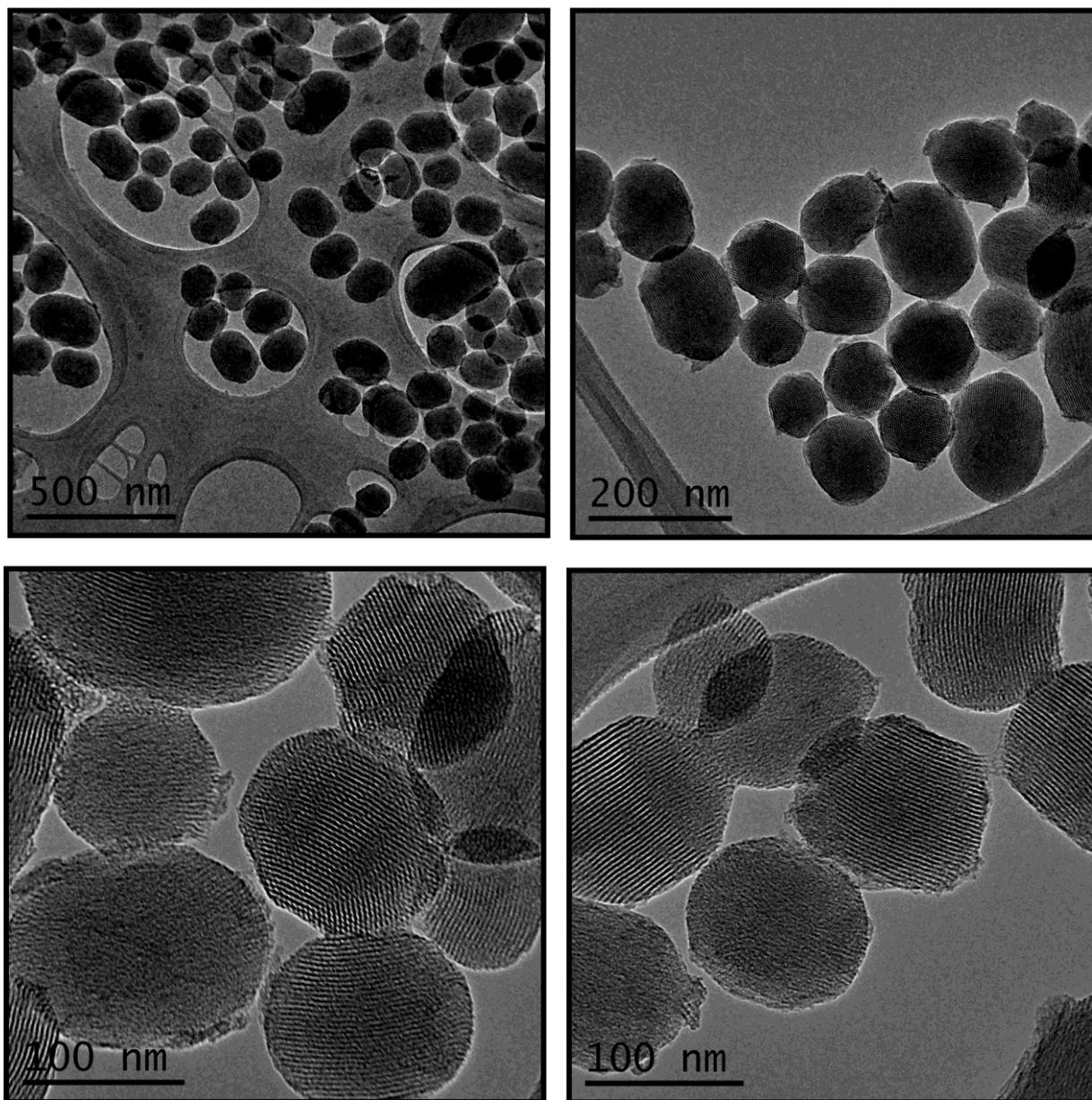


Figura 46. Microscopia eletrônica de transmissão de JJ5.

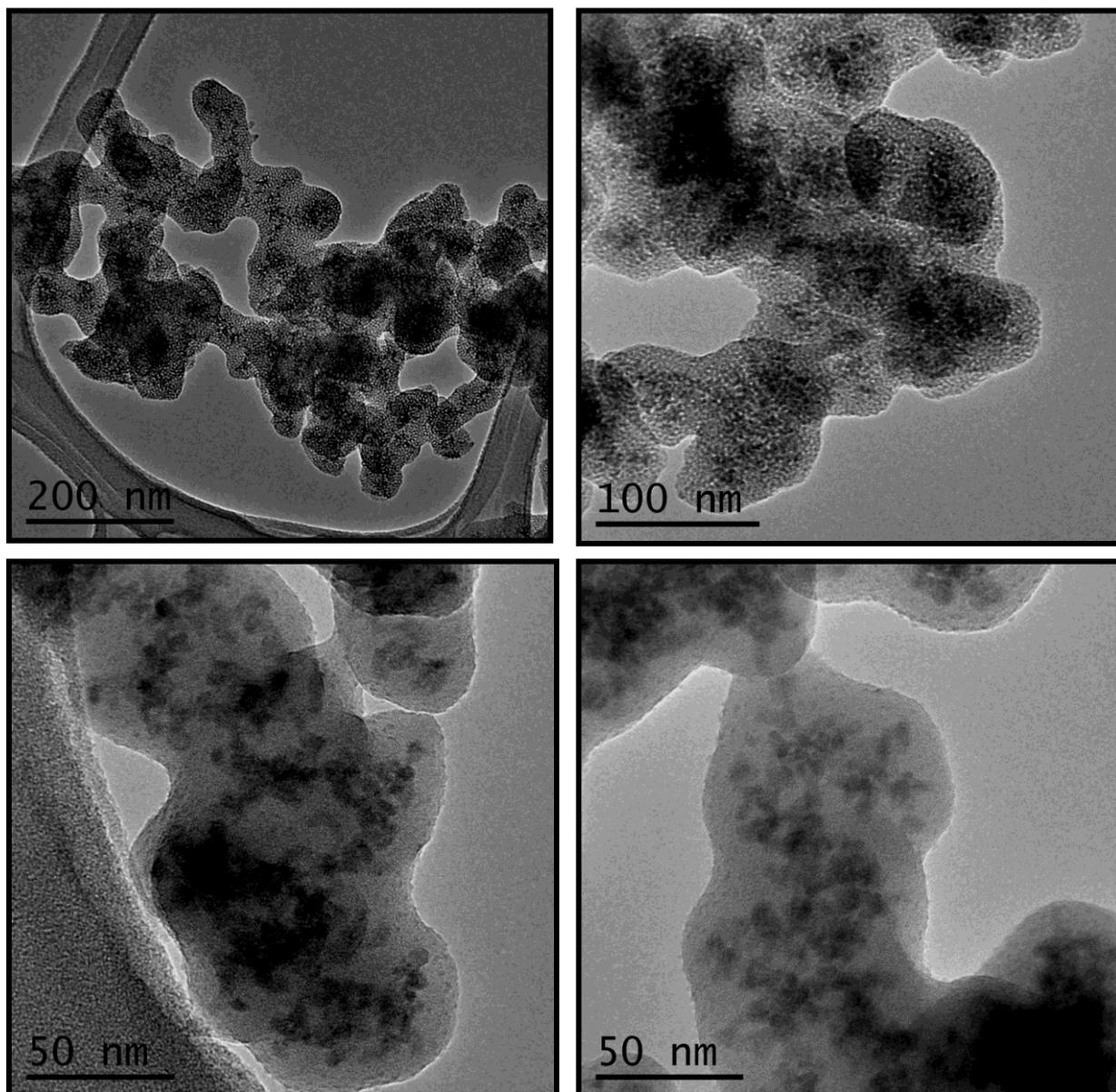


Figura 47. Microscopia eletrônica de transmissão de JJ12.

