

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

Campus de Araraquara

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

**NANOPARTÍCULAS À BASE DE ÓXIDO DE ZINCO DOPADAS COM MAGNÉSIO
E COM SUPERFÍCIE MODIFICADA PARA APLICAÇÃO EM BIOIMAGEM.**

Gabriela Fávero Galvão

Araraquara

2016

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

GABRIELA FÁVERO GALVÃO

**Nanopartículas á base de óxido de zinco dopadas com magnésio e com
superfície modificada para aplicação em bioimagem**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de
Graduação em Farmácia-
Bioquímica da Faculdade de
Ciências Farmacêuticas de
Araraquara, da Universidade
Estadual Paulista para obtenção
do grau de Farmacêutica-
Bioquímica.

Orientadora: Leila Aparecida Chiavacci

Co-orientadora: Eloísa Berbel Manaia

Araraquara

2016

Agradecimentos

Á Deus que sempre me ilumina, conduz e protege meus passos por caminhos seguros, proporcionando oportunidades e inserindo pessoas especiais ao longo da minha jornada

Aos meus pais, minha irmã e meus avós, estes personificação do amor incondicional, suporte, base para minha formação pessoal e profissional, primeiros incentivadores e que me apresentaram o acesso á educação.

Á minha orientadora Dr. Leila A. Chiavacci , pela oportunidade e acesso á pesquisa e pela convivência ao longo desses anos.

Á minha co-orientadora Eloísa Berbel Manaia, pela paciência, atenção, carinho e toda a dedicação em repassar seu conhecimento para mim e sempre me incentivando em inovar e buscar o conhecimento. Ao grupo CMAF pelo aprendizado, risadas e convivência que levarei pelos anos que segue.

Aos amigos presentes, mesmo que á distância, por todo apoio e momentos de distração singular ao deste longo deste trabalho.

Dedicatória

Aos meus pais e minha irmã querida ,os quais são suporte, fomentam e abraçam de forma paciente e acolhedora s meus sonhos sempre, devaneiam um carinho e parceria singular através de um amor incondicional.

Lista de Ilustrações

Figura 1: Esquema da emissão da radiação em comprimentos de onda diferentes, variando de acordo com o tamanho dos PQs

Figura 2: Estrutura termodinamicamente estável do ZnO: “wurtzita”

Figura 3: Esquema ilustrativo de duas maneiras distintas de realizar dopagem usando íons em uma rede cristalina : “por fora” e “por dentro”

Figura 4: Inserção do dopante magnésio Mg^{2+} na nanoestrutura de ZnO, obtendo um sistema do tipo Mg- ZnO PQs

Figura 5: Representação da estrutura do agente passivador 3-glicidoxipropil-trimetóxisilano (GPTMS) utilizado como modificador de superfície em PQs

Figura 6: Esquematização da modificação de superfície do ZnO PQs através do agente passivador GPTMS

Figura 7: Representação da estrutura do ácido cítrico

Figura 8: Representação do sistema utilizado para obtenção do precursor

Figura 9: Fluxograma das etapas de obtenção de Mg-ZnO PQs com superfície modificada

Figura 10: Soluções de Mg-ZnO PQs tendo ácido cítrico como modificador de superfície.

Figura 11: GPTMS-ZnO PQs e GPTMS-Mg-ZnO PQs dispersos em água e analisados por lâmpada UV.

Figura 12: Fotografia dos pós e suspensões aquosas das amostras 1, 2, 3, 4 e 5 sob luz UV

Figura 13: Fotografia da suspensão aquosa e pó da amostra 4 sob luz UV.

Figura 14: Espectro de fotoluminescência de emissão da suspensão aquosa da amostra 4 e da suspensão etanólica de PQs de ZnO-Mg

Figura 15: Curva de SAXS da amostra 3

Figura 16: Curva de SAXS da amostra 4

Figura 17: Difractogramas de Raios-X do ZnO padrão, PQs de Mg-ZnO e amostras 4 e 5 lavadas e não lavadas evidenciando picos modelos da presença da fase hexagonal wurtzita.

Figura 18: Espectros de RAMAN dos pós de ZnO padrão, de PQs de ZnO com GPTMS lavado e sem lavar, das amostras 4 e 5 lavadas e não lavadas, e do GPTMS puro.

Lista de tabelas

Tabela 1: Amostras com concentrações distintas do agente passivador GPTMS e do catalisador LiOH utilizados para modificar a superfície das nanopartículas com GPTMS.

Tabela 2: Tabela 2: Característica das amostras preparadas e aspecto final após obtenção e lavagem das suspensões obtidas.

Abreviaturas

ZnO: óxido de Zinco

PQs: Pontos Quânticos

PQs ZnO: Pontos Quânticos de óxido de zinco

Mg²⁺: Magnésio

LiOH: Hidróxido de Lítio

PQs ZnO Mg : Pontos quânticos de ZnO dopados com o íon Mg.

GPTMS: 3-glicidoxipropil trimetoxisilano

PQs ZnO Mg: Pontos Quânticos de ZnO com íon dopante Mg²⁺

PQs ZnO GPTMS: Pontos Quânticos de ZnO tendo a superfície modificada pelo GPTMS.

PQs ZnO-Mg-GPTMS: Pontos Quânticos de ZnO tendo a superfície modificada pelo GPTMS e dopados pelo Mg.

AC: Ácido Cítrico

DRX: Difração de Raio -X

IR : Espectroscopia de RAMAN

SAXS: Espalhamento de raios-X a baixo ângulo

UV-VIS: Espectroscopia de absorção na região ultravioleta-visível

PL: Fotoluminescência

NPs: nanopartículas

Índice

Lista de Ilustrações	5
Abreviaturas	8
Resumo.....	10
1. Introdução.....	11
1.1 Bioimagem e nanocristais.....	11
1.2 Pontos quânticos (PQ).....	12
1.3 Os PQs á base de ZnO	13
1.4 Dopantes e uso do Mg como dopante.....	14
1.5 Modificação da superfície de QDs	16
1.5.1 GPTMS.....	17
1.5.2 Ácido Cítrico	18
2. Objetivos.....	18
3. Materiais e Métodos	19
3.1Pontos quânticos de ZnO: processo sol-gel.....	19
3.2. Pontos quânticos de ZnO dopados com Mg (ZnO-Mg).....	20
3.2.1. Modificação de superfície dos pontos quânticos dopados com Mg ²⁺	20
3.2.2. Caracterização físico-química	23
4- Resultados e Discussões	24
4.1 Obtenção Mg-ZnO PQs com superfície modificadas com Ácido cítrico	24
4.2 Obtenção de PQs de Mg-ZnO com superfície modificada com GPTMS.....	25
4.3 Fotoluminescência (FL)	25
4.5 Espalhamento de raios-X a baixo ângulo SAXS	29
4.6 Difração de Raio-X (DRX)	31
4.7. Espectroscopia RAMAN	32
Referências	35

Resumo

O diagnóstico precoce de diversas doenças, principalmente o câncer, é fundamental para o seu combate. Atualmente, muitos avanços têm sido feitos na área de nanotecnologia no sentido de desenvolver sistemas com aplicação na área biomédica e em bioimagem para o diagnóstico de doenças. Nesse contexto, nano-cristais semicondutores de ZnO apresentam elevado potencial como marcadores para aplicações biológicas devido á suas propriedades luminescentes. A fotoluminescência de pontos quânticos (PQs) de ZnO envolve dois aspectos: a emissão excitônica fraca na região do UV e a ampla emissão visível induzida por efeito da superfície PQ. Estudos sinalizam que na síntese de nanopartículas de ZnO, a introdução de magnésio (Mg) como dopante leva a uma mudança significativa no tamanho e forma dos nano-cristais, potencializando as propriedades de luminescência. Entretanto, ainda é um desafio para os pesquisadores obter nanopartículas de ZnO aptas a serem incorporados em nanocarreadores e que sejam estáveis em meio biológico. Desta forma, este trabalho, apresenta como objetivo principal a obtenção de pontos quânticos de ZnO dopados com Mg e recobertos com ácido cítrico e 3-Glycidilpropiltrimetóxisilano (GPTMS) como modificadores de superfície para prover estabilidade em meio biológico. Eles poderão posteriormente ser incorporados em sistemas carreadores a fim de constituir sistemas estáveis com potencialização das propriedades luminescentes dos PQs e, portanto, aptos para aplicação como material de diagnóstico em sistemas biológicos.

1. Introdução

1.1 Bioimagem e nanocristais

Durante a última década, a nanotecnologia tem sido uma área de expansão da ciência e da tecnologia com avanços significativos. As propriedades físico-químicas singulares de vários nanomateriais tornaram possível a criação de novas estruturas, sistemas ou dispositivos, nanoplataformas com aplicações potenciais em diversas áreas. O desenvolvimento de nanomateriais compatíveis, biodegradáveis e funcionalizados para aplicações biomédicas tem sido uma área de contínua investigação e de interesse dos pesquisadores [1,2]

A síntese de nanocristais, partículas cristalinas com tamanhos de 1 a 100nm, tem sido o objeto de inúmeros trabalhos científicos no mundo todo, devido às suas intrigantes propriedades ópticas [3] e por serem promissoras para aplicações biológicas, tais como em dispositivos teranósticos, devido às propriedades luminescentes [4]. É válido proferir, que sistemas teranósticos consistem em sistemas que combinam uma função diagnóstica devido à imagem e uma função terapêutica decorrente da possibilidade de vetorização de um devido às propriedades luminescentes.

