



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Câmpus de São José do Rio Preto

João Antonio Oliveira Santos

**Desenvolvimento de materiais híbridos baseados em
nanopartículas de sílica densa decoradas com grupos
carboxilatos e complexos luminescentes de európio**

São José do Rio Preto

2019

João Antonio Oliveira Santos

Desenvolvimento de materiais híbridos baseados em nanopartículas de sílica densa decoradas com grupos carboxilatos e complexos luminescentes de európio

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química, junto ao Programa de Pós-Graduação em Química, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES

Orientador: Prof. Dr. Sergio Antonio Marques de Lima

São José do Rio Preto

2019

S237d

Santos, João Antonio Oliveira

Desenvolvimento de materiais híbridos baseados em nanopartículas de sílica densa decoradas com grupos carboxilatos e complexos luminescentes de európio / João Antonio Oliveira Santos. -- São José do Rio Preto, 2019

128 f. : il., tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto

Orientador: Sergio Antonio Marques de Lima

1. Química inorgânica. 2. Luminescência. 3. Ácidos carboxílicos. 4. Marcadores bioquímicos. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

João Antonio Oliveira Santos

**Desenvolvimento de materiais híbridos baseados em
nanopartículas de sílica densa decoradas com grupos
carboxilatos e complexos luminescentes de európio**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química, junto ao Programa de Pós-Graduação em Química, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES

Comissão Examinadora

Prof. Dr. Sergio Antonio Marques de Lima
UNESP – Câmpus de Presidente Prudente
Orientador.

Prof. Dr. José Maurício Almeida Caiut
FFCLRP – Universidade de São Paulo

Prof. Dr. Valdemiro Pereira de Carvalho Junior
UNESP – Câmpus de Presidente Prudente

Presidente Prudente

01 de março de 2019

AGRADECIMENTOS

À Deus, por atender aos meus pedidos de força e calma durante vários momentos desta trajetória acadêmica. A Ti, por permitir que todos os dias acordasse com saúde e disposto a enfrentar mais um dia. Agradeço por me acalmar nos momentos de turbulências em que aparentemente tudo estava perdido, por escutar meus pedidos de socorro, calma e tranquilidade me ajudando sempre a contornar e enfrentar a situação.

À minha família, em especial a minha mãe e irmã, as duas mulheres mais fortes, lindas, e batalhadoras que conheço, e que sempre fizeram de tudo para conseguir chegar onde cheguei. Por sempre acreditarem, cuidarem, incentivarem, aceitarem, respeitarem e principalmente amarem e me apoiarem em todas as minhas escolhas. Mãe, eu jamais vou esquecer a guerreira que é. Eu te agradeço por todo o seu amor, carinho, apoio e preocupação, sem você jamais teria chegado até aqui e dedico esta conquista inteiramente a senhora, por nunca ter perdido a esperança e a fé em seu filho. Espero um dia conseguir retribuir tudo o que a senhora fez. À minha irmã Giovana, obrigado! Não poderia ter um papel de irmã mais velha melhor do que o seu, hoje vejo que seu amor, carisma, empenho e animação foram importantes para mim. Obrigado por trazer a vida nosso amor, Pedro Henrique, que mesmo pequeno nos enche de alegria e paixão, e que sinto muita falta todos os dias. À minha vó Maria, por todas as orações e por sempre acreditar em mim.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Sergio Antonio Marques de Lima, por ser realmente um orientador, disposto a sempre transmitir o seu conhecimento desde minha iniciação científica, contribuindo sempre para meu crescimento profissional e acadêmico. Obrigado por todas as conversas científicas, o apoio, a ajuda, as correções em conjunto de relatórios de IC e até da própria dissertação. Obrigado pela amizade e contribuição neste trabalho, tenho certeza que não só para mim, mas como para muitos alunos, o senhor é o tipo de professor que serve de espelho a ser seguido nesta profissão.

A Profª Drª Ana Maria Pires, por ser a professora mais amável, carinhosa, acolhedora e inteligente, que sempre cativa os alunos desde a primeira semana de aula. Agradeço a enorme contribuição neste trabalho, por todos ensinamentos durante as reuniões de grupo de pesquisa, por todo apoio e preocupação em vários momentos desta trajetória, tudo isso faz da senhora outra professora exemplar e também um espelho a ser seguido. Muito obrigado!

A Prof^a Dr^a Maria de Lourdes Corradi Custodio da Silva, a qual admiro pelas excelentes aulas de Bioquímica que a senhora lecionava como ninguém, passando segurança e domínio total do conteúdo. Obrigado, por ajudar em meu ingresso no mestrado e estar sempre disposta a qualquer pedido de ajuda ou conselho. Sou totalmente grato a senhora.

Aos professores, Prof. Dr. Eduardo José Nassar e Prof. Dr. Marcos Fernando de Souza Teixeira, pela grande contribuição em meu exame de qualificação.

Aos professores, Prof. Dr. José Maurício Almeida Caiut e Prof. Dr. Valdemiro Pereira de Carvalho Junior, pelas contribuições na versão final de minha dissertação.

Ao Prof. Dr. Eduardo José Nassar por disponibilizar seu equipamento para as medidas de fotoluminescência.

Ao Prof. Dr. Aldo Eloizo Job, por ceder espaço em seu laboratório enquanto o LLuMeS passava por mudanças, e também por disponibilizar seu equipamento de UV-Vis.

Ao Prof. Dr. Silvio Rainho Teixeira, por disponibilizar seu equipamento de Analise Térmica e ao seu aluno, também meu amigo, Luis Fernando, por sempre estar disposto a me ajudar nas medidas de TG.

Ao Prof. Dr. Carlos José Leopoldo Constantino, DF – FCT UNESP, e a sua aluna de pós-doutorado, Cibely, por ajudar nas medidas de Potencial Zeta e SERS.

À Prof^a Dr^a Silvia Helena Santagneli, pelas medidas de RMN-²⁹Si realizadas no IQ-UNESP Araraquara.

Ao Prof. Dr. Neri Alves, supervisor do Laboratório de Microscopia Eletrônica de Varredura, e também a Glenda pelas imagens de MEV.

Ao Prof. Dr. Walter Botta, coordenador do Laboratório de Caracterização Estrutural, UFSCar, e a Ana pelas imagens de MEV-FEG.

Aos meus amigos de laboratório LLuMeS que já saíram André, Edy e Nagyla e aos que ainda estão, Alessandra, Airton, Alessandro, Bruno, Bianca, Camila, Felipe e Vytor, por tornarem tudo tão mais fácil e divertido durante a rotina de laboratório. Desses, agradeço aos cafezeiros Alessandro, Bruno, Bianca, Camila, Felipe e Vytor por todas os cafés acompanhados de muitas risadas! Agradeço aos IC's, Bianca, Vytor e Bruno, por estarem sempre dispostos a

ajudar no que for preciso. Em especial agradeço ao Bruno por ter me ajudado muito na parte experimental final deste mestrado e também por sua grande amizade!

Deixo aqui meu agradecimento mais do que especial para a Alessandra, que tive a sorte de trabalhar junto desde 2013 quando entrei pra IC. Foram vários anos de parceria em trabalhos, sínteses e discussões de resultados, até nascer uma bela amizade da qual tenho muito carinho. Muito obrigado por todos ensinamentos, risadas, palhaçadas, caronas e pela grande orientação! Você faz parte total deste trabalho. Agradeço também, em especial, ao Alessandro, por sua amizade de longa data e que acabamos por ironia do destino seguindo os mesmos passos, sempre se ajudando e apoiando em todas as conquistas e momentos.

Aos amigos em que a UNESP me deu de presente, em especial a turma do entropia, Aressa, Midori, Miriam, Felipe, Nathália e Matheus, por passarmos a graduação sempre nos ajudando e nos divertindo da melhor forma possível! Aos meus amigos Fabiano Praxedes, Airton e Patrícia, obrigado pela amizade sincera e por todos os momentos em que nos reunimos para beber e ficamos horas conversando, rindo e principalmente, comendo até ninguém aguentar mais! Vocês são muito especiais e guardarei todos esses momentos em meu coração.

Aos meus amigos Matheus (Bob) e a Vaninha, não cabe aqui o amor e a felicidade que sinto por tê-los como amigos. Vocês fizeram e fazem toda a diferença em minha vida. Obrigado, pelos “rolês” mais insanos, balancês, pelas risadas mais gostosas, pelos áudios mais engraçados, pelos momentos mais bem aproveitados, pelos “bulldogs” com (ou sem) catupiry, enfim, por todos os momentos juntos. Amo vocês! A minha amiga Shirley, por sempre se preocupar comigo, me apoiar e acreditar em mim, por sempre me fazer rir da forma mais gostosa e por estar presente quando eu preciso de seu abraço ou de seus conselhos. A minha amiga Kelly, que de longe, é uma das pessoas mais importantes em minha vida, obrigado por sempre estar comigo, em todos os momentos e sempre ser essa amiga linda, fofa e companheira, tornando meus dias sempre mais divertidos, amo você! Ao Tiago Rodrigues, um achado inesperado em minha vida, que há algum tempo tem conseguido tornar tudo mais bonito e fácil mesmo nos tempos mais difíceis, eu te agradeço por tudo de coração! A Thamirys, que desde o ensino fundamental sempre me apoiou e acreditou em mim, amo muito você!

Ao Programa de Pós Graduação em Química, IBILCE-UNESP.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

RESUMO

Biomarcadores luminescentes a base de íons lantanídeos tivalentes (Ln^{3+}) vêm sendo aplicados como sondas luminescentes em imageamento celular e marcação biológica devido às suas excelentes propriedades óticas. Sua obtenção pode ser feita pela funcionalização da superfície de nanopartículas de sílica com complexos de lantanídeos, assim um novo material híbrido é formado unindo as propriedades luminescentes do complexo com a alta estabilidade e baixa toxicidade da matriz de sílica. Este trabalho teve como objetivo principal a caracterização morfológica, estrutural e espectroscópica de novos híbridos luminescentes obtidos através da decoração da superfície de nanopartículas de sílica com grupos ácidos carboxílicos responsáveis por intermediar a formação de complexos de Eu^{3+} utilizando o ligante β -dicetonato, Hdbm (dibenzoilmetano). Desta forma, esses híbridos luminescentes foram sintetizados através de uma sequência de cinco etapas reacionais. Primeiramente, nanopartículas de sílica esféricas/esferoidais foram sintetizadas via metodologia sol-gel e através de medidas de MEV-FEG foram estimados diâmetros médios entre 32 e 80 nm. As posteriores etapas de modificação de superfície foram avaliadas principalmente pelas técnicas de MEV-FEG, EDS, RMN- ^{29}Si , Termogravimetria, Potencial Zeta, FTIR, Raman/SERS e Fotoluminescência. As propriedades luminescentes dos híbridos foram avaliadas e observou-se que os grupos carboxilatos superficiais não sensibilizam os íons Eu^{3+} por efeito antena, servindo apenas de sítios quelantes para o íon. Os híbridos luminescentes formados após a coordenação dos ligantes dbm ao íon Eu^{3+} apresentaram forte luminescência na região do vermelho e tiveram seus parâmetros de intensidade avaliados, eles ainda apresentaram elevada pureza de cor e alto tempo de vida de estado excitado, fazendo destes materiais excelentes candidatos a atuarem como futuros biomarcadores.

Palavras chave: SiO_2 , processo sol-gel, luminescência, lantanídeo, ácido carboxílico.

ABSTRACT

Luminescent biomarkers based on trivalent lanthanoid (IUPAC recommendation) ions (Ln^{3+}) have been applied as luminescent probes in cellular imaging and biological labeling due to their excellent optical properties. They can be obtained by the surface functionalization of silica nanoparticles with lanthanoid complexes, thus a novel hybrid material is formed by joining the luminescent properties of the complex with the high stability and low toxicity of the silica matrix. The main aim of this work was the morphological, structural and spectroscopic characterization of new luminescent hybrids obtained through the decoration of the silica nanoparticles with carboxylic acid groups responsible for intermediating the formation of Eu^{3+} complexes using the β -diketone ligand, Hdbm (dibenzoilmetano). In this way, these luminescent hybrids were synthesized through a sequence of five reactional steps. First, spherical / spheroidal silica nanoparticles were synthesized via the sol-gel methodology and diameters between 32 and 80 nm were estimated by SEM-FEG. Subsequent surface modification steps were evaluated mainly by SEM-FEG, EDS, ^{29}Si NMR, Thermogravimetry, Zeta Potential, FTIR, Raman / SERS and Photoluminescence techniques. The luminescent properties of the hybrids were evaluated and it was observed that surface carboxylate groups do not sensitize Eu^{3+} ions by antenna effect, serving only as chelating sites. The luminescent hybrids formed only after the Eu^{3+} ion coordination with dbm ligands showed strong luminescence in the red region, their intensity parameters were evaluated, and they presented high color purity and high-excited state lifetime, and they, making these materials excellent candidates to act as future biomarkers.

Keywords: SiO_2 , sol-gel process, luminescence, lanthanoids, carboxylic acid.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Micrografias de (a) MET e MEV da amostra de sílica sintetizadas em metanol a temperatura ambiente no projeto de IC e (b) MEV-FEG da amostra de sílica sintetizada em etanol a 60°C.	21
Figura 2 - Esquema ilustrativo representando uma nanopartícula de sílica densa com enfoque nos grupos silanóis superficiais e siloxanos no interior da partícula.....	26
Figura 3 - Representação das possíveis conformações que os grupos silanóis podem adotar na superfície de uma nanopartícula de sílica (a) vicinais (b) geminais e (c) isolados	26
Figura 4 - Esquema representando as reações de hidrólise e condensação do TEOS responsáveis pela formação da rede estrutural das nanopartículas de sílica.	28
Figura 5 - Representação ilustrativa da etapa de funcionalização da superfície de uma partícula de sílica com o organossilano APTES.....	29
Figura 6 - Diagrama de Jablonski simplificado exemplificando o processo de transferência de energia do ligante para o íon lantanídeo.....	34
Figura 7 - Diagrama apresentando os níveis de energia do estado fundamental e excitado dos íons lantanídeos (Ln^{3+}) e de alguns estados tripleto referentes a algumas β -dicetonas.....	36
Figura 8 - (a) Estrutura genérica de uma β -dicetona (b) equilíbrio ceto-enólico característico de β -dicetonas (c) estabilização por ressonância da carga negativa.....	37
Figura 9 - Diagrama de energia mostrando a influência do acoplamento vibrônico da água o estado excitado $^5\text{D}_0$ resultando na supressão da luminescência do íon Eu^{3+}	39
Figura 10 - Esquema simplificado de uma partícula de sílica esférica.	42
Figura 11 - Esquema ilustrando a estrutura de uma partícula aminofuncionalizada.....	43
Figura 12 – Esquema ilustrando a reação SN_2 referente a etapa de carboxilfuncionalização das partículas de sílica.	44
Figura 13 - Esquema ilustrativo da estrutura de uma partícula de sílica carboxilfuncionalizada.	45
Figura 14 - (a) Estrutura do reagente Ninidrina (b) Solução etanólica de ninidrina 5% (m/v) (c) Teste positivo para identificação de grupos aminos por ninidrina (d) Representação da reação de um grupo amino com o reagente ninidrina.	46
Figura 15 – (a) Espectro de absorção na região do UV-Vis do composto purpura de Ruhemann obtido a partir da reação de uma solução de APTS 5×10^{-3} mol/L com uma solução etanólica de ninidrina 5% (m/v) (b) Espectros de Absorção no UV-Vis de todas as soluções padrões de APTES.	47

Figura 16 - Esquema ilustrativo de uma nanopartícula de sílica após a coordenação de íons Eu^{3+} através dos grupos carboxilatos.....	50
Figura 17 – Fotografias após a adição de Hdbm e sob radiação de uma lâmpada de luz negra, $\lambda_{\text{max}} = 250 \text{ nm}$, na forma de pó das amostras (a) $\text{*S}_1\text{-[Eu(dbm)}_x\text{]Cl}$ (b) $\text{S}_1\text{-[Eu(dbm)}_x\text{]NO}_3$ (c) $\text{S}_2\text{-[Eu(dbm)}_x\text{]Cl}$ (d) $\text{*S}_2\text{-[Eu(dbm)}_x\text{]NO}_3$ (e) $\text{*S}_2\text{-[Eu}_{0.5}\text{(dbm)}_x\text{]Cl}$	52
Figura 18 – Esquema ilustrativo representando a estrutura esperada do híbrido luminescente final após a adição de Hdbm.	52
Figura 19 - Imagens de MEV-FEG das amostras de sílica sintetizadas em metanol a temperatura ambiente (a) S_1 (b) *S_1 . Os histogramas da contagem de 100 partículas das amostras são apresentados em (c) para S_1 e (d) para *S_1 . Em (e) sobreposição das curvas médias de diâmetros obtidas para as duas amostras resintetizadas.	57
Figura 20 - Imagens de MEV-FEG das amostras de sílica sintetizadas em etanol a 60°C (a) S_2 (b) *S_2 . Os histogramas da contagem de 100 a 200 partículas das amostras são apresentados em (c) para S_2 e (d) *S_2 . Em (e) sobreposição das curvas médias de diâmetros obtidas para as duas amostras.	58
Figura 21 - Micrografias obtidas por FEG referente ao híbrido final obtidos a partir das amostras *S_1 e S_1 , respectivamente com precursor de (a) cloreto (amostra $\text{*S}_1\text{-[Eu(dbm)}_x\text{]Cl}$) e (b) nitrato (amostra $\text{*S}_1\text{-[Eu(dbm)}_x\text{]NO}_3$) de európio.	60
Figura 22 - Microscopias referente as amostras de sílica S_2 contendo os complexos de európio ancorados na superfície (a) $\text{S}_2\text{-[Eu(dbm)}_x\text{]Cl}$ (b) $\text{*S}_2\text{-[Eu(dbm)}_x\text{]NO}_3$ (c) $\text{*S}_2\text{-[Eu}_{0.5}\text{(dbm)}_x\text{]Cl}$. Os histogramas da contagem de 100 a 200 partículas das amostras são apresentados em (d) para $\text{S}_2\text{-[Eu(dbm)}_x\text{]Cl}$ (e) $\text{*S}_2\text{-[Eu(dbm)}_x\text{]NO}_3$ e (f) $\text{*S}_2\text{-[Eu}_{0.5}\text{(dbm)}_x\text{]Cl}$	61
Figura 23 - Espectro obtidos por EDS apresentando a composição química dos híbridos luminescentes finais sendo os espectros referente as amostras (a) $\text{S}_1\text{-[Eu(dbm)}_x\text{]NO}_3$ (b) $\text{*S}_1\text{-[Eu(dbm)}_x\text{]NO}_3$ (c) $\text{S}_2\text{-[Eu(dbm)}_x\text{]Cl}$ (d) $\text{*S}_2\text{-[Eu(dbm)}_x\text{]NO}_3$ e (e) $\text{*S}_2\text{-[Eu(dbm)}_x\text{]Cl}$	62
Figura 24 - (a) TG e DTG da amostra de sílica S_1 e das posteriores amostras aminofuncionalizada S_1N e carboxilfuncionalizada S_1NC (b) TG e DTG da amostra de sílica S_2 e das posteriores amostras aminofuncionalizada S_2N e carboxilfuncionalizada S_2NC . Em (c) são apresentados ilustrações das superfícies das amostras após cada etapa da funcionalização e a tendência de perda de massa em função da temperatura.	64
Figura 25 - Representação ilustrativa dos eventos térmicos que podem acontecer na superfície de nanopartículas de sílica quando submetidas a um tratamento térmico.	66

Figura 26 - Representação genérica das estruturas dos grupos Q atribuídos às espécies de silício encontradas em amostras de sílica.....	68
Figura 27 - Representação genérica das estruturas dos grupos T atribuídos às espécies de silício encontradas em amostras de sílica funcionalizada com agente sililante.	69
Figura 28 - Espectros de RMN- ²⁹ Si quantitativo para a amostra (a) S ₁ e (b) S ₁ N e em (c) espectro de RMN- ²⁹ Si CP/MAS qualitativo para a amostra S ₁ N.....	70
Figura 29 - Espectros de RMN- ²⁹ Si qualitativos para as amostras (a) S ₂ e (b) S ₂ N.....	72
Figura 30 - (a) Solução de ninidrina 5 % (m/v) (b) Ninidrina + amostra S ₁ N (c) Ninidrina + amostra S ₁ NC (d) Ninidrina + amostra S ₂ N (e) Ninidrina + amostra S ₂ NC.	73
Figura 31 - Curva analítica construída com os valores das absorções em $\lambda_{\text{máx}} = 578$ nm das soluções padrões de APTES (a) para as amostras S ₁ N, S ₂ N, S ₁ NC e S ₂ NC e (b) para as amostras *S ₁ N, *S ₂ N, *S ₁ NC e *S ₂ NC.	74
Figura 32 - Ilustração de uma nanopartícula de sílica densa com os grupos silanóis desprotonados em pH 7,64.	77
Figura 33 - Ilustração de uma nanopartícula de sílica aminofuncionalizada com APTES com os grupos aminos protonados em pH 7,64 gerando a carga resultante positiva.	78
Figura 34 - Ilustração de uma nanopartícula de sílica carboxilfuncionalizada apresentando os grupos carboxilatos e hidroxilas que podem contribuir para carga negativa e as amins secundárias contribuindo para carga positiva em pH 7,64.	79
Figura 35 - Representação simples de um aquaácido com carga inicialmente 0 passando a carga -2 em sistema aquoso.	80
Figura 36 - Possíveis cargas formadas na superfície de uma partícula de acordo com a estequiometria do complexo formado entre o íon Eu ³⁺ , o ligante carboxilato e o dbm.	81
Figura 37 - Espectros no infravermelho para todas as amostras de sílica densa, sílica aminofuncionaliza e sílica carboxilfuncionalizada.....	83
Figura 38 - Espectro SERS referente as amostras S ₂ , S ₂ N e S ₂ NC em contato com a suspensão coloidal de nanopartículas de prata.	85
Figura 39 - Espectros no infravermelho das amostras de sílica carboxilfuncionalizadas (a) S ₁ NC e (b) S ₂ NC juntamente com as posteriores amostras obtidas ao adicionar-se o cloreto ou nitrato de európio.....	88
Figura 40 - Espectro no infravermelho do ligante Hdbm e dos híbridos finais após a adição de dbm na esfera de coordenação do Eu ³⁺ . Os espectros de (a) referem-se à adição de dbm nas amostras precursoras S ₁ e (b) referem-se as amostras precursoras S ₂	90

Figura 41 - Espectros de excitação e emissão obtidos a temperatura ambiente para as amostras (A) *S ₁ NC (fenda 2,5 de em e ex), *S ₁ -[Eu]Cl (fenda 3 de em e ex) e *S ₁ -[Eu(dbm) _x]Cl (fenda 0,75 de em e ex) (B) S ₂ NC (fenda 3 de em e ex), S ₂ -[Eu]Cl (fenda 1.5 de em e ex) e S ₂ -[Eu(dbm) _x]Cl (fenda 1.5 de em e ex) (C) *S ₂ NC (fenda 2 de em e ex), *S ₂ -[Eu _{0.5}]Cl (fenda 1.5 de em e ex) e * S ₂ -[Eu _{0.5} (dbm) _x]Cl (fenda 0,75 de em e ex).	94
Figura 42 - Espectros de excitação e emissão obtidos a temperatura ambiente para as amostras (A) S ₁ NC (fenda 2,5 de em e ex), S ₁ -[Eu]NO ₃ (fenda 2 de em e ex) e S ₁ -[Eu(dbm) _x] NO ₃ (fenda 0,75 de em e ex) (B) *S ₂ NC (fenda 1.5 de em e ex), *S ₂ -[Eu]NO ₃ (fenda 1.5 de em e ex) e *S ₂ -[Eu(dbm) _x]NO ₃ (fenda 0,75 de em e ex).....	97
Figura 43 - Comparação dos espectros de emissão quando são fixados na transição intraconfiguracional ⁷ F ₀ → ⁵ L ₆ em 394 nm e quando são fixados em posições mais energéticas do espectro de excitação entre 243 e 279 nm. Os espectros foram obtidos a temperatura ambiente e na mesma fenda de emissão e excitação a fim de comparação de intensidade....	100
Figura 44 - Espectros de emissão resolvidos no tempo para as amostras sintetizadas com cloreto de európio (a) *S ₁ -[Eu]Cl, (b) S ₂ -[Eu]Cl, (c) *S ₂ -[Eu _{0.5}]Cl e para as amostras sintetizadas com nitrato de európio (d) S ₁ -[Eu]NO ₃ e (e) *S ₂ -[Eu]NO ₃	101
Figura 45 - Diagrama de cor das amostras de sílica carboxilfuncionalizadas, após a adição de Eu ³⁺ e após a substituição das moléculas de água por dbm.....	105
Figura 46 - Curvas de decaimento exponencial referentes ao estado excitado ⁵ D ₀ do íon Eu ³⁺ das amostras (a) S ₁ -[Eu]Cl e (b) S ₁ -[Eu(dbm) _x]Cl.	107
Figura 47 - Curvas de decaimento exponencial referentes ao estado excitado ⁵ D ₀ do íon Eu ³⁺ das amostras (a) S ₁ -[Eu]NO ₃ e (b) S ₁ -[Eu(dbm) _x]NO ₃	107
Figura 48 - Curvas de decaimento exponencial referentes ao estado excitado ⁵ D ₀ do íon Eu ³⁺ das amostras (a) S ₂ -[Eu]Cl e (b) S ₂ -[Eu(dbm) _x]Cl.	108
Figura 49 - Curvas de decaimento exponencial referentes ao estado excitado ⁵ D ₀ do íon Eu ³⁺ das amostras (a) S ₂ -[Eu]NO ₃ e (b) S ₂ -[Eu(dbm) _x]NO ₃	108
Figura 50 - Curvas de decaimento exponencial referentes ao estado excitado ⁵ D ₀ do íon Eu ³⁺ das amostras (a) S ₂ -[Eu _{0.5}]Cl e (b) S ₂ -[Eu _{0.5} (dbm) _x]Cl.	108
Figura 51 - Possíveis representações da formação dos complexos de európio na superfície das nanopartículas de sílica *S ₁ e S ₂ utilizando o precursor EuCl ₃ e posteriormente adicionando o ligante dbm.	113

Figura 52 - Possível representação ilustrativa das possibilidades de formação dos complexos de európio na superfície das nanopartículas de sílica S_1 e $*S_2$ utilizando o precursor $\text{Eu}(\text{NO}_3)_3$ e posteriormente adicionando o ligante dbm 115

Figura 53 - Possíveis representações ilustrativas das possibilidades de formação dos complexos de európio na superfície das nanopartículas de sílica $*S_1$ e $*S_2$ utilizando o precursor EuCl_3 quando utilizado uma proporção (a) $1 \text{ COOH} : 1 \text{ Eu}^{3+}$ e (b) $1 \text{ COOH} : 0,5 \text{ Eu}^{3+}$ 118

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Nomenclatura das amostras após a coordenação dos íons európio aos grupos carboxilatos, considerando as proporções e reagentes utilizados.....	49
Tabela 2 - Rendimentos em massa obtido para cada material na ultima etapa de síntese.....	51
Tabela 3 - Porcentagens de perda de massa envolvidas nos dois eventos térmicos para as amostras de sílica, sílica aminofuncionalizada e sílica carboxilfuncionalizada.....	65
Tabela 4 - Composição em porcentagem dos grupos de tetraedros de silício presentes nas nanopartículas de sílica densa S ₁ e nas nanopartículas aminofuncionalizadas S ₁ N.....	71
Tabela 5 - Resultados experimentais da quantificação dos grupos aminos e carboxilas por ninidrina.....	75
Tabela 6 - Apresentação dos valores de potencial zeta para as amostras durante as etapas de síntese para obtenção dos híbridos luminescentes finais com dbm na esfera de coordenação dos íons Eu ³⁺	76
Tabela 7 - Atribuições vibracionais das bandas referente ao espectro SERS das nanopartículas carboxilfuncionalizadas, S ₂ NC.....	87
Tabela 8 - Atribuição dos principais modos vibracionais atribuídos ao Hdbm e às amostras finais.	91
Tabela 9 - Coordenadas de cores, comprimento de onda dominante (λ_{dom}), e pureza de cor para as amostras de sílica carboxilfuncionalizadas, após a adição de Eu ³⁺ e após a substituição das moléculas de água por dbm.	104
Tabela 10 - Tempo de vida do estado excitado 5D_0 (τ), Taxa de decaimentos radiativos (A_{rad}) e não-radiativos (A_{nrad}), eficiência quântica (η), número de moléculas de água de coordenação (NH ₂ O), parâmetros de intensidade de Judd-Ofelt Ω_2 e Ω_4 para as amostras antes e após a adição de Hdbm.	109
Tabela 11 – Comparação das propriedades fotofísicas dos híbridos finais sintetizados com o precursor cloreto de EuCl ₃ , utilizando partículas com tamanhos diferentes, 43 nm (*S ₁) e 80 nm (S ₂).	112
Tabela 12 – Comparação das propriedades fotofísicas dos híbridos finais sintetizados com o precursor nitrato de európio, Eu(NO ₃) ₃ , utilizando partículas com tamanhos semelhantes, 32 nm (S ₁) e 38 nm (*S ₂).	114
Tabela 13 – Comparação das propriedades fotofísicas dos híbridos finais sintetizados com o precursor cloreto de EuCl ₃ , utilizando partículas com tamanhos, 43 nm (*S ₁) e 38 nm (S ₂), porém com proporções de COOH-Eu diferentes.....	116