Para a amostra JJ133-2, Figura 48, não é possível afirmar que o recobrimento foi obtido com sucesso, é possível perceber ainda que há partículas mesoporosas com arranjo hexagonal sem a presença do íon Eu^{+3} enquanto outras partículas possuem áreas escuras que podem ser atribuídas ao íon luminescente.

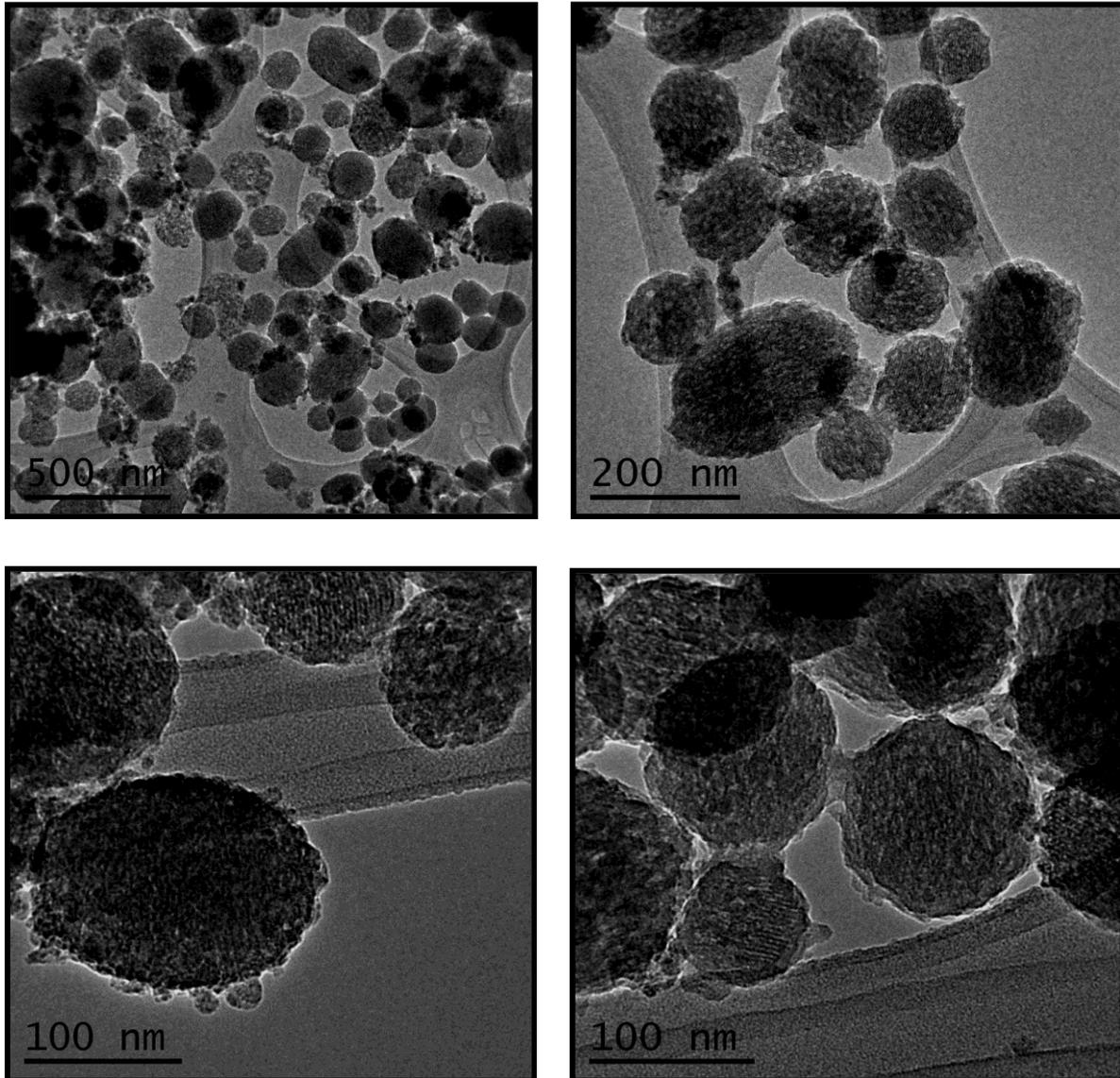


Figura 48. Microscopia eletrônica de transmissão de JJ133-2.

Na Figura 49, são mostrados os padrões de isotermas de adsorção/dessorção de nitrogênio a 77 K e do diâmetro médio dos poros, respectivamente, para a amostra JJ3. A isoterma é do tipo IV, segundo a classificação da IUPAC^[58,65]. Nenhuma histerese é observada na curva de dessorção, relacionada à condensação capilar, e isto é típico de materiais MCM-41^[58]. O valor de área superficial é de 1018 m²g⁻¹. O diâmetro médio dos poros foi estimado em 5,47 nm, como volume total dos poros em 1,397 cm³g⁻¹. O padrão de isoterma apresentado na figura está de acordo com o padrão típico de materiais mesoporosos.

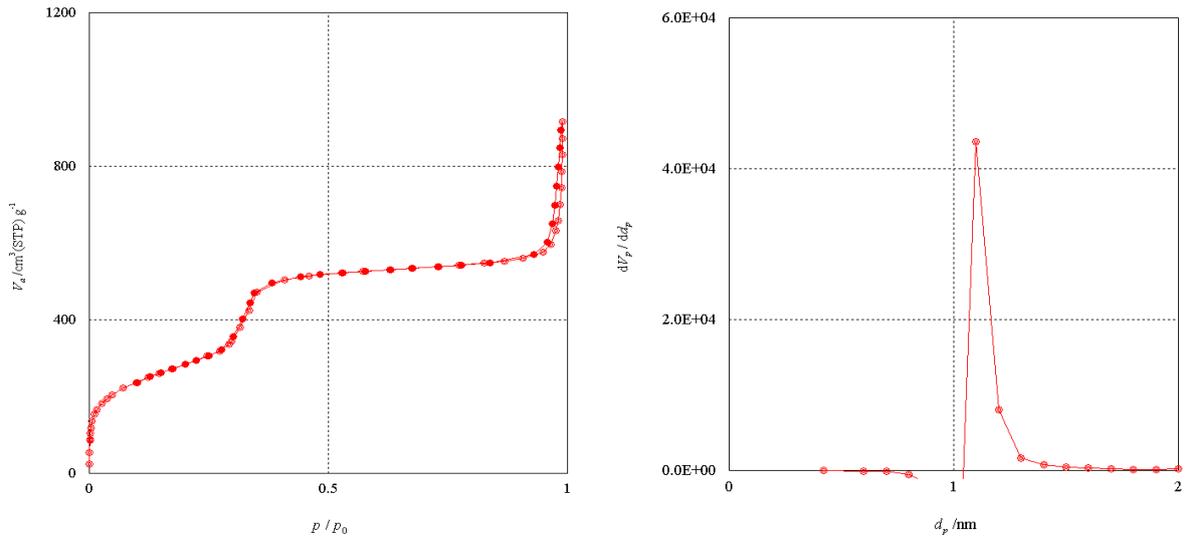


Figura 49. Isotherma de adsorção/dessorção (BET) e distribuição do diâmetro de poros da amostra JJ3.