Dentre os materiais nanométricos, têm-se os semicondutores nanocristalinos coloidais, também chamados de pontos quânticos (PQs), os quais apresentam portadores de carga (buracos e elétrons) em um estado de confinamento quântico, o que faz com que estes materiais possuam propriedades ópticas que podem ser alteradas modificando-se apenas o tamanho das nanopartículas [5,6]

Uma das propriedades ópticas mais interessantes destes nanocristais, do ponto de vista da aplicação tecnológica, é a forte intensidade de luminescência que apresentam, permitindo que sejam utilizados em dispositivos optoeletrônicos, biomédicos, biomarcadores, dentre outros. Atualmente, alguns semicondutores, tais como II E IV, vêm sendo estudados devido às grandes perspectivas para aplicações práticas devido à não-toxicidade e baixo custo. Estes são identificados como candidatos promissores para substituir o cádmio, muito aplicado em pontos quânticos atualmente [3-6].

Nos dias atuais, é possível produzir nanopartículas monodispersas, cristalinas e altamente luminescentes, por meio de técnicas experimentais menos tóxicas, de menor custo e com boa reprodutibilidade sintética. O maior desafio dessa área de pesquisa talvez seja a obtenção de um processo experimental economicamente viável, capaz de produzir nanocristais semicondutores, nos sistemas II-VI e III-V e

em,em larga escala, os quais sejam aplicáveis e funcionais em um meio aquoso e com luminescência [7].

1.2 Pontos quânticos (PQ)

PQs são nanopartículas formadas a partir de cristais semicondutores nanométricos que apresentam propriedades fluorescentes compostos de 10 a 50 átomos com diâmetro entre 2 – 10 nm. O conceito do confinamento quântico associado aos efeitos de tamanho dos PQ surgiu no início dos anos 1980 quando Brus e colaboradores observaram soluções de cores distintas formadas pela mesma substância. A origem deste fenômeno de fluorescência é a formação de éxcitons, ou pares elétron-buraco com raio teórico calculado pelo modelo de Bohr maior que o raio das partículas [8].

Os PQ semicondutores fluorescentes apresentam um largo espectro de absorção, se estendendo da região ultravioleta (UV) até o espectro visível podendo alcançar o infra-vermelho (IV), mas o espectro de emissão é menos amplo. Tanto as características de absorção quanto as de emissão podem ser controladas pelo tamanho e pela composição química do PQ . Quando são iluminados podem emitir a radiação em baixos comprimentos de onda (λ) (azul) quando são de tamanhos menores e os PQ maiores emitem em alto λ (vermelho). A Figura 1 traz um desenho ilustrando diferentes tamanhos de PQs e a variação de λ emitidos. Além disso, os PQs apresentam um brilho intenso e são fotoestáveis [9]. Em comparação com corantes orgânicos, os PQs são de 100 a 10.000 vezes mais fotoestáveis [10]

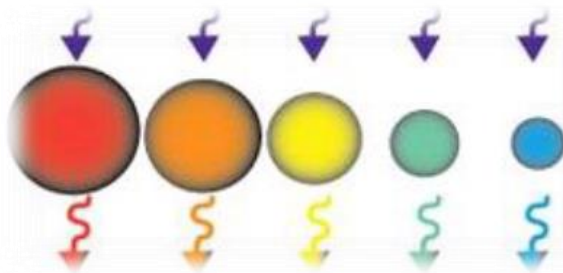


Figura 1: Esquema da emissão da radiação em comprimentos de onda diferentes, variando de acordo com o tamanho dos PQs .

Nas últimas duas décadas, esforços consideráveis têm sido discutidos sobre a utilização de nanocristais semicondutores II-VI (CNs) como materiais luminescentes. Devido ao confinamento quântico- efeitos, as propriedades ópticas destes nanocristais

(também denominados pontos quânticos) podem ser ajustadas fazendo variar o tamanho dos cristais.

Considerando que a preparação de NCS emitindo no azul de estes compostos não tem sido tão bem sucedida. Além disso, o envolvimento de Cd, S, e Se nestes sistemas luminescentes pode causar toxicidade e poluição problemas, e sulfetos ou selenetos são intrinsecamente menos resistentes à oxidação pelo O₂ no ar o que a ciência considera um desafio á superar ^[11,12].

Devido a propriedade fotoluminescente, os PQs são benéficos quando aplicados na área biomédica e biológica, tornando viável detectar moléculas-alvo e fazer imagem em tempo real de células por tempo prolongado. Bruchez et al.^[13] mostraram pela primeira vez o uso de PQs para detecção de antígenos em monocamadas de células fixas. Sabendo-se que a radiação no infravermelho (IV) tem uma absorção mínima em tecidos biológicos, os PQs que absorvem a radiação IV podem ser aplicados como sondas fluorescentes em cirurgias guiadas ^[13]. Além disso, como os PQs apresentam uma grande área de superfície podem acomodar ao mesmo tempo moléculas sinalizadoras e fármacos, tornam-se nanoestruturas multifuncionais capazes de realizar imagem e a terapia de doenças simultaneamente, tais como o câncer ^[14].

1.3 Os PQs á base de ZnO

O ZnO pode exibir uma ampla variedade de nanoestruturas sendo um semicondutor com propriedades semicondutoras e óticas diferenciadas, fato que permite uma ampla variedade de aplicações e multifuncionalidade e justifica seu grande uso atualmente. Uma das características mais importantes dos nanomateriais de ZnO é baixa toxicidade, baixo custo e biodegradabilidade em relação aos pontos quânticos usuais, tais como CdSe e o CdTe e suas associações (CdSe/CdTe, CdTe/ZnS ou CdTe/ZnTe) ^[15]

Diferentemente do ZnO em tamanhos maiores, o ZnO nanoparticulado apresenta uma larga banda proibida (“band-gap”) (3,37 eV), sendo alta sua energia de excitação (60 meV) a qual é responsável pela eficiente emissão da radiação azul e da radiação próxima ao UV ^[16]. A figura 2 representa a estrutura Wurtzita do óxido de zinco (ZnO) que equivale a sua fase termodinamicamente estável.

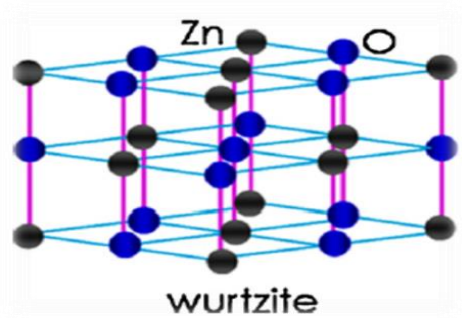


Figura 2 : Estrutura termodinamicamente estável do ZnO: “wurtizita”

O ZnO pode ter ligações hidroxilas (OH) terminais as quais possibilitam a funcionalização da superfície das nanopartículas com moléculas específicas, possibilitando a formação de sistemas multifuncionais. Quanto a dissolução do ZnO em diferentes pHs, quando está com sua superfície em contato direto com a solução pode se dissolver tanto em pH ácido (ambiente de células tumorais) quanto em pH básico [17].

Pode-se destacar diversas aplicações biomédicas de nanomateriais à base de ZnO, tais como imagens biomédicas, direcionamento de drogas, genes, biosensoriamento, entre outros. Pesquisa em aplicações biomédicas de nanomateriais de ZnO continuará a florescer durante a próxima década devido à sua baixa toxicidade, e muitos esforços de investigação ainda são necessários para desenvolver nanopartículas de ZnO biocompatíveis/ biodegradáveis para potencial clínico [18,19].

1.4 Dopantes e uso do Mg como dopante

A inserção de uma impureza, isto é, dopar um sistema de PQs com elementos adequados consiste em um método eficaz para modificar as propriedades eletrônicas, ópticas e magnéticas de nanocristais semicondutores. Esses elementos dopantes apresentam propriedades ópticas singulares conferindo possibilidade de modular eficientemente a emissão na faixa do espectro visível. A adição do íon dopante pode ser pelo ‘lado de fora’ ou ‘lado de dentro’ da rede cristalina [3,6-19].

No processo de dopagem, é importante que os íons adicionados apresentem a mesma valência e, além disso, possuam raios iônicos semelhantes aos íons hospedeiros, a fim de se evitar a migração dos dopantes para a superfície.

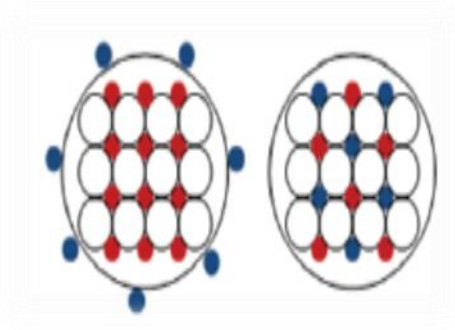


Figura 3: Esquema ilustrativo de duas maneiras distintas de realizar dopagem usando íons em uma rede cristalina : “por fora” e “por dentro”.