LISTA DE ABREVIações

APTES	3-aminopropiltriétoxisilano
Hdbm	1,3-difenil-1,3-propanodiona, dibenzoilmetano
dbm	Ligante Hdbm desprotonado
SiO₄⁴⁻	Estrutura monomérica do silicato
≡Si-O-Si≡	Ponte siloxano
≡Si-O-H	Silanol
≡Si-O⁻	Silanól desprotonado
Si(OR)₄	Alcóxido de sílcio
TEOS	Tetraetilortosilicato
pH	Potencial Hidrogeniônico
TR³⁺	Íons terras raras
SN₂	Substituição Nucleofílica Bimolecular
COOH	Grupo carboxila
COO⁻	Grupo carboxilatos
-NH₃⁺	Grupo amino protonada
-NH₂	Grupo amina
rpm	Rotações por minuto
UV-Vis	Espectroscopia de Absorção na Região do Ultravioleta-Visível
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
RMN- ²⁹Si CP/MAS	Ressonância Magnética Nuclear de Silício-29
SERS	Raman amplificado em superfície SERS (do inglês “ <i>surface-enhanced Raman scattering</i> ”)
TG	Análise Termogravimétrica
DTG	Primeira derivada da TG
FTIR	Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho
EF	Espectroscopia de Fotoluminescência
MEV-FEG	Microscopia Eletrônica de Varredura com Emissão de Campo
EDS	Espectroscopia por Energia Dispersiva
ε	Constante dielétrica
ε	Absortividade molar

R	Grupos alquilas
C_{NH2}	Concentração de grupos aminas
C_{COOH}	Concentração de grupos carboxilas
v_{ass}	Estiramento assimétrico
v_s	Estiramento simétrico
δ	Deformação
LEDs	Dispositivo emissor de luz (do inglês “ <i>light-emitting device</i> ”)
OLEDs	Diodos orgânicos emissores de luz (do inglês “ <i>organic light-emitting diode</i> ”)
Ln³⁺	Íon lantanídeo no estado de oxidação +3
ED	Dipolo Elétrico (do inglês “ <i>dipole eletric</i> ”)
S₀	Estado Singleto Fundamental
S₁	Estado Singleto Excitado
T₁	Estado Tripleto Excitado
τ	Tempo de decaimento do estado excitado
η	Eficiência Quântica
NC	Ligante aminomonocarboxilato
Eu³⁺	Íon európio no estado de oxidação 3+
PZ	Potencial Zeta
λ_{max}	Comprimento de onda máximo
λ_{dom}	Comprimento de onda dominante
λ_{ex}	Comprimento de onda de excitação
λ_{em}	Comprimento de onda de emissão
CIE	Comissão Internacional de Iluminação
Ω₂ e Ω₄	Parâmetros de Intensidades de Judd-Ofelt - Ômega 2 e 4
N_{H2O}	Número de moléculas de água coordenadas em complexos
A_{nrad}	Processo de decaimento não radiativo
A_{rad}	Processo de decaimento radiativo

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL, MOTIVAÇÃO E JUSTIFICATIVAS	19
1.1	Objetivo Geral	22
1.1.1	Objetivos específicos	23
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	24
2.1	Nanopartículas em aplicações biológicas	24
2.2	Modificação da superfície da sílica com organossilanos	28
2.3	Híbridos luminescentes a base de sílica modificada com complexos de íons lantanídeos em aplicações de bioimageamento	31
2.4	Luminescência e complexos de Íons Lantanídeos (Ln^{3+})	33
3	METODOLOGIA EXPERIMENTAL.....	41
3.1	Procedimentos experimentais	41
3.1.1	Síntese das nanopartículas de sílica via sol-gel.	41
3.1.2	Primeira etapa de modificação: Aminofuncionalização	42
3.1.3	Segunda etapa de modificação: Carboxilfuncionalização	43
3.1.4	Quantificação dos grupos aminos (e carboxilas indiretamente) por ninidrina ...	45
3.1.5	Coordenação dos íons Eu^{3+} aos grupos carboxilatos.....	48
3.1.6	Substituição das moléculas de água de coordenação por ligantes β -dicetonatos. 50	
3.2	Caracterizações	53
3.2.1	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	53
3.2.2	Microscopia Eletrônica de Varredura com Fonte de Emissão de Campo (MEV-FEG) 53	
3.2.3	Ressonância Magnética Nuclear de Silício-29 (RMN- ^{29}Si).....	53
3.2.4	Termogravimetria (TG)	53
3.2.5	Espectroscopia de Absorção na região do UV-Vis (UV-Vis)	54
3.2.6	Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho (FTIR).....	54

3.2.7	Espectroscopia Raman (SERS)	54
3.2.8	Espectroscopia de Fotoluminescência (EF).....	55
3.2.9	Potencial Zeta (PZ).....	55
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
1ª Parte: Caracterização morfológica, estrutural, superficial e espectroscópica das nanopartículas de sílica e sílica funcionalizada.		56
4.1	Microscopia Eletrônica de Varredura de Alta Resolução.....	56
4.2	Análise Termogravimétrica (TGA).....	63
4.3	Ressonância Magnética Nuclear de Silício-29 (RMN-²⁹Si).....	68
4.4	Quantificação dos grupos aminos e dos grupos carboxilatos por ninhidrina.....	73
4.5	Medidas de Potencial Zeta.....	75
4.6	Espectroscopia de Absorção Vibracional na Região do Infravermelho e Espalhamento Raman amplificado por superfície (SERS).....	81
2ª Parte: Caracterização Fotoluminescente e estudo fotofísico dos híbridos finais contendo complexos de íons Eu ³⁺ ancorados à superfície de nanopartículas de sílica.		92
4.7	Espectroscopia de Fotoluminescência	93
4.7.1	Diagrama de Cromaticidade.....	103
4.7.2	Tempo de Vida, eficiência quanta e número de moléculas de água de coordenação.	106
4.7.3	Efeito do tamanho das nanopartículas nas propriedades fotofísicas dos híbridos finais.	111
4.7.4	Efeito de reprodutibilidade da síntese para formação dos híbridos finais.....	114
4.7.5	Efeito da concentração de Eu ³⁺ nas propriedades fotofísicas dos híbridos finais	115
5	CONCLUSÃO FINAL.....	119
6	PERSPECTIVAS FUTURAS	121
7	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	121

1 INTRODUÇÃO GERAL, MOTIVAÇÃO E JUSTIFICATIVAS

Nos últimos anos uma classe especial de materiais denominada de biomarcadores ganhou destaque no meio científico por conta de suas propriedades ópticas e biológicas¹. Foram e são até hoje os responsáveis por grandes avanços em áreas medicinais, principalmente no tratamento e diagnósticos por imagens de vários tipos de patologias. Biomarcadores luminescentes podem ser considerados materiais que apresentam a emissão de luz normalmente na faixa do visível ou infravermelho próximo, atuando principalmente como sondas, melhorando a visualização do ambiente biológico em que se encontram, seja este ambiente saudável ou não¹.

Uma preocupação atual é produzir biomarcadores que apresentem propriedades luminescentes cada vez mais eficientes, como alta eficiência quântica e intensidade de emissão, e ao mesmo tempo apresentem baixa citotoxicidade e alta especificidade biológica². A luminescência desses biomarcadores pode ser de origem orgânica ou inorgânica. Segundo Jaque, D. et al. (2016)¹ os estudos de sondas luminescentes para aplicações em bioimageamento iniciaram-se na década de 1970 e eram baseados em fenômenos luminescentes de moléculas orgânicas como corantes (exemplos, Rodamina e Isotiocianato de fluoresceína), conjugados biológicos ou até mesmo proteínas. A utilização desses componentes orgânicos limita a visualização por imagens, pois o tipo de luminescência nestas moléculas é a fluorescência, que apresenta tempo de decaimento radiativo extremamente rápido na ordem de nanossegundos (10^{-9} s)^{3, 4}. Como a maioria das moléculas dentro do ambiente celular também apresentam fluorescência, não torna possível separar eficientemente a autofluorescência do meio biológico e o sinal fluorescente do biomarcador, já que ambos ocorrem na mesma ordem de grandeza de tempo. Para contornar esse problema, buscou-se utilizar compostos com luminescência que apresentassem um tempo de decaimento radiativo maior do que o da autofluorescência do meio biológico, permitindo que após cessar a autofluorescência ainda fosse possível medir o sinal de luz provindo do biomarcador⁵. Dentre vários compostos estudados, uma nova classe de biomarcadores foi desenvolvida baseada em nanopartículas luminescentes contendo íons lantanídeos (Ln^{3+})^{1, 6, 7}, já que esses íons são responsáveis por fenômenos fosforescentes que apresentam um tempo de decaimento de estado excitado na ordem de *mili a microsegundos* (10^{-6} e 10^{-3} s), facilitando a identificação de sinais de fosforescência referentes apenas do biomarcador e não do meio biológico^{8, 9}. Além disso, os íons lantanídeos apresentam propriedades espectroscópicas interessantes para áreas de bioimagens como boa

fotoestabilidade, deslocamentos pseudo-Stokes promovendo maiores eficiências quânticas de emissão, bandas finas devido as transições intraconfiguracionais 4f-4f gerando cores próximas a monocromaticidade e com elevada pureza de cor.

Esses íons podem ser inseridos em matrizes inorgânicas ou na forma de complexos ancorados em nanopartículas^{8, 10}. A ancoragem de complexos de íons lantanídeos em uma matriz inorgânica abre um leque de possibilidades que permite preparar diferentes tipos de biomarcadores com propriedades luminescentes específicas, dependendo do centro metálico e dos ligantes utilizados.

Nanopartículas de sílica são atualmente uma das classes de nanopartículas mais atrativas no mercado para se funcionalizar a superfície com complexos luminescentes¹¹. Isto deve-se a característica atóxica da sílica permitindo produzir biomarcadores com baixa toxicidade e maior biocompatibilidade celular. A baixa toxicidade faz com que as nanopartículas de sílica sejam escolhidas ao invés de outros tipos de óxidos e dos *quantum dots*, já que estes apresentam maior toxicidade em meio biológico por conterem metais potencialmente tóxicos^{12, 13}.

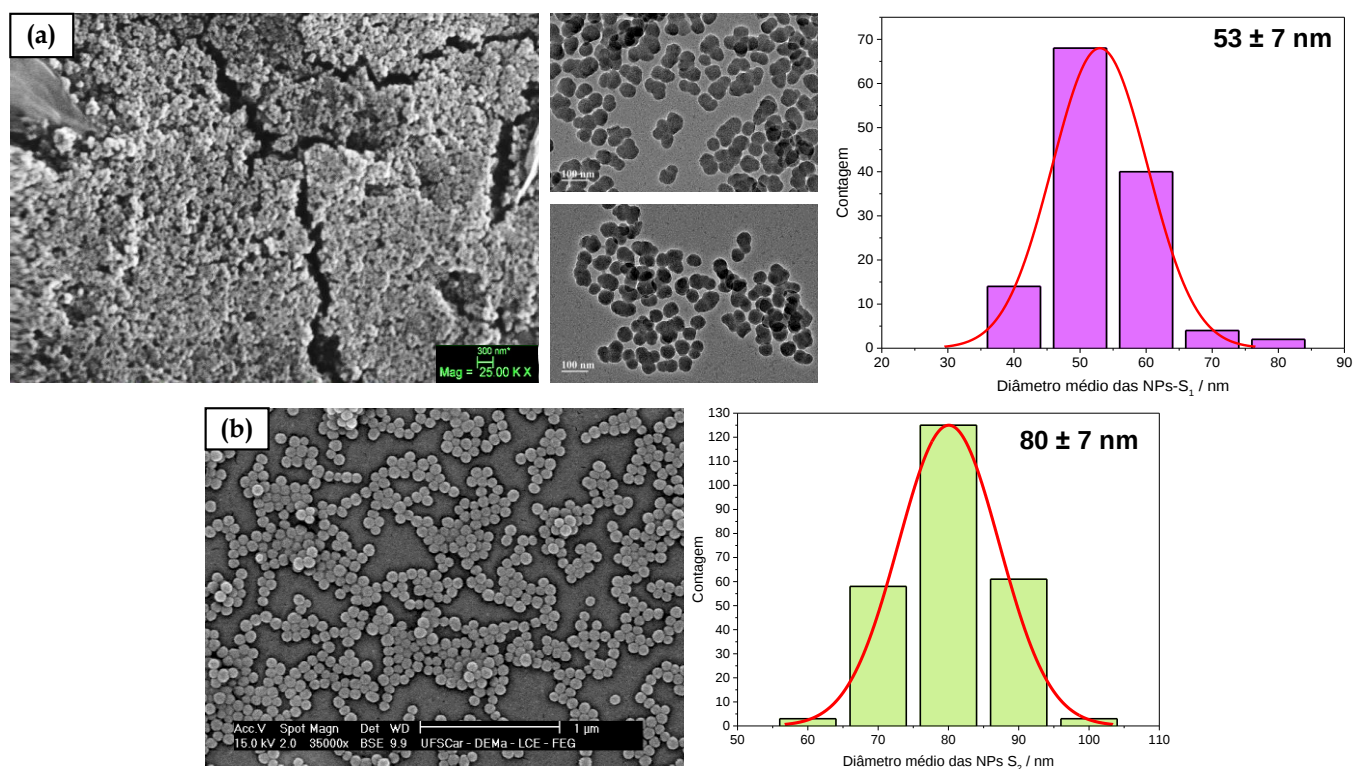
Sistemas aplicados em imageamento celular e marcação biológica foram estudados e desenvolvidos no grupo de pesquisa de Luminescência em Materiais e Sensores (LuMeS). Em seu trabalho de mestrado, Gelamos, J. P. (2011) desenvolveu os protocolos de conjugação de partículas luminescentes de $Y_2O_3:Er^{3+}, Yb^{3+}$ revestidas com sílica aminofuncionalizadas, conjugando os grupos aminos com a proteína albumina sérica bovina (BSA), utilizando os *crosslinkers* EDC, glutaraldeído e Sulfo-GMBS, destacando o EDC como o mais eficiente entre os três¹⁴. Recentemente, Mutti, A. M. G. (2015) desenvolveu em seu trabalho de mestrado partículas de sílica densa (220 nm) funcionalizadas com ligantes do tipo base de Schiff, que serviram de sítio para coordenação de íons lantanídeos utilizando ligantes β -dicetonas para intensificação das propriedades luminescentes do material¹⁵ e em seu doutorado esta linha foi estendida para outros sistemas com propriedades luminescentes interessantes para área de bioimageamento¹⁶. Esses protocolos já foram adotados por integrantes do grupo de pesquisa, como Costa, A. L. (2017) que em seu trabalho de mestrado, ancorou os complexos luminescentes utilizando bases de Schiff como ponte em partículas de $Y_2O_3:Eu^{3+}$ ou Tb^{3+} recobertas com sílica aminofuncionalizadas¹⁷.

Para este trabalho, procuramos modificar a funcionalização do material, investindo em ligantes com grupos orgânicos contendo a função ácidos carboxílicos já que são grupos coordenantes capazes de formar complexos estáveis com íons lantanídeos. Para isso, foram escolhidas nanopartículas de sílica com diâmetros próximos a 53 e 80 nm. Os diâmetros das

partículas foram selecionados a partir de estudos prévios durante o período de Iniciação Científica (IC-FAPESP Processo: 2014/04907-3). Durante o estudo de IC, foram obtidas partículas de sílica com diferentes tamanhos através da mudança de parâmetros reacionais da metodologia sol-gel como: a alteração da temperatura e do tipo de álcool utilizado na síntese. A partir deste estudo foi possível obter partículas com formatos homogêneos e heterogêneos dependendo das condições de síntese adotada, com os diâmetros médios variando entre 53 nm e 977 nm.

Partindo do objetivo de produzir biomarcadores com tamanhos nanométricos (entre 1 e 100 nm) foram escolhidas as seguintes condições de síntese protocoladas: 1) Síntese a temperatura ambiente das nanopartículas de sílica utilizando metanol como solvente, na qual resulta em partículas com diâmetro estimado de 53 nm e 2) Síntese a 60 °C das nanopartículas de sílica utilizando etanol como solvente, o qual resulta ao final, partículas com diâmetro estimado de 80 nm. A Figura 1 mostra as micrografias das amostras iniciais de sílica obtidas durante o projeto de IC nas condições especificadas.

Figura 1 - Micrografias de (a) MET e MEV da amostra de sílica sintetizadas em metanol a temperatura ambiente no projeto de IC e (b) MEV-FEG da amostra de sílica sintetizada em etanol a 60°C.



Fonte: Autor

Ambas as amostras foram ressintetizadas e a cada nova síntese as partículas foram caracterizadas por microscopia eletrônica de varredura para comprovar a repetitividade do método. Para este trabalho, a amostra de 80 nm foi caracterizada durante todo o período de mestrado, então seus resultados serão apresentados na discussão, assim como as novas sínteses. Além disso, a amostra ressintetizadas em etanol, não teve o tamanho das nanopartículas reproduzindo, na qual foi estimado um diâmetro de 38 nm para a nova síntese.

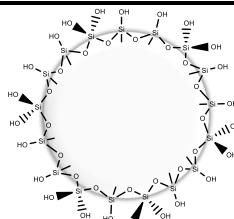
1.1 Objetivo Geral

Neste trabalho, o objetivo principal é o desenvolvimento de materiais híbridos baseados na ancoragem de complexos luminescentes de európio (Eu^{3+}) na superfície de nanopartículas de sílica funcionalizadas com grupos carboxilatos.

1.1.1 Objetivos específicos

- Obter o híbrido luminescente final através de 5 etapas reacionais, que foram divididas da seguinte forma:

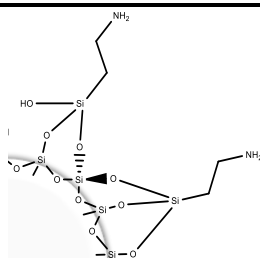
1



- Síntese das nanopartículas de sílica através da metodologia sol-gel;

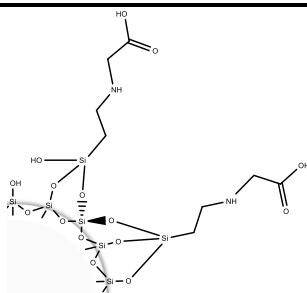
- Avaliação por MEV-FEG da repetibilidade da síntese das nanopartículas de sílica nas condições preestabelecidas;

2



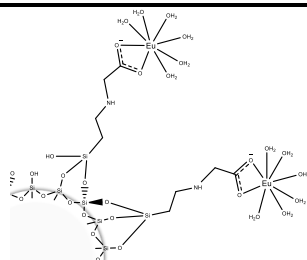
Aminofuncionalização das nanopartículas de sílica com o organossilano APTES (3-aminopropiltrietoxissilano);

3



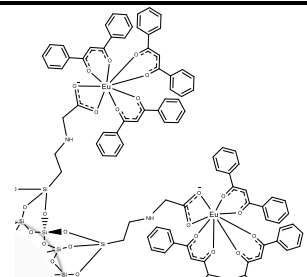
Carboxilfuncionalização: conversão do grupo amino em grupo carboxila pela reação da amina primária do APTES com o ácido cloroacético;

4



- Avaliar a coordenação dos íons Eu^{3+} pelos grupos carboxilatos ($-\text{COOH}$) presentes na superfície das nanopartículas de sílica.
- Avaliar a influência da utilização do Cloreto e/ou Nitrato de Európio após a coordenação do íons pelos grupos carboxilatos.

5



- Avaliar a substituição das moléculas de água coordenadas aos íons Eu^{3+} pelo ligante β -dicetona, Hdbm.
- Avaliar as propriedades espectroscópicas dos híbridos obtidos por meio dos parâmetros de cor e de intensidade de Judd Ofelt

- Caracterização morfológica, superficial, térmica, estrutural e ótica dos híbridos obtidos durante as etapas de síntese;

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Nanopartículas em aplicações biológicas

O interesse no desenvolvimento de nanopartículas está se tornando crescente nos últimos anos devido ao potencial avanço na área da saúde^{18, 19}. Isto reflete diretamente no aumento da qualidade de vida da sociedade, pois permite um salto cada vez maior no trato e identificação de diversos tipos de doenças, se aproximando cada vez mais na cura completa de diferentes patologias¹⁸. Nos últimos anos, os campos da nanomedicina e nanobiotecnologia se desenvolveram com o uso de partículas com pelo menos uma de suas dimensões menores do que 100 nanômetros²⁰. De acordo com Beltrán-Osuna et al. 2016, esta faixa de tamanho pode ser estendida até 200 nm quando partículas são aplicadas em sistemas biológicos já que até este tamanho podem circular normalmente pelo corpo sem serem obstruídas pelo fígado e ainda assim serem secretadas pela urina²¹. Nesta faixa de diâmetro, nanomateriais apresentam propriedades ópticas e físico-químicas interessantes os tornando fortes candidatos para aplicações médicas e farmacológicas²⁰, tais como: diagnósticos médicos por imagens, tratamentos terapêuticos, sondas fluorescentes, podendo ser analisadas em tempo real por medidas de microscopia de fluorescência tanto em meio *in vivo* ou *in vitro*, sistemas de *drug deliveries* e mais recentemente, em teranósticos, ou seja, quando o material serve tanto para o diagnóstico quanto para o tratamento^{2, 12, 22, 23}.

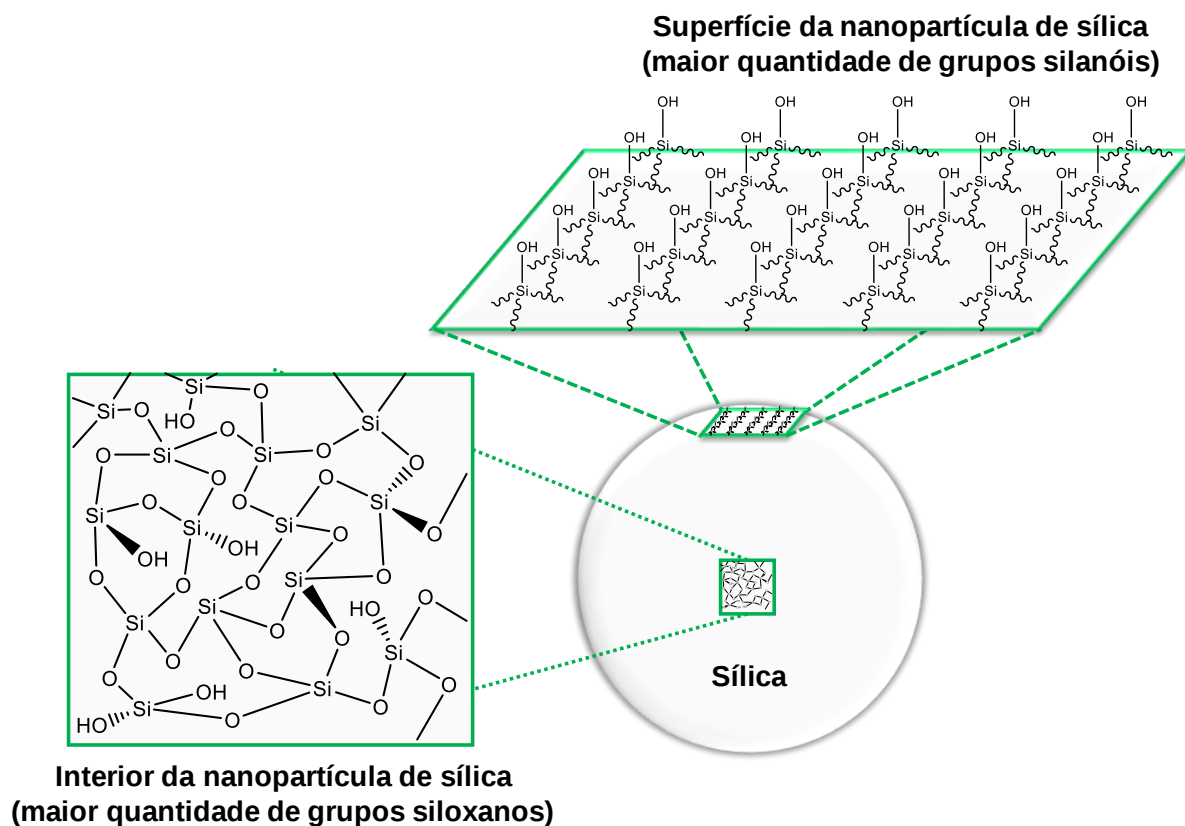
Devido à demanda de materiais cada vez mais eficientes em seus desempenhos terapêuticos, vários tipos de nanopartículas carreadoras ou não de fármacos foram sendo produzidas, sendo atualmente classificadas em dois grupos principais, cada um com suas especificidades e particularidades. Os dois grupos podem ser classificados como nanopartículas orgânica e nanopartículas inorgânica. Cada grupo possui suas vantagens e desvantagens em aplicações biológicas^{12, 24}.

Essas partículas comportam-se de diferentes formas dentro de um organismo vivo, o que torna preocupante a utilização dos nanomateriais no campo da medicina sendo necessário avaliar a sua toxicidade e biocompatibilidade tanto no meio *in vivo* quanto *in vitro*. A toxicidade normalmente está atrelada a dois outros fatores que são o tamanho e o formato das nanopartículas. Recentemente, vários trabalhos reportam que a toxicidade está atrelada ao tamanho das partículas e conseqüentemente à sua área superficial exposta ao meio biológico, além disso, à dosagem aplicada e ao tempo de exposição das partículas nas células também

devem ser levados em consideração^{25, 26, 27, 28}. Já a questão do formato das nanopartículas é menos relatado na literatura, porém alguns trabalhos mostram que diferentes formatos como os de esferas, cilindros, cubos, estrelas e bastões possuem toxicidades diferentes no meio biológico estudado, e isso muitas vezes é explicado por questões energéticas referente aos processos de endocitose feitos pela membrana celular ao internalizar esses diferentes tipos de partículas^{29, 30, 31}.

Dentre os nanomateriais inorgânicos usados em nanomedicina, se destaca a sílica por apresentar natureza citotóxica mais baixa, tornando-se um dos materiais mais atrativos quando pretende-se expor ao meio biológico^{12 32 33}. Estruturalmente, nanopartículas de sílica são classificadas como polímeros inorgânicos compostos da união de tetraedros monoméricos de silicatos SiO_4^{4-} que ligam-se covalente e aleatoriamente pelos átomos de oxigênio, conferindo o caráter amorfo ao material³⁴, ou seja, não existe um padrão de repetição dos tetraedros de silicatos a longa distância. A estrutura básica de uma partícula de sílica é formada por pontes siloxanos, ligações covalentes entre átomos de silício-oxigênio-silício ($\equiv\text{Si-O-Si}\equiv$) e grupos silanóis, ligações covalentes entre átomos de silício-oxigênio-hidrogênio ($\equiv\text{Si-O-H}$) presentes principalmente no interior e na superfície das nanopartículas, respectivamente^{35, 36}. A Figura 2 apresenta um esquema ilustrativo de uma nanopartícula de sílica esférica com ampliação de sua superfície e do seu interior, evidenciando a superfície rica em grupos silanóis e o interior formado por ligações siloxanos aleatórias.

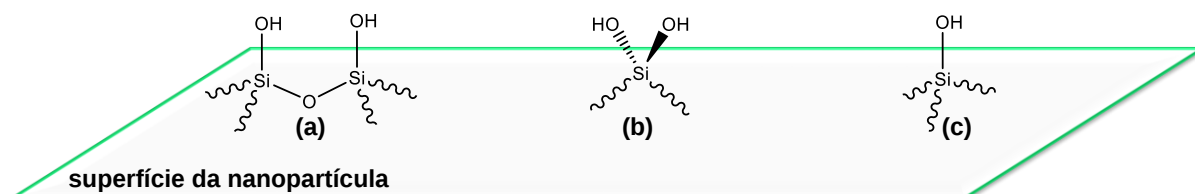
Figura 2 - Esquema ilustrativo representando uma nanopartícula de sílica densa com enfoque nos grupos silanóis superficiais e siloxanos no interior da partícula.



Fonte: Autor.

Os grupos silanóis localizados na superfície das partículas de sílica podem ser classificados em três tipos de acordo com sua conformação, são eles (a) vicinais, (b) geminais e (c) isolados³⁵. As estruturas dos três tipos estão apresentadas simplificadaamente na Figura 3.