Na Figura 50, são mostrados os padrões de isothermas de adsorção/dessorção de nitrogênio a 77 K e do diâmetro médio dos poros, respectivamente, para a amostra JJ12. O valor de área superficial é de 729,7 m²g⁻¹. O diâmetro médio dos poros foi estimado em 5,21 nm, como volume total dos poros em 0,9505 cm³g⁻¹. O padrão de isoterma apresentado na figura esta bem de acordo com o padrão típico de materiais mesoporosos.

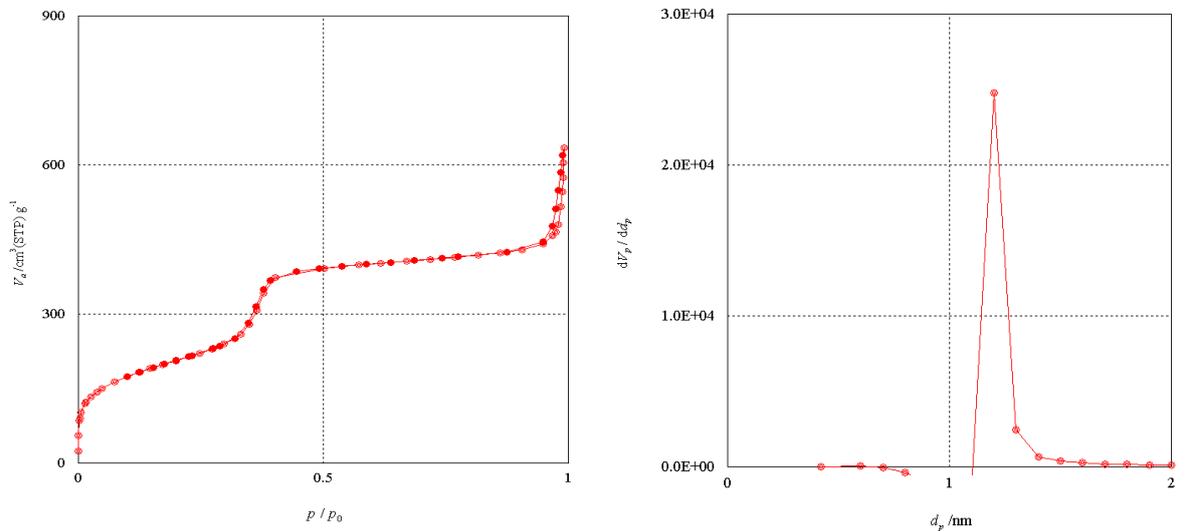


Figura 50. Isotherma de adsorção/dessorção (BET) e distribuição do diâmetro de poros da amostra JJ12.

Na Figura 51, são mostrados os padrões de isothermas de adsorção/dessorção de nitrogênio a 77 K e do diâmetro médio dos poros, respectivamente, para a amostra JJ5. A

isoterma é do tipo IV, segundo a classificação da IUPAC^[58,65]. Nenhuma histerese é observada na curva de dessorção, relacionada à condensação capilar, e isto é típico de materiais MCM-41^[58]. O valor de área superficial é de 901,78 m²g⁻¹. O diâmetro médio dos poros foi estimado em 4,3 nm, como volume total dos poros em 0,97 cm³g⁻¹. O padrão de isoterma apresentado na Figura 8 está de acordo com o padrão típico de materiais mesoporosos.

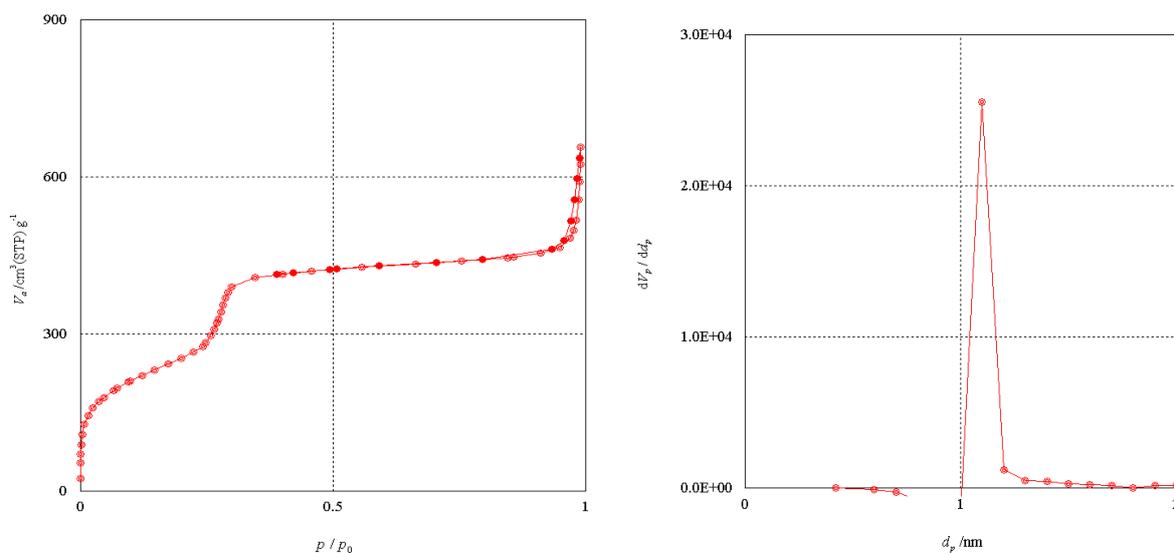


Figura 51. Isotherma de adsorção/dessorção (BET) e distribuição do diâmetro de poros da amostra JJ5.

Na Figura 52, são mostrados os padrões de isothermas de adsorção/dessorção de nitrogênio a 77 K e do diâmetro médio dos poros, respectivamente, para a amostra JJ13. O valor de área superficial é de 749,37 m²g⁻¹. O diâmetro médio dos poros foi estimado em 6,91 nm, como volume total dos poros em 1,2946 cm³g⁻¹. O padrão de isoterma apresentado na figura está de acordo com o padrão típico de materiais mesoporosos.