À introdução de uma pequena quantidade de “impurezas” dentro da rede cristalina do material e é outra estratégia que tem sido investigada visando a otimização das propriedades ópticas dos semicondutores nanocristalinos. Um exemplo, comumente relatado na literatura, é a dopagem de semicondutores II-VI com íons paramagnéticos como o Mn^{2+} ($S = 5/2$), o que faz com que esses materiais sejam estáveis e também apresentem interessantes propriedades magnéticas. Nanocristais de ZnSe dopados com manganês (ZnSe:Mn), por exemplo, são termicamente estáveis^[20]. A figura 4 representa a inserção do íon dopante Mg^{2+} na nanoestrutura de ZnO.

Pode-se dizer que a dopagem com íons Mg^{2+} , pode aperfeiçoar as propriedades e reforçar a luminescência dos pontos quânticos de ZnO (PQs). Recentemente, pesquisadores relataram um estudo cinético para o entendimento do processo de dopagem em nanocristais semicondutores. O modelo propõe que somente as impurezas remanescentes, na superfície dos nanocristais, por um período de tempo comparável à taxa de crescimento dos mesmos, devem ser incorporadas dentro desses materiais.

Vale ressaltar que a morfologia da superfície, a forma dos nanocristais e a natureza dos ligantes são alguns fatores que influenciam o tempo de residência das impurezas na superfície dos nanocristais e, portanto, são de fundamental relevância para o processo de dopagem ^[20].

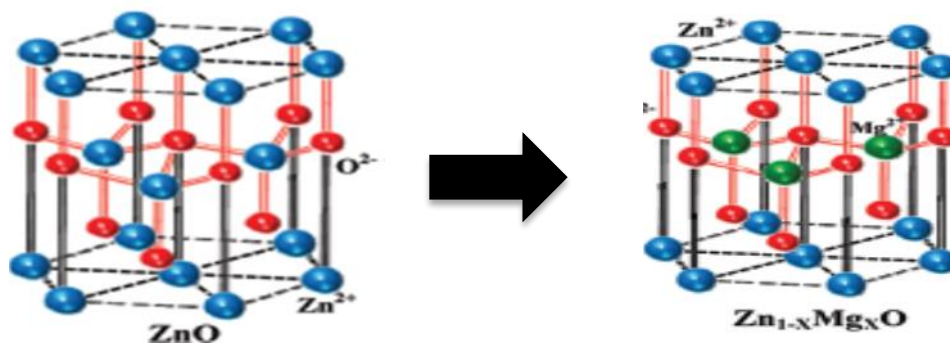


Figura 4: Inserção do dopante magnésio Mg^{2+} na nanoestrutura de ZnO, obtendo um sistema do tipo Mg-ZnO PQs .

1.5 Modificação da superfície de QDs

Como um dos grupos de semicondutores II-VI, ZnO tem atraído recentemente uma atenção crescente, porque é não tóxico, menos caro, e quimicamente estável no ar. No entanto, os seus cristais tendem a agregar em nanoescala ou de se submeter ao crescimento de Ostwald devido à sua elevada energia superficial [20].

Por tornar o sistema QDs viável em meio aquoso, eliminar efeitos que possam afetar as propriedades fotoluminescentes dos nanocristais de ZnO, reduzir processo de agregação na superfície, melhorar as propriedades fotoluminescentes e mantê-las mesmo em meio aquoso conferindo um agente de proteção ao sistema PQs, a inserção de modificadores de superfície como agente de proteção e estabilidade de nanocristais é estudo de interesse [20-21].

A modificação da superfície tem sido amplamente estudada devido a suas várias aplicações e desempenha um papel importante para a fabricação de dispositivos eletrônicos de alto desempenho, tais como biossensores [22]. Os modificadores de superfície são comumente chamados de agentes passivadores ou surfactantes são compostos por uma parte não polar (uma longa cadeia de hidrocarbonetos) e um grupo polar terminal (-SH, -COOH, -NH). O comportamento desses ligantes, na superfície dos nanocristais, ainda não é totalmente compreendido e tem sido estudado com o intuito de controlar as propriedades ópticas desses materiais.

Até o presente momento, sabe-se que os ligantes devem apresentar um comportamento dinâmico "on/off" em torno dos nanocristais, ora permitindo o crescimento desses nanomateriais (estado off ou desligados da superfície) ou bloqueando o crescimento dos mesmos (estado on ou ligados à superfície).

Uma metodologia alternativa e interessante para a funcionalização de superfície e estabilização de nanocristais de ZnO baseia-se na química de organossilanos para inibir a sua decomposição em meio aquoso.

1.5.1 GPTMS

Entre metodologias alternativas, tem-se a química de organossilanos, as quais são aptas á promover funcionalização e estabilização da superfície de nanocristais de ZnO. Esses modificadores de superfície podem inibir a decomposição de PQs em meio aquoso. Desde o primeiro relato da modificação de superfície de nanopartículas de ZnO com silano, esta estratégia tem sido utilizada com sucesso para a estabilização de PQs de ZnO em água ^[23]. Um dos compostos à base de sílica é o 3-glicidoxipropil-trimetoxissilano (GPTMS). A Figura 5 mostra a representação da estrutura do GPTMS.

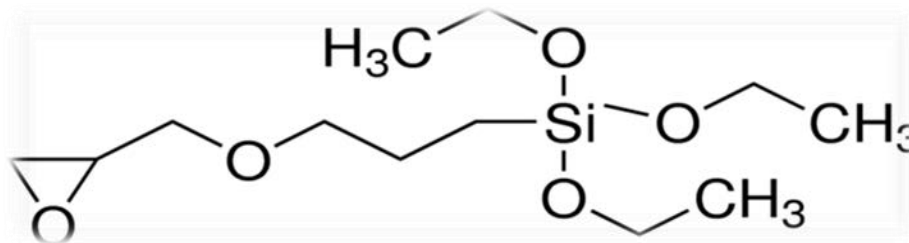


Figura 5: Representação da estrutura do agente passivador 3-glicidoxipropil-trimetóxisilano (GPTMS) utilizado como modificador de superfície em QDs.

Os grupos silanos apresentam como característica forte afinidade com superfícies hidroxiladas, formando ligações covalentes e, desta forma criando uma barreira de blindagem de polissiloxanos reticulados, os quais os nanocristais no núcleo. Na literatura há relatos que uma vez que se introduz SiO₂ na superfície do ZnO, a emissão verde-amarela na região do visível é observada.

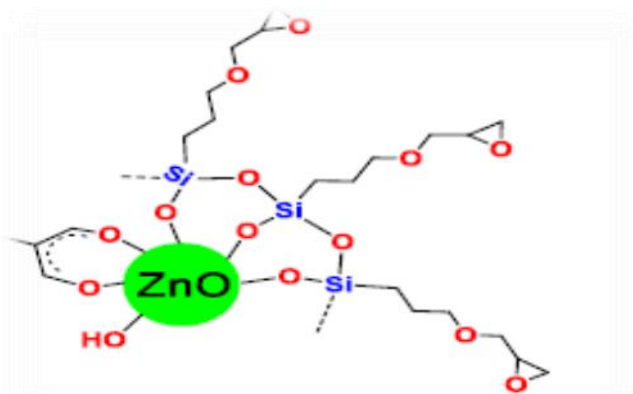


Figura 6: Esquema da modificação de superfície do PQ de ZnO através do agente passivador GPTMS .

1.5.2 Ácido Cítrico

Entre os vários agentes de proteção utilizados, o ácido cítrico e citratos, ésteres de ácido cítrico, têm sido muito utilizados como redutores e agentes de proteção com objetivo de modificar as superfícies de nanopartículas.

O ácido cítrico e citratos são ligantes biológicos importantes para íons metálicos. Ânions de citrato em solução tem de um a três grupos carboxilatos e dependendo do pH das soluções eles podem formar fortes complexos com Fe^{3+} , Ca^{2+} , Ag^+ , Mg^{2+} e Zn^{2+} . Assim, citratos são utilizados como agentes de proteção na síntese de nanocristais de ZnO.

Neste caso, o íon citrato proporciona uma boa superfície de ligação, provê solubilidade em água para as nanopartículas resultantes e reduz a agregação destas.

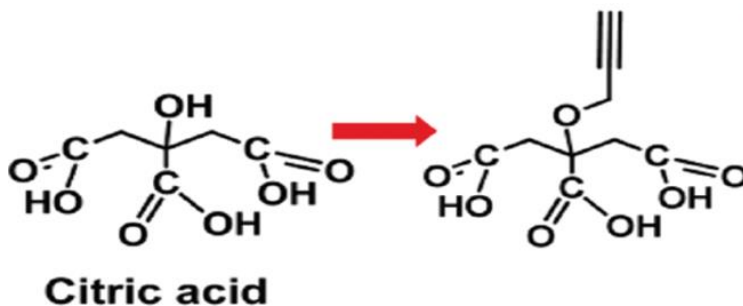


Figura 7: Representação da estrutura do ácido cítrico

2. Objetivos

Este trabalho, apresenta como objetivo principal a obtenção de pontos quânticos de ZnO dopados com Mg e recobertos com ácido cítrico e 3-glicidoxipropiltrimetoxisilano (GPTMS) como modificadores de superfície para prover

estabilidade em meio biológico e aplicação nanotecnológica futura na área biomédica e em bioimagem para o diagnóstico de doenças.