Figura 3 - Representação das possíveis conformações que os grupos silanóis podem adotar na superfície de uma nanopartícula de sílica (a) vicinais (b) geminais e (c) isolados



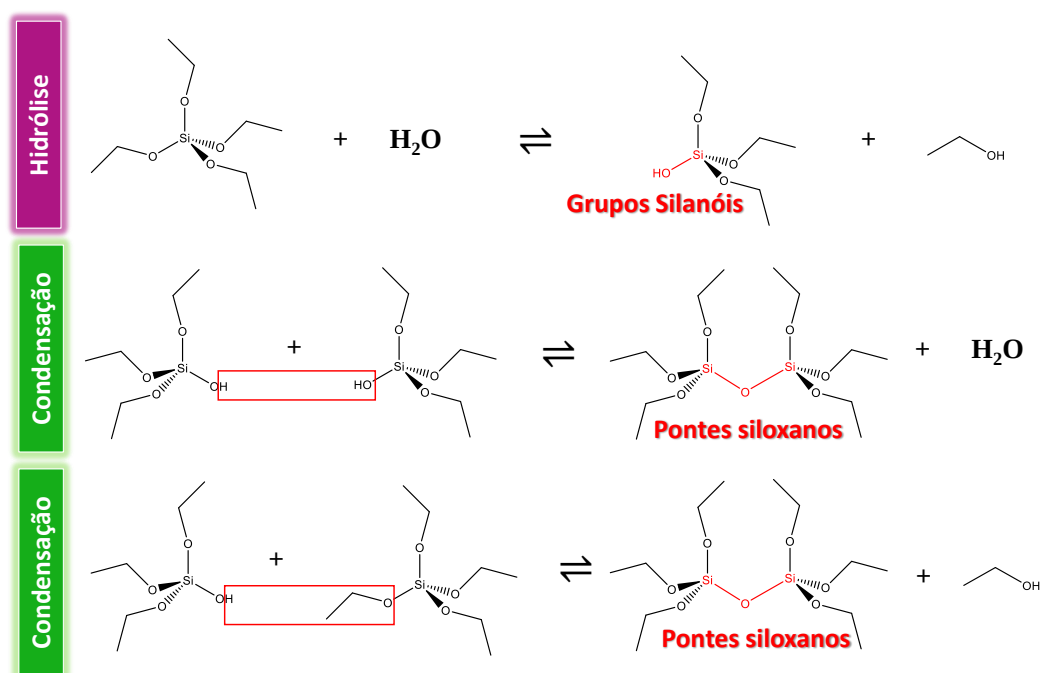
Fonte: Adaptado da referência [35]

Os grupos silanóis presentes na superfície das partículas de sílica são considerados grupos extremamente reativos que tornam a superfície das partículas um ambiente químico

muito interessante e susceptível a várias reações³⁷. Devido à diferença de eletronegatividade entre os átomos de oxigênio e hidrogênio, a ligação OH do grupo silanol torna-se polarizada facilitando a saída do hidrogênio na forma de um próton H^+ e consequentemente deixa a superfície das partículas de sílica com carga negativa ($\equiv Si-O^-$)³⁸. Esta densidade de carga negativa garante a formação de uma suspensão estável através da repulsão partícula-partícula dependente do pH.

A rota comumente adotada para obtenção de nanopartículas de sílica é a metodologia sol-gel, devido à sua capacidade de controle do tamanho e forma das partículas, através do acompanhamento sistemático dos parâmetros de reação^{39, 40}. A obtenção de partículas esféricas e monodispersas de sílica, pelo método sol-gel foi descrita primeiramente por Stöber⁴¹, na qual parte-se das reações de hidrólise e condensação de um derivado de um alcóxido de silício de fórmula geral $Si(OR)_4$ (R = grupo alquil) na presença de água, amônia como catalisador e álcool. Quando a síntese é catalisada por ácido (exemplo HCl, ácido clorídrico) as partículas obtidas no final apresentam formato irregular^{42, 43}. Um dos alcóxidos mais comumente utilizados para síntese no processo sol-gel é o TEOS (tetraetilortosilicato) com a fórmula estrutural $Si(OC_2H_5)_4$ ³⁹. Na Figura 4 estão apresentadas as reações de hidrólise e condensação do TEOS, reações responsáveis pela formação da rede estrutural das nanopartículas de sílica.

Figura 4 - Esquema representando as reações de hidrólise e condensação do TEOS responsáveis pela formação da rede estrutural das nanopartículas de sílica.



Fonte: Autor

Stöber é considerado um dos pioneiros na síntese de nanopartículas de sílica esféricas via sol-gel, obtendo em suas sínteses partículas com diâmetros entre 50 nm e 2 μm através da mudança de parâmetros reacionais⁴¹. Parâmetros como (1) as concentrações do alcóxido de silício, amônia e água, (2) a temperatura em que se processa a reação, (3) o tempo de hidrólise e condensação do alcóxido de silício, (4) o álcool e a quantidade de álcool utilizado como solvente, (5) o efeito do modo de mistura dos reagentes e (6) o efeito da taxa de adição dos reagentes^{44, 45, 46, 47, 48} alteram a cinética das reações de hidrólise e condensação apresentadas na Figura 4 permitindo arquitetar algumas propriedades finais das nanopartículas como por exemplo, tamanho, área superficial, forma e volume e distribuição de tamanho de poros⁴².

2.2 Modificação da superfície da sílica com organossilanos

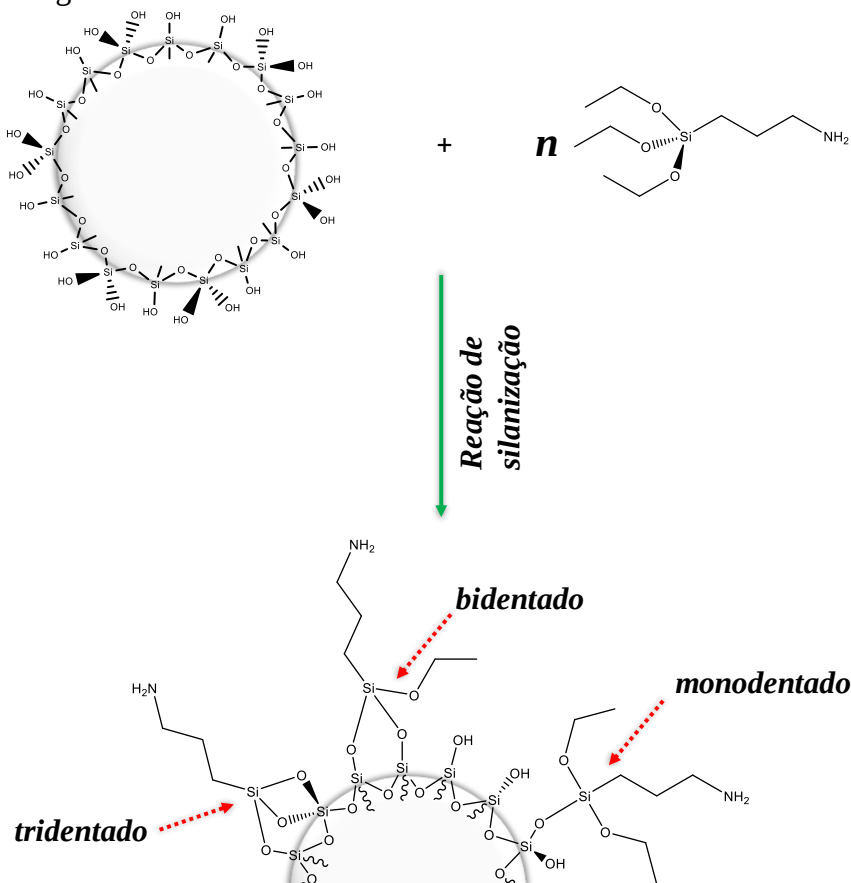
Outra propriedade bastante explorada da sílica e motivo de sua utilização em áreas medicinais e farmacológicas é a possibilidade de modificação de sua superfície^{2, 49, 50}. Muitas vezes a funcionalização da superfície é de extrema importância quando pretende-se aplicar nanopartículas em áreas de imageamento e marcação, devido ao fato da sílica pura *in natura*

não conter propriedades ópticas que a tornam aplicáveis nessas áreas, além disso uma superfície rica apenas em grupos silanóis não a torna específica ou seletiva em um ambiente celular⁵¹.

A primeira etapa para se obter materiais com a superfície decorada é dar funcionalidade incorporando à superfície algum grupo químico capaz de sofrer sucessíveis reações³⁵, aumentando a versatilidade de aplicações do material. Essa funcionalização pode ter característica orgânica ou inorgânica. Quando moléculas orgânicas são ligadas covalentemente à superfície das partículas, denominamos o processo de *organofuncionalização*³⁸ e como produtos obtêm-se os *híbridos orgânico-inorgânicos*⁵², que apresentam propriedades complementares dos dois componentes precursores, dando origem a um novo material com propriedades diferenciadas daquelas que lhe deram origem⁵².

Normalmente a modificação da superfície de partículas de sílica ocorre pela ancoragem de moléculas conhecidas como agentes sililantes ou organossilanos, através de uma reação de silanização^{53, 54}. A Figura 5 apresenta uma representação dos modos de ancoragem do organossilano APTES (3-aminopropiltrietoxissilano) na superfície de uma partícula de sílica.

Figura 5 - Representação ilustrativa da etapa de funcionalização da superfície de uma partícula de sílica com o organossilano APTES.



Fonte: Autor.

A organofuncionalização de partículas de sílica com agentes sililantes torna o material atrativo e promove vantagens para aplicações em sistemas biológicos¹⁹. Quando o objetivo é obter um biomaterial a funcionalização com organossilanos que contenham grupos funcionais tióis (-SH), aminas (-NH₂) ou ácidos carboxílicos (-COOH) é comumente utilizada⁵⁵, já que são grupos reativos capazes de possibilitar uma ligação com alguns aminoácidos presentes em estruturas de várias biomoléculas, sendo os mais comuns as lisinas e cisteínas^{2, 49}, mas também os ácidos glutâmicos e aspártico¹⁴.

Neste sentido, a funcionalização com ácido carboxílico tem chamado atenção da comunidade científica devido à sua bifuncionalidade, conferindo ao material propriedades ópticas (proveniente da formação de complexos luminescentes) e biológicas interessantes^{56, 57}. Até o presente momento, a denominada carboxilfuncionalização de nanopartículas de sílica é uma das mais recentes e relativamente pouco relatada na literatura⁵⁸. Duas das principais rotas de síntese para promover a carboxilfuncionalização, partem primeiramente do processo de aminofuncionalização da superfície utilizando o APTES, em seguida, o grupo amino é convertido à carboxila reagindo-o com anidridos, o mais relatado é o anidrido succínico^{55, 59}, ou com ácidos carboxílicos clorados (Cl-R-COOH) que reagem através de uma reação de substituição nucleofílica bimolecular, formando ao final um ligante aminomonocarboxilato⁶⁰. Outras vias também já foram relatadas, utilizando agentes sililantes com grupo ciano (-CN), porém não é muito utilizada devido à alta toxicidade do organossilano e das condições de sínteses mais severas⁶¹. Outras formas são o revestimento das partículas com um polímero orgânico que contenha grupos carboxilatos⁶² e por fim utilizar agentes sililantes que contenham grupos ésteres e posteriormente promover a hidrólise em meio ácido⁶³.

A vantagem biológica atrelada a carboxilfuncionalização deve-se principalmente a boa estabilidade coloidal gerada pela repulsão das cargas negativas formadas em pH fisiológico, 7,35 - 7,45, já que neste intervalo de pH o ácido carboxílico encontra-se na sua forma desprotonada^{64, 65}. Outro fator importante é que a funcionalização com este grupo permite a ancoragem de qualquer biomolécula que contenha grupos aminos primários disponíveis para conjugação por meio de agentes *crosslinkers* que facilitam a reação entre esses grupos, formando ao final uma ligação amídica (-NH-C=O)^{14, 66}. Além disso, de forma geral a organofuncionalização pode diminuir a toxicidade dos materiais e aumentar a biocompatibilidade dos mesmos com as membranas celulares devido à maior afinidade química já que ambos os componentes possuem características orgânicas.

Outro fator importante é que ácidos carboxílicos são considerados ligantes privilegiados e normalmente são selecionados por formarem complexos termodinamicamente estáveis com vários tipos de metais, em particular com íons terras raras (TR^{3+})⁶⁷. Essa boa estabilidade pode ser explicada segundo a teoria ácido-base de Pearson, na qual explica que ácidos duros como os íons TR^{3+} se coordenam muito bem a bases duras como os átomos de oxigênio do grupo carboxilato^{34, 68, 69}. A ligação entre o grupo carboxilato e os íons terras raras são predominantemente de caráter iônico e podem acontecer de diversas formas, sendo que as mais comuns a forma monodentado, quelato bidentado, ponte bidentada, ponte/quelato⁶⁷.

2.3 Híbridos luminescentes a base de sílica modificada com complexos de íons lantanídeos em aplicações de bioimageamento

Nos últimos anos, a área médica teve grandes avanços no tratamento e identificação de vários tipos de doenças graças à utilização de sondas luminescentes atuando como contrastes ópticos em análises clínicas por imagens^{70, 71, 72}. A utilização de sondas luminescentes em células e tecidos vivos permitem uma melhor visualização e estudo do ambiente celular em que se encontram, seja este patológico ou não. Tem sido tão ampla a utilização desses materiais que uma nova área de pesquisa pôde ser consolidada e denominada de bioimageamento¹. Esta área envolve diferentes técnicas e meios de obter imagens de seres vivos para fins clínicos, onde essas imagens baseiam-se na detecção de sinal dos processos luminescentes de diferentes tipos de materiais. Normalmente, as principais técnicas utilizadas nas áreas medicinais para obtenção de bioimagens são: 1) Microscopia Confocal, 2) Microscopia de Fluorescência, 3) Imagens de Ressonância Magnética, 4) Imagem Óptica, 5) Medicina Nuclear (Radioisótopos), 6) Ultrassonografia e 7) Tomografia^{1, 73}.

A maioria dessas técnicas baseia-se em fenômenos luminescentes, na qual refere-se à luz emitida por um material, geralmente na região do ultravioleta, visível ou infravermelho próximo do espectro eletromagnético originada de transições eletrônicas não térmicas, quando excitado por uma fonte de excitação mais energética, embora seja possível observar excitação com energia menor do que a emitida em processos de *up-conversion*. Anos atrás, a luminescência das sondas utilizadas em bioimagens era baseada em processos fosforescentes de moléculas orgânicas, entretanto, como já mencionado, vários pontos desfavorecem o seu uso em meio biológico. Contornando este problema, houve um crescente aumento da utilização de nanopartículas luminescentes em áreas de bioimagens devido à maior fotoestabilidade e

intensidade de emissão⁸. Jaque, D. (2016)¹ em sua revisão, faz um levantamento a respeito do número de publicações que envolvem nanopartículas (de todos os tipos) e bioimageamento. Nota-se que em um período curto de 16 anos as publicações na área de imageamento tiveram um crescimento exponencial, apontando que esses materiais possuem grande potencial na área da saúde virando alvo de estudo no meio científico.

Em especial, nanopartículas luminescentes que contém em sua composição íons terras raras (TR^{3+}) têm ganhado atenção no meio científico devido as potenciais propriedades espectroscópicas desses íons^{1,8}. Normalmente, estes íons podem ser incorporados nas nanopartículas na forma de dopagem em uma matriz inorgânica⁷⁴, ou na forma de complexos ancorados à superfície⁷⁵ ou encapsulados no interior das nanopartículas⁷⁶ utilizando ligantes orgânicos.

A ancoragem de complexos luminescentes de íons TR^{3+} em nanopartículas de sílica densa tem sido amplamente estudada devido as propriedades sinérgicas existentes entre o complexo e a nanopartícula^{52, 77}. Separados, os complexos luminescentes de íons lantanídeos apresentam muitas vezes baixa estabilidade mecânica e alta possibilidade de degradação e as partículas de sílica por mais que apresentem alta resistividade térmica e mecânica, não apresentam propriedades ópticas interessantes para área de bioimagens⁷⁸. A junção dos dois componentes é possível a partir da modificação química da superfície das partículas de sílica, formando grupos quelantes capazes de se coordenar aos íons terras raras, o que é necessário para a formação dos complexos luminescentes.

A ancoragem de complexos à superfície promove a formação de uma classe de biomarcadores com baixa toxicidade, elevada biocompatibilidade, emissão de luz com elevada pureza de cor e um tempo de decaimento maior do que a autofluorescência do meio biológico e grande deslocamento pseudo-Stokes garantindo maior eficiência quântica de emissão que pode ser moldada a partir da variação dos ligantes utilizados para se complexar aos íons TR^{3+} e também a forma e tamanho das nanopartículas, existindo portanto várias possibilidades diferentes para produzir biomarcadores eficientes e específicos^{8,79}.

2.4 Luminescência e complexos de Íons Lantanídeos (Ln^{3+})

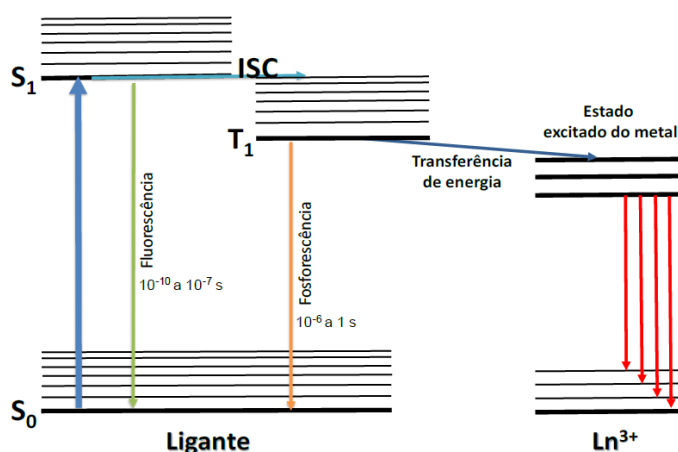
Terras raras é a terminologia dada ao grupo de elementos da tabela periódica composto pelos 15 elementos da série dos lantanídeos (Ln) que vai do lantânio (La, $Z = 57$) ao lutécio (Lu, $Z = 71$) acrescido dos elementos escândio (Sc, $Z = 21$) e ítrio (Y, $Z = 39$)⁸⁰. Estes elementos foram agrupados devido a várias semelhanças em suas características químicas com destaque em suas propriedades espectroscópicas fazendo deles os componentes principais de materiais luminescentes que apresentam ótimas propriedades de emissão sendo aplicados em dispositivos emissores de luz, lasers, cintiladores, LEDs e OLEDs, marcadores biológicos e etc^{77, 81}.

Os lantanídeos são elementos que apresentam propriedades ópticas interessantes por conterem elétrons em seus orbitais 4f. A configuração eletrônica no estado atômico dos lantanídeos é $[\text{Xe}] 4f^n 6s^2$ ou $[\text{Xe}] 4f^{n-1} 5d^1 6s^2$, sendo que mesmo após perder os elétrons de valência 6s e 5d adotando a configuração eletrônica Ln^{3+} , os orbitais 4f ainda são blindados pelos orbitais mais externos 5s e 5p, fazendo com que os elétrons presentes no orbital 4f sejam poucos influenciados pelo campo ligante (ou cristalino) ao redor do íon^{52, 73, 82}. Isso faz com que sejam observadas bandas estreitas tanto nos espectros de absorção quanto nos espectros de emissão, que são resultantes de transições eletrônicas intraconfiguracionais 4f-4f garantindo grande pureza de cor e elevada monocromaticidade^{8, 52, 79}. Desta forma interações eletrônicas e a fraca influência do campo ligante promovem desdobramentos dos orbitais f em que a diferença energética entre o estado fundamental e excitado promove a esses íons propriedades espectroscópicas na região do visível e do infravermelho próximo do espectro eletromagnético, na qual a cor da emissão é característica e depende apenas do metal^{52, 79}.

Um dos problemas associados aos íons lantanídeos é a baixa absortividade molar ($\epsilon = 1 - 10 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) que resulta em baixa capacidade de absorverem radiação eletromagnética para promover as transições f-f⁸³. Isto acontece devido à regra de seleção de Laporte, que diz que para ocorrer uma transição é preciso ter mudança de paridade na função de onda do orbital, mecanismo este governado por dipolo elétrico (ED). Transições que acontecem entre orbitais com mesma paridade são proibidas. Assim, como as transições f-f acontecem em um mesmo orbital são classificadas como proibidas, entretanto não quer dizer que não aconteçam, elas acontecem, porém, com baixa probabilidade e intensidade. Desta forma, como a absorção de radiação pelos íons lantanídeos não é grade a emissão acaba sendo pouco intensa. A baixa absortividade molar reflexo da regra da seleção de Laporte, pode ser

contornada ao quebrar a simetria ao redor dos íons coordenando-os à ligantes orgânicos capazes de absorverem radiação na região do ultravioleta e transferir para os íons através do processo conhecido como *efeito antena* ou *sensibilização*^{52, 79}. Essa transferência de energia intramolecular excita indiretamente os íons lantanídeos aumentando a população do estado excitado favorecendo a intensificação da emissão de luz. A transferência de energia do ligante ao metal pode ser representado pelo diagrama simplificado de Jablonski, apresentado na Figura 6.

Figura 6 - Diagrama de Jablonski simplificado exemplificando o processo de transferência de energia do ligante para o íon lantanídeo.



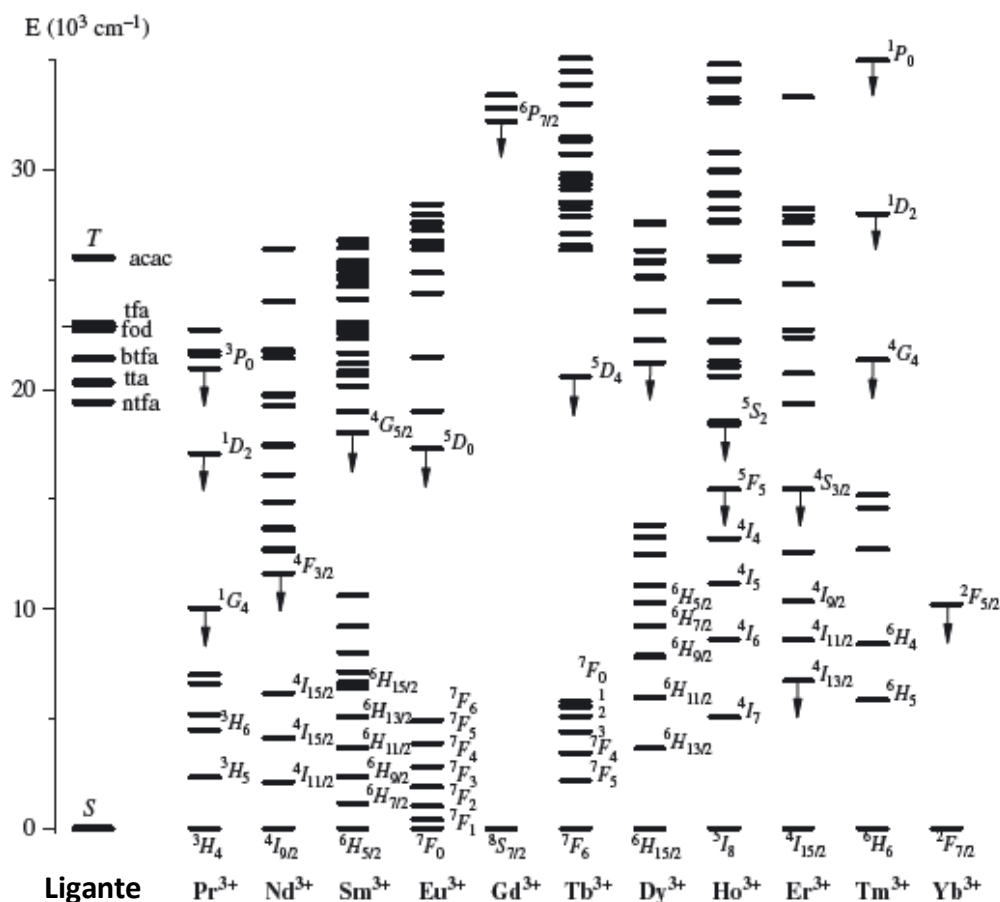
Fonte: Retirado da referência [15]

Após incidir radiação ultravioleta em complexos de íons lantanídeos, as moléculas orgânicas coordenadas ao metal absorvem essa energia fazendo com que os elétrons passem do seu estado singleto fundamental S_0 para um estado singleto excitado S_1 ($S_0 \rightarrow S_1$) por uma transição permitida por spin. No estado excitado os elétrons perdem energia por vibração até chegar ao nível de energia mais baixo do estado excitado. Neste ponto dois processos podem acontecer, os elétrons podem na sequência decair radiativamente para estado fundamental emitindo um fóton (processo de *fluorescência* que apresenta um tempo de vida curto na ordem de 10^{-10} à 10^{-7} segundos) ou podem passar de forma não radiativa para um estado tripleto excitado (T_1) do ligante através de um cruzamento intersistema (ISC) levando a troca de spin e por essa razão, esse processo é proibido. No estado tripleto excitado os elétrons podem decair radiativamente para o estado singleto fundamental S_0 emitindo um fóton (processo de

fosforescência, que por ser proibido por spin possui um tempo de vida mais longo entre 10^{-6} a 1 segundo) ou essa energia pode finalmente ser transferida para excitar indiretamente o íon lantanídeo promovendo suas respectivas transições eletrônicas e luminescência na região do visível decorrente de processos radiativos do estado excitado do metal para seu estado fundamental⁵².

Para esse processo ser eficiente, a energia do estado tripleto dos ligantes deve ser compatível com algum estado excitado do metal. Se for muito baixa, não ocorre a sensibilização do lantanídeo, e se for muito alta, pode favorecer outros tipos de perdas não-radiativas que diminuem a eficiência quântica de emissão. Se for muito próxima (ressonante), pode favorecer retrotransferência de energia do estado excitado do metal para o tripleto do ligante, também diminuindo a eficiência na emissão^{52, 84}. Neste sentido, ligantes do tipo β -dicetonas tem despertado atenção na química de coordenação por apresentarem a energia do estado tripleto compatível com os estados excitados de vários dos íons lantanídeos^{52, 85}. A Figura 7 apresenta um diagrama com todos os níveis energéticos dos estados fundamentais e excitados (estes indicados por uma seta ↓) da série lantanídica e também a esquerda é apresentado o nível energético do estado tripleto (T_1) de algumas β -dicetonas.

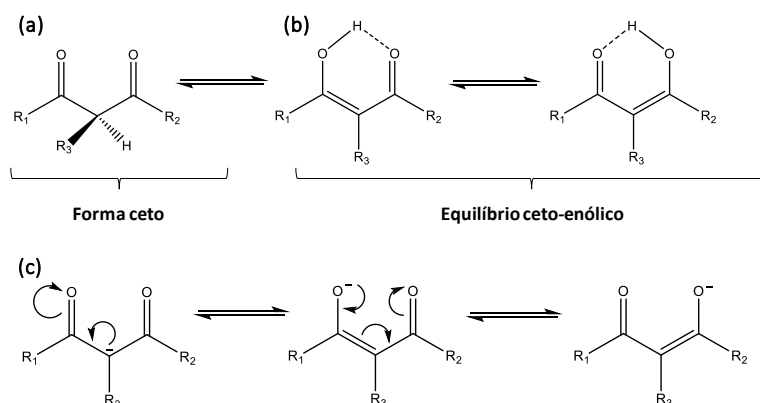
Figura 7 - Diagrama apresentando os níveis de energia do estado fundamental e excitado dos íons lantanídeos (Ln^{3+}) e de alguns estados tripletos referentes a algumas β -dicetonas.



Fonte: Retirada da referência [85]

As β -dicetonas (ou 1,3- dicetonas) são moléculas orgânicas que apresentam dois grupos carbonilas ($\text{C}=\text{O}$) em posição β um em relação ao outro, sua estrutura genérica na forma ceto esta mostrado na Figura 8 (a). A presença dos grupos carbonilas e do hidrogênio do C_α promove condições para as moléculas apresentarem um equilíbrio ceto-enólico, Figura 8 (b). O carbono α em relação aos grupos carbonilas apresenta um hidrogênio razoavelmente ácido, que quando é liberado forma-se o ânion β -dicetonato estabilizado por ressonância como mostrado na Figura 8 (c).

Figura 8 - (a) Estrutura genérica de uma β -dicetona (b) equilíbrio ceto-enólico característico de β -dicetonas (c) estabilização por ressonância da carga negativa.



Fonte: Autor

A formação de complexos entre β -dicetonas e íons lantanídeos é extremamente favorável devido à presença de átomos de oxigênio considerados bases duras de Pearson que se coordenam muito bem aos íons Ln^{3+} considerados ácidos duros⁷³. Além disso, após a coordenação é formado um anel de 6 membros que promove uma alta estabilidade de ligação⁸⁵. A energia do estado tripleto é totalmente dependente dos grupos substituintes R_1 , R_2 e R_3 ,⁵² os quais são responsáveis pela intensidade de emissão do íon Ln^{3+} devido a maior ou menor sensibilização do estado excitado.