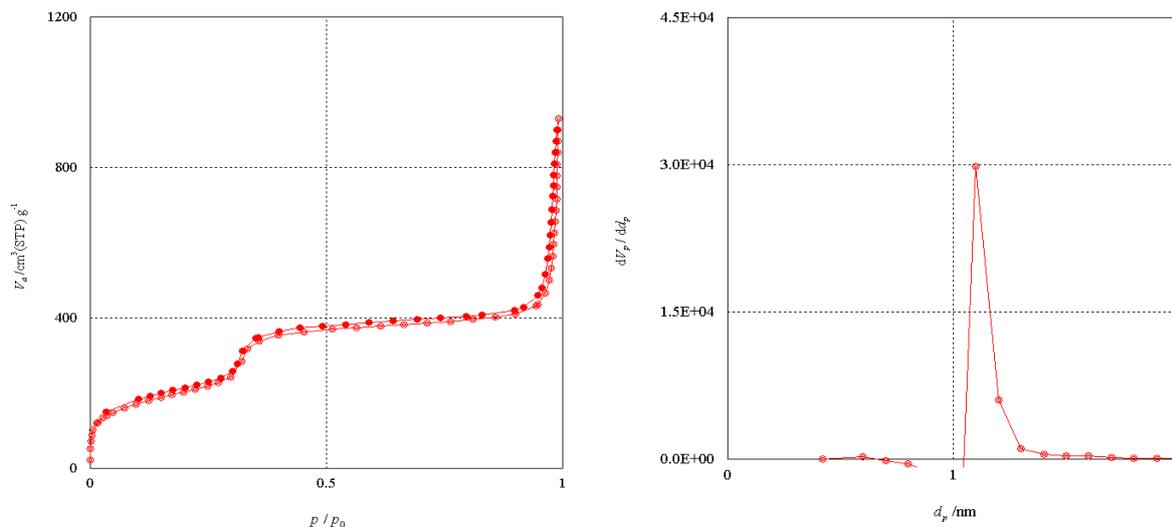


Figura 52. Isotherma de adsorção/dessorção (BET) e distribuição do diâmetro de poros da amostra JJ13.

Para ilustrar melhor os dados de SEM, SAXS e medidas de porosidade apresentados, a Tabela 6 foi construída, onde é possível ver que o efeito da dopagem com Eu^{3+} aumenta o tamanho de partículas e diminui a área superficial, e influencia o diâmetro médio de poros e volume total de poros.

Tabela 6. Resumo dos principais resultados após caracterização por SEM, SAXS e medidas de porosidade.

Sílica	T°C	Agitação	D _{med} partículas (nm)	Arranjo	A _s (m ² .g ⁻¹)	D _{med} poros (nm)	V _{total} poros (cm ³ .g ⁻¹)
JJ3	90	mínima	117	hexagonal	1018	5,5	1,4
JJ12	90	mínima	-	-	730	5,2	0,95
JJ5	80	máxima	137	hexagonal	901	4,3	0,97
JJ13	80	máxima	209	hexagonal	750	7,0	1,3

A Figura 53 apresenta os espectros de excitação das amostras JJ12 e JJ122. A excitação foi realizada varrendo-se o espectro de 200 a 600 nm, usando filtro de 395 nm. A banda de excitação observada ($\lambda_{em} = 612$ nm) encontra-se centrada em torno de 393 nm para JJ12, e 328, 5 nm para JJ122^[56]. No espectro da JJ12, observam-se linhas finas referentes às transições ocorrendo dentro da configuração $4f^6$ do Eu^{3+} ^[56]. Observa-se também uma banda larga com máximo em 290 nm, que pode ser atribuída ao processo de transferência de carga envolvendo orbitais dos átomos de oxigênio ligantes e os orbitais f . No espectro da amostra JJ122 observa-se uma banda larga de absorção da 1,10-fenantrolina^[56].

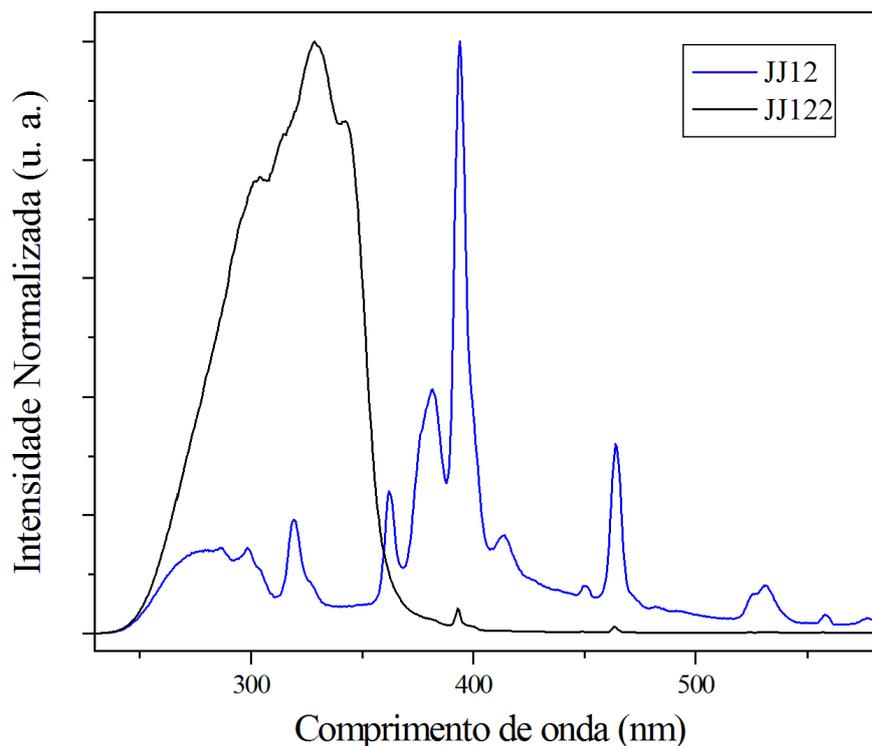


Figura 53. Espectros de Excitação, $\lambda_{em} = 612$ nm, das amostras JJ12 e JJ122.

Nos espectros de emissão das amostras JJ12 e JJ122 (Figura 54), é possível observar os picos de transição característicos do íon Eu^{3+} . O espectro de luminescência deste íon é significativamente influenciado pela rede cristalina utilizada como hospedeira por causa das transições eletrônicas envolvendo apenas a redistribuição de elétrons dentro da subcamada $4f$. O pico de transição mais intenso centrado em 612 nm, correspondente a transição ${}^5\text{D}_0 \rightarrow {}^7\text{F}_2$, possui intensidade consideravelmente superior à do pico centrado em 591 nm, transição ${}^5\text{D}_0 \rightarrow {}^7\text{F}_1$. Os picos de transição com menor intensidade observados em 578, 653 e 703 nm correspondem às transições ${}^5\text{D}_0 \rightarrow {}^7\text{F}_0$, ${}^5\text{D}_0 \rightarrow {}^7\text{F}_3$ e ${}^5\text{D}_0 \rightarrow {}^7\text{F}_4$, respectivamente^[56,57]. Para a sílica mesoporosa dopada com o íon Eu^{3+} e posteriormente impregnada com 1,10-fenantrolina, JJ122, o espectro desta amostra é bem semelhante ao da JJ12.