3. Materiais e Métodos

3.1 Pontos quânticos de ZnO: processo sol-gel

O precursor que originará as nanopartículas de ZnO foi preparado pelo método proposto por Spanhel e Anderson (1991) a partir de uma solução etanólica (0,1 mol. L⁻¹) de acetato de zinco, Zn (CH₃COO)₂.2H₂O mantida sob refluxo a 80°C durante 2 horas. Foi acoplado um sistema de destilação e uma saída contendo cloreto de cálcio previamente seco em estufa, de modo a evitar contato da solução com a umidade exterior. A Figura 8 mostra foto do sistema para obtenção do precursor.

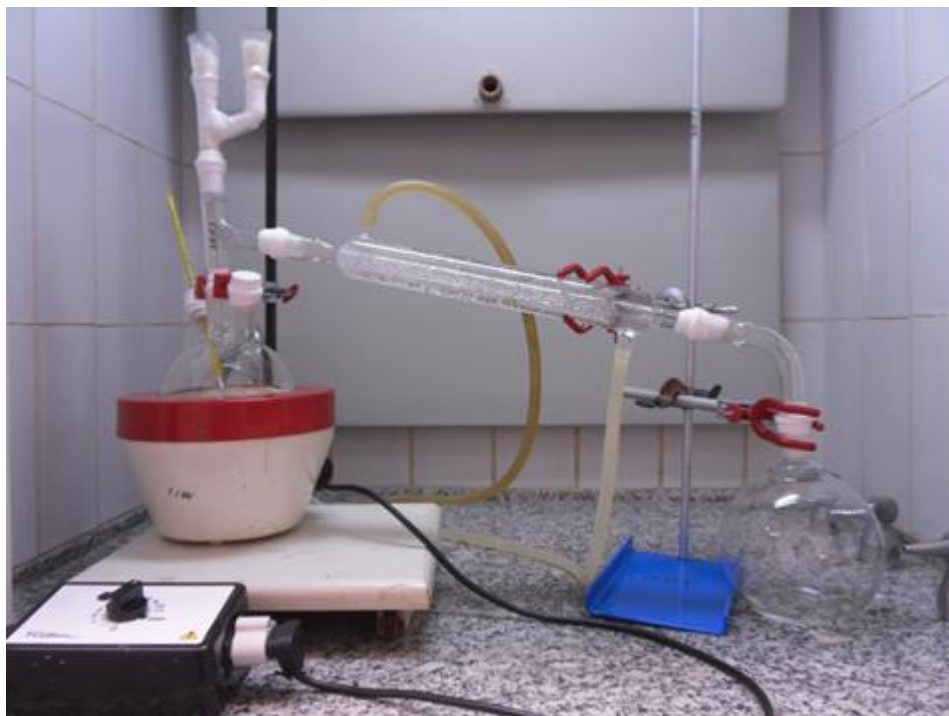


Figura 8: Sistema utilizado para obtenção do precursor

Em seguida esta solução precursora foi resfriada a temperatura ambiente e estocada em freezer a temperatura próxima de -10°C.

Para a etapa de hidrólise e condensação (processo sol-gel) foi utilizada a base LiOH em solução etanólica (0,5 mol. L⁻¹) previamente solubilizada com ajuda do ultrassom. Esta foi adicionada no precursor sob agitação magnética a 60°C durante 1 hora obtendo-se a suspensão coloidal de ZnO . A razão de hidrólise ([OH]/[Zn]) utilizada foi de 1,4.

3.2. Pontos quânticos de ZnO dopados com Mg (ZnO-Mg)

Para obter os PQs de ZnO dopados com Mg adicionou-se uma solução etanólica de Acetato de magnésio (Mg(Ac)₂) na solução precursora de Zn. Foram utilizadas concentrações molar de Mg (Ac) á 20 %, concentração esta já estudada pelo nosso grupo de pesquisa a qual apresentou melhor luminescência. As próximas etapas foram iguais as da síntese dos pontos quânticos não dopados.

3.2.1. Modificação de superfície dos pontos quânticos dopados com Mg²⁺

Os pontos quânticos ZnO dopados com Mg tiveram suas superfícies modificadas com o ácido cítrico (AC) e com o 3-glicidoxipropil-trimetoxisilano (GPTMS), tornando-as hidrofílicas . A suspensão de pontos quânticos de ZnO dopadas com Mg foi misturada com uma solução etanólica de AC a 60°C durante 30 minutos. Foram utilizadas razões molares (r) de [AC]/[Zn] entre 0,1 e 1,4. Após serem resfriadas entre 4-8°C as partículas foram lavadas uma vez com etanol para retirar o excesso de ácido cítrico que não permaneceu na superfície dos PQs. Após a secagem em dessecador, os pós foram resuspendidos em água.

Para modificar as nanopartículas com GPTMS (ZnO-Mg-GPTMS) preparou-se amostras com concentrações distintas(conforme Tabela 1) do agente passivador e do agente catalisador, LiOH, a fim de obter concentração ideal para promover a modificação de superfície dos PQs de Mg-ZnO. O método implica no preparo da solução de LiOH em etanol durante 30 minutos, em seguida adicionou o modificador GPTMS e esta solução final reagiu com a suspensão de pontos quânticos de Zn dopadas com Mg à 60°C durante 30 minutos. Foram utilizadas concentrações de LiOH variando entre 0,05 e 0,3 M e concentrações de GPTMS entre 0,1 á 0,3 M. Após serem resfriadas, as partículas foram lavadas uma vez com etanol e após secagem em dessecador a temperatura ambiente, os pós foram resuspendidos em água.

Amostra	Quantidade GPTMS- LiOH	Razão Molar GPTMS- LiOH
1	0,2M GPTMS/0,1M LiOH	2:1
2	0,3M GPTMS/0,15 LiOH	2:1
3	0,3M GPTMS/0,3M LiOH	1:1
4	0,1M GPTMS/0,2M LiOH	1:2
5	0,01M GPTMS/0,05M LiOH	1:2

Tabela 1: Amostras com concentrações distintas do agente passivador GPTMS e do catalisador LiOH utilizados para modificar a superfície das nanopartículas com GPTMS.

Além dessas amostras também foi sintetizado a amostra do agente passivador GPTMS com ZnO sem dopante para comparação com as amostras de ZnO-Mg. A Figura 9 apresenta o fluxograma das etapas de obtenção de PQs de Mg-ZnO com superfície modificada.

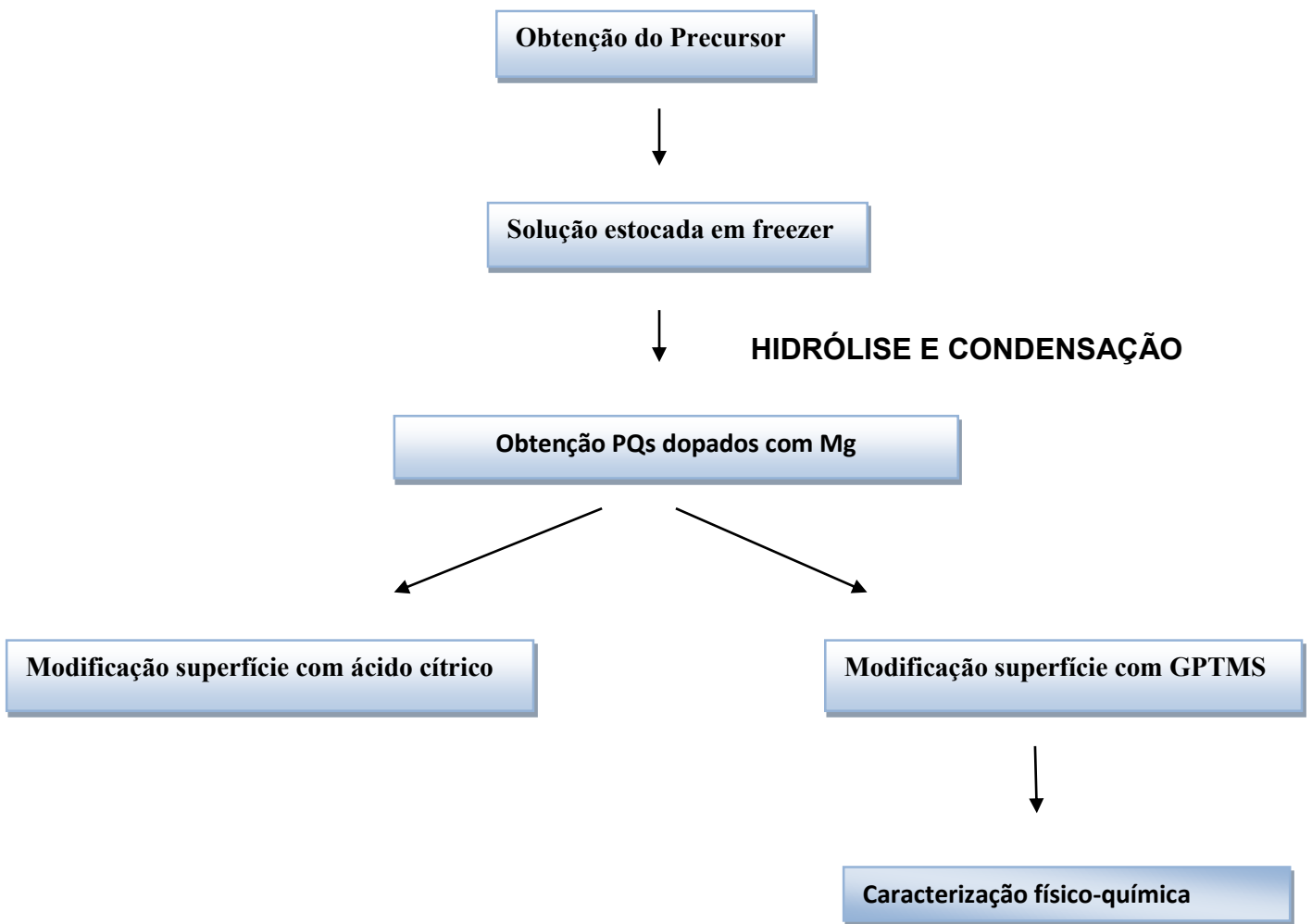


Figura 9 : Fluxograma das etapas de obtenção de Mg-ZnO PQs com superfície modificada.