O tempo de vida de estado excitado (τ) e a eficiência quântica (η) são parâmetros importantes na avaliação das propriedades fotofísicas de um biomarcador. Os íons Ln^{3+} apresentam tempos de vida de estado excitado longos (de mili a microssegundos) devido à transição f-f ser proibida por Laporte e spin, tornando-se interessantes para medidas de bioimagens obtidas por um atraso na detecção do sinal, evitando desta forma detectar sinais da autofluorescência do meio biológico e uma alta eficiência quântica pode ser obtida devido ao deslocamento pseudo-Stokes desses íons que promove grande separação espectral das bandas de excitação e emissão⁷⁹.

O tempo de decaimento do estado excitado refere-se ao tempo necessário para a desativação do estado emissor que decai exponencialmente a $1/e$ de sua população inicial. Este decaimento é medido pela intensidade de emissão no tempo (I_t) ao longo do tempo, t , e pode ser representado pela seguinte Equação 1:

Equação 1:
$$I_t = I_0 e^{-\frac{t}{\tau}}$$

O τ é totalmente dependente da população de elétrons inicial que ocupa o estado emissor do metal, que é responsável pela intensidade inicial do processo de decaimento no tempo zero (I_0). O valor do tempo de vida depende dos processos competitivos de decaimento radiativo (A_{rad}) e não-radiativo (A_{nrad}) que acontecem durante a relaxação para o estado fundamental. Esta relação pode ser expressa pela Equação 2^{77, 86}:

Equação 2:
$$\frac{1}{\tau} = A_T = A_{rad} + A_{nrad}$$

onde, A_T é a taxa de decaimento total e é obtida através das medidas de tempo de vida.

A eficiência quântica (η) do sistema também é dependente dos processos A_{rad} e A_{nrad} e é definida pela razão das contribuições de ambos os processos. O valor da eficiência quântica pode ser determinado através da Equação 3^{77, 108}:

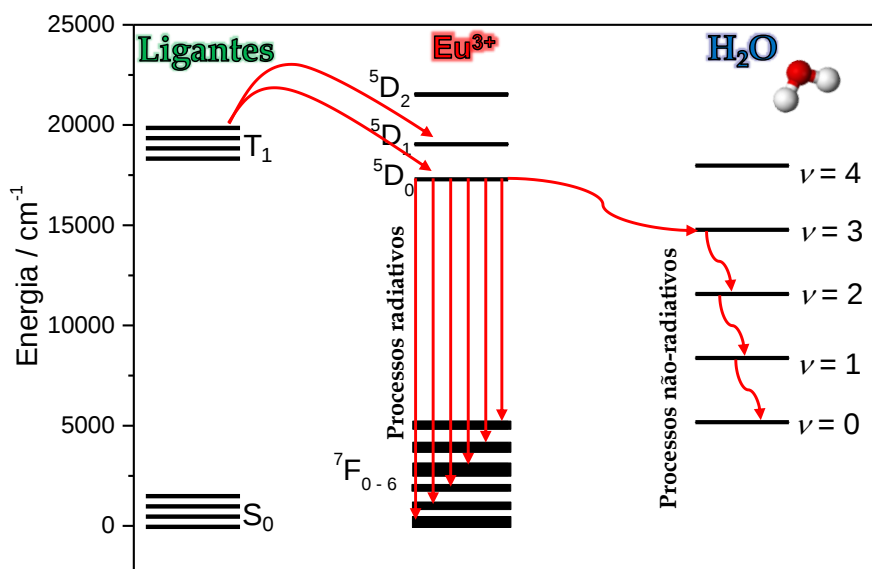
Equação 3:
$$\eta = \frac{A_{rad}}{A_{rad} + A_{nrad}}$$

O valor dos processos radiativos é obtido através da consideração das contribuições radiativas referente as transições que aparecem nos espectros de emissão do íon lantanídeos. Para o Eu^{3+} sabe-se que os processos radiativos são os referentes às transições do $^5D_0 \rightarrow ^7F_{0-4}$. Assim, no caso do íon európio os valores de A_{rad} podem ser obtidos a partir da Equação 4, fazendo a somatória de todas as contribuições radiativas envolvida em cada transição.

Equação 4:
$$A_{rad} = A_{00} + A_{01} + A_{02} + A_{03} + A_{04}$$

O valor dos processos não radiativos A_{nrad} é obtido através do tempo de vida da amostra, através da Equação 2¹⁰⁸. Este valor é muito influenciado pela presença de moléculas de água coordenadas aos íons lantanóides devido ao forte acoplamento vibrônico do grupo O-H da água com o nível emissor dos metais. A Figura 9 mostra um exemplo para o caso do íon Eu^{3+} . Após a sensibilização do íon pelo estado tripleto T_1 o processo de relaxamento pode seguir dois caminhos, sendo que a forma não radiativa (A_{nrad}) é privilegiada quando as moléculas de água estão coordenadas ao íon, desativando o estado emissor e causando a supressão da luminescência. A baixa intensidade de emissão acaba ocasionando tempo de vida de estado excitado curto e baixa eficiência quântica. Desta forma, é de extrema importância substituir essas moléculas de água por ligantes orgânicos para intensificar cada vez mais os processos radiativos, que contribuem para melhores propriedades espectroscópicas¹⁰⁸.

Figura 9 - Diagrama de energia mostrando a influência do acoplamento vibrônico da água o estado excitado 5D_0 resultando na supressão da luminescência do íon Eu^{3+} .



Fonte: Autor.

Desta forma, o número de moléculas de água coordenadas aos íons lantanídeos (N_{H_2O}) também é um dado importante para ajudar a compreender melhor as propriedades fotofísicas. Para sistemas híbridos semelhantes aos apresentados neste trabalho, em que complexos β -dicetonatos de Eu^{3+} são ancorados à superfície de nanopartículas de sílica, o cálculo de N_{H_2O} é possível através da equação de Horrocks^{87, 88}, mostrada na Equação 5.

Equação 5:
$$N_{H_2O} = 1,05 \times \left(\frac{1}{\tau_{H_2O}} - \frac{1}{\tau_{D_2O}} \right)$$

Nesta equação são considerados os tempos de vida do íon Eu^{3+} τ_{H_2O} e τ_{D_2O} em água (valor experimental) e água deuterada (teórico), respectivamente, na qual os níveis vibracionais da molécula de D_2O afetam muito pouco o nível excitado 5D_0 causando pequenas perdas não radiativas. O valor de τ_{D_2O} pode ser obtido a partir da Equação 6⁸⁷.

Equação 6:
$$\frac{1}{\tau_{D_2O}} = A_{01} \chi \frac{I_{total}}{I_{01}}$$

O τ_{D_2O} é obtido através do espectro de emissão e depende da intensidade da transição $^5D_0 \rightarrow ^7F_1$ (I_{01}) governada por mecanismo de dipolo magnético e da intensidade total (I_{total})

referente a todas as transições. O coeficiente de emissão espontânea A_{01} é obtido pela Equação 7⁸⁷.

Equação 7:
$$A_{01} = (0,31 \times 10^{-11}) \times \eta^3 \times \sigma_{0 \rightarrow 1}^3$$

Onde η representa o índice de refração médio da sílica que é de 1,435 e $\sigma_{0 \rightarrow 1}$ é o baricentro dos comprimentos de onda de emissão dado em cm^{-1} .

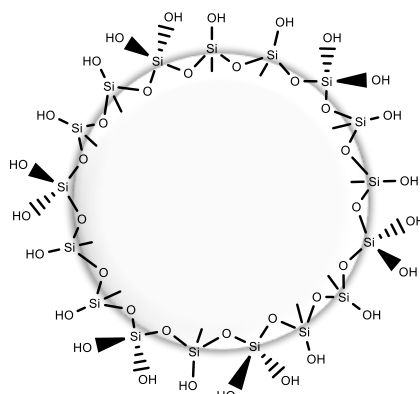
3 METODOLOGIA EXPERIMENTAL

3.1 Procedimentos experimentais

3.1.1 Síntese das nanopartículas de sílica via sol-gel.

Como justificado na motivação da dissertação, a preparação das nanopartículas de sílica foi baseada no protocolo desenvolvido durante o projeto de iniciação científica (**FAPESP: processo 2014/04907-3**). As amostras de sílica foram ressintetizadas e a repetitividade da síntese foi avaliada por medidas de MEV/FEG observando o comportamento do tamanho e da forma das partículas. Para síntese das nanopartículas de sílica densa foi utilizado a metodologia sol-gel catalisada por base (NH_4OH) utilizando os álcoois metanol a temperatura ambiente e etanol à 60 °C. Para isso, em um béquer de 100 mL foi adicionado 5,59 mL de água deionizada, 1,37 mL de NH_4OH (Synth, 24-26 %) e 32,80 mL de metanol (Synth, 99,8%). A mistura permaneceu em agitação magnética a temperatura ambiente por 5 minutos com a posterior adição lenta de 3,6 mL de TEOS (Tetraetilortossilicato, Fluka, 99 %). Em seguida, a reação prosseguiu em agitação por 90 minutos a temperatura ambiente. Ao término do tempo, a agitação foi cessada e a suspensão foi deixada em repouso por 12 horas. Após o repouso, as nanopartículas foram lavadas 3 vezes com 12 mL do álcool utilizado na síntese e centrifugadas à 3800 rpm por 20 minutos. Por fim, as amostras foram previamente secas em dessecador e posteriormente 24 horas em estufa à 70 °C. O procedimento adotado para síntese das nanopartículas em etanol foi o mesmo, utilizando 47,40 mL de etanol (Synth, 99,5 %) para preparo da solução inicial. A reação foi processada em agitação em um balão de fundo redondo de 100 mL à temperatura de 60 °C. A princípio, a amostra de sílica sintetizada em metanol será nomeada de S_1 e em etanol S_2 . Quando aparecer o símbolo de asterisco (*) na frente do nome, como $*S_1$ e $*S_2$, indicará que a amostra se refere a sílica ressintetizada nas mesmas condições. Ao final foi obtido uma massa de sílica de 698,2 mg para amostra S_1 e 896,7 mg para amostra S_2 . A Figura 10 ilustra uma representação simples de uma nanopartícula de sílica esférica obtida pela metodologia sol-gel seguindo uma catálise básica.

Figura 10 - Esquema simplificado de uma partícula de sílica esférica.



Fonte: Autor.

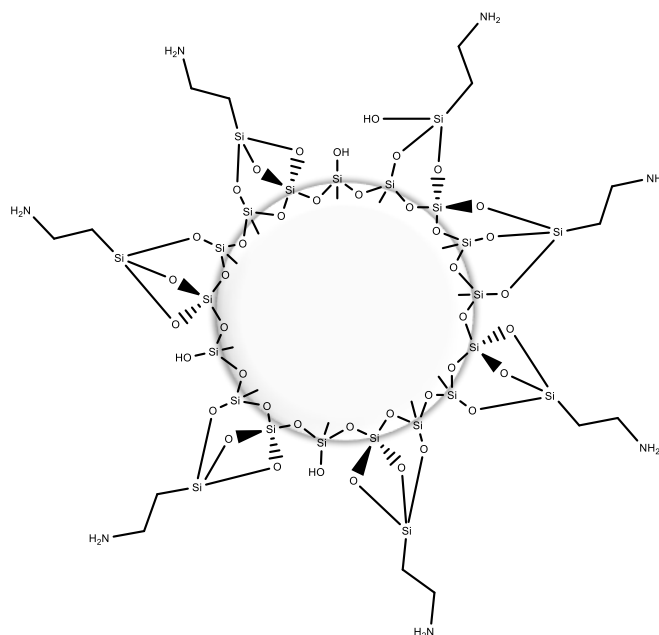
Também foram utilizadas as amostras $*S_1$ e $*S_2$ para dar continuidade nas etapas de funcionalização, então reforçando, caso apareça o símbolo (*) que antecede o nome de qualquer amostra, refere-se que foi usado a amostra precursora de sílica ressintetizada na primeira etapa. Para as posteriores etapas de funcionalização de superfície iremos descrever a síntese com as nanopartículas S_1 e S_2 iniciais, mas o mesmo procedimento de modificação foi utilizado quando foi utilizado as nanopartículas ressintetizadas, $*S_1$ e $*S_2$.

3.1.2 Primeira etapa de modificação: **Aminofuncionalização**

Nanopartículas aminofuncionalizadas foram obtidas através da ligação do organossilano APTES (3-aminopropiltrietoxisilano, Synth, 98 %) à superfície das amostras de sílica sintetizadas na etapa anterior. Para a primeira etapa de funcionalização, 0,5500 g de S_1 e 0,5551 g de S_2 foram suspensas em 35 mL de etanol e deixadas em banho ultrassônico por 15 minutos, sendo em seguida transferidas para agitação magnética. Após isto, foram preparadas soluções etanólicas de APTES adicionando 2,19 mL de APTES em 15 mL de etanol para ambas as amostras. Estas soluções foram transferidas para o béquer com as suspensões das nanopartículas, no qual a reação de silanização prosseguiu em agitação vigorosa por 3 horas a temperatura ambiente. Em seguida, as nanopartículas aminofuncionalizadas foram lavadas 3 vezes com 15 mL de etanol e centrifugadas à 3800 rpm por 10 minutos. As amostras foram secas previamente em dessecador e posteriormente em estufa por 6 horas à 70 °C rendendo uma massa de 0,5210 g da amostra S_{1N} e 0,5101 g para amostra S_{2N} . Amostras $*S_{1N}$ e $*S_{2N}$ referem-se a aminofuncionalização das amostras de sílica ressintetizadas. A Figura 10 apresenta

um esquema ilustrativo de uma nanopartícula de sílica após o processo de aminofuncionalização.

Figura 11 - Esquema ilustrando a estrutura de uma partícula aminofuncionalizada.

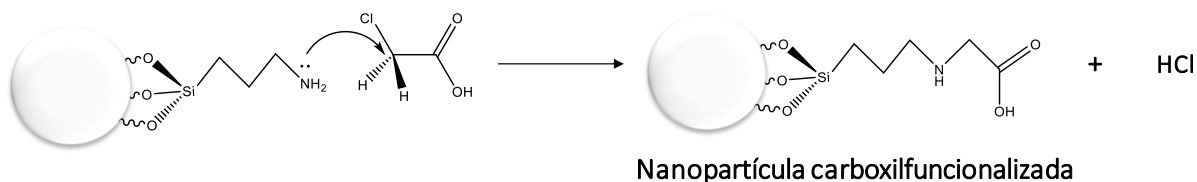


Fonte: Autor.

3.1.3 Segunda etapa de modificação: **Carboxilfuncionalização**

A formação do ácido carboxílico na superfície foi promovida nesta etapa de síntese. A modificação do APTES para formar um novo agente sililante com o grupo funcional carboxilato acontecerá através de uma reação de substituição (SN_2) entre a amina primária do APTES e o ácido cloroacético, no qual a amina substitui o átomo de cloro que sai como grupo abandonador. Para que o mecanismo SN_2 seja favorecido, inicialmente a amina ($-NH_3^+$) foi desprotonada utilizando K_2CO_3 para aumentar a sua nucleofilicidade. O grupo ácido ($-COOH$) do ácido cloroacético foi neutralizado com K_2CO_3 para evitar a reprotonação da amina o que desfavoreceria a reação. Um esquema da reação está ilustrado em etapas na Figura 12.

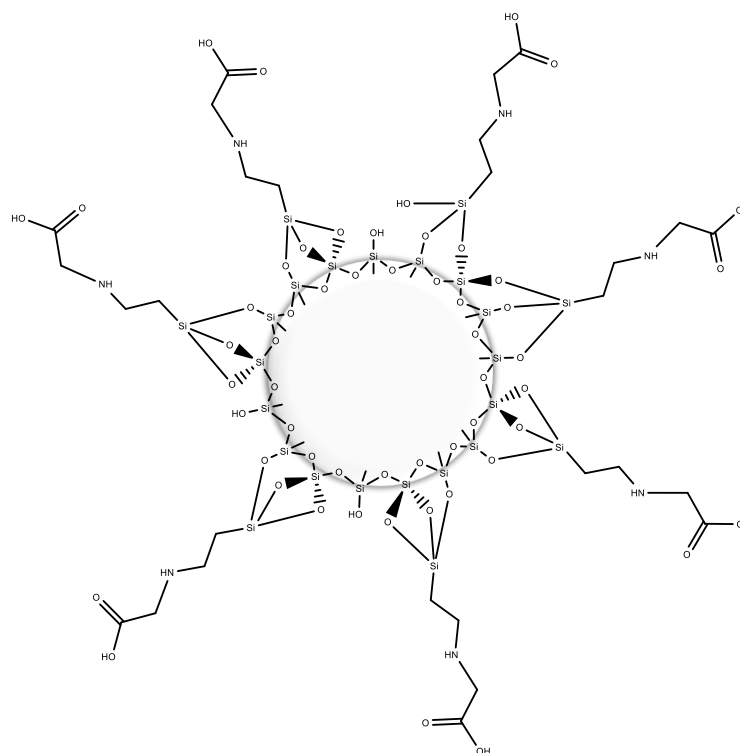
Figura 12 – Esquema ilustrando a reação S_N2 referente a etapa de carboxilfuncionalização das partículas de sílica.



Fonte: Autor.

O procedimento da carboxilfuncionalização foi adaptado de Ajloo, D. (2015)⁸⁹. Inicialmente, as massas de 0,2987 g de S_1N e 0,3301 g de S_2N (2,71 mmol e 2,46 mmol de NH_3^+ respectivamente, obtido por teste de ninidrina) foram suspensas em 20 mL de água deionizada com a posterior adição de 1,36 mmol (para amostra S_1N) e 1,23 mmol (para amostra S_2N) de K_2CO_3 (aq) (Carbonato de potássio, Cinética, 99 %) e deixada em ultrassom por 15 minutos, sendo as suspensões transferidas para um balão de fundo redondo de 50 mL. Após isso, 5,42 mmol (para amostra S_1N) e 4,92 mmol (para amostra S_2N) de ácido cloro acético (Sigma-Aldrich, 99,5 %) foram solubilizados em 3 mL de água e neutralizado, respectivamente, com 2,71 mmol e 2,46 mmol de K_2CO_3 (aq) sendo essas soluções transferidas para os balões reacionais. A reação prosseguiu em agitação vigorosa e aquecimento à 60 °C por 24 horas. Ao final, as nanopartículas foram lavadas 2 vezes com água deionizada e 2 vezes com uma solução aquosa de HCl (10^{-3} mol L^{-1}). Por fim, as amostras foram secas em dessecador e posteriormente em estufa à 70 °C rendendo uma massa de 0,2449 g para amostra S_1NC e 0,2872 g para amostra S_2NC . Amostras $*S_1NC$ e $*S_2NC$ referem-se a carboxilfuncionalização das amostras de sílica resintetizadas. A Figura 13 apresenta um esquema ilustrativo de uma nanopartícula de sílica após o processo de carboxilfuncionalização.

Figura 13 - Esquema ilustrativo da estrutura de uma partícula de sílica carboxilfuncionalizada.

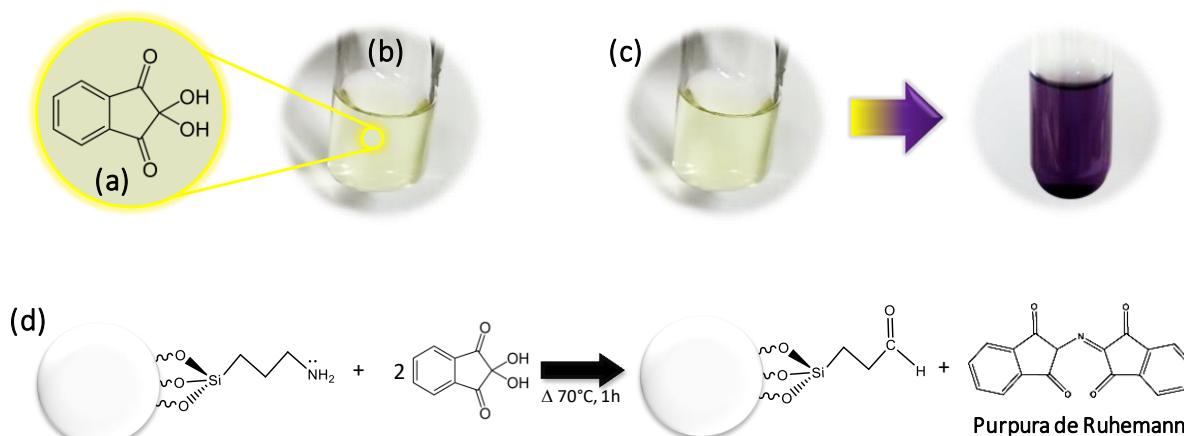


Fonte: Autor.

3.1.4 Quantificação dos grupos aminos (e carboxilas indiretamente) por ninidrina

A 2,2-dihidroxi-1,3-indanodiona, Figura 14 (a), comumente conhecida como ninidrina é uma molécula extremamente sensível a grupos aminos livres, portanto é muito utilizada em testes biológicos para identificação de grupos aminos de biomoléculas, proteínas, etc. Para o teste, é utilizada uma solução etanólica de ninidrina 5% (m/v) que apresenta coloração amarela, Figura 14 (b). Quando esta molécula reage com aminas primárias presentes no meio, forma-se um composto solúvel conhecido como púrpura de Ruhemann que apresenta coloração roxa/azul^{90, 91}. A mudança da cor amarela para roxo indica a presença de grupos aminos livres. Figura 14 (c). No teste, a solução de ninidrina é aquecida junto a amostra à 70 °C por volta de 1 hora. A reação química entre os grupos aminos e a ninidrina para a formação do purpura de Ruhemann pode ser apresentada de acordo com a Figura 14 (d).

Figura 14 - (a) Estrutura do reagente Ninidrina (b) Solução etanólica de ninidrina 5% (m/v) (c) Teste positivo para identificação de grupos aminos por ninidrina (d) Representação da reação de um grupo amino com o reagente ninidrina.



Fonte: Autor.

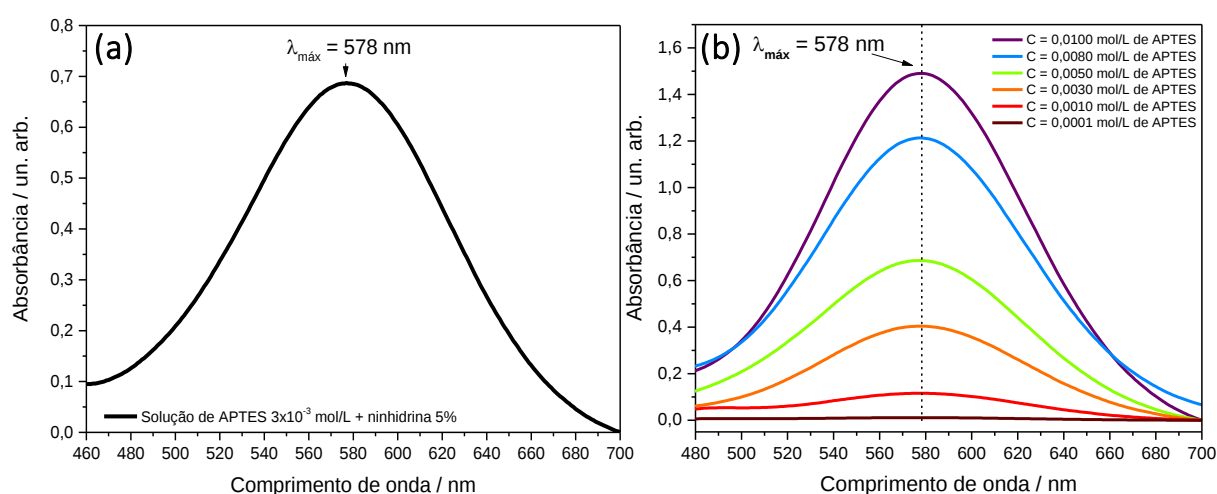
Outra vantagem da técnica está na possibilidade de usar este teste para quantificar grupos amins, já que o composto formado, púrpura de Ruhemann, apresenta absorção na região de 570 nm. Desta forma, utilizando a Espectroscopia de Absorção no UV-Vis é possível associar a concentração dos grupos aminos presente nas partículas de sílica com medidas de absorbância. Para isso é importante a construção de uma curva analítica padrão com o preparo de várias soluções com concentrações conhecida de grupos aminos, no qual posteriormente a concentração dos grupos aminos das amostras podem ser facilmente encontrada por uma simples interpolação na curva analítica.

O teste de quantificação também foi realizado para as amostras carboxilfuncionalizadas, já que em um prévio teste qualitativo essas apresentaram coloração roxa muito fraca indicando que ainda existia grupos aminos livres e que a conversão de grupos aminos à grupos carboxilas não teve 100 % de rendimento.

Para a quantificação, foi feita uma curva analítica padrão utilizando uma solução etanólica de ninidrina 5% (m/v) que equivale à 0,221 mol/L, soluções etanólicas de APTES nas seguintes concentrações: 1×10^{-4} , 1×10^{-3} , 3×10^{-3} , 5×10^{-3} , 8×10^{-3} e 1×10^{-2} mol.L⁻¹. O APTES foi utilizado já que a amina que será quantificada na superfície das nanopartículas tem características idênticas a do APTES livre e também sua estrutura se mantém estável em etanol 99,5 % não hidrolisando durante o teste.

Para o preparo das soluções padrões, foi adicionado em um tubo de ensaio 1 mL da solução de APTES preparada e 1 mL da solução de ninhidrina 5 %. Os tubos de ensaio foram levados em um banho termostatzado à 70°C por 1 hora para a formação do complexo purpura de Ruhemannmann. Após o tempo, os tubos de ensaio foram retirados do banho e esperou-se até esfriarem a temperatura ambiente. Em seguida, a solução de cada tubo foi transferida para um balão de 50 mL completando o volume com etanol 99,5 %. Por fim, para a construção da curva analítica, foi escolhido o máximo do comprimento de onda, $\lambda_{\text{máx}}$. Para isso, foi feito a leitura entre 450 e 700 nm de uma das soluções com contração intermediária de 5×10^{-3} mol/L, e o máximo da banda de absorção foi encontrado em $\lambda_{\text{máx}} = 578$ nm, Figura 15 (a). O comprimento de onda de 578 nm foi selecionado e fixado para as medidas de absorbância das outras soluções para a construção da curva analítica e das amostras Figura 15 (b).

Figura 15 – (a) Espectro de absorção na região do UV-Vis do composto purpura de Ruhemann obtido a partir da reação de uma solução de APTS 5×10^{-3} mol/L com uma solução etanólica de ninhidrina 5% (m/v) (b) Espectros de Absorção no UV-Vis de todas as soluções padrões de APTES.



Fonte: Autor.

Para a análise das amostras, cerca de 5 mg das nanopartículas amino e carbocxilfuncionalizadas foram pesadas e transferidas para um tubo de ensaio, onde foi adicionado 1 mL da solução etanólica de nindrina 5% (m/v). A suspensão foi aquecida a 70°C por 1 hora em banho termostatzado. Após o tempo, as suspensões foram centrifugadas e os sobrenadantes foram transferidos para um balão de 10 mL. As partículas foram lavadas e centrifugadas até que o sobrenadante não apresentasse mais coloração azul. Ao final, o balão

de 10 mL foi completado com etanol e o valor da absorbância foi lido no comprimento de onda de 578 nm. O valor da absorbância foi convertido para concentração de grupos aminos através da curva de calibração. A concentração dos grupos carboxilas foi encontrada a partir da subtração da concentração dos grupos aminos encontrados nas partículas aminofuncionalizadas do valor da concentração de grupos aminos residuais nas partículas após a etapa de carboxilfuncionalização.

3.1.5 Coordenação dos íons Eu^{3+} aos grupos carboxilatos.

Nesta etapa de síntese, íons Eu^{3+} foram coordenados aos grupos carboxilatos ancorados à superfície das nanopartículas de sílica S_1NC e S_2NC . Para esta etapa, foi considerado a concentração de grupos carboxilatos estimada pelo teste colorimétrico de ninidrina. Também foi avaliada a utilização de soluções de cloreto de európio, EuCl_3 , e nitrato de európio, $\text{Eu}(\text{NO}_3)_3$, a fim de investigar o efeito dos contra íons cloreto e nitrato nas propriedades espectroscópicas das amostras. O procedimento descrito aqui será para as amostras sintetizadas com cloreto de európio, as demais foram sintetizadas da mesma forma, utilizando o nitrato de európio.