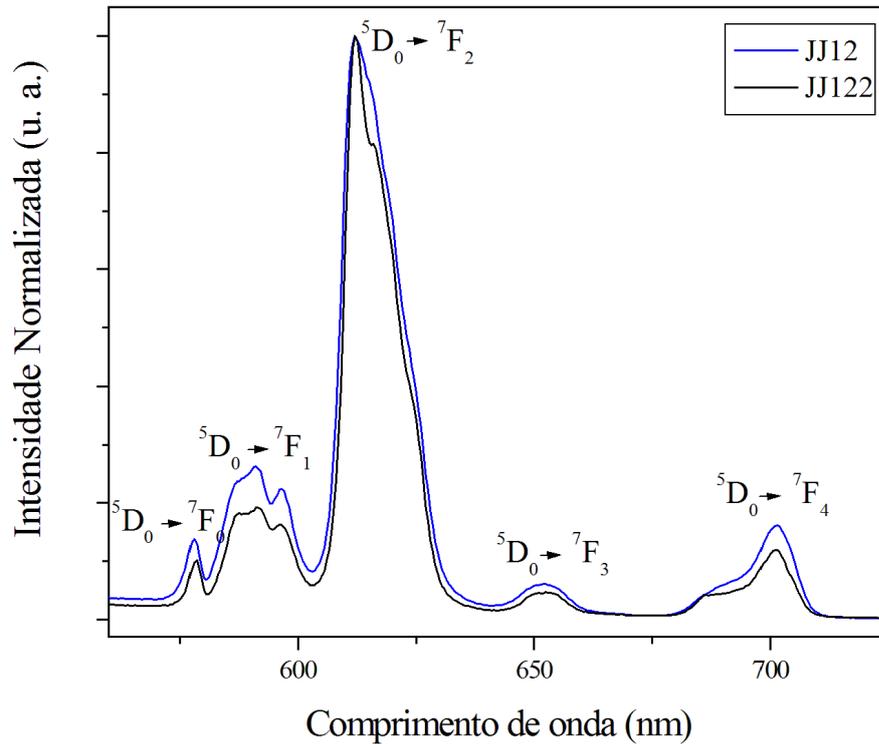


Figura 54. Espectros de Emissão das amostras JJ12 ($\lambda_{exc} = 394$ nm) e JJ122 ($\lambda_{exc} = 328,5$ nm).

A Figura 55 apresenta os espectros de excitação das amostras JJ13 e JJ134. A excitação foi realizada varrendo-se o espectro de 200 a 550 nm, usando filtro de 420 nm. A banda de excitação observada ($\lambda_{em} = 612$ nm) encontra-se centrada em aproximadamente 393 nm para a JJ13 e 331 nm para JJ134^[56]. Observam-se linhas finas referentes às transições ocorrendo dentro da configuração $4f^6$ do Eu^{3+} ^[56]. Para JJ134, observa-se uma banda larga de absorção da 1,10-fenantrolina.

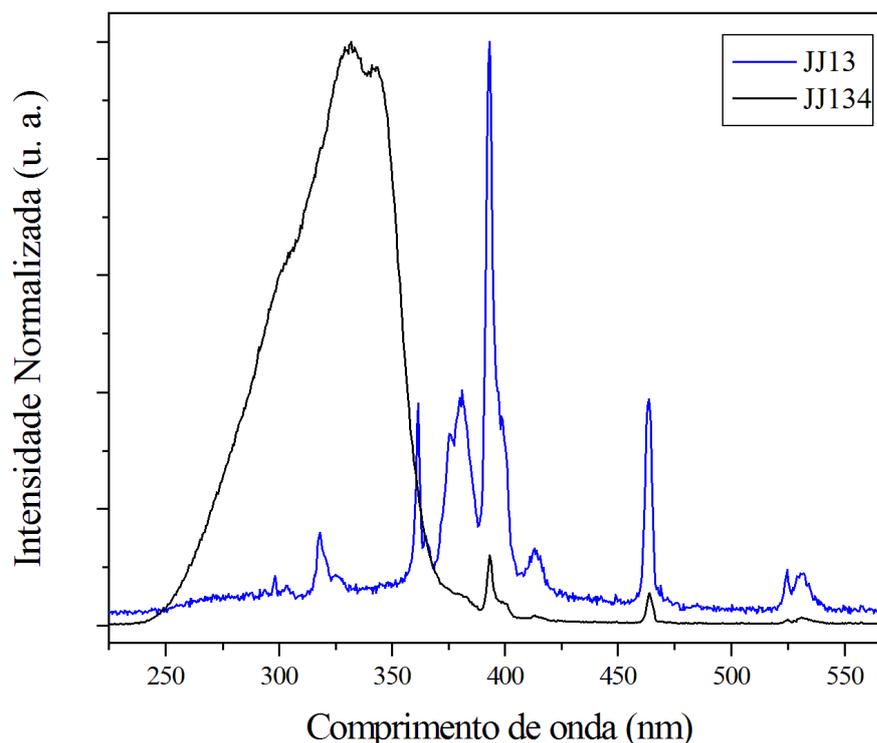


Figura 55. Espectros de Excitação, $\lambda_{em} = 612$ nm, das amostras JJ13 e JJ134.

No espectro de Emissão (Figura 56) podemos observar os picos de transição característicos do íon Eu^{3+} . O espectro de luminescência deste íon é significativamente influenciado pela rede cristalina utilizada como hospedeira por causa das transições eletrônicas envolvendo apenas a redistribuição de elétrons dentro da subcamada $4f$. O pico de transição mais intenso centrado em 612 nm, correspondente a transição ${}^5\text{D}_0 \rightarrow {}^7\text{F}_2$, possui intensidade consideravelmente superior à do pico centrado em 591 nm, transição ${}^5\text{D}_0 \rightarrow {}^7\text{F}_1$. Os picos de transição com menor intensidade observados em 578, 653 e 703 nm correspondem às transições ${}^5\text{D}_0 \rightarrow {}^7\text{F}_0$, ${}^5\text{D}_0 \rightarrow {}^7\text{F}_3$ e ${}^5\text{D}_0 \rightarrow {}^7\text{F}_4$, respectivamente^[56,57]. O espectro de emissão característicos da sílica mesoporosa dopada com o íon Eu^{3+} e posteriormente impregnada com 1,10-fenantrolina, JJ134, é bem semelhante ao da JJ13.