3.2.2. Caracterização físico-química

3.2.2.1. Espectroscopia de absorção na região ultravioleta-visível (UV-Vis)

Os espectros de absorção no UV-Vis foram coletados pelo Espectrofotômetro Cary Win 4000 UV-Vis utilizando cubeta de caminho ótico de 1 mm. A faixa de comprimento de onda variou de 250 a 450 nm, sendo o tempo médio de leitura de 0,2 s e o intervalo de dados de 1 nm. O etanol foi utilizado para realizar a medida de linha de base dos experimentos para ZnO puro e Mg-ZnO PQs enquanto que para amostras do tipo GPTMS-ZnO e PQs de GPTMS-Mg-ZnO a água foi medida de linha de base.

3.2.2.2 Espalhamento de raios-X a baixo ângulo (SAXS)

As medidas de SAXS das nanopartículas de ZnO dopadas com Mg e superfície modificada foram realizadas no Laboratório Nacional de Luz Sincrotron (LNLS-Brasil), na linha SAXS1. Esta linha é equipada com um monocromador ($\lambda = 1,488 \text{ \AA}$) e um detector vertical e um analisador multicanal para registrar a intensidade do espalhamento $I(q)$, em função do vetor de espalhamento, q . O espalhamento das micas e do ar foi subtraído da intensidade total espalhada. Tal instalação permitiu um vetor de espalhamento, q , entre aproximadamente $0,11$ e $4,15 \text{ \AA}^{-1}$. Os dados foram analisados utilizando o software SASFIT.

3.2.2.3 Espectroscopia de Fotoluminescência (PL)

As medidas de fotoluminescência foram realizadas no fluorímetro SPEX F2121 e detector de germânio North Coast Scientific Corporation modelo EO-8171. A lâmpada de Xenônio de 450W foi utilizada para excitar as amostras. As amostras foram excitadas no comprimento de onda de máxima absorção. Para obter as medidas, foram utilizados dois monocromadores: o monocromador de excitação (localizado entre a lâmpada de Xe e a amostra) e monocromador de emissão (localizado na saída da amostra). Na obtenção dos espectros de emissão (PL), o monocromador de excitação fica fixo em um único comprimento de onda e o monocromador de emissão faz a varredura no intervalo desejado. É válido lembrar que as amostras foram diluídas para obter mesmo valor de absorbância, ou seja, apresentaram a mesma concentração.

3.2.3.3 Difração de raios-X (DRX)

Os pós de ZnO, ZnO dopados com Mg com e sem modificador de superfície foram analisados no difratômetro Bruker D2 Phaser usando radiação CuK, $\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$, monocromatizada por cristal de grafite. Os dados da intensidade de difração foram medidos em uma faixa $2\theta = 5 - 70^\circ$, com passo de 0.1° e tempo de exposição por passo de 3s.

3.2.3.5 Espectroscopia de RAMAN

Os espectros Raman foram coletados no equipamento Lab Raman HR, Horiba Jobin VON, espectrômetro Raman equipado com um IV próximo diodo laser a trabalhar a 632,81 nm, que opera com uma potência de 17 mW. Foram analisados os pós das amostras preparadas antes de serem dispersas em água.

4- Resultados e Discussões

4.1 Obtenção Mg-ZnO PQs com superfície modificadas com Ácido cítrico

As suspensões de ZnO dopadas com ácido cítrico apresentaram-se com precipitado quando submetidas a um simples teste de estabilidade ciclo ambiente onde inicialmente as amostras ficaram por 15 dias estocadas na geladeira e a exposição das condições ambientes por mais 15 dias. Foram feitas 6 soluções com diferentes concentrações e todas apresentaram-se instáveis por apresentarem um precipitado branco em ambas condições. A Figura 10 apresenta foto ilustrando as amostras com diferentes concentrações de ácido cítrico após 15 dias de preparo.

A formação deste precipitado pode ser indicativa da formação de hidróxido de Zinco ou de agregados, o que não é mais interessante, pois já não apresentam mais as propriedades luminescentes dos pontos quânticos. Desta forma, focou-se o trabalho nos experimentos e tentativas de obtenção de um sistema estável de PQs de ZnO dopado e modificado com o agente passivador GPTMS.

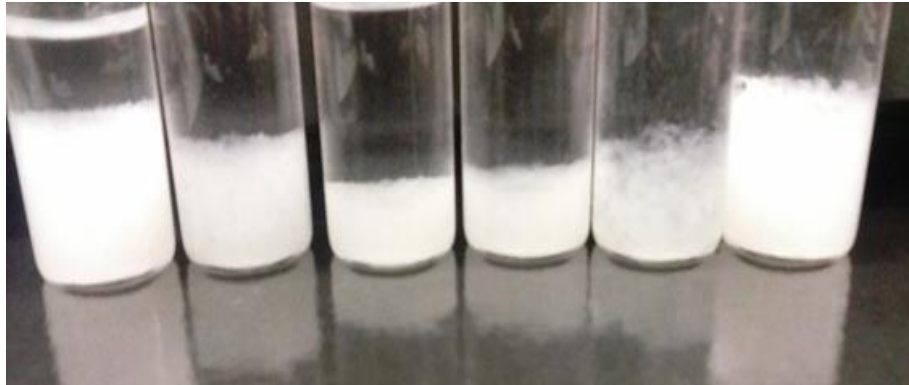


Figura 10: Soluções de Mg-ZnO PQs tendo ácido cítrico como modificador de superfície.

4.2 Obtenção de PQs de Mg-ZnO com superfície modificada com GPTMS

As amostras de PQs de GPTMS-Mg-ZnO antes da obtenção dos pós foram submetidas a um simples teste de estabilidade ciclo ambiente: 15 dias durante a geladeira e 15 dias submetido a temperatura ambiente não apresentando precipitado ou alteração que fosse relevante. Após obtenção do pó e resuspensão em água, observou-se a solubilidade, luminescência e aspecto das amostras. As amostras três e quatro (3 e 4) foram as mais interessantes para dar prosseguimento aos estudos e testes físico-químicos, uma vez que não houve a formação de precipitado e apresentaram-se solúveis em água e com aspecto transparente. Isso pode ser indicativo de que mesmo após inserção do GPTMS na estrutura Mg-ZnO PQs e submissão do processo de lavagem, o modificador de superfície manteve-se na nanopartícula sendo retirado apenas o excesso de agente passivador que não reagiu ou de possíveis impurezas presentes na superfície dos PQs de ZnO.

4.3 Fotoluminescência (FL)

A Figura 11 apresenta a fotografia das suspensões coloidais de ZnO dopado e não dopado sob lâmpada UV. Nota-se que a suspensão coloidal de ZnO emite a radiação visível da região verde-amarela e a de ZnO dopada com Mg^{2+} emite na região azul. Isto se deve pela redução do tamanho das nanopartículas quando dopadas com Mg^{2+} . Assim, o espectro de emissão se desloca para valores de comprimento de onda menores, como visto em trabalho anterior do nosso grupo.

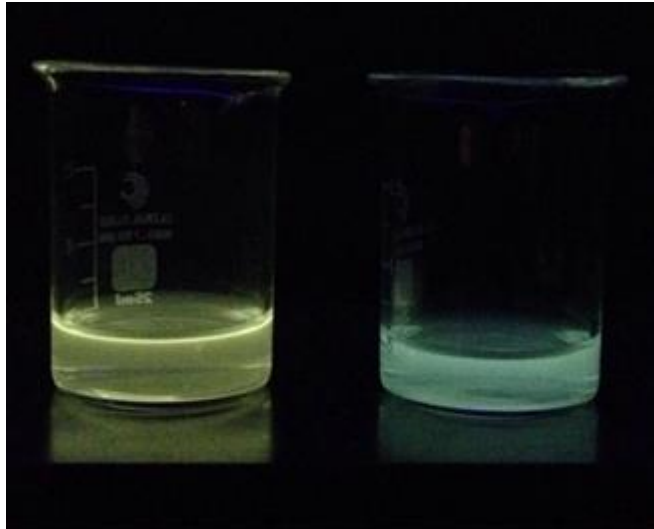


Figura 11: GPTMS-ZnO PQs e GPTMS-Mg-ZnO PQs dispersos em água e analisados por lâmpada UV.