Inicialmente, 60 mg da amostra $\text{*S}_1\text{NC}$ (0,636 mmol de grupos COOH) e 47,4 mg da amostra S_2NC (0,176 mmol de grupos COOH) foram suspensos em banho de ultrassom em um béquer com 10 mL de etanol por 5 minutos. Em seguida, foi adicionado uma quantidade estequiométrica de NaOH aquoso (1:1) para desprotonação dos grupos carboxilas, controlando o pH para que este permanecesse em 7,0, evitando a precipitação do Eu^{3+} na forma de hidróxido. As suspensões foram deixadas em ultrassom por 10 minutos e transferidas para balões de fundo redondo contendo 10 mL de etanol e 0,700 mmol (para amostra S_1NC) e 0,194 mmol (para amostra S_2NC) de EuCl_3 0,0523 mol/L. A reação prosseguiu por 5 horas em agitação e aquecimento a 50 °C utilizando um sistema refluxo. A estequiometria utilizada entre grupos COOH e íons Eu^{3+} foi de 1 COOH para 1,1 Eu^{3+} , deixando o európio levemente em excesso. Em seguida, os materiais foram lavados 3 vezes com 15 mL de etanol e centrifugados a 3800 rpm por 10 minutos a temperatura ambiente. Por fim, os materiais foram secos em dessecador e posteriormente em estufa por 6 horas à 70 °C, rendendo em massa 61,1 mg do precursor $\text{*S}_1\text{-[Eu]Cl}$ e 46,7 mg do precursor $\text{S}_2\text{-[Eu]Cl}$. Para representar que a partir desta etapa os complexos de európio serão formados, as amostras serão nomeadas com o termo $[\text{Eu}]$. Para

diferenciar das amostras sintetizadas com o cloreto ou nitrato de európio, será adicionado Cl ou NO₃ fora do colchetes. Desta forma segue as seguintes nomenclaturas indicadas na Tabela 1. Todas as amostras não apresentaram luminescência quando iluminadas pela lâmpada UV ($\lambda_{\text{max}} = 250 \text{ nm}$) e a Figura 16 ilustra uma representação simples do material obtido nesta etapa lembrando que na esfera de coordenação ainda pode ser encontrado os contra íons NO₃⁻ ou Cl.

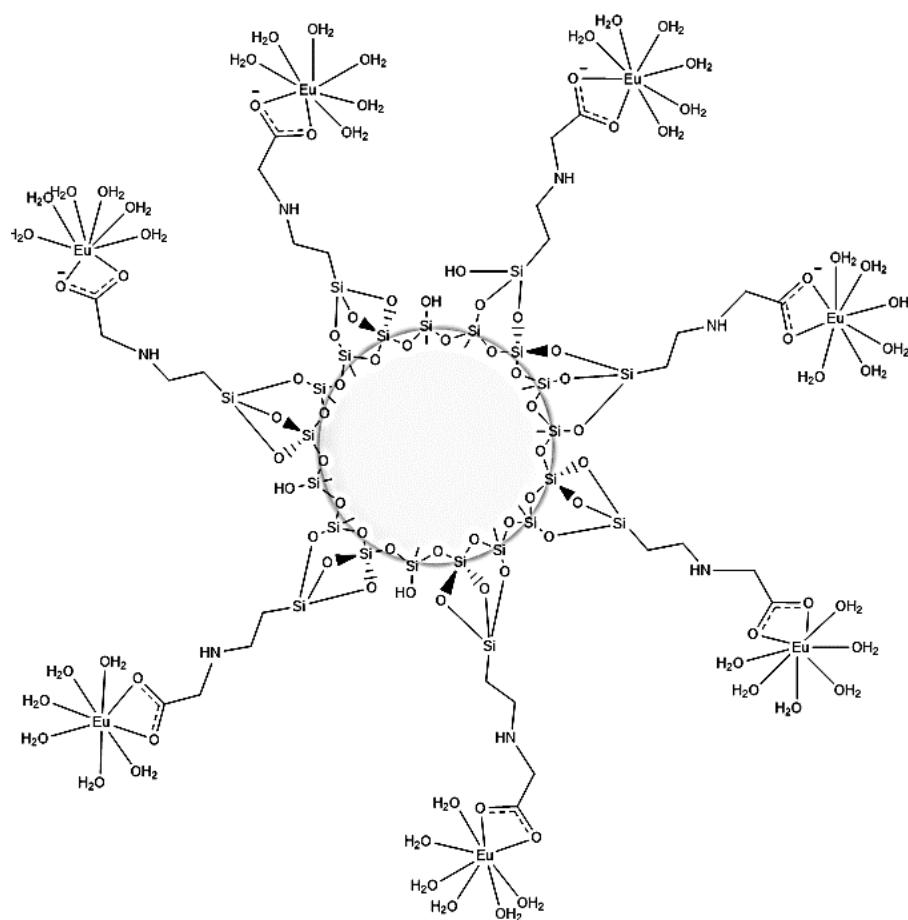
Nesta etapa, uma das amostras foi escolhida para variar a concentração de európio e avaliar o efeito nas propriedades luminescentes do material. Desta forma, para a amostra *S₂, foi realizado a síntese do híbrido utilizando uma estequiometria entre 1 COOH : 0,5 Eu³⁺ a fim de deixar grupos carboxilatos livres. Para este efeito, foi utilizado o cloreto de európio como precursor.

Tabela 1 - Nomenclatura das amostras após a coordenação dos íons európio aos grupos carboxilatos, considerando as proporções e reagentes utilizados.

<i>Amostra precursora</i>	<i>EuCl₃</i> (1 COOH : 1 Eu ³⁺)	<i>EuCl₃</i> (1 COOH : 0.5 Eu ³⁺)	<i>Eu(NO₃)₃</i> (1 COOH : 1 Eu ³⁺)
S₁NC / *S₁NC	*S ₁ -[Eu]Cl	-	S ₁ -[Eu]NO ₃
S₂NC / *S₂NC	S ₂ -[Eu]Cl	*S ₂ -[Eu _{0.5}]Cl	*S ₂ -[Eu]NO ₃

Fonte: *Autor*

Figura 16 - Esquema ilustrativo de uma nanopartícula de sílica após a coordenação de íons Eu^{3+} através dos grupos carboxilatos.



Fonte: Autor

3.1.6 Substituição das moléculas de água de coordenação por ligantes β -dicetonatos.

Por fim, a última etapa reacional refere-se a substituição das moléculas de água e possíveis contra íons coordenados aos íons Eu^{3+} por ligantes dbm. Nesta etapa, consideramos que todo európio adicionado tenha sido coordenado pelos grupos carboxilatos, e que o excesso tenha sido eliminado na lavagem. Para a amostra em que foi utilizado metade da concentração dos grupos carboxilatos consideramos que todo o európio tenha sido coordenado. A seguir será apresentado o procedimento para as duas das amostras contendo európio, entretanto todas as amostras foram sintetizadas da mesma forma. Inicialmente, as massas de 45 mg e 27 mg das amostras precursoras $\text{*S}_1\text{-[Eu]Cl}$ e $\text{S}_2\text{-[Eu]Cl}$, respectivamente, foram pesadas e transferidas para béqueres de 50 mL com 10 mL de etanol. As suspensões foram deixadas em ultrassom por

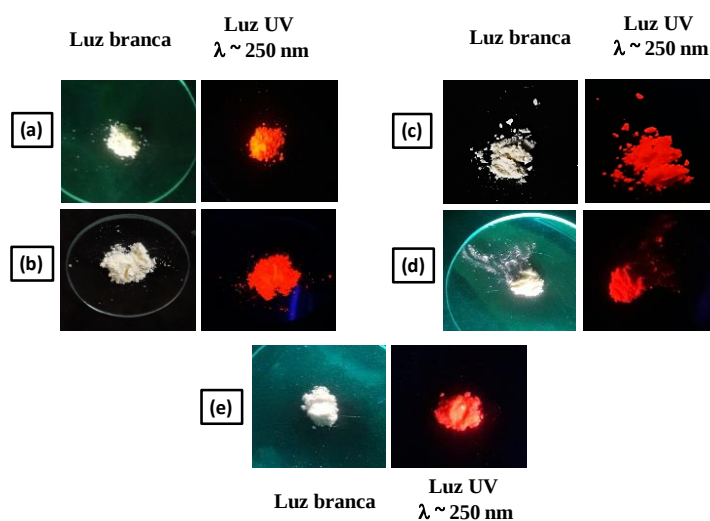
15 minutos transferindo-as logo em seguida para balões de 100 mL. Após isso, o ligante Hdbm (Dibenzoilmetano, Synth, 99,8%) foi desprotonado com metóxido de potássio (CH₃OK, Aldrich, 97 %) em proporção estequiométrica (1 Hdbm : 1 CH₃OK). Para a amostra *S₁-[Eu]Cl preparou-se uma solução adicionando 374,5 mg (1,67 mmol) de Hdbm e 117,1 mg (1,67 mmol) de metóxido de potássio em 10 mL de etanol e para S₂-[Eu]Cl em 10 mL de etanol foram adicionados 78,4 mg (0,350 mmol) de Hdbm e 24,5 mg (0,350 mmol) de metóxido de potássio. O ligante Hdbm foi adicionado na proporção de 1 Eu³⁺ para 3,5 Hdbm, colocando o ligante em excesso para forçar a formação de complexos *tris* dbm. Então, essas soluções foram transferidas gota a gota para o balão reacional. A reação foi deixada em agitação magnética e aquecimento a 50°C por 6 horas utilizando um sistema refluxo. Ao final, as suspensões foram lavadas 3 vezes com 15 mL de etanol e centrifugadas por 10 minutos à 3800 rpm a temperatura ambiente. Por fim, os materiais foram secos em dessecador e posteriormente 6 horas em estufa à 70°C rendendo uma massa de 36,9 mg da amostra *S₁-[Eu(dbm)_x]Cl e 28,2 mg de S₂-[Eu(dbm)_x]Cl. A Tabela 2 apresenta os rendimentos em massa obtidos de cada material. Todas as amostras contendo Eu³⁺ sob luz UV apresentaram emissão de luz vermelha. A Figura 17 apresenta as amostras com Hdbm sob luz branca e sob luz UV e a Figura 18 uma ilustração simples da estrutura do material final.

Tabela 2 - Rendimentos em massa obtido para cada material na ultima etapa de síntese.

<i>Precursor</i>	<i>Massa do precursor</i>	<i>Hibrido final</i>	<i>Massa do hibrido final</i>
S ₁ -[Eu]NO ₃	40 mg	S ₁ -[Eu(dbm) _x]NO ₃	45,9 mg
*S ₂ -[Eu]NO ₃	24,0 mg	*S ₂ -[Eu(dbm) _x]NO ₃	20,2 mg
*S ₂ -[Eu _{0,5}]Cl	35,7 mg	*S ₂ -[Eu _{0,5} (dbm) _x]Cl	23,7 mg

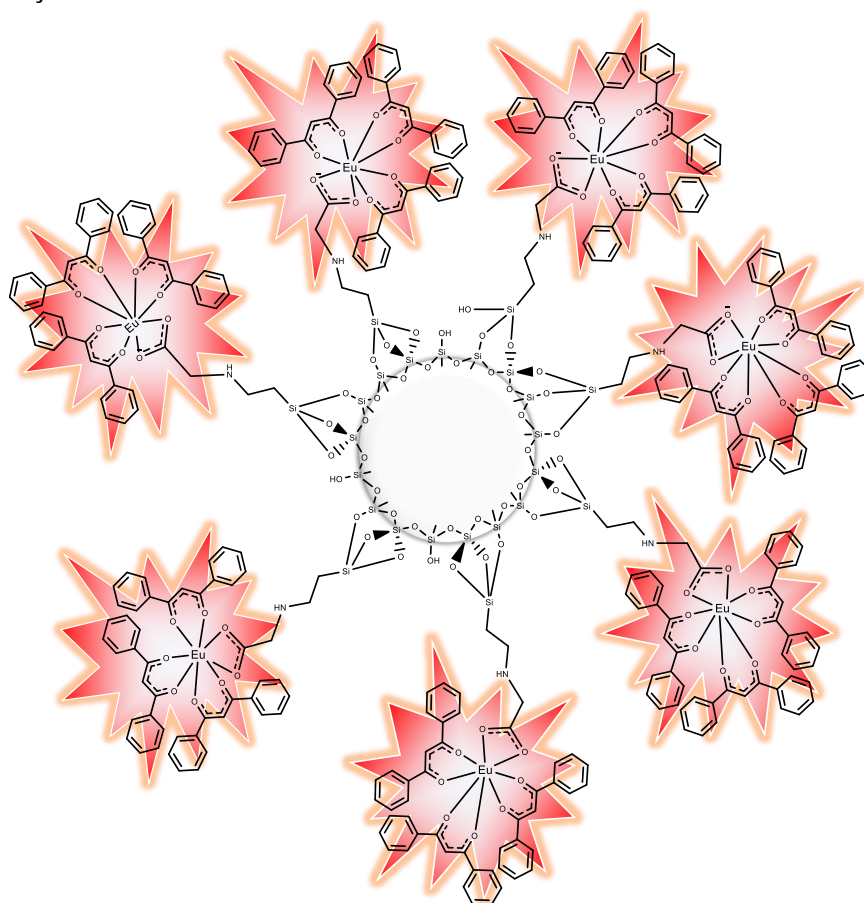
Fonte: Autor

Figura 17 – Fotografias após a adição de Hbdm e sob radiação de uma lâmpada de luz negra, $\lambda_{\text{max}} = 250 \text{ nm}$, na forma de pó das amostras (a) $*\text{S}_1\text{-[Eu(dbm)}_x\text{]Cl}$ (b) $\text{S}_1\text{-[Eu(dbm)}_x\text{]NO}_3$ (c) $\text{S}_2\text{-[Eu(dbm)}_x\text{]Cl}$ (d) $*\text{S}_2\text{-[Eu(dbm)}_x\text{]NO}_3$ (e) $*\text{S}_2\text{-[Eu}_{0.5}\text{(dbm)}_x\text{]Cl}$.



Fonte: Autor

Figura 18 – Esquema ilustrativo representando a estrutura esperada do híbrido luminescente final após a adição de Hbdm.



Fonte: Autor.

3.2 Caracterizações

A seguir, estão descritas todas as caracterizações utilizadas durante a etapa deste capítulo.

3.2.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As micrografias foram obtidas a partir de um microscópio eletrônico de varredura da marca Carls Zeiss, modelo EVO LS15 utilizando um detector de elétrons secundários (SE) em alto vácuo à temperatura ambiente. O equipamento está localizado no Laboratório Multiusuário de Microscopia Eletrônica de Varredura (LaMMEV) pertencente à FCT UNESP, Departamento de Física do campus de Presidente Prudente. As amostras foram preparadas a partir da deposição de uma pequena quantidade de pó sobre uma fita de carbono fixada no *stub* metálico seguido da metalização com uma camada de ouro através da técnica de *Sputtering* da marca Quorum modelo Q 150 R ES.

3.2.2 Microscopia Eletrônica de Varredura com Fonte de Emissão de Campo (MEV-FEG)

As imagens de MET-FEG foram obtidas através de um microscópio da marca Philips XL-30 FEG, pertencente no Laboratório de Caracterização Estrutural DEMa localizado na UFSCar, Universidade Federal de São Carlos. O preparo da amostra ocorreu através da adição de uma pequena quantidade do pó em uma fita de carbono, fixada nos *stubs* metálicos. Após esta etapa, os *stubs* passaram pelo processo de metalização onde é depositado uma camada de ouro através da técnica de *Sputtering*.

3.2.3 Ressonância Magnética Nuclear de Silício-29 (RMN- ^{29}Si)

As medidas foram realizadas em um Espectrômetro Bruker Avance III HD 400 WB (9,4 T) que possui uma sonda de 4 mm CP/MAS DVT Trilpe/Double Resonance com frequência de rotação máxima de 15 KHz e temperatura de análise de -140°C à 150°C. O equipamento se encontra no Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear no Departamento de Físico-Química, no Instituto de Química, IQ – UNESP Araraquara.

3.2.4 Termogravimetria (TG)

A análise térmica das amostras de sílica e sílica funcionalizada foi realizada utilizando um equipamento da marca TA Instruments, modelo SQ600 que opera medidas simultâneas de análise termogravimétrica (TGA, *Thermogravimetric Analysis*) e análise térmica diferencial (DSC, *Differential Scanning Calorimetry*). As curvas termogravimétricas foram medidas

através da pesagem de cerca de 15,0 mg das amostras transferidas para um cadinho de platina e tratadas até 1000°C com razão de aquecimento de 10°C/minuto sob fluxo de ar atmosférico. O equipamento pode ser encontrado no Laboratório de Materiais Cerâmicos, pertencente ao Departamento de Física, Campus de Presidente Prudente, sob responsabilidade do Prof. Dr. Sílvio Rainho Teixeira.

3.2.5 *Espectroscopia de Absorção na região do UV-Vis (UV-Vis)*

A quantificação dos grupos aminos (-NH₂) superficiais foi realizada utilizando o teste de ninidrina que se baseia em uma quantificação colorimétrica do composto púrpura de Ruhemannmann. Para isso, foi utilizado um espectrofotômetro da marca Shimadzu modelo UV-1800, feixe duplo. Os espectros foram obtidos utilizando como branco a solução etanólica de ninidrina 5 % (m/v) e as medidas foram realizadas utilizando cubetas de quartzo com 1 cm de caminho óptico. O equipamento fica sob responsabilidade do Prof. Dr. Aldo Job pertencente ao laboratório LTBA, localizado na FCT UNESP – Presidente Prudente.

3.2.6 *Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho (FTIR)*

As medidas de Espectroscopia Vibracional de Absorção na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier foram realizadas utilizando um equipamento da marca Bruker modelo Tensor 27, equipado com suporte para pastilhas de KBr e célula com janela de KBr para medidas de amostras líquidas. As medidas foram feitas no intervalo de 400 a 4000 cm⁻¹ utilizando 120 *scans* na resolução 4,0 cm⁻¹. O equipamento pode ser encontrado no Laboratório de Filmes Nanoestruturados e Espectroscopia sob supervisão do Prof. Dr. Carlos José Leopoldo Constantino do Departamento de Física da FCT - UNESP, sob supervisão do professor no campus de Presidente Prudente.

3.2.7 *Espectroscopia Raman (SERS)*

As medidas de espectroscopia Raman foram realizadas em um espectrógrafo micro-Raman RENISHAW, modelo in-Via equipado com um microscópio óptico LEICA, série DMLM, equipado com detector CCD PELTIER e plataforma móvel (XYZ). Foi utilizado o laser no comprimento de onda de 633 nm, com a potência máxima de 100 % incidida nas amostras na ordem de μW. Os espectros foram obtidos no intervalo de 100 – 4000 cm⁻¹. Para as medidas de SERS, foi utilizado uma suspensão coloidal de nanopartículas de prata. Para as medidas, 3 mg das amostras eram suspensas diretamente em 1 mL da suspensão das NPs Ag por 5 minutos em banho de ultrassom. O equipamento está disponível no Laboratório de Filmes

Finos e Espectroscopia Raman, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Carlos José Leopoldo Constantino, Departamento de Física da FCT-UNESP.

3.2.8 Espectroscopia de Fotoluminescência (EF)

As medidas de Espectroscopia de Fotoluminescência foram obtidas em um espectrofluorímetro da marca HORIBA JOBIN YVON, modelo Fluorolog-3 sob contendo uma lâmpada de xenônio contínua para excitação, monocromador duplo tanto na excitação como emissão e ainda é equipado com um fotomultiplicador R 928 Hamamatsu. A emissão foi coletada em 45 ° a partir do feixe de excitação. As fendas foram ajustada de acordo com as amostras, utilizando o passo de 1 nm, o tempo de integração utilizado foi de 0,1 ms. As curvas de decaimento de tempo de vida foram medidas em um ângulo de 90° utilizando-se um acessório phosphorimeter equipado com uma lâmpada de xenônio. O equipamento encontra-se sob responsabilidade do Prof. Dr. Eduardo José Nassar, e localizado na UNIFRAN.

3.2.9 Potencial Zeta (PZ)

As medidas de Potencial Zeta foram realizadas em um equipamento Zetasizer Nano Series, modelo Nano-ZS, da marca Malvern Instruments. As medidas foram realizadas em triplicatas através da suspensão das partículas em um tampão fosfato (pH = 7,6). O equipamento está disponível no Laboratório de Materiais Magnéticos e Colóides (LaMMC) pertencente ao Departamento de Físico-Química do Instituto de Química – UNESP Campus de Araraquara, sob responsabilidade do Prof. Dr. Rodrigo Fernando Costa Marques e Prof. Dr. Miguel Jafelicci Junior e também no grupo NOIX pertencente ao Departamento de Física da FCT - UNESP – Presidente Prudente sob responsabilidade do Prof. Dr. Carlos José Leopoldo Constantino.

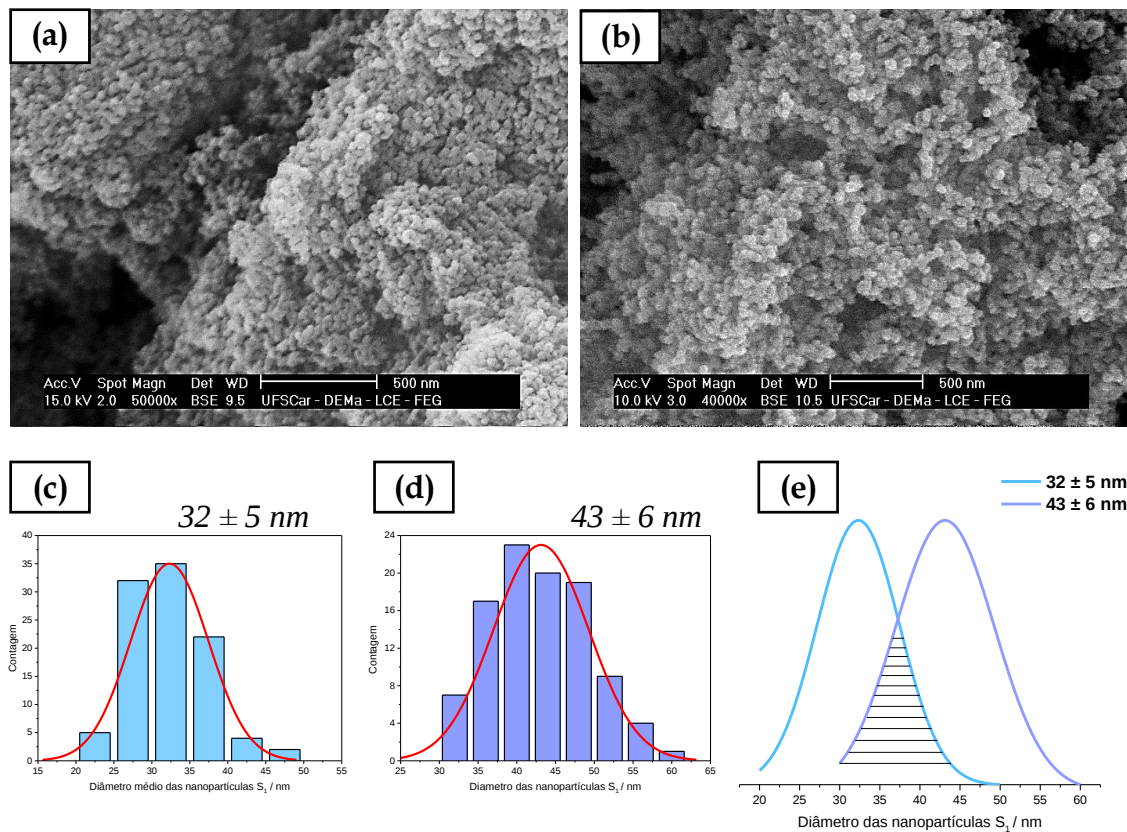
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

1ª Parte: Caracterização morfológica, estrutural, superficial e espectroscópica das nanopartículas de sílica e sílica funcionalizada.

4.1 Microscopia Eletrônica de Varredura de Alta Resolução (MEV-FEG)

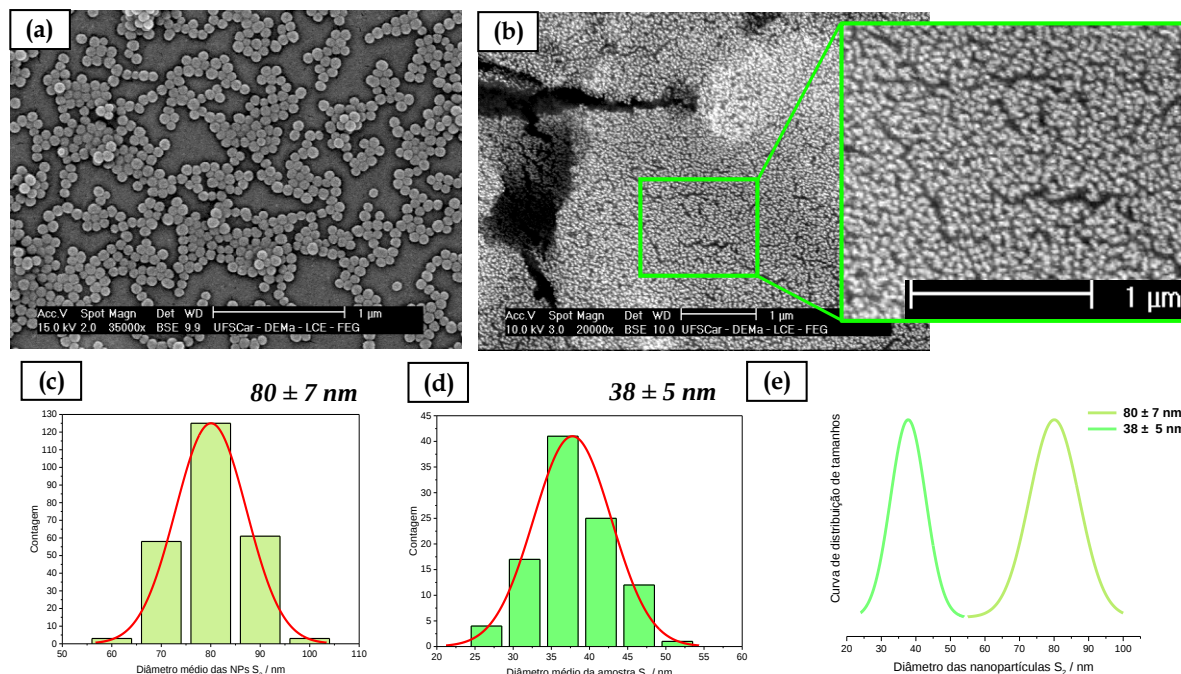
A fim de avaliar o tamanho e o formato das nanopartículas de sílica, foram realizadas medidas de MEV e FEG (*Field Emission Gun*). É válido destacar que houve a necessidade de ressintetizar essas amostras devido à falta de material para dar continuidade ao trabalho. Considerando que a construção do material híbrido final é dada por cinco etapas reacionais, partimos com uma massa “x” de sílica inicial e a cada etapa uma porção de material é separada. Além disso, a cada etapa, parte da amostra é usada para vários testes qualitativos e secundários, a outra é separada para dar continuidade a próxima etapa reacional e parte também é separada para as demais caracterizações. Desta forma, as Figuras 19 e 20 apresentam as imagens de FEG realizadas para as amostras de sílica iniciais, S₁ e S₂, respectivamente, que foram sintetizadas em ambas condições de síntese. A amostra S₁ foi ressintetizada duas vezes sendo apresentada na Figura 19 as micrografias referentes as duas novas sínteses. A amostra S₂ foi ressintetizada apenas uma vez. A Figura 20 apresenta novamente a micrografia da amostra inicial S₂ e da amostra ressintetizada.

Figura 19 - Imagens de MEV-FEG das amostras de sílica sintetizadas em metanol a temperatura ambiente **(a)** S_1 **(b)** $*S_1$. Os histogramas da contagem de 100 partículas das amostras são apresentados em **(c)** para S_1 e **(d)** para $*S_1$. Em **(e)** sobreposição das curvas médias de diâmetros obtidas para as duas amostras resintetizadas.



Fonte: Autor

Figura 20 - Imagens de MEV-FEG das amostras de sílica sintetizadas em etanol a 60 °C **(a)** S₂ **(b)** *S₂. Os histogramas da contagem de 100 a 200 partículas das amostras são apresentados em **(c)** para S₂ e **(d)** *S₂. Em **(e)** sobreposição das curvas médias de diâmetros obtidas para as duas amostras.



Fonte: Autor

É possível notar nas Figuras 19 e 20 que para a amostra S₁ os diâmetros nas duas sínteses se encontram no limite estatístico de mesmo tamanho com uma tendência de crescimento para a segunda síntese, já para a amostra S₂ as sínteses não foram reproduzíveis a ponto de gerar partículas com diâmetros semelhantes. Nota-se que, dos protocolos utilizados a síntese das nanopartículas em metanol à temperatura ambiente mostrou um melhor controle do tamanho final das nanopartículas, considerando o desvio padrão. Este fato pode ser melhor observado quando é colocado em um mesmo gráfico as curvas de distribuição do tamanho das nanopartículas S₁, Figura 19 (e), mostrando uma região sobreponível que indica a presença de nanopartículas em ambas as amostras sintetizadas com a mesma faixa de diâmetros. Já quando usa-se etanol como solvente à 60°C, houve uma maior dificuldade de obter nanopartículas na mesma faixa de tamanho, indo inicialmente de 80±7 nm para 38±5 nm na segunda síntese, vindo pela Figura 20 (e) a grande discrepância de diâmetros obtidos. A grande diferença de tamanho pode estar relacionada a grande sensibilidade da síntese sol-gel, no qual é influenciada por vários fatores, como a temperatura e até mesmo pelas vidrarias, agitador magnético e barra

magnética utilizados em cada síntese, sendo que apenas a mudança de algum deles seja suficiente para mudar o tamanho final das nanopartículas.