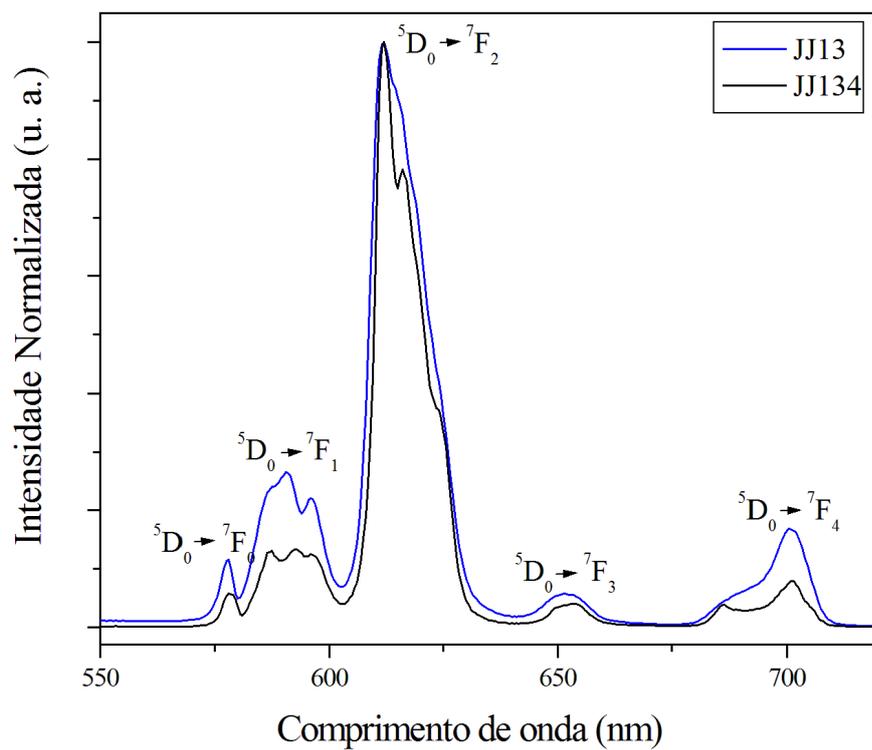


Figura 56. Espectros de Emissão das amostras JJ13 ($\lambda_{\text{exc}} = 395 \text{ nm}$) e JJ134 ($\lambda_{\text{exc}} = 3331 \text{ nm}$).

Conclusões

As nanopartículas de sílica mantêm o padrão mesoporoso, mesmo após a dopagem com o íon Eu^{3+} , mas apenas a amostra JJ5 não perde o arranjo hexagonal de poros após dopagem com o íon lantanídeo. As partículas quando analisadas por TEM aparentam pouca aglomeração, o que não pôde ser confirmado apenas pela análise das imagens de SEM.

A impregnação com a 1,10-fenantrolina foi bem sucedida e está evidenciada pelos resultados dos espectros de emissão e de excitação, os espectros apresentam também comportamentos diferentes quando a sílica está apenas dopada com o íon Eu^{3+} e quando está dopada com lantanídeo e impregnada com 1,10-fenantrolina, onde é possível perceber que ocorre absorção do ligante. A manutenção da luminescência do íon quando dopado em sílica é um dado extremamente importante para que venha a se obter um biomarcador.

O recobrimento com uma camada de silício e APTMS foi bem realizada, o que é evidenciado pelas imagens de TEM.

CONCLUSÕES GERAIS

Este trabalho, que está subdividido em duas partes experimentais, atingiu os objetivos iniciais, ou seja, contribuir para o desenvolvimento de materiais que sejam promissores para aplicações biológicas, como uma alternativa aos biomarcadores atuais.

Foi possível assim, concluir que quando se modifica a superfície das micropartículas, deslocamentos nas bandas de excitação e emissão são notados, devido à interação entre a superfície da matriz e o complexo luminescente, mas não há perdas das propriedades de luminescência do íon lantanídeo, o que é confirmado pelos espectros de excitação e emissão, o que reforça sua importância como uma alternativa promissora aos biomarcadores existentes.

Entre as nanopartículas, JJ5 apresentou resultados mais interessantes que JJ3, porém as propriedades luminescentes do íon európio foram mantidas após a inserção na sílica, nos duas diferentes sínteses, o que mais uma vez, é importante para a utilização destas partículas como biomarcadores.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] MONTGOMERY, C. P.; MURRAY, B. S.; NEW, E. J.; PAL, R.; PARKER, D., Cell-Penetrating Metal Complex Optical Probes: Targeted and Responsive Systems Based on Lanthanide Luminescence, **Accounts of Chemical Research**, v. 42, p. 925-937, 2009.
- [2] NEW, E. J.; PARKER, D.; SMITH, D. G.; WALTON, J. W., Development of responsive lanthanide probes for cellular applications, **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 14, p. 238-246, 2010.
- [3] SIVAKUMAR, S., DIAMENTE, P. R., van VEGGEL, F. C. J. M. Silica-Coated Ln³⁺-Doped LaF₃ Nanoparticles as Robust Down - and Upconverting Biolabels, **Chemistry A European Journal**, v. 12, p. 5878-5884, 2006.
- [4] KRESGE, C. T.; LEONOWICZ, M.; ROTH, W. J.; VARTULI, J. C.; BECK, J. S., Ordered mesoporous molecular sieves synthesized by a liquid-crystal template mechanism, **Nature** 359, p. 710-712, 1992.
- [5] BECK, J. S.; VARTULI, J. C.; ROTH, W. J.; LEONOWICZ, M. E.; KRESGE, C. T.; SCHMITT, K. D.; CHU, C. T.; OLSON, D. H.; SHEPPARD, E. W.; MCCULLEN, S. B.; HIGGINS, J. B.; SCHLENKER, J. L., A new family of mesoporous molecular sieves prepared with liquid crystal templates, **Journal of the American Chemical Society**, v. 114, p.10834-10843, 1992.
- [6] NASSAR, E. J.; SERRA, O. A., Propriedades fotofísicas de Eu³⁺ e Tb³⁺ imobilizados em sílica gel funcionalizada com β-dicetonas, **Química Nova**, v. 23, n. 1 p. 16-19, 2000.
- [7] WANG, Y.; LI, H.; ZHANG, W.; LIU, B., Luminescence properties of nanozeolite L grafted with terbium organic complex, **Materials Letters**, v. 62, p. 3167-3170, 2008.
- [8] CHIOLA, V., RITISCO, J. E., VANDERPOOL, C. D., **US Patent 3556725**,1971.
- [9] DI RENZO, F.; CAMBON, H.; DUTARTRE, R., A 28-year-old synthesis of micelletemplated mesoporous sílica, **Microporous Materials**, v. 10, p.283-286, 1997.
- [10] YAN, Z.; TANG, Y.; LIU, W.; TAN, M., Preparation and luminescent properties of silica-based composite materials encapsulating a novel terbium complex, **Solid State Sciences**, v. 10, p. 332-336, 2008.

[11] HNATEJKO, Z.; LIS, S.; ELBANOWSKI, M., Spectroscopy study of lanthanide (III) complexes with chosen aminoacids and hydroxyacids in solution, **Journal of Alloys and Compounds**, v. 300-301, p. 38-44, 2000.

[12] POLARZ, S.; SMARSLY, B., Nanoporous Materials, **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 2, n. 6, p. 581-612, 2002.

[13] LIMA, P. P.; MALTA, O. L.; ALVES, S., J. R., Estudo espectroscópico de complexos de Eu^{3+} , Tb^{3+} e Gd^{3+} com ligantes derivados de ácidos dicarboxílicos, **Química Nova**, v. 28, n. 5 p. 805-808, 2005.

[14] MESA, M.; SIERRA, L.; GUTH, J.-L., Contribution to the study of the formation mechanism of mesoporous silica type SBA-3, **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 102, p. 70-79, 2007.