Com o intuito de modificar a superfície de PQs de ZnO dopados e promover o sistema solúvel em água, visando aplicação em sistemas biológicos e bioimagem, assim como potencializar a luminescência do sistema. Os pós obtidos das amostras com diferentes concentrações do agente passivador GPTMS foram lavados e submetidos ao UV para analisar quantitativamente o comportamento luminescente e de solubilização em meio aquoso destas amostras. O resultado segue na tabela 2, apresentando a luminescência vista á olho “nu” e solubilidade em água.

Amostra	Solubilidade em Água	Luminescência
1	Solúvel	Menor
2	Solúvel	Menor
3	Solúvel	Maior
4	Solúvel	Maior
5	Solúvel	Menor

Tabela 2: Característica das amostras preparadas e aspecto final após obtenção e lavagem das suspensões obtidas.

A Figura 12 apresenta a fotografia dos pós e suspensões aquosas das amostras 1, 2, 3, 4 e 5 mediante luz UV (365nm). A “olho nu” as amostras 3 e 4 apresentaram uma luminescência melhor. Essas amostras podem ter a quantidade ideal de agente passivador que se ligam bem á superfície do ZnO e

consequentemente promovem benefícios, uma vez que possuem em sua composição quantidade maior do agente catalisador.

Entretanto, a amostra 3 quando dispersa em meio aquoso ficou um pouco turva enquanto que a 4 se apresentou totalmente transparente, inferindo uma melhor viabilidade em meio aquoso e consequente aplicação para sistemas biológicos. A figura 11 apresenta a fotografia da amostra 4 ,pó e suspensão aquosa, sob lâmpada UV. Dentre as amostras analisadas, a amostra 4 se mostrou mais promissora.



Figura 12: Fotografia dos pós e suspensões aquosas das amostras 1, 2, 3, 4 e 5 sob luz UV

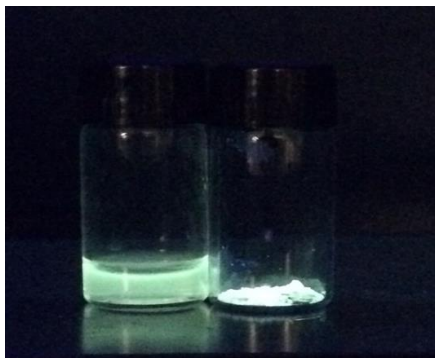


Figura 13: Fotografia da suspensão aquosa e pó da amostra 4 sob luz UV

Geralmente, os espectros de PL de ZnO apresentam duas componentes: a emissão na região UV e a outra é emissão no espectro visível. As nanopartículas preparadas por procedimento sol-gel apresentam luminescência principalmente no espectro visível sendo que a sua emissão UV é fraca. Em contrapartida, ZnO que são altamente cristalinos apresentam forte luminescência na região UV.

Através do espectro de absorvância, a amostra ZnO-Mg PQs foi excitada em 334nm e a amostra PQs ZnO-Mg-GPTMS em 337nm. A Figura 14 apresenta os espectros de emissão da suspensão de ZnO-Mg e da suspensão aquosa da amostra 4. Observou-se que PQs ZnO Mg apresentam maior intensidade de luminescência em relação á PQs ZnO-Mg-GPTMS. Este comportamento era esperado, uma vez que o modificador de superfície tende a diminuir a intensidade da emissão da radiação por alterar as propriedades de superfície do material.

Pesquisas apontam que a emissão na região do verde relaciona-se com o tamanho da estrutura esférica da microesfera de SiO₂ ao redor do ZnO, a qual está presente na estrutura do modificador de superfície em questão, o GPTMS. Quando o GPTMS é utilizado com nanopartículas de ZnO, observa-se geralmente emissão de cores de azul 460 nm até amarelo-verde 550nm, o mesmo observado na amostra 4, sendo seu máximo de emissão na região verde (~530nm).

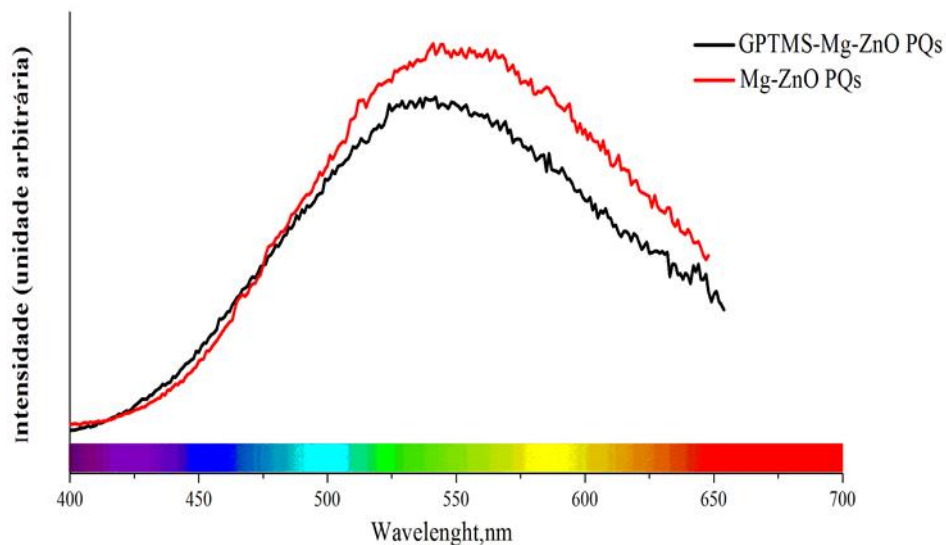


Figura 14: Espectro de fotoluminescência de emissão da suspensão aquosa da amostra 4 e Mg-ZnO puro da suspensão etanólica de PQs de ZnO-Mg.

O excesso de Si na superfície pode formar uma camada de passivação na superfície dos PQs de ZnO ou condensar com os grupos OH que estão na superfície do ZnO, o que reduz defeitos de superfície e reduz a intensidade de emissão quando comparado ao ZnO-Mg sem GPTMS, e concomitantemente reduz o comprimento de onda de emissão, se deslocando de ~550 nm para ~530 nm.

O excesso de – OH na superfície das nanopartículas decorrentes do método de obtenção de sol-gel, induz a emissão visível Estas estão relacionadas com a

emissão verde a partir de o próprio ZnO, o que está correlacionado aos defeitos de superfície de vacâncias de oxigênio e defeitos de zinco presentes na nanopartícula.

4.5 Espalhamento de raios-X a baixo ângulo SAXS

A fim de compreender a estrutura nanométrica das partículas formadas, a figura 16 e 17 das apresenta as curvas de SAXS das amostras 3 e 4 são dadas pela intensidade de espalhamento a baixo ângulo, $I(q)$, em função do vetor de espalhamento, q .

O SAXS é uma técnica que pouco perturba o sistema analisado sendo muito eficiente no acompanhamento “in situ” dos processos de crescimento e agregação de sistemas coloidais diluídos. O princípio da técnica de SAXS se fundamenta no uso da radiação para detectar diferença de densidade eletrônica entre a partícula e a sua vizinhança, sendo possível caracterizar o material quanto ao seu tamanho, dimensão fractal e geometria. As curvas das amostras analisadas apresentam um comportamento linear na região de q maiores e um patamar na região de q menores. A intensidade espalhada por um conjunto N de partículas isoladas globulares idênticas e orientadas ao acaso, como apresentada na região de q menores, pode ser descrito pela lei de **Guinier**:

$$I(q) = I(0) \exp(-q^2 R_g^2/3) \text{ Equação I}$$

onde R_g é o raio de giro das partículas e $I(0)$ é dado pela relação entre a diferença de densidade eletrônica entre as fases, $\rho_0 - \rho_m$, número, N , e volume médio, V_0 , das partículas:

$$I(0) = N (\rho_0 - \rho_m)^2 V_0^2 \text{ Equação II}$$

Na região de q maiores, as curvas de SAXS seguem uma lei de potência:

$$I(q) = A q^{-\alpha} \text{ Equação IV}$$

onde $A = 2 \pi (\rho_0 - \rho_m) S$, S é a área da interface entre a matriz e a partícula e α , um expoente que varia de acordo com a suavidade e geometria das partículas. Um modelo estatístico prevê valores de $\alpha = 1$ para cadeias completamente estendidas, $\alpha = 2$ para cadeias ramificadas e $\alpha = 4$ para partículas com superfície lisa e bem definido [24].

O patamar na região de pequenos valores de q é característico do espalhamento para um sistema diluído de partículas, enquanto a inclinação da região linear (~ 4) segue a lei de Porod, e é típica de partículas com superfície lisa bem definida. Na figura 14 e 15 observa-se valores de α da lei de potência de Porod equivalentes a 4, demonstrando que independente das concentrações do agente passivador, ambos apresentaram superfície lisa e bem definida. As amostras 3 e 4 apresentaram um valor de R_g de 5.24 e 5.97 nm, respectivamente. O R_g pode ser o tamanho da nanopartícula com o modificador da superfície ou o raio de alguns aglomerados de nanopartículas. Um pico pouco acentuado é observado em valores de q maiores de ambos os gráficos no valor de 2,25 nm e 2,31 nm pode ser indicativo da distância entre as partículas na suspensão aquosa.