Em geral, as nanopartículas, independente da metodologia adota, apresentaram formato esferoidal/ esférico para todas as amostras, o que é característico do processo sol-gel catalisado por base NH_4OH . A mudança do tipo de álcool por si só já é um fator que influencia fortemente no tamanho final das nanopartículas. Na literatura, é comum encontrar um menor diâmetro e formato esferoidal com a superfície irregular para nanopartículas sintetizadas em metanol⁹², diferente da superfície regular e do maior diâmetro quando é utilizado etanol como solvente. Isso pode ser explicado por conta das propriedades físico-químicas do álcool utilizado como constante dielétrica e massa molar, fatores que influenciam fortemente nas reações de hidrólise e condensação do precursor TEOS. Em metanol, álcool com maior constante dielétrica ($\epsilon = 32,7$), a hidrólise do TEOS é mais acelerada do que em etanol ($\epsilon = 24,3$). Entretanto, neste trabalho além da mudança do metanol para etanol, foi variado o parâmetro da temperatura. Vimos que a amostra S_2 apresentou um diâmetro maior das nanopartículas ocasionado pelo aumento da constante dielétrica, e que este efeito mesmo competindo com a temperatura, gerou partículas maiores que da amostra S_1 . Já para a amostra $*S_2$, as nanopartículas obtidas em etanol ficaram muito próximas do diâmetro encontrado para as partículas em metanol, no qual aparentemente a temperatura teve grande influência já que em geral o aumento da temperatura tem a tendência de diminuir o tamanho das nanopartículas.

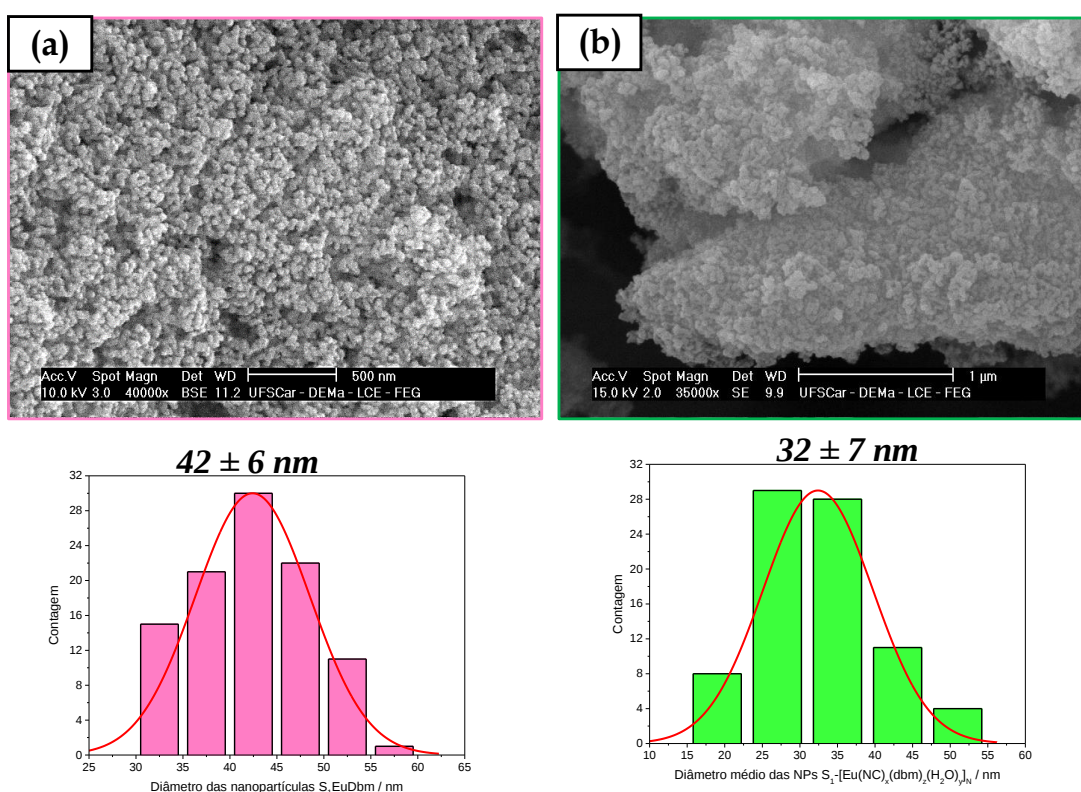
O diâmetro médio foi estimado utilizando o *software* gratuito *ImageJ*⁹³, entretanto pelo baixo contraste de contorno de grão das nanopartículas menores, S_1 , e da amostra $*S_2$, foram contabilizadas apenas 100 nanopartículas para estimativa do diâmetro dessas amostras.

Como as amostras S_1 e $*S_1$ apresentam tamanhos muito próximos, suas propriedades físico-químicas foram consideradas praticamente iguais, tratando desta forma os materiais como um só conjunto, não havendo distinção entre os tamanhos nos resultados posteriores serem apresentados, apenas caso seja necessário ressaltar algum ponto importante para discussão. Para as amostras S_2 e $*S_2$ não foi observado o mesmo comportamento e as caracterizações e discussões serão distintas para ambas amostras. Todas as amostras, em ambos solventes, apresentaram-se com estreita distribuição de tamanhos resultando em desvios padrões pequenos, próximos de 12% do valor do diâmetro médio das nanopartículas.

A manutenção da forma esferoidal e do tamanho é importante para aplicações em meio biológico. Desta forma, a fim de avaliar se os processos de funcionalizações influenciaram na

morfologia do material, foram realizadas medidas de FEG e MEV das amostras finais, onde temos o híbrido luminescente formado através da ancoragem dos complexos de európio na superfície das amostras de sílica iniciais. A Figura 21 apresenta as micrografias dos híbridos luminescentes finais obtidos com o cloreto ou nitrato de európio, como soluções precursoras do metal.

Figura 21 - Micrografias obtidas por FEG referente ao híbrido final obtidos a partir das amostras $*S_1$ e S_1 , respectivamente com precursor de **(a)** cloreto (amostra $*S_1$ -[Eu(dbm)_x]Cl) e **(b)** nitrato (amostra $*S_1$ -[Eu(dbm)_x]NO₃) de európio.

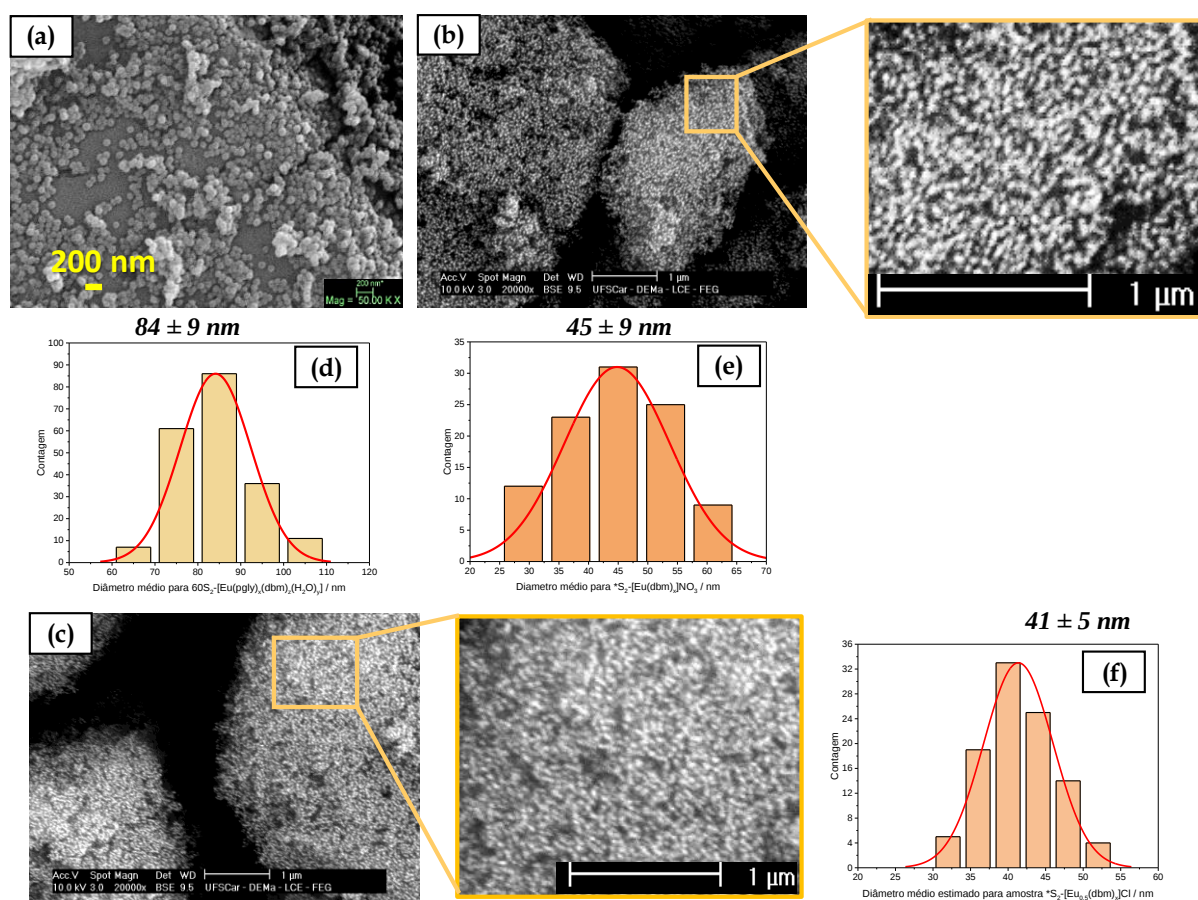


Fonte: Autor

Nota-se na Figura 21 que o diâmetro médio estimado para os híbridos finais das amostras $*S_1$ e S_1 situam-se em 42 ± 6 nm e 32 ± 7 nm, respectivamente, muito próximo do diâmetro de 43 nm referente a uma das amostras $*S_1$ e 32 nm referente à amostra S_1 apresentadas anteriormente. Isto mostra que mesmo após vários processos reacionais, as nanopartículas de sílica não sofreram modificação em seu tamanho e forma., sendo considerados, portanto processos topotáticos.

Na Figura 22, estão apresentadas as microscopias referentes aos híbridos luminescentes finais para a amostra S_2 e $*S_2$, sendo que para a amostra S_2 foi produzido o híbrido apenas com o cloreto de európio, e para amostra $*S_2$ foi produzido com o cloreto e com o nitrato de európio.

Figura 22 - Microscopias referente as amostras de sílica S_2 contendo os complexos de európio ancorados na superfície (a) S_2 -[Eu(dbm)_x]Cl (b) $*S_2$ -[Eu(dbm)_x]NO₃ (c) $*S_2$ -[Eu_{0.5}(dbm)_x]Cl. Os histogramas da contagem de 100 a 200 partículas das amostras são apresentados em (d) para S_2 -[Eu(dbm)_x]Cl (e) $*S_2$ -[Eu(dbm)_x]NO₃ e (f) $*S_2$ -[Eu_{0.5}(dbm)_x]Cl.



Fonte: Autor

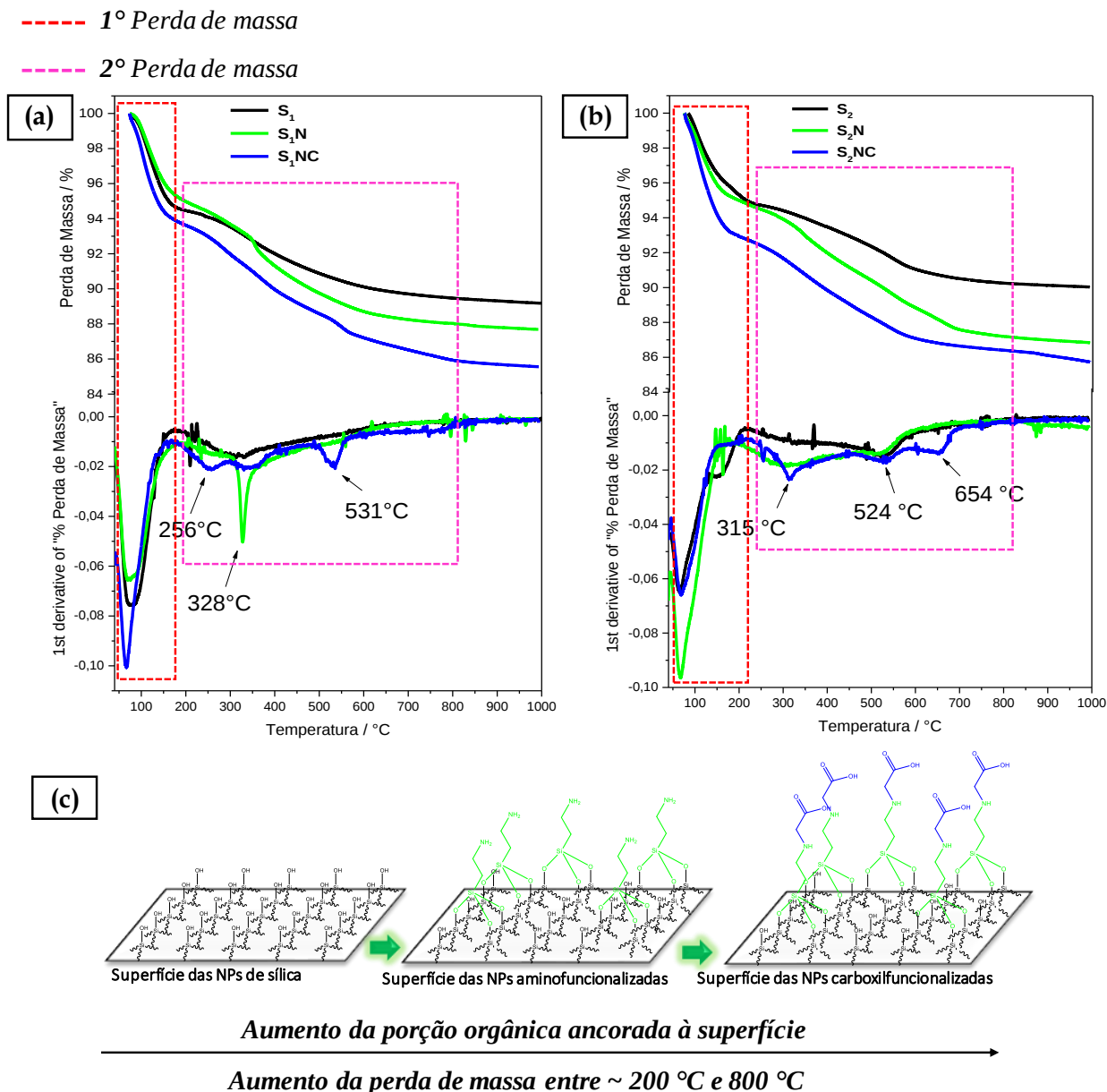
A Figura 22 apresenta a mesma tendência observada para a amostra S_1 , na qual as amostras apresentaram diâmetros médios estimados semelhante as amostras de sílica S_2 e $*S_2$ iniciais. A Figura 21 (a), referente ao híbrido sintetizado com cloreto de európio, apresentou 84 ± 9 nm, diâmetro próximo da amostra de sílica S_2 inicial de 80 ± 7 nm Figura 20 (a). Já a Figura 22 (b) apresentou um diâmetro de 45 ± 9 nm, próximo da amostra de sílica $*S_2$ inicial, com diâmetro médio estimado de 38 ± 5 nm, Figura 19 (b) e a Figura (c) apresentou um diâmetro de 41 ± 5 nm, também próximo da amostra $*S_2$ inicial. Assim, para todas as amostras

Para todas as amostras, foram identificados picos mais intensos atribuídos aos átomos de silício e oxigênio em 1,74 keV($K\alpha_1$) e 0,52 keV ($K\alpha_{1,2}$) respectivamente, referentes à matriz sílica (SiO_2). A presença dos átomos de európio na superfície das amostras foi confirmada através de vários picos de menor intensidade encontrados nas seguintes posições: 1,13 keV, 5,18 keV, 5,84 keV, 6,5 keV, 6,9 keV e 7,5 keV que são atribuídos às transições das camadas $M\alpha_1$, L_I , $L\alpha_1$, $L\beta_1$, $L\beta_{2,15}$, e $L\gamma_1$, respectivamente. A presença desses picos sugere a presença dos complexos na superfície das nanopartículas e que os íons Eu^{3+} não foram lixiviados nos processos de lavagens e centrifugações sucessivas das amostras.

4.2 *Análise Termogravimétrica (TGA)*

O comportamento térmico das amostras de sílica e sílica funcionalizada foi avaliado frente ao aumento de temperatura utilizando a técnica de Análise Termogravimétrica. Desta forma, a Figura 24 apresenta os termogramas das amostras iniciais de sílica pura e das posteriores etapas de funcionalizações, sílica amino e carboxilfuncionalizada. Para ter conhecimento mais detalhado dos eventos térmicos que acontecem durante o processo de aquecimento da amostra, foi analisada a primeira derivada da curva termogravimétrica (DTG) encontrando onde os eventos térmicos se iniciam e terminam.

Figura 24 - (a) TG e DTG da amostra de sílica S_1 e das posteriores amostras aminofuncionalizada S_1N e carboxilfuncionalizada S_1NC (b) TG e DTG da amostra de sílica S_2 e das posteriores amostras aminofuncionalizada S_2N e carboxilfuncionalizada S_2NC . Em (c) são apresentadas ilustrações das superfícies das amostras após cada etapa da funcionalização e a tendência de perda de massa em função da temperatura.



Fonte: Autor

A Tabela 3, apresenta as informações referente às perdas de massas assim como as temperaturas iniciais e finais dos eventos térmicos de cada amostra obtidos através da DTG. Procurou-se limitar a discussão da perda de massa tanto das amostras de sílica pura quanto das amostras funcionalizadas entre dois eventos térmicos, já que para as amostras funcionalizadas

não foi possível separar exatamente a faixa de desidroxilação da porção referente a combustão da matéria orgânica ancorada, pois são processos que acontecem simultaneamente entre 200 e 800 °C.

Tabela 3 - Porcentagens de perda de massa envolvidas nos dois eventos térmicos para as amostras de sílica, sílica aminofuncionalizada e sílica carboxilfuncionalizada.

Amostras	1° Evento Térmico			2° Evento Térmico		
	T° inicial	T° final	Δm / %	T° inicial	T° final	Δm / %
S ₁	~ 37 °C	178 °C	5,60	178°C	800 °C	4,94
S ₁ N	~ 35 °C	188 °C	5,26	188 °C	800 °C	6,85
S ₁ NC	~ 35 °C	168 °C	6,39	168 °C	800 °C	7,71
S ₂	~ 44 °C	219 °C	5,29	219 °C	800 °C	4,47
S ₂ N	~ 35 °C	176 °C	7,18	176 °C	800 °C	6,44
S ₂ NC	~ 35 °C	219 °C	5,54	219 °C	800 °C	7,28

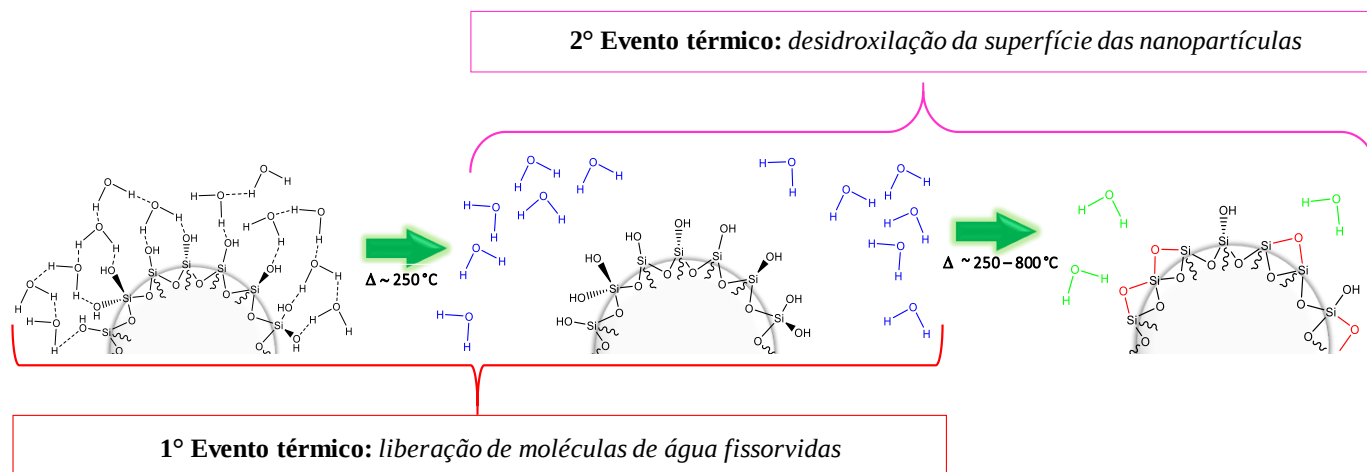
Fonte: Autor

Ao analisar as variações de perda de massa expressas na Tabela 3, pode-se perceber fortes indícios de que as etapas de funcionalizações das nanopartículas de sílica foram de fato realizadas com sucesso já que a cada etapa a perda de massa entre o intervalo de temperatura de 200 a 800 °C aumenta em consequência do aumento da quantidade de matéria orgânica ancorada à superfície das nanopartículas de sílica após cada etapa de funcionalização, como mostrado anteriormente na ilustração da Figura 24 (c).

Avaliando apenas a curva de perda de massa das partículas de sílica pura, S₁ e S₂, podemos observar dois intervalos de perda de massa, que são evidenciados pela DTG. O 1° evento em ambas as amostras acontece da temperatura ambiente até aproximadamente 210 °C e está relacionado principalmente a liberação de moléculas de água fissorvidas na superfície das nanopartículas, interagindo por ligações de hidrogênio com os grupos silanóis superficiais^{35, 94}. Uma representação simples desse processo está apresentada na Figura 25. Após a saída

das moléculas de água fissorvida, dá-se início ao 2º evento térmico associado a desidroxilação dos grupos silanóis da superfície das partículas de sílica ^{35, 94}, também apresentado simplificadaamente na Figura 25.

Figura 25 - Representação ilustrativa dos eventos térmicos que podem acontecer na superfície de nanopartículas de sílica quando submetidas a um tratamento térmico.



Fonte: Autor.

O 2º evento térmico está associado à reação de condensação dos grupos silanóis eliminando moléculas de água, na qual para cada dois grupos silanóis que se condensam, uma molécula de água é formada. Este evento térmico normalmente inicia-se próximo a 200 °C e se estende até 600 °C. No intervalo entre 200 e 400 °C encontra-se a chamada desidroxilação reversível da superfície das partículas de sílica, normalmente associada à condensação de grupos silanóis próximos e após 400 °C a desidroxilação é dada como irreversível. Em ambos os casos, é possível observar na DTG que à 800 °C não se observa variação de massa significativa, indicando que o processo de desidroxilação foi finalizado. Ainda se observa acima de 800°C que existe uma pequena perda de massa que pode estar associada a condensação de grupos silanóis que estão mais distantes.

Ambas amostras de sílica apresentam perdas de massa ao redor de 4 % referente ao processo de desidroxilação e eventual combustão de qualquer resquício de matéria orgânica não hidrolisada do TEOS. A maior porcentagem de massa para as partículas S₁ pode ser justificada pela maior área superficial específica. A maior área superficial (devido ao menor tamanho de

partícula) da amostra S₁ promove a maior concentração de grupos silanóis, ocasionando maior perda de moléculas de água no processo de desidroxilação. A concentração desses grupos silanóis em mmol/g pode ser calculada através da correlação do número de mols de moléculas de água eliminada com o número de mols de grupos silanóis condensados, sendo a proporção de 2 mols de silanóis para eliminar 1 mol de água. A fórmula comumente utilizada na literatura para fazer o cálculo da concentração pode ser representada como:

$$\text{Equação 8} \quad n_{Si-OH} = \frac{2 \cdot [PM(T_0) - PM(T_f)]}{100 \cdot MM_{\text{água}}}$$

Fonte: Retirada da referência [94]

No qual $MM_{\text{água}} = 18,00$ g/mol referente a massa molar da água e $PM(T_0)$ é a porcentagem de massa na temperatura inicial e $PM(T_f)$ é a porcentagem de massa na temperatura final. A Tabela 4 exibe esse cálculo com o valor de Δm , calculado através das perdas de massa inicial e final especificadas também na Tabela 4. Através do cálculo, é encontrado uma concentração de grupos silanóis de 5,49 mmol/g para amostra S₁ e 4,97 mmol/g para amostra S₂.

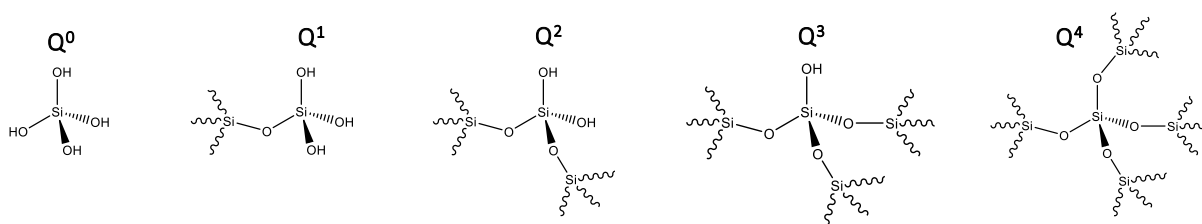
Após o processo de aminofuncionalização a porcentagem de perda de massa aumenta em ambos os casos para valores próximos a 6 % indicando que neste intervalo de temperatura além do processo de desidroxilação houve um aumento de perda de massa ocasionado pela combustão da matéria orgânica do APTES. Analisando os gráficos de DTG para as amostras aminofuncionalizadas é possível observar que após a funcionalização alguns eventos térmicos à temperaturas próximas de 313 °C começam a aparecer, indicando a presença do APTES à superfície das partículas que pode estar ligado ou até adsorvido superficialmente. Na última etapa de funcionalização, a porcentagem de perda de massa em ambos os casos aumenta para valores próximos a 7 %, uma diferença menor de 1% entre uma etapa e outra de funcionalização. Os valores ainda corroboram já que o grupo carboxila formado na última etapa é um grupo pequeno. Por fim, é possível observar nos gráficos de DTG um pequeno evento térmico que acontece por volta de 240°C para a amostra S₁NC que segundo a literatura pode ser referente à eliminação de CO₂ provindo da combustão do ácido carboxílico. Os eventos térmicos que ocorrem a temperatura superiores a 500°C, aparecendo principalmente nas

amostras carboxilfuncionalizadas podem estar relacionados a decomposição térmica de alguma espécie referente a carbonatos adsorvidos na superfície das nanopartículas, que não foram eliminados durante o processo de lavagem e centrifugação.

4.3 Ressonância Magnética Nuclear de Silício-29 (RMN-²⁹Si)

A técnica de RMN é uma das mais utilizadas para se obter informações estruturais de diversos tipos de materiais. Em especial, RMN-²⁹Si é específica para átomos de silício e o espectro é capaz de diferenciar os diversos ambientes químicos ao redor de cada átomo presente no material. Para amostras de silício é comum observar picos em posições específicas referentes às espécies hidrolisadas do precursor TEOS durante o processo sol-gel. Normalmente, os picos atribuídos nos espectros são denominados de Q que representa um átomo de silício ligado a quatro átomos de oxigênio. A letra Q é seguida de um índice no canto superior direito, Q^x (x = 0,1,2,3,4) que indica a quantidade de átomos de oxigênio que estão formando uma ponte siloxano com outro átomo de silício³⁶. Uma representação simples das estruturas dos grupos Q é apresentada na Figura 26.

Figura 26 - Representação genérica das estruturas dos grupos Q atribuídos às espécies de silício encontradas em amostras de sílica.

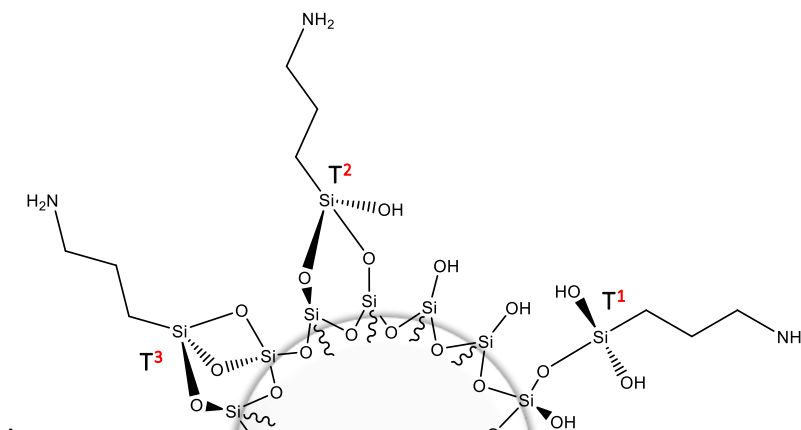


Fonte: Autor.