[15] SILVA, A. A.; FLOR, J.; DAVOLOS, M. R., Rhodamine B-containing silica films from TEOS precursor: Substrate surface effects detected by photoluminescence, **Surface Science**, v. 601, p. 1118-1122, 2007.

[16] VIEIRA FERREIRA, L. F.; LEMOS, M. J.; REIS, M. J.; BOTELHO DO REGO, A. M.; Uv-vis Absorption, Luminescence and X-ray Photoelectron Spectroscopic Studies of Rhodamine Dyes Adsorbed onto Different Pore Size Silicas, **Langmuir**, v. 16, n. 13, p. 5673-5680, 2000.

[17] HOFFMANN, F.; CORNELIUS, M.; MORELL, J.; FRÖBA, M., Silica-Based Mesoporous Organic-Inorganic Hybrid Materials, **Angewandte Chemie International Edition English**, v. 45, p. 3216-3251, 2006.

[18] FIROUZI, A.; KUMAR, D.; BULL, L. M.; BESIER, T.; SIEGER, P.; HUO, Q.; WALKER, S. A.; ZASADZINSKI, J. A.; GLINKA, C.; NICOL, J.; MARGOLESE, D.; STUCKY, G. D.; CHMELKA, B. F., Cooperative organization of inorganic-surfactant and biomimetic assemblies, **Science**, v. 267, p. 1138-1143, 1995.

[19] SAYARI, A., Catalysis by crystalline mesoporous molecular sieves, **Chemistry of Materials**, v. 8, p. 1840-1852, 1996.

[20] ILER, R. K., **The Chemistry of Silica**, Wiley: New York, 1979, 866p.

- [21] GATES, B. C., **Catalytic Chemistry**, John Wiley & Sons, Inc.: New York, 1997, 310p.
- [22] PERRIN, D. D.; ARMAREGO, W. L. F., **Purification of Laboratory Chemicals**, 4th ed. Oxford: Butterworth Heinemann, 2000, 529p.
- [23] HE, Q.; ZHANG, J.; SHI, J.; ZHU, Z.; ZHANG, L.; BU, W.; GUO, L.; CHEN, Y., The effect of PEGylation of mesoporous silica nanoparticles on nonspecific binding of serum proteins and cellular responses, **Biomaterials**, v. 31, p. 1085-1092, 2010.
- [24] VALLHOV, H.; GABRIELSSON, S.; STRØMME, M.; SCHEYNIUS, A.; GARCIA-BENNETT, A. E., Mesoporous Silica Particles Induce Size Dependent Effects on Human Dendritic Cells, **Nano Letters**, v. 7, n. 12, p. 3576-3582, 2007.
- [25] FADEEL, B.; GARCIA-BENNETT, A. E., Better safe than sorry: Understanding the toxicological properties of inorganic nanoparticles manufactured for biomedical applications, **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 62, p. 362-374, 2010.
- [26] NAPIERSKA, D.; THOMASSEN, L. C. J.; LISON, D.; MARTENS, J. A.; HOET, P. H., The nanosilica hazard: another variable entity, **Particle and Fibre Toxicology**, v. 7, n. 39, p.1-32, 2010.
- [27] LIU, T.; LI, L.; TENG, X.; HUANG, X.; LIU, H.; CHEN, D.; REN, J.; HE, J.; TANG, F., Single and repeated dose toxicity of mesoporous hollow silica nanoparticles in intravenously exposed mice, **Biomaterials**, v. 32, p. 1657-1668, 2011.
- [28] STAMPFL, A.; MAIER, M.; RADYKEWICZ, R.; REITMEIR, P.; GÖTTLICHER, M.; NIESSNER, R., Langendorff Heart: a model system to study cardiovascular effects of engineered nanoparticles, **ACS Nano**, v. 5, n. 7, p. 5345-5353, 2011.
- [29] AMORIM, L. C. A., Os biomarcadores e sua aplicação na avaliação da exposição aos agentes químicos ambientais **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 6, p. 158-170, 2003.
- [30] MUEHLMANN, L. A., **Pontos quânticos. Um arco-íris nasce do nanomundo**. Disponível em: <<http://nanohoje.blogspot.com/2011/06/pontos-quanticos-um-arco-iris-nasce-do.html>>. Acesso em: 31 out. 2011.
-

[31] LECHEVALLIER, S., **Synthèse et caractérisation de nanoparticules luminescentes à base de lanthanides: Vers de nouveaux bio-marqueurs**. 2010. 212f. Tese (Doctorat Science et Génie des Matériaux) - Université de Toulouse III – Paul Sabatier, Toulouse, França, 2010.

[32] TABAKOVIĆ, A.; KESTER, M.; ADAIR, J. H., Calcium phosphate-based composite nanoparticles in bioimaging and therapeutic delivery applications, **WIREs Nanomedicine and Nanobiotechnology**, DOI: 10.1002/wnan.163, 2011.

[33] _____, **Introduction to radiometric lanthanide sensors, FSCAN Rapid and Accurate Diagnostic Solutions**. Disponível em:
<<http://www.fscanltd.com/2.html>>. Acesso em: 31 out. 2011.

[34] **Nomenclature of Inorganic Chemistry: IUPAC Recommendations 2005**. Cambridge: Edited by N. G. CONNELLY and T. DAMHUS (with R. M. HARTSHORN and A. T. HUTTON), ISBN 0-85404-438-8, 2005.

[35] BÜNZLI, J. C. G., Lanthanide Luminescence for Biomedical Analyses and Imaging **Chemical Reviews**, v.110, p. 2729-2755, 2010.

[36] PRADO, A. G. S.; Química verde, os desafios da química do novo milênio, **Química Nova**, v.26, n. 5, p. 738-744, 2003.

[37] GARTMANN, N.; SCHÜTZE, C.; RITTER, H.; BRÜHWILER, D., The Effect of Water on the Functionalization of Mesoporous Silica with 3-Aminopropyltriethoxysilane, **The Journal of Physical Chemistry Letters**, v. 1, p. 379-382, 2010.

[38] GULI, M.; CHEN, Y.; LI, X.; ZHU, G.; QIU, S. Fluorescence of postgrafting Rhodamine B in the mesopores of rodlike SBA-1, **Journal of Luminescence**, v. 126, p. 723-727, 2006.

[39] HSIAO, V. K. S.; WALDEISEN, J. R.; ZHENG, Y.; LLOYD, P. F.; BUNNING, T. J.; HUANG, T. J. Aminopropyltriethoxysilane (APTES)-functionalized nanoporous polymeric gratings: fabrication and application in biosensing, **Journal of Materials Chemistry**, v. 17, p. 4896-4901, 2007.

[40] INNOCENZI, P.; FIGUS, C.; TAKAHASHI, M.; PICCININI, M.; MALFATTI, L., Structural Evolution during Evaporation of a 3-Glycidoxypropyltrimethoxysilane Film

Studied in Situ by Time Resolved Infrared Spectroscopy, **The Journal of Physical Chemistry A**, v. 115, p. 10438-10444, 2011.