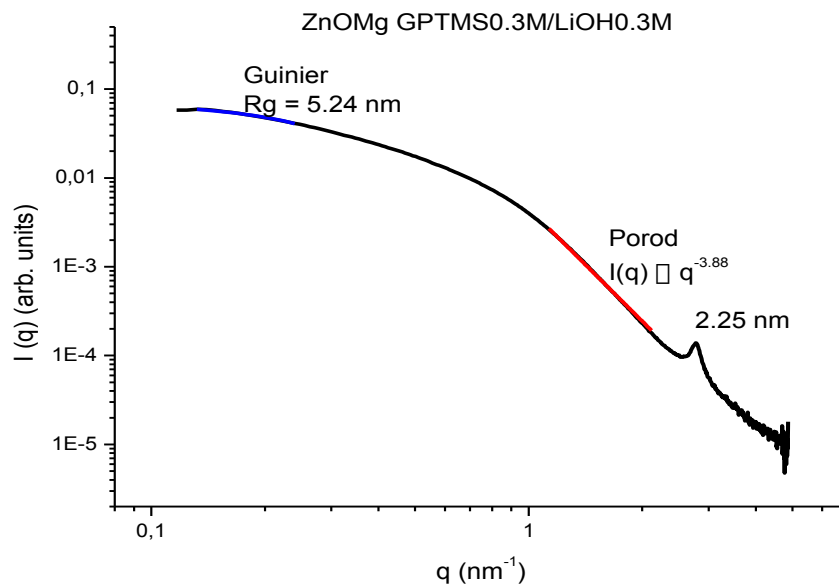


Figura 15: Curva de SAXS da amostra 3

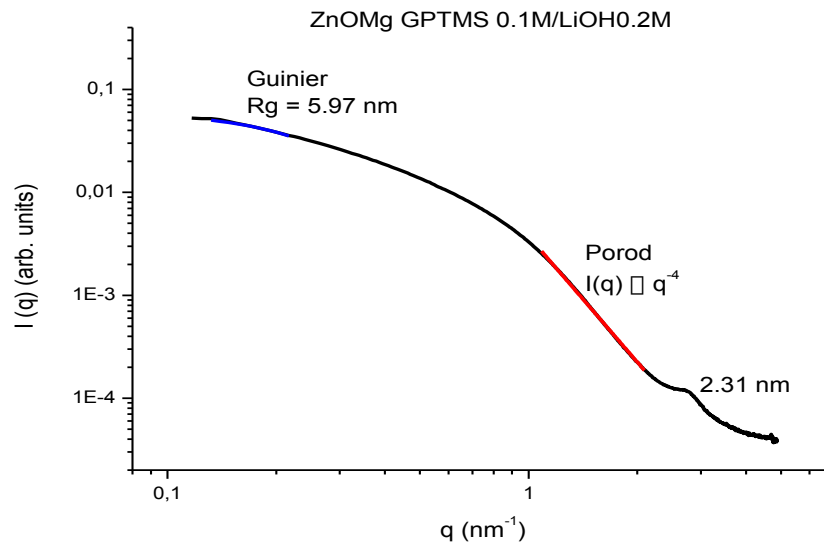


Figura 16: Curva de SAXS da amostra 4

4.6 Difração de Raio-X (DRX)

A caracterização de amostras por DRX permitiu analisar a estrutura cristalina da nanopartícula. Na rede cristalina da nanopartícula ocorre substituição de alguns íons Zn^{2+} por Mg^{2+} conforme a figura. A Figura 17 apresenta os difratogramas de Raios-X do ZnO padrão, PQs de Mg-ZnO e das amostras 4 e 5 lavadas e não lavadas.

Todas as amostras possuem a picos característicos do ZnO de estrutura wurtzita hexagonal, independente da presença de dopante e modificador de superfície.

Os picos são mais alargados de largura maior e altura baixa de menor intensidade em comparação ao ZnO padrão, indicando a formação de um cristalito com menor tamanho, enquanto picos altos e estreitos indicam maior tamanho do cristal [25-26].

Este fato pode estar relacionado ainda com a presença do dopante na rede cristalina e/ou a adição de silano na superfície das partículas, fato que pode contribuir para redução da cristalinidade das partículas de ZnO.

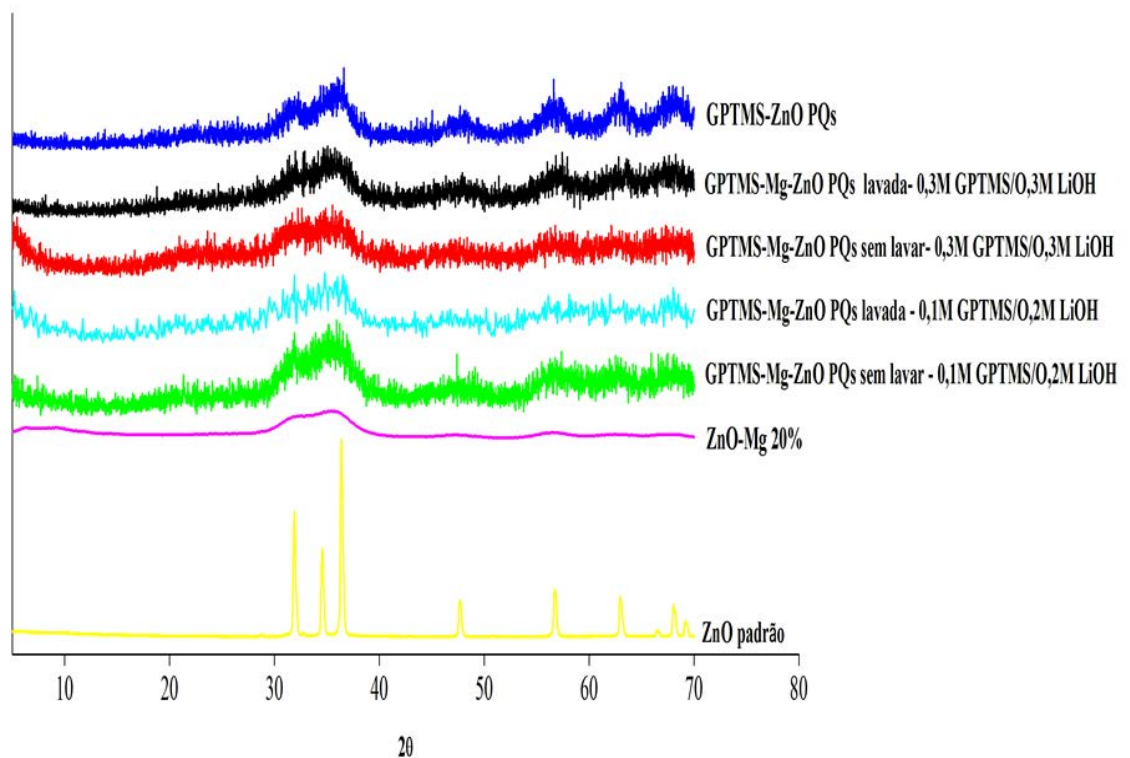


Figura 17: Difratogramas de Raios-X do ZnO padrão, PQs de Mg-ZnO e amostras 4 e 5 lavadas e não lavadas evidenciando picos modelos da presença da fase hexagonal wurtzita

4.7. Espectroscopia RAMAN

A mudança e ampliação dos picos de Raman podem ser utilizadas para obter informação sobre a composição e tamanho de nanoestruturas [27].

O espalhamento de RAMAN dos PQs analisados permite inferir sobre espécies presentes na superfície destes quando comparados com o PQs de ZnO obtidos através do processo sol-gel.

A caracterização por RAMAN das amostras de nanopartículas de ZnO dopadas e modificadas com GPTMS sinalizam picos de ZnO definidos em 439 cm^{-1} , valor muito próximo do padrão para ZnO descrito em literatura que indica presença da estrutura wurtzita [28-29].

Os picos 917 cm^{-1} e 1080 cm^{-1} assinalados no gráfico referem-se respectivamente á presença de grupo epóxido e ligações Si-O2 presentes na estrutura do modificador de superfície GPTMS. Estes picos são observados nas amostras de PQs de ZnO dopadas com modificador GPTMS, mesmo quando estas são submetidas ao processo de lavagem, o que demonstra que o etanol retira apenas o excesso do agente passivador (GPTMS), o qual não reagiu. Assim, o espectro de RAMAN sinaliza

que o ZnO dopado está recoberto com o GPTMS, o que mantém o sistema viável em meio aquoso