A presença do organossilano na superfície das partículas pode ser confirmada através do aparecimento de picos referente ao grupo Tⁿ deslocados da região do espectro onde aparecem os grupos Q. O grupo T é atribuído a um átomo de silício ligado a um grupo orgânico R⁹⁵ e a outros 3 átomos de oxigênio que formam uma ligação siloxano. A quantidade de pontes siloxanos é indicada pelo valor de n, sendo n = 1, 2 ou 3. O grupo T³ é referente à ligação do

APTES de modo tridentado à superfície das partículas, o grupo T² ao modo bidentado e T¹ ao modo monodentado. A Figura 27 apresenta uma ilustração das possíveis formas de ligação do APTES à superfície da sílica identificando os grupos T atribuídos aos espectros de RMN-²⁹Si.

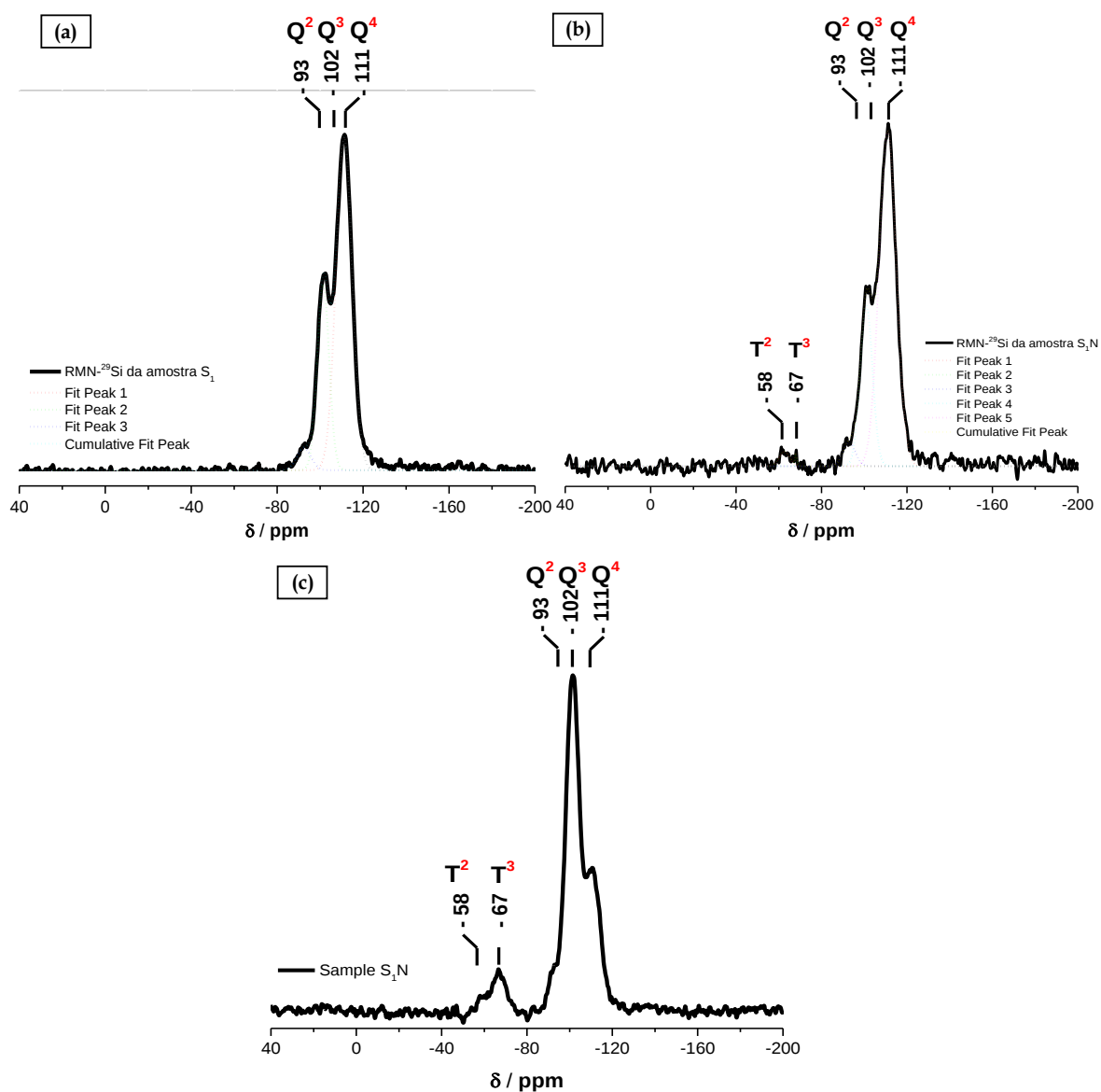
Figura 27 - Representação genérica das estruturas dos grupos T atribuídos às espécies de silício encontradas em amostras de sílica funcionalizada com agente sililante.



Fonte: Autor

As Figuras 28 e 29 apresentam os espectros de RMN-²⁹Si obtidos no estado sólido para as amostras de sílica S₁ e S₂ e para as suas posteriores amostras aminofuncionalizadas, S₁N e S₂N. Para as amostras S₁ e S₁N foram realizados espectros de RMN-²⁹Si quantitativos e para as amostras S₂ e S₂N apenas os qualitativos.

Figura 28 - Espectros de RMN- ^{29}Si quantitativo para a amostra (a) S_1 e (b) S_1N e em (c) espectro de RMN- ^{29}Si CP/MAS qualitativo para a amostra S_1N .



Fonte: Autor.

Através dos espectros de RMN foi possível observar em ambas amostras a presença dos picos Q^4 , Q^3 e Q^2 nas posições -111, -102 e -92 ppm, respectivamente, para a amostra S_1 , Figura 28 (a). O grupo Q^1 raramente é encontrado devido a síntese ser realizada em meio básico (NH_4OH) favorecendo a condensação das espécies iniciais (Q^0 e Q^1) do TEOS hidrolisado³⁶. O espectro quantitativo mostrado na Figura 28 (a) comprova que em meio básico a reação de condensação é privilegiada, justificando o pico mais intenso referente à espécie, Q^4 de maior quantidade e provavelmente se refere aos átomos de silício no *bulk* do material. As intensidades

dos grupos Q^3 e Q^2 são menores e são associadas aos átomos de silício com grupos silanóis e portanto devem estar preferencialmente localizados na superfície da nanopartícula. Após o processo de aminofuncionalização, foi possível identificar o aparecimento de picos referentes aos grupos T^2 e T^3 pouco intensos no espectro quantitativo da amostra S_1N , Figura 28 (b) e os mesmos picos mais intensos no espectro CP/MAS da mesma amostra na Figura 28 (c) que intensifica os sinais T. Isto indica que o APTES nesta amostra está se ligando de forma bi e tridentada predominantemente.

Por se tratar de espectros quantitativos, a integração dos picos nos dá informações da quantidade presente de cada grupo compondo a nanopartícula. A Tabela 4 apresenta a quantidade em porcentagem de cada grupo antes e após o processo de aminofuncionalização obtidos através da deconvolução dos picos dos espectros apresentados na Figura 28 (a) e (b).

Tabela 4 - Composição em porcentagem dos grupos de tetraedros de silício presentes nas nanopartículas de sílica densa S_1 e nas nanopartículas aminofuncionalizadas S_1N .

<i>Amostra de sílica densa S_1</i>		<i>Amostra de sílica aminofuncionalizada S_1N</i>	
Grupo	Quantidade em %	Grupo	Quantidade em %
Q^4	$68,04 \pm 0,25 \%$	Q^4	$70,27 \pm 0,40 \%$
Q^3	$27,99 \pm 0,34 \%$	Q^3	$24,05 \pm 0,63 \%$
Q^2	$3,97 \pm 0,24 \%$	Q^2	$3,55 \pm 0,43 \%$
Q^1	-	Q^1	-
T^3	-	T^3	$0,25 \pm 0,06 \%$
T^2	-	T^2	$1,87 \pm 0,17 \%$
T^1	-	T^1	-

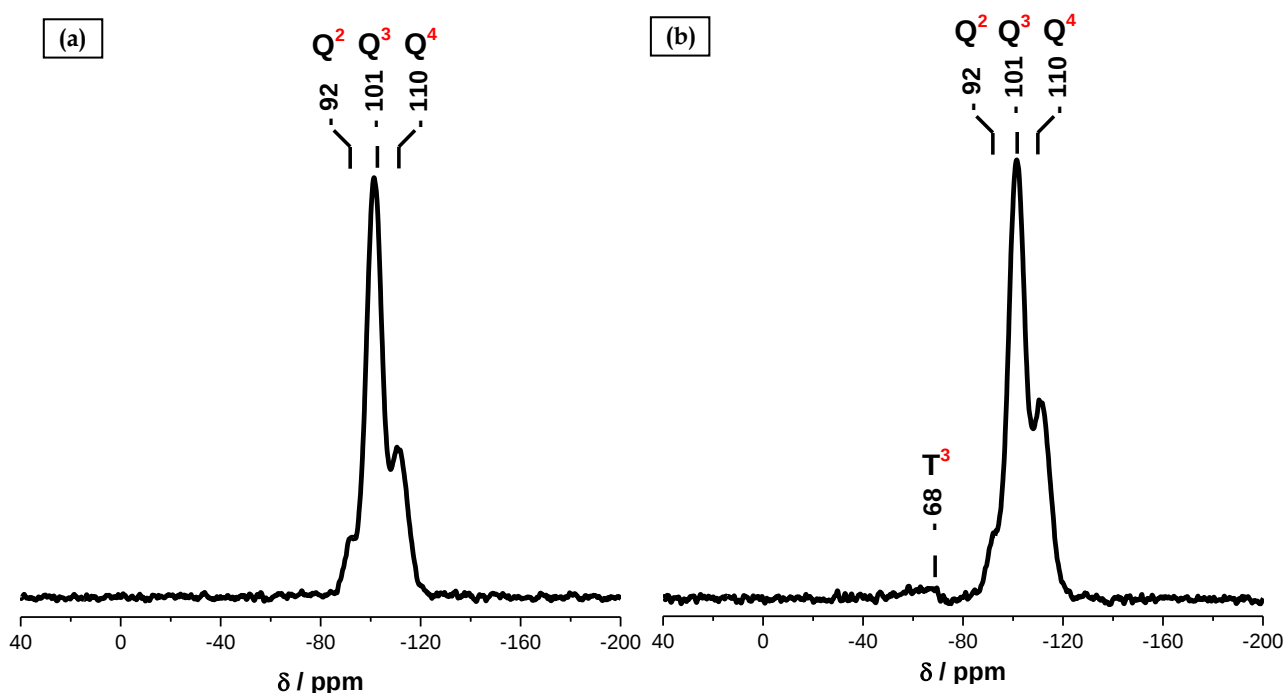
Fonte: Autor.

Analisando os dados da Tabela 4, podemos observar que após a ancoragem do APTES à superfície das nanopartículas há um aumento do percentual de grupos Q^4 , devido as novas ligações siloxanos (Si-O-Si) formadas pela reação de condensação entre os grupos silanóis superficiais e os grupos etoxi (Si-OR) do APTES. Além disso, vemos uma diminuição da porcentagem de grupos Q^3 e Q^2 após o processo de aminofuncionalização, que é explicado pelo consumo dos grupos silanóis para a formação das ligações siloxanos com as moléculas de APTES. Além disso, integrando os picos referente aos grupos T, encontramos uma

porcentagem maior de grupos T^2 , indicando que a maioria das moléculas de APTES estão se ligando de forma bidentada.

A Figura 29 apresenta os espectros de RMN- ^{29}Si qualitativos para as amostras S_2 e S_2N , na qual é possível observar em ambos os espectros a presença dos picos $Q^{2,3,4}$ nas posições de -110, -101 e -92 atribuídos as espécies de TEOS hidrolisadas formadoras da rede estrutural da sílica. Além disso, no espectro da amostra aminofuncionalizada S_2N , Figura 29 (b), nota-se um sinal de baixa intensidade com o máximo em -68 ppm, indicando a presença do APTES ligado à superfície da nanopartícula. O baixo sinal referente ao grupo T impossibilita confirmar o modo predominante de ligação do APTES na superfície das partículas de sílica, indicando também que esta amostra possui uma concentração menor de grupos aminos do que a amostra S_1N que exibe um sinal do grupo T mais intenso.

Figura 29 - Espectros de RMN- ^{29}Si qualitativos para as amostras (a) S_2 e (b) S_2N .

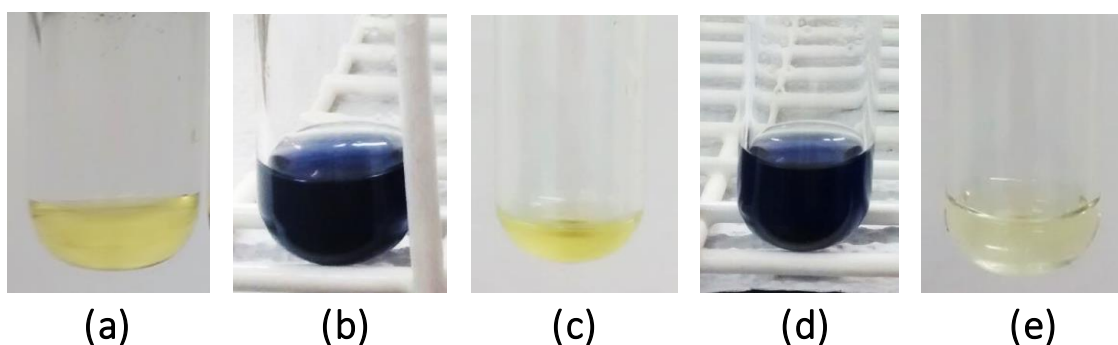


Fonte: Autor

4.4 Quantificação dos grupos aminos e dos grupos carboxilatos por ninhidrina

Após confirmar por RMN-²⁹Si a ancoragem de APTES à superfície das nanopartículas de sílica, é interessante quantificar os grupos aminos. Um dos métodos qualitativos e quantitativos que vem sendo empregados para identificar amins primárias é o teste baseado no reagente ninidrina. Inicialmente, foi realizado um teste qualitativo para comprovar que as amostras estavam aminofuncionalizadas. Para isso adicionou-se uma pequena quantidade da amostra em um tubo de ensaio seguido de algumas gotas da solução de ninidrina. O tubo foi aquecido a 70 °C por 1 hora. O mesmo teste foi feito com as partículas carboxilfuncionalizadas, o resultado dos testes qualitativos está mostrado na Figura 30.

Figura 30 - (a) Solução de ninidrina 5 % (m/v) (b) Ninidrina + amostra S₁N (c) Ninidrina + amostra S₁NC (d) Ninidrina + amostra S₂N (e) Ninidrina + amostra S₂NC.



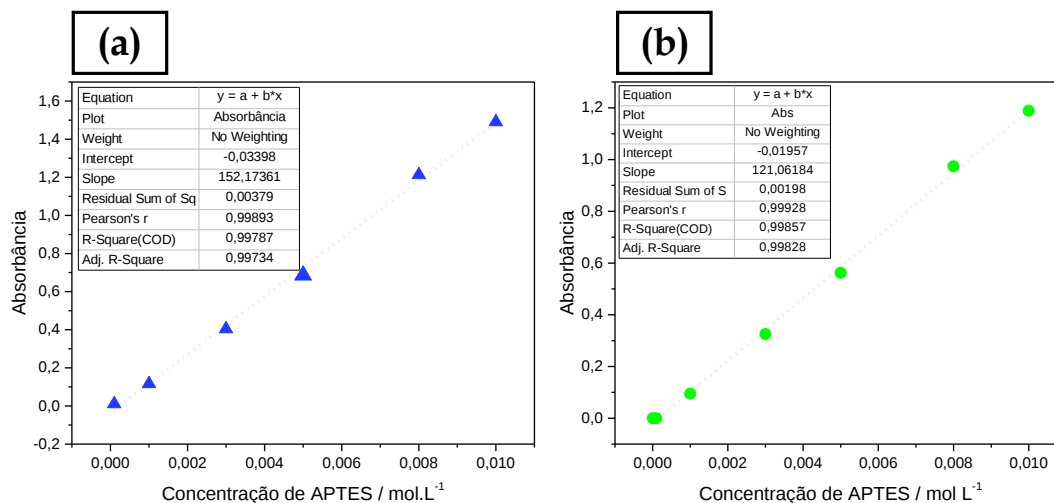
Fonte: Autor

A partir do teste inicial foi possível perceber a forte coloração azul-violeta para as amostras aminofuncionalizadas, indicando a presença de grupos aminos livres na superfície das nanopartículas. Após as partículas serem carboxilfuncionalizadas, o teste de ninidrina quase não acusou a presença de grupos aminos já que as soluções permaneceram com a coloração amarelada. Entretanto, através do teste realizado com as nanopartículas carboxilfuncionalizadas foi possível perceber uma leve mudança na tonalidade da cor amarelo, além de que a amostra no fundo do tubo de ensaio apresentava uma coloração mais roxa, indicando que havia a

presença de grupos aminos residuais, porém em baixa concentração não ocasionando mudanças visuais significativas.

Sabendo disso, a curva de calibração foi montada para encontrar a concentração de grupos aminos em todas as amostras, e conseqüentemente encontrar a concentração dos grupos carboxilas indiretamente através da diferença de grupos aminos entre as duas etapas reacionais. Através dos valores das absorbâncias das soluções padrões de APTES medidas no $\lambda_{\text{max}} = 578 \text{ nm}$, Figura 15 (b), foi montada a curva de calibração apresentada na Figura 31.

Figura 31 - Curva analítica construída com os valores das absorções em $\lambda_{\text{máx}} = 578 \text{ nm}$ das soluções padrões de APTES **(a)** para as amostras S_1N , S_2N , S_1NC e S_2NC e **(b)** para as amostras $*S_1N$, $*S_2N$, $*S_1NC$ e $*S_2NC$.



Fonte: Autor.

As curvas analíticas apresentaram bons ajustes lineares e através do ajuste linear foi obtida as equações da reta que se adequa aos pontos. Utilizando as equações da reta foi possível estimar os valores da concentração de grupos aminos em todas as amostras (e indiretamente os grupos carboxilatos) a partir dos resultados de absorbância. A Tabela 5 apresenta os resultados dos cálculos de concentração dos grupos aminos e dos grupos carboxilas para todas as amostras.

Tabela 5 - Resultados experimentais da quantificação dos grupos aminos e carboxilas por ninidrina.

Amostra	$C_{\text{NH}_2} /$ mmol.g^{-1}	$C_{\text{COOH}} /$ mmol.g^{-1}	% conversão de grupos NH_2 à COOH	Amostra	$C_{\text{NH}_2} /$ mmol.g^{-1}	$C_{\text{COOH}} /$ mmol.g^{-1}	% conversão de grupos NH_2 à COOH
S ₁ N	7,6	-	-	*S ₁ N	10,6	-	-
S ₁ NC	0,6	7,0	92,7	*S ₁ NC	1,4	9,2	87,1
S ₂ N	3,7	-	-	*S ₂ N	11,7	-	-
S ₂ NC	0,5	3,2	86,3	*S ₂ NC	0,9	10,8	92,6

Fonte: *Autor*

Vale ressaltar aqui que os valores de absorbância obtidos para as amostras carboxilfuncionalizadas são baixos e estão fora dos pontos utilizados para a construção da curva analítica. Portanto, mesmo possuindo uma pequena quantidade de grupos aminos residuais (NH_3^+) uma aproximação proposta para as posteriores etapas de síntese foi considerar a conversão de grupos aminos à grupos carboxilas de 100 %. Além disso, foi observado que após as amostras serem ressintetizadas a concentrações de grupos aminos foi maior do que as iniciais, e quando comparado a concentração das amostras S₂N e *S₂N, nota-se uma inversão, passando a concentração da amostra *S₂N ser maior do que a amostra *S₁N. Provavelmente, isto pode ser reflexo do diâmetro menor das nanopartículas *S₂ que foram ressintetizadas (38 nm) que por ter uma área superficial maior, pode ter acomodado uma quantidade maior de moléculas de APTES.

4.5 Medidas de Potencial Zeta

A carga superficial dos materiais foi investigada por medidas de potencial zeta (ponto de carga zero). Já que a carga das nanopartículas é extremamente importante e um requisito necessário a ser avaliado para aplicação desses materiais em meio biológico. Medidas de potencial zeta são interessantes quando se trabalha com nanopartículas por dar informações sobre a carga superficial e da estabilidade coloidal da suspensão. Altos valores de potencial

zeta, tanto negativo quanto positivo, indicam que o material pode formar suspensões estáveis através da repulsão de cargas entre as partículas. Em meio biológico isso é importante, pois evita que as partículas se agreguem formando conglomerados o que pode dificultar o processo de internalização⁹⁶.

Além disso, a cada etapa de funcionalização os grupos químicos da superfície das nanopartículas de sílica são alterados refletindo em valores diferentes de potenciais zeta, sendo este um forte indicativo que o processo de funcionalização de fato ocorreu. Desta forma, a Tabela 6 apresenta a evolução da carga superficial das nanopartículas referente às etapas de modificação de superfície até as amostras finais após a adição de dbm na esfera de coordenação do íon Eu^{3+} . Todas as medidas foram realizadas através da suspensão das nanopartículas em tampão fosfato 0,01 mol/L, de pH = 7,64, próximo a faixa do pH fisiológico de 7,35 – 7,45.

Tabela 6 - Apresentação dos valores de potencial zeta para as amostras durante as etapas de síntese para obtenção dos híbridos luminescentes finais com dbm na esfera de coordenação dos íons Eu^{3+}

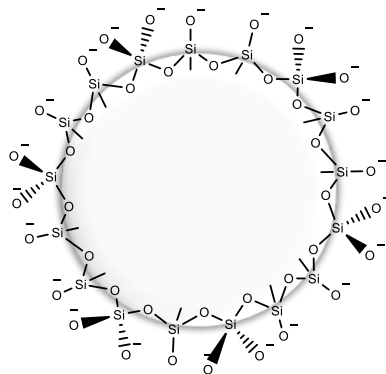
<i>Amostra</i>	<i>PZ* ± SD[#] / mV</i>	<i>Amostra</i>	<i>PZ* ± SD[#] / mV</i>
S ₁	- 45,2 ± 6,52	S ₂	- 49,5 ± 5,3
S ₁ N	+ 14,8 ± 1,7	S ₂ N	+ 10,3 ± 0,7
S ₁ NC	- 12,3 ± 0,5	S ₂ NC	- 9,6 ± 0,2
S ₁ -[Eu]NO ₃	- 25,5 ± 0,7	*S ₂ -[Eu]NO ₃	- 33,4 ± 3,6
S ₁ -[Eu(dbm) _x]NO ₃	- 27,8 ± 1,2	*S ₂ -[Eu(dbm) _x]NO ₃	- 38,1 ± 9,4
*S ₁ -[Eu]Cl	- 22,1 ± 3,9	S ₂ -[Eu]Cl	- 26,2 ± 0,9
*S ₁ -[Eu(dbm) _x]Cl	- 41,1 ± 6,1	S ₂ -[Eu(dbm) _x]Cl	- 31,1 ± 2,0
-	-	*S ₂ -[Eu _{0.5}]Cl	-24,3 ± 0,8
-	-	*S ₂ -[Eu _{0.5} (dbm) _x]Cl	- 25,2 ± 0,8

*PZ = Potencial Zeta [#]SD = Desvio Padrão

Fonte: Autor

Para as nanopartículas de sílica, S₁ e S₂, foi observado altos valores negativos de potencial zeta em pH 7,64. Esses valores indicam a formação de uma suspensão estável das partículas de sílica em solução aquosa. A carga em ambos os casos pode ser explicada devido a presença dos grupos silanóis superficiais ($\equiv\text{Si-OH}$), que em pH 7,64 apresentam-se na forma desprotonada ($\equiv\text{Si-O}^-$), como ilustrado na Figura 32.

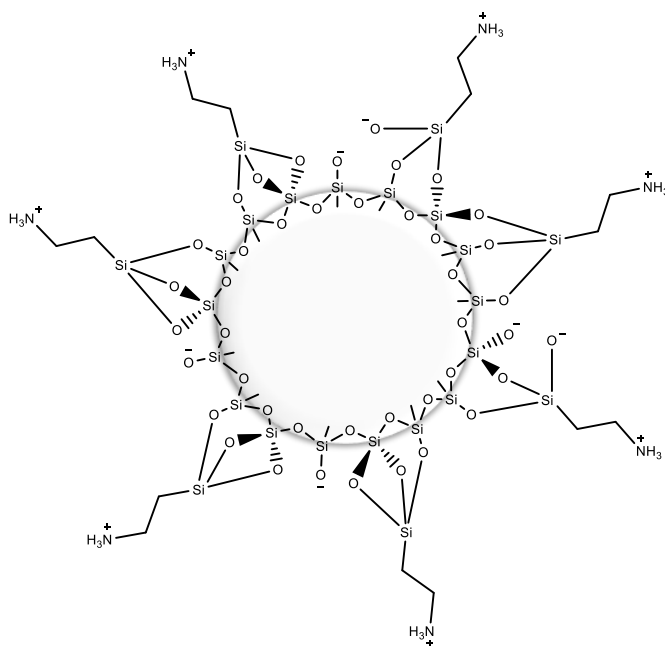
Figura 32 - Ilustração de uma nanopartícula de sílica densa com os grupos silanóis desprotonados em pH 7,64.



Fonte: Autor

Nas amostras aminofuncionalizadas, o grupo -NH_2 pode ser protonado ou desprotonado dependendo do pH do meio. Em pH 7,64 os grupos aminos (-NH_2) apresentam-se protonados na forma de (-NH_3^+) conferindo à superfície das partículas carga positiva, Figura 33. Como pode-se observar na Tabela 6, os valores positivos não são altos indicando que após a funcionalização ainda pode ser encontrado uma contribuição dos grupos silanóis desprotonados que não se condensaram com a molécula de APTES. Percebe-se este efeito para amostra S₂N que mesmo apresentando um valor positivo é menor do que a amostra S₁N, indicando a maior quantidade de grupos silanóis residuais desprotonados. Entretanto, a mudança de carga do negativo para o positivo em ambos os casos também é um forte indicativo de que o processo de aminofuncionalização foi efetivo e a superfície está aminofuncionalizada e os valores dos potenciais estão de acordo com os valores das concentrações de grupos aminos obtidos por ninidrina, na qual a amostra S₁N que apresentou a maior concentração de grupos aminos também apresentou o potencial zeta mais positivo.

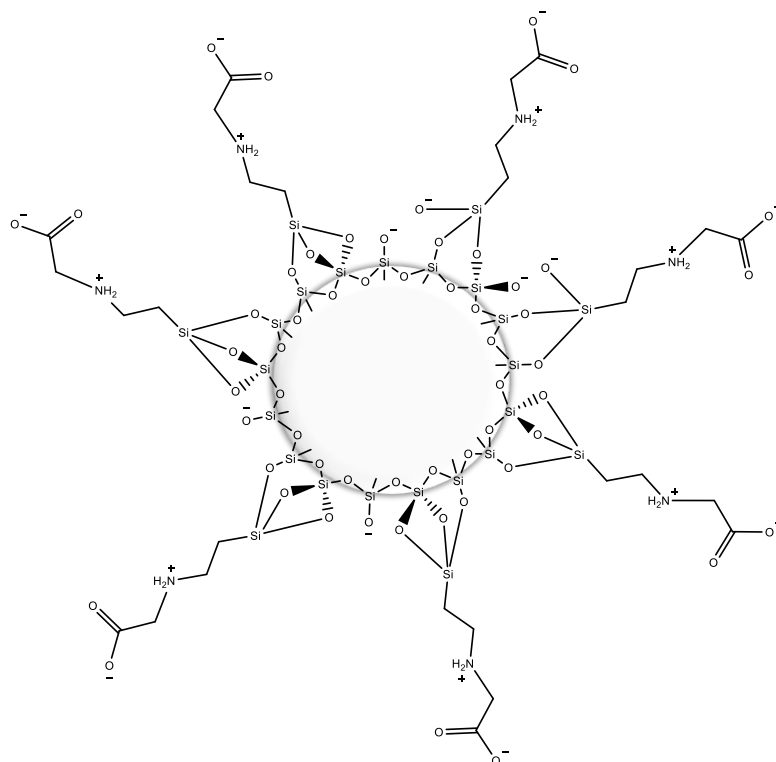
Figura 33 - Ilustração de uma nanopartícula de sílica aminofuncionalizada com APTES com os grupos aminos protonados em pH 7,64 gerando a carga resultante positiva.



Fonte: Autor

As amostras carboxilfuncionalizadas apresentaram quase todos os grupos aminos da etapa anterior convertidos em grupos carboxilas (COOH) que em pH 7,64 apresentam-se na forma desprotonada (COO⁻), o que explica os valores de potenciais zeta negativos apresentados na Tabela 6 para ambas amostras. Entretanto, também é necessário considerar que neste pH o ligante aminomonocarboxilato formado na superfície da partícula possui a estrutura na forma *zwitterion* semelhante à de um aminoácido contendo uma amina secundária que também é susceptível à protonação, apresentando uma carga positiva, como mostrado na Figura 34, sendo valido ressaltar que para o valor de potencial zeta sempre é uma somatória das cargas positivas e negativas referentes aos grupos presente na superfície das partículas e portanto nestas amostras a carga negativa esta prevalecendo. Outra explicação para pequena carga negativa é a equivalência total entre as cargas positivas dos grupos aminos com as cargas negativas dos grupos carboxilatos sobrando a carga negativa associada aos grupos silanóis desprotonado residuais, também representado na Figura 34.