[41] CRAIEVICH, A. F., **Tutorial sobre a determinação dos resultados de SAXS em escala absoluta**. Disponível em:
<http://web.if.usp.br/cristal/sites/default/files/SAXS_escalaabsoluta_AFCraievich.pdf>.
Acesso em: 24 nov. 2011.

[42] DONNADIEU, P.; ROUSSEL, F.; COCHETEAU, V.; CAUSSAT, B.; MUR, P.; SCHEID, E., A combined FEG-SEM and TEM study of silicon nanodot assembly, **The European Physical Journal - Applied Physics**, v. 44, p.11–19, 2008.

[43] FAGERLUND, G., Determination of specific surface by the BET method, **Matériaux et Constructions**, v. 6, n. 33, p. 239-245, 1973.

[44] SOTOMAYOR, M. D. P. T.; DIAS, I. L. T.; LANZA, M. R. V.; MOREIRA, A. B.; KUBOTA, L. T.; Aplicação e avanços da espectroscopia de luminescência em análises farmacêuticas, **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1755-1774, 2008.

[45] RICHARDSON, F. S., Terbium (III) and Europium (III) Ions as Luminescent Probes and Stains for Biomolecular Systems, **Chemical Reviews**, v. 82, p. 541-552, 1982.

[46] THIBON, A.; PIERRE, V. C., Principles of responsive lanthanide-based luminescent probes for cellular imaging, **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 394, p. 107-120, 2009.

[47] BOISSIERE, C.; MARTINES, M. A. U.; TOKUMOTO, M.; LARBOT, A.; PROUZET, E., Mechanisms of Pore Size Control in MSU-X Mesoporous Silica, **Chemistry of Materials**, v. 15, p. 509-515, 2003.

[48] PEREIRA, A. S.; FERREIRA, G.; CAETANO, L.; MARTINES, M. A. U.; PADILHA, P. M.; SANTOS, A.; CASTRO, G. R., Preconcentration and determination of Cu(II) in a fresh water sample using modified silica gel as a solid-phase extraction adsorbent, **Journal of Hazardous Materials**, v. 175, p.399–403, 2010.

[49] JERICÓ, S.; CARUBELLI, C. R.; MASSABNI, A. M. G.; STUCCHI, E. B.; LEITE, S. R. A.; MALTA, O., Spectroscopic Study of the Interaction of Nd³⁺ with Amino Acids: Phenomenological 4f-4f Intensity Parameters, **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 9, n. 5, p. 487-493, 1998.

[50] BROEKHOFF, J. C. P.; DE BOER, J. H., Studies on pore systems in catalysts - XIII. Pore distributions from the desorption branch of a nitrogen sorption isotherm in the case of cylindrical pores, **Journal of Catalysis**, v. 10, p.377–390, 1968.

[51] PROUZET, E.; COT, F.; NABIAS, G.; LARBOT, A.; KOOYMAN, P.; PINNAVAIA, J., Assembly of mesoporous silica molecular sieves based on nonionic ethoxylated sorbitan esters as structure directors, **Chemistry of Materials**, v. 11, p. 1498-1503, 1999.

[52] RYOO, R.; KO, C. H.; KRUK, M.; ANTOCHSHUK, V.; JARONIEC, M., Block-copolymer-templated Ordered Mesoporous Silica: Array of Uniform Mesopores or Mesopore-Micropore Network?, **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 104, p. 11465–11471, 2000.

[53] ABRAMOFF, M. D.; MAGALHAES, P. J.; RAM, S. J., Image Processing with ImageJ, **Biophotonics International**, v. 11, n. 7, p. 36-42, 2004.

[54] MARTINES, M. A. U.; MENDES, L. S.; JORGE, J.; CASTRO, G. R.; PASTURA, N. M. R.; SCOFIELD, C. F.; GONZALEZ, W. A., Effect of fat chain length of sorbitan surfactant on the porosity of mesoporous silica, **Orbital**, v. 1, n. 2, p. 193-202, 2009.

[55] PROUZET, E.; PINNAVAIA, T. J., Assembly of mesoporous molecular sieves containing wormhole motifs by a nonionic surfactant pathway: control of pore size by synthesis temperature, **Angewandte Chemie International Edition English**, v. 36, p. 516-518, 1997.

[56] LI, Y.; YAN, B.; WANG, L., Rare earth (Eu³⁺, Tb³⁺) mesoporous hybrids with calix[4]arene derivative covalently linking MCM-41: Physical characterization and photoluminescence property, **Journal of Solid State Chemistry**, 184 (2011) p. 2571-2579.

[57] JOSSE, D.; XIE, W.; RENAULT, F.; ROCHU, D.; SCHOPFER, L. M.; MASSON, P.; LOCKRIDGE, O., Identification of Residues Essential for Human Paraoxonase (PON1) Arylesterase/Organophosphatase Activities, **Biochemistry**, v. 38, p. 2816-2825, 1999.

[58] NOONEY, R. I.; THIRUNAVUKKARASU, D.; CHEN, Y.; JOSEPHS, R.; OSTAFIN, A. E., Synthesis of Nanoscale Mesoporous Silica Spheres with Controlled Particle Size, **Chemistry of Materials**, 14 (2002) p. 4721-4728.

[59] SUZUKI, K.; IKARI, K.; IMAI, H., Synthesis of Silica Nanoparticles Having a Well-Ordered Mesostructure Using a Double Surfactant System, **Journal of the American Chemical Society**, 126 (2004) p. 462-463.

[60] TAYLOR, K. M. L.; KIM, J. S.; RIETER, W. J.; AN, H.; LIN, W.; LIN, W., Mesoporous Silica Nanospheres as Highly Efficient MRI Contrast Agents, **Journal of the American Chemical Society**, v. 130, p. 2154-2155, 2008.

[61] LI, S.; LIU, H.; LI, L.; LUO, N.-Q.; CAO, R.-H.; CHEN, D.-H.; SHAO, Y.-Z., Mesoporous silica nanoparticles encapsulating Gd₂O₃ as a highly efficient magnetic resonance imaging contrast agent, **Applied Physics Letters**, v. 98, p. 093704-1 – 093704-3, 2011.

[62] DU, X.; HE, J., Hierarchically Mesoporous Silica Nanoparticles: Extraction, Amino-Functionalization, and Their Multipurpose Potentials, **Langmuir**, v. 27, p. 2972-2979, 2011.

[63] SHEPPARD, D. A.; MAITLAND, C. F.; BUCKLEY, C. E., Preliminary results of hydrogen adsorption and SAXS modeling of mesoporous silica: MCM-41, **Journal of Alloys and Compounds**, v. 404-406, p. 405-408, 2005.

[64] DU, Y.; FU, Y.; GUO, X.; LI, H.; LÜ, C.; SU, Z., Fabrication of fluorescent mesoporous silica nanoparticles with confined 8-hydroxyquinoline functionalized ZnS nanoparticles and their transparent polymer nanocomposites, **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 130, p. 122-129, 2010.

[65] SING, K. S. W., Reporting physisorption data for gas/solid systems with special reference to the determination of surface area and porosity (Recommendations 1984), **Pure & Applied Chemistry**, v. 57, p. 603, 1985.