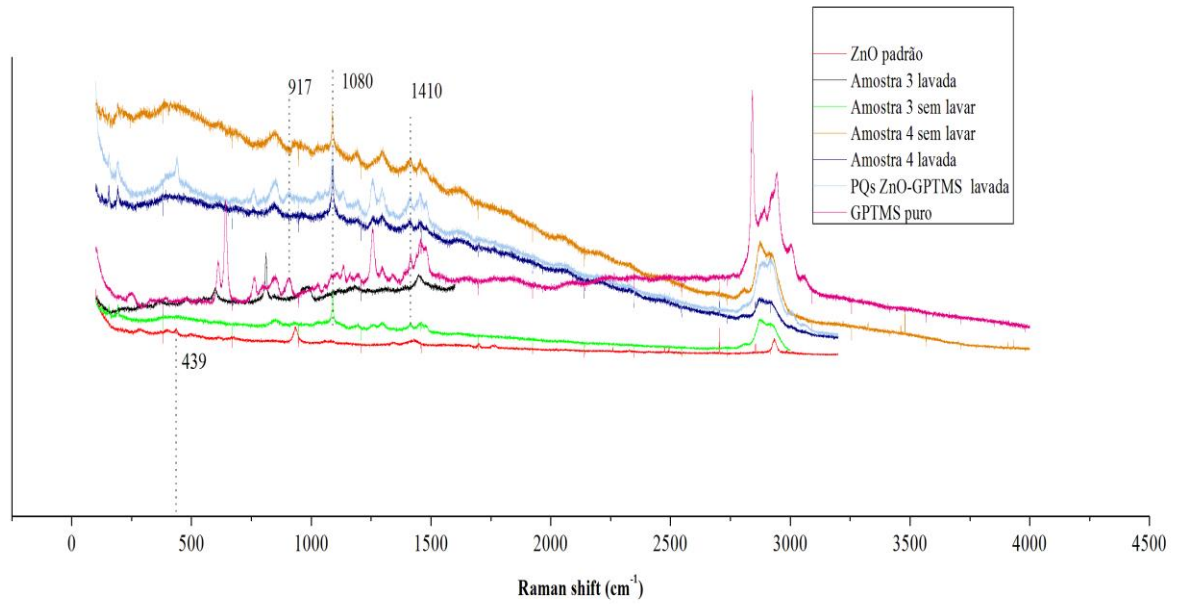


Figura 18: Espectros de RAMAN dos pós de ZnO padrão, de PQs de ZnO com GPTMS lavado e sem lavar, das amostras 4 e 5 lavadas e não lavadas, e do GPTMS puro.

5. Conclusão

Os PQs de ZnO foram obtidos pelo processo sol-gel e submetido ao processo de dopagem partindo da concentração ideal de 20% de Mg como indicado em trabalhos anteriores realizados pelo grupo de pesquisa CMAF da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” Campus de Araraquara. Promoveu-se a modificação de superfície de PQs ZnO Mg com GPTMS melhorando as propriedades óticas do material e estabilizando o sistema em meio aquoso, o que é de grande importância para ser viável em aplicações biomédicas.

Em resumo, este estudo possibilitou demonstrar uma nova rota possível para a estabilização de PQs de ZnO-Mg em meio aquoso, sendo as quantidades de GPTMS e LiOH 0,1M e 0,2M, respectivamente, as que demonstraram melhor proteger a superfície das nanopartículas e permitindo, assim manter as propriedades luminescentes do material de PQs de ZnO.

Através da modificação de superfície com GPTMS e simultaneamente com a inserção da concentração ideal de 20 % do dopante de magnésio, obteve-se propriedades luminescentes consideráveis, promissoras e aplicáveis em meio biológico. Desta forma, este material torna-se atrativo, no âmbito nanotecnológico para aplicação em imunologia, bioimagem e, biomarcadores em sistemas biológicos.

Referências

1. ZHANG, Y et al. Biomedical Applications of Zinc Oxide Nanomaterials. *Curr Mol Med*. 2013.
2. MONTALT, M et al. Dye-doped silica nanoparticles as luminescent organized systems for nanomedicine. *Journal View. Chem Soc Ver*, 2014.
3. SILVA, F.O et al. *Quim. O Estado da arte da síntese de semicondutores nanocristalinos coloidais. Revista Química Nova*, Vol. 33, No. 9, 2010.
4. MANAIA, E.B et al. Surface modified Mg-doped ZnO QDs for biological imaging. *The Journal Eur. Nanomed*, 2015; 7(2): 109–120.
5. LIN, K.F et al. Band gap variation of size-controlled ZnO quantum dots synthesized by sol-gel method. Department of Photonics and Institute of Electro-Optical Engineering, National Chiao Tung University, 1001 Tahsueh Road, Hsinchu 30050, Taiwan, Republic of China. *Chemical Physics Letters* 409 (2005) 208–211.
6. SUM, W.L et al. Lanthanum-doped ZnO quantum dots with greatly enhanced fluorescent quantum yield. *Journal of Dynamic Article Links C. Materials Chemistry*, 2012.
7. YOUSEFI, R et al. Fabrication and characterization of ZnO and ZnMgO nanostructures grown using a ZnO/ZnMgO compound as the source material. Solid State Laboratory, Department of Physics, University of Malaya, 50603 Kuala Lumpur, Malaysia. *Journal Elsevier*. 2009.
8. BRUS, L. E. A simple model for the ionization potential, electron affinity, and aqueous redox potentials of small semiconductor crystallites. *The Journal of Chemical Physics*, v. 79, n. 11, p. 5566-5571, 12/01/ 1983.
9. GHASEMI, Y.; PEYMANI, P.; AFIFI, S. Quantum dot: magic nanoparticle for imaging, detection and targeting. *Acta Biomed*, v. 80, p. 156-165, 2009.
10. WANG, C.; GAO, X.; SU, X. In vitro and in vivo imaging with quantum dots. *Anal Bioanal Chem*, v. 397, p. 1397–1415, 2010.
11. SCHNEIDER, R et al. Synthesis, Characterization and Biological Applications of Water-Soluble ZnO Quantum Dots. *Hal.archives-ouvertes*. 2011.

12. KIM, S.; LIM, Y. T.; SOLTESZ, E. G.; DE GRAND, A. M.; LEE, J.; NAKAYAMA, A.; PARKER, J. A.; MIHALJEVIC, T.; LAURENCE, R. G.; DOR, D. M.; COHN, L. H.; BAWENDI MG; FRANGIONI, J. V. Near-infrared fluorescent type II quantum dots for sentinel lymph node mapping. *Nat Biotechnol*, v. 22, p.93-97, 2004
13. BRUCHEZ, M.; MORONNE, M.; GIN, P.; WEISS, S.; ALIVISATOS, A. P. Semiconductor nanocrystals as fluorescent biological labels. *Science* v. 1998; 281: 2013-6.
14. SMITH, A. M. ; DUAN, H. ; MOHS, A. M. ; NIE, S. Bioconjugated quantum dots for in vivo molecular and cellular imaging. *Adv Drug Deliv Rev*, v. 60, p. 1226–1240, 2008.
15. . KATHALEWARA, M et al. Effect of incorporation of surface treated zinc oxide on non-isocyanate polyurethane based nano-composite coatings. *Progress in Organic Coatings* 76 (2013)
16. KUMAR, R et al. In Vitro Evaluation of Theranostic Polymeric Micelles for Imaging and Drug Delivery in Cancer. *Electronic Materials Research Institute, Northeastern University, Boston MA USA.*
17. ARYAA, K.S et al. Recent advances in ZnO nanostructures and thin films for biosensor applications: Review. *Analytica Chimica Acta* 737 (2012).
18. ALIM, K.A; FONOBEROV, V.A; BALANDIN, A.A. Origin of the optical phonon frequency shifts in ZnO quantum dots. Nano-Device Laboratory, Department of Electrical Engineering, University of California–Riverside, Riverside, California. *Applied Physics Letters* 86, 053103 -2005.
19. XUE, H,C ET AL. Large-area fabrication of superhydrophobic surfaces for practical applications: an overview. *Sci. Technol. Adv. Mater.* 11 (2010).
20. XIONG, M.X .Photoluminescent ZnO nanoparticles modified by polymers. *Journal of materials of Chemistry*
21. BUS, M et al. Synthesis and characterization of antimicrobial textile finishing based on Ag:ZnO nanoparticles chitosan biocomposites. *RSC Adv.*, 2015, 5, 21562

22. ZENG, T.W et al. Effects of bifunctional linker on the optical properties of ZnO nanocolumn-linker-CdSe quantum dots heterostructure. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2011.
23. KATHALEWARA, M et al. Effect of incorporation of surface treated zinc oxide on non-isocyanate polyurethane based nano-composite coatings. *Progress in Organic Coatings* 76 (2013).
24. RS Hiratsuka, CV Santilli, SH Pulcinelli et al; 24. O processo sol-gel: uma visão físico-química *Química nova*, 1995. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/32989>.
25. CAETANO, B.L; SANTILLI, C.V, MENEAU, F; BRIOIUS, V and PULCINELLI, S. In situ and simultaneous UV-vis/SAXS and UV-vis/XAFS time-resolved monitoring of ZnO quantum dots formation and growth. *The Journal of Physical Chemistry*. FEBRUARY 2011.
26. BERA, D et al. Photoluminescence of ZnO quantum dots produced by a sol-gel process. *Science Direct. Optical Materials* 30 (2008) 1233–1239.
27. MANSUR, H et al. FTIR and UV-vis study of chemically engineered biomaterial surfaces for protein Immobilization. *Spectroscopy* 16 (2002).
28. SHENA, C; WANGA, J; TANGA, Z; WNAHA, H; HUIQUIN, L; CAO, C. Physicochemical properties of poly(ethylene oxide)-based composite polymer electrolytes with a silane-modified mesoporous silica SBA-15. *Journal Elsevier. Electrochimica Acta*, 54(2009). Disponível em: www.elsevier.com/locate/electacta.
29. SHARMA, A. Luminescence studies and formation mechanism of symmetrically dispersed ZnO quantum dots embedded in SiO₂ matrix. *Journal of Luminescence* (2009).