Figura 34 - Ilustração de uma nanopartícula de sílica carboxilfuncionalizada apresentando os grupos carboxilatos e hidroxilas que podem contribuir para carga negativa e as amins secundárias contribuindo para carga positiva em pH 7,64.

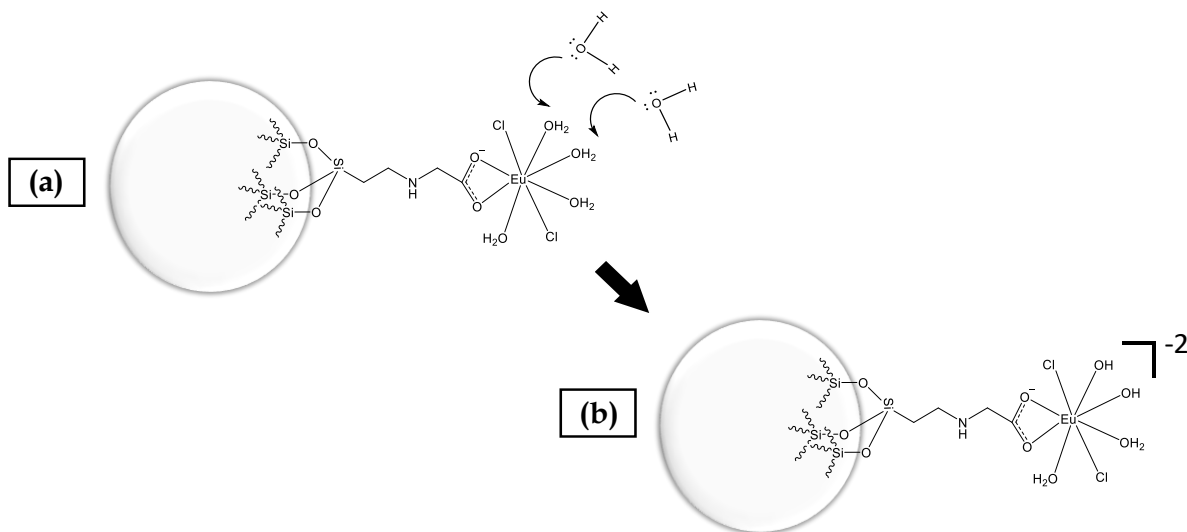


Fonte: Autor

Nota-se em todas as amostras que após a coordenação do íon Eu^{3+} através dos grupos carboxilatos que a superfície fica mais negativa do que quando estavam apenas carboxilfuncionalizadas. A carga negativa dos híbridos finais pode ser explicada pela presença de moléculas de água na esfera de coordenação do íon lantanídeo (Ln^{3+}) formando os conhecidos aquaácidos. Quando íons Eu^{3+} encontram-se em meio aquoso, moléculas de água ocupam a primeira esfera de coordenação do íon. A forte interação entre moléculas de água e o íon Eu^{3+} (íons pequenos com carga alta) e em sistemas aquosos pode promover a formação de aquaácidos, em que uma molécula de água coordenada perde um próton para o meio aquoso deixando uma hidroxila com carga -1 coordenada ao íon metálico acarretando uma diminuição na carga do complexo. A Figura 35 apresenta em (a) uma estrutura hipotética do complexo formado baseada nos dados de fotoluminescência em que mostra o íon Eu^{3+} coordenado ao grupo carboxilato, á moléculas de água e a eventuais ânions cloretos resultando em um

complexo com carga 0 (zero) e em (b) a formação de uma carga negativa devido o aquaácido formado em meio aquoso.

Figura 35 - Representação simples de um aquaácido com carga inicialmente 0 passando a carga -2 em sistema aquoso.

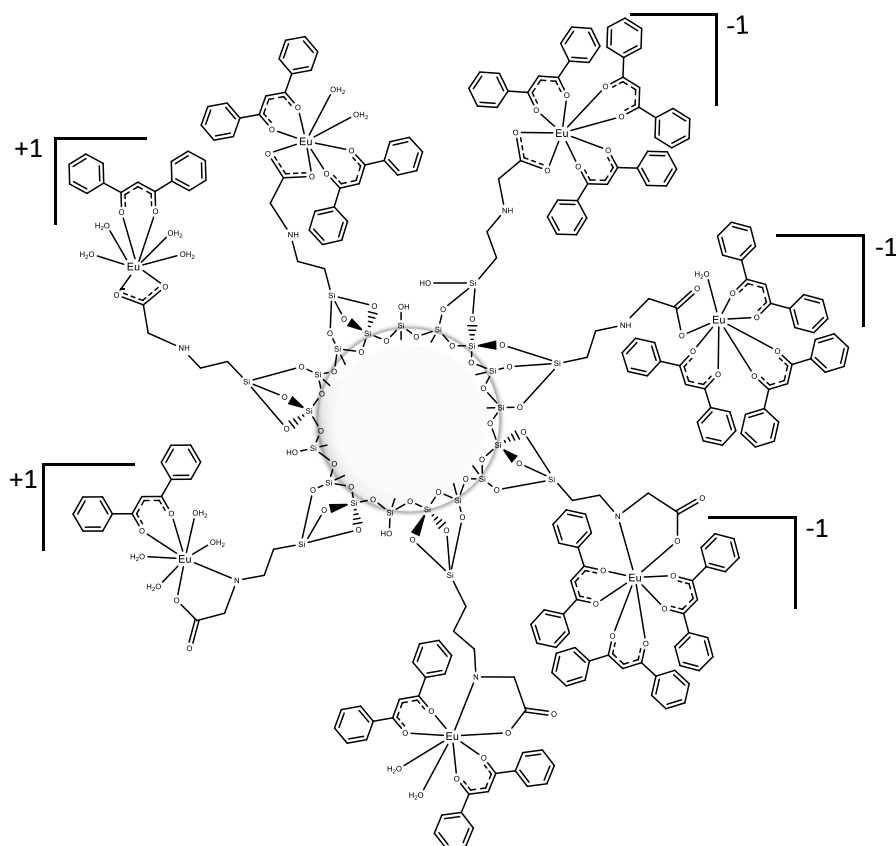


Fonte: *Autor*

Por fim, após a adição do ligante dbm na esfera de coordenação dos íons Eu³⁺, pôde-se perceber um aumento da carga negativa superficial. Um dos possíveis motivos é a formação dos complexos na superfície das nanopartículas que podem adotar diferentes estequiometrias entre os ligantes resultando em complexos com diferentes cargas, como ilustrado na Figura 36. Por exemplo, a coordenação de um íon Eu³⁺ por um grupo carboxilato (carga -1) resulta na formação de complexos com carga +2. Cada ligante dbm desprotonado que se coordena ao Eu³⁺ também possui carga -1. Desta forma, considerando que os grupos carboxilatos estão se ligando de forma bidentada é possível que se coordene ao íon Eu³⁺ até 3 moléculas de dbm respeitando o número de coordenação mais comum igual a 8⁸². Ao se coordenar 1 dbm forma-se complexos com carga +1, ao se coordenar 2 dbm forma-se complexos com carga zero. Na síntese para obtenção do híbrido final utilizamos uma estequiometria de 1 Eu³⁺ para 3,5 Hdbm forçando a formação de um *tris* dbm que possuiria carga -1. Os valores negativos de potenciais zeta poderiam inferir a formação de complexos *tris*, resultando na carga negativa observada. Entretanto, através dos dados de fotoluminescência (ítem 4.7.2), foi visto que de todas as estruturas possíveis indicadas na Figura 36, a mais prováveis apresenta a coordenação de duas

moléculas de dbm, gerando um complexo com carga 0. Novamente, a carga negativa em sistema aquoso poderia ser explicada pela formação dos aquácidos como justificado na etapa anterior.

Figura 36 - Possíveis cargas formadas na superfície de uma partícula de acordo com a estequiometria do complexo formado entre o íon Eu^{3+} , o ligante carboxilato e o dbm.



Fonte: Autor.

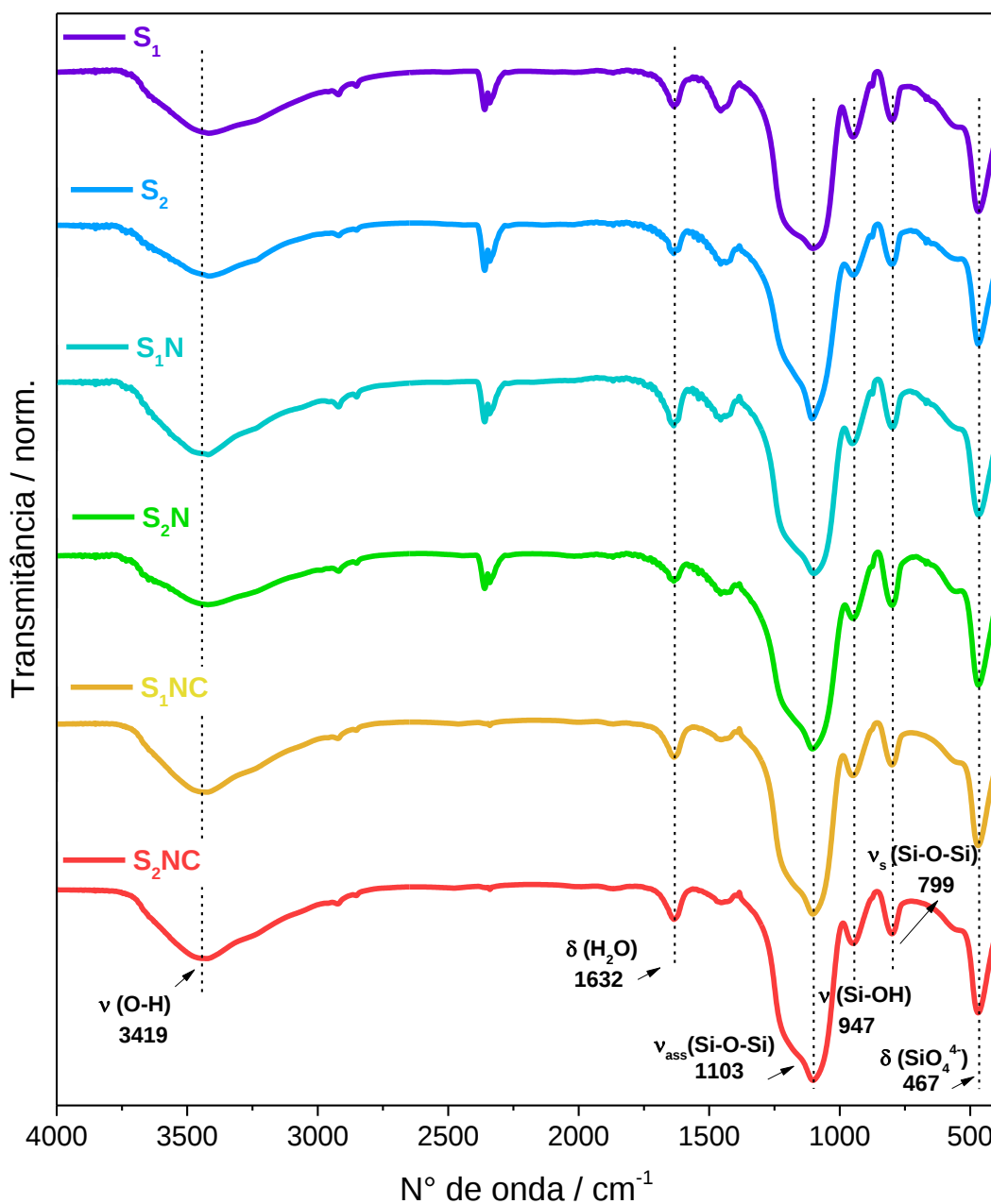
4.6 Espectroscopia de Absorção Vibracional na Região do Infravermelho e Espalhamento Raman amplificado por superfície (SERS)

Todas as amostras foram caracterizadas por Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho a fim de identificar os modos vibracionais característicos de certos grupos químicos presentes na estrutura das nanopartículas de sílica pura e das nanopartículas funcionalizadas. Vale ressaltar que a superfície das nanopartículas de sílica é um ambiente

complexo e a presença de grupos químicos em baixa concentração dificulta a identificação e atribuição dos modos vibracionais. Além disso, vários desses modos são encobertos devido às bandas intensas e largas referente à matriz sílica.

A Figura 37 apresenta os espectros de infravermelho das amostras iniciais de sílica S₁ e S₂ assim como das posteriores etapas de amino e carboxilfuncionalização. Nota-se na Figura 37 que o perfil espectral encontrado para amostras antes e após os processos de funcionalizações não mudou. Todos os espectros apresentam os modos vibracionais fundamentais referente à sílica na região de 1103 cm⁻¹, 947 cm⁻¹, 799 cm⁻¹ e 467 cm⁻¹ atribuídas na ordem à estiramentos assimétricos da ligação Si-O-Si, $\nu_{\text{ass}}(\text{Si-O-Si})$; a estiramentos referente a grupos silanóis $\nu(\text{Si-O-H})$; estiramentos simétricos da ligação Si-O-Si, $\nu_{\text{s}}(\text{Si-O-Si})$; e a banda em 467 cm⁻¹ referente a deformação da ligação $\delta_{\text{s}}(\text{Si-O-Si})$ de uma rede densa de sílica formada por tetraedros de SiO₄⁴⁻⁷. Também é possível observar uma banda larga e intensa na região de 3419 cm⁻¹ atribuídos a estiramentos O-H, $\nu(\text{O-H})$, dos grupos silanóis superficiais ou de moléculas de água adsorvidas na superfície das nanopartículas⁷. A presença de água é confirmada pela banda em 1635 cm⁻¹ atribuído a deformação de moléculas de água $\delta(\text{H}_2\text{O})$ ⁹⁷. Em 1456 cm⁻¹ é observado uma banda que pode estar associada a presença de carbonato formado na superfície das nanopartículas a partir da adsorção de CO₂ atmosférico, ou também pode estar associado à presença de grupos CH₂ indicando a hidrólise incompleta do TEOS já que também é observado em 2920 e 2851 cm⁻¹ estiramentos assimétricos e simétricos, respectivamente, do grupo CH(CH₂)^{97, 98}.

Figura 37 - Espectros no infravermelho para todas as amostras de sílica densa, sílica aminofuncionalizada e sílica carboxilfuncionalizada.



Fonte: Autor

É possível notar pela Figura 37, que a técnica de FTIR não foi conclusiva a respeito dos processos de funcionalizações da superfície, não sendo possível identificar modos vibracionais característicos de amins primárias ($-\text{NH}_2$) e de ácidos carboxílicos ($-\text{COOH}$). Isto ocorre devido à baixa concentração desses grupos na superfície das nanopartículas e baixa intensidade de seus modos vibracionais o que dificulta sua visualização nos espectros no infravermelho

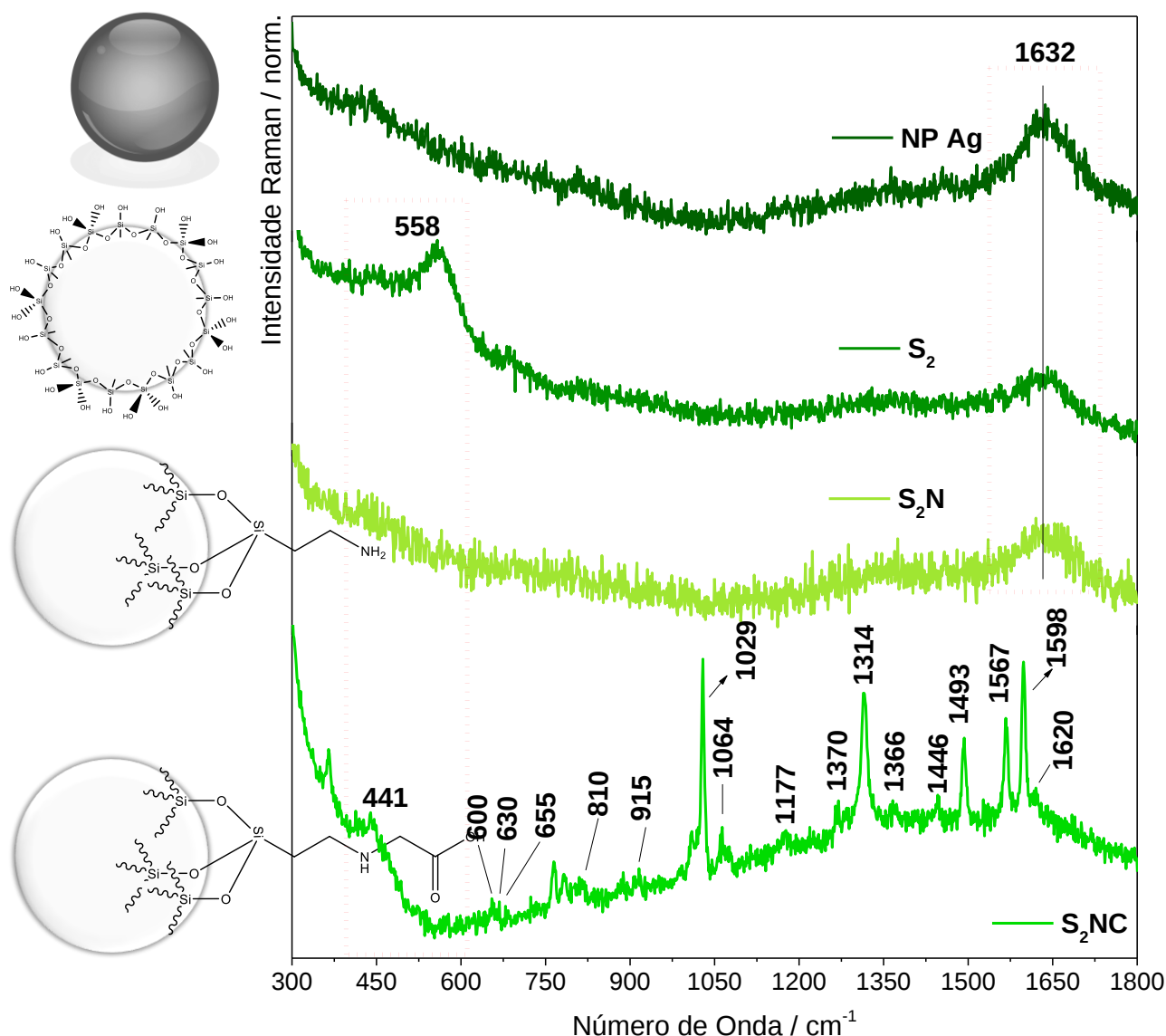
devido às bandas mais intensa da sílica. Desta forma, provamos anteriormente pela técnica de RMN-²⁹Si que a superfície das nanopartículas esta aminofuncionalizada devido ao aparecimento dos picos referentes aos grupos T.

Uma alternativa para tentar caracterizar os modos vibracionais dos grupos carboxilatos foi utilizar a técnica de Raman amplificado em superfície SERS (*surface-enhanced Raman scattering*). Este teste foi realizado até o momento com apenas uma sequência de etapas de modificação referente as amostras S₂, S₂N e S₂NC, já que por FTIR não foi possível observar nenhum modo vibracional referente aos grupos aminos e carboxilatos. SERS foi escolhido, pois utiliza os princípios da técnica de espelhamento Raman para amplificar o sinal de alguns grupos químicos que conseguem interagir fortemente com a superfície das nanopartículas de prata (NPs-Ag), gerando espectros mais resolvidos⁹⁹.

Este mecanismo pode ser explicado simplificadaamente da seguinte forma: ao irradiar as NPs-Ag com um laser monocromático ocorre a formação dos *plasmons* superficiais do colóide, devido o campo elétrico do laser incidente, E_L . Este efeito *plasmon* intensifica o campo elétrico circundante das NPs-Ag, E_P , pois soma-se a contribuição do campo elétrico do laser E_L com o do colóide, E_P , gerando um campo elétrico local, E_{Local} ($E_{Local} = E_L + E_P$). Este campo elétrico local amplificado é “sentido” pelas moléculas que estão nas vizinhanças do coloide de Ag interagindo com sua superfície. O próprio laser Raman já induz uma polarizabilidade das moléculas, necessária para absorver a radiação incidente. Ao entrar em contato com o coloide, o efeito da polarizabilidade nas moléculas é intensificado, devido ao campo elétrico local, E_{Local} , induzindo uma mudança no momento de dipolo da molécula capaz de absorver a radiação quando a frequência incidente oscilar de forma construtiva¹⁰⁰.

A Figura 38 apresenta os espectros de Raman/SERS para as amostras S₂, S₂N e S₂NC além do espectro apenas das nanopartículas de prata. O intervalo analisado foi entre 300 e 1800 cm⁻¹, na qual compreende os modos vibracionais importantes referente aos grupos presentes na superfície das nanopartículas.

Figura 38 - Espectro SERS referente as amostras S_2 , S_2N e S_2NC em contato com a suspensão coloidal de nanopartículas de prata.



Fonte: Autor

Como observado nos espectros da Figura 38, a metodologia adotada para o teste de SERS utilizando o coloide e as nanopartículas de sílica e sílica funcionalizada teve grandes efeitos principalmente para as nanopartículas carboxilfuncionalizadas. Aparentemente, nota-se nos espectros da Figura 38 que as nanopartículas de sílica e sílica aminofuncionalizada não tiveram interações fortes o suficiente com o coloide para ter os modos vibracionais amplificados. Apenas, é possível observar uma banda larga na região de 1632 cm^{-1} atribuída a prata e no espectro da amostra S_2 uma banda larga em 558 cm^{-1} que pode ser atribuída a estiramento Si-O, $\nu(\text{Si-O})$ ⁹⁷. Para a amostra S_2N , não houve mudança espectral quando

comparado ao espectro apenas das NPs-Ag e S₂. Isto pode ser reflexo de duas situações: 1) Após a modificação de superfície da sílica com o APTES, os grupos aminos não tiveram afinidade pelo coloide de prata uma vez que a carga superficial positiva pode ter repellido as nanopartículas de prata, e assim, pela baixa interação não foi possível detectar/amplificar bandas referente a estes grupos nem a sílica ou 2) a concentração de nanopartículas no meio não foi alta o suficiente para forçar a interação dos grupos aminos com o coloide metálico.

Entretanto, quando observamos o espectro das nanopartículas carboxilfuncionalizadas, S₂NC, há o aparecimento de várias bandas, indicando que houve uma grande afinidade entre o grupo carboxilato e as NPs-Ag, causando a amplificação dos sinais. Esta amplificação não limita-se apenas aos grupos carboxilatos, pois a partir do momento que há uma forte interação, a amplificação se propaga pela molécula inteira, então outros grupos funcionais também puderam ser detectados. Dentre os modos vibracionais observados, os principais podem ser atribuídos aos estiramentos assimétricos do grupo COO⁻ em 1620 e 1598 cm⁻¹ característicos de α -aminocarboxilatos^{97, 101}, ao estiramento simétrico COO⁻ em 1366 cm⁻¹⁹⁷, as bandas em 1567 e 1493 cm⁻¹ referentes a deformações no plano de amins secundárias δ (N-H) NH_{2(sec)} e em 1446 cm⁻¹ que pode estar associado a deformações N-H, δ (N-H) com contribuição de deformações C-N, δ (C-N), e deformação C-H, δ (C-H) CH₂⁹⁷. Outros, modos vibracionais estão atribuídos na Tabela 7.

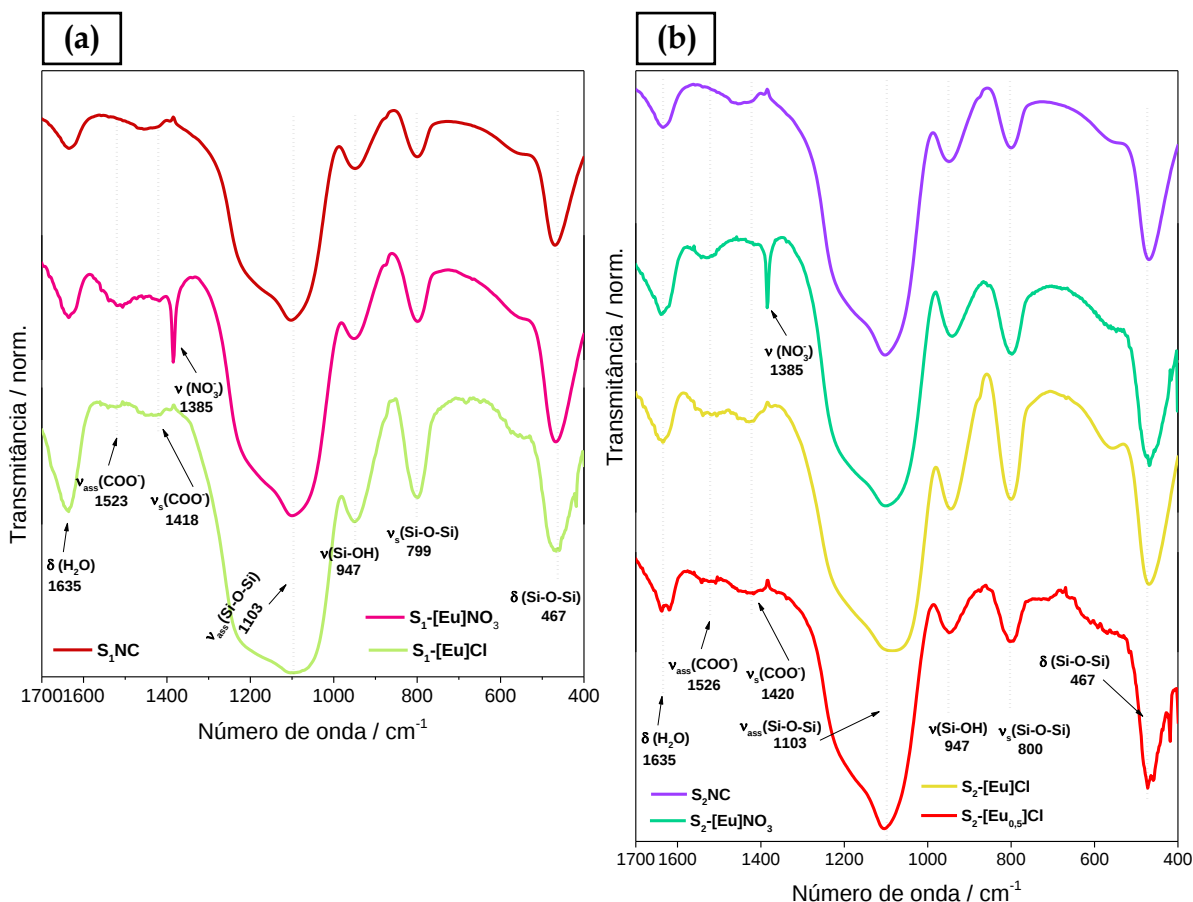
Tabela 7 - Atribuições vibracionais das bandas referente ao espectro SERS das nanopartículas carboxilfuncionalizadas, S₂NC.

S ₂ NC – Numero de onda / cm ⁻¹	Atribuições vibracionais SERS
1620	Estiramentos assimétricos referentes a $\nu_{\text{ass}}(\text{COO}^-)$ e de α -amino-carboxilatos
1598	
1567	Deformações no plano de aminas secundárias $\delta(\text{N-H})$ aminas secundárias ($\text{R}_2\text{N-H}$)
1493	
1446	Contribuições de deformações $\delta(\text{N-H})$, $\delta(\text{CH}_2)$ e $\delta(\text{C-N})$
1366	Estiramento simétrico COO^- , $\nu_s(\text{COO}^-)$
1314	Deformação O-H de COOH , $\delta(\text{O-H})_{\text{COOH}}$
1270	
1177	Estiramento C-O, $\nu(\text{C-O})$
1064	
1029	Estiramento Si-O, $\nu(\text{Si-O})$
1008	
915	Deformação fora do plano $\text{OH} \cdots \text{O}$, $\delta(\text{OH} \cdots \text{O})$
810	Estiramento Si-C, $\nu(\text{Si-C})$
655	
630	3 bandas relacionadas a deformação no plano de $\delta_{\text{plano}}(\text{O-C-O})$
600	
441	Estiramento Si-O-Si, $\nu(\text{Si-O-Si})$

Fonte: 97 e 101

A Figura 39 apresenta os espectros de absorção na região do infravermelho das amostras de sílica carboxilfuncionalizadas e das amostras após a coordenação dos íons Eu^{3+} ampliados na região de interesse entre 1700 a 400 cm⁻¹. Na Figura 39 (a) encontram-se os espectros referente as amostras S₁ e na Figura 39 (b) referentes as amostras S₂.

Figura 39 - Espectros no infravermelho das amostras de sílica carboxilfuncionalizadas (a) S₁NC e (b) S₂NC juntamente com as posteriores amostras obtidas ao adicionar-se o cloreto ou nitrato de európio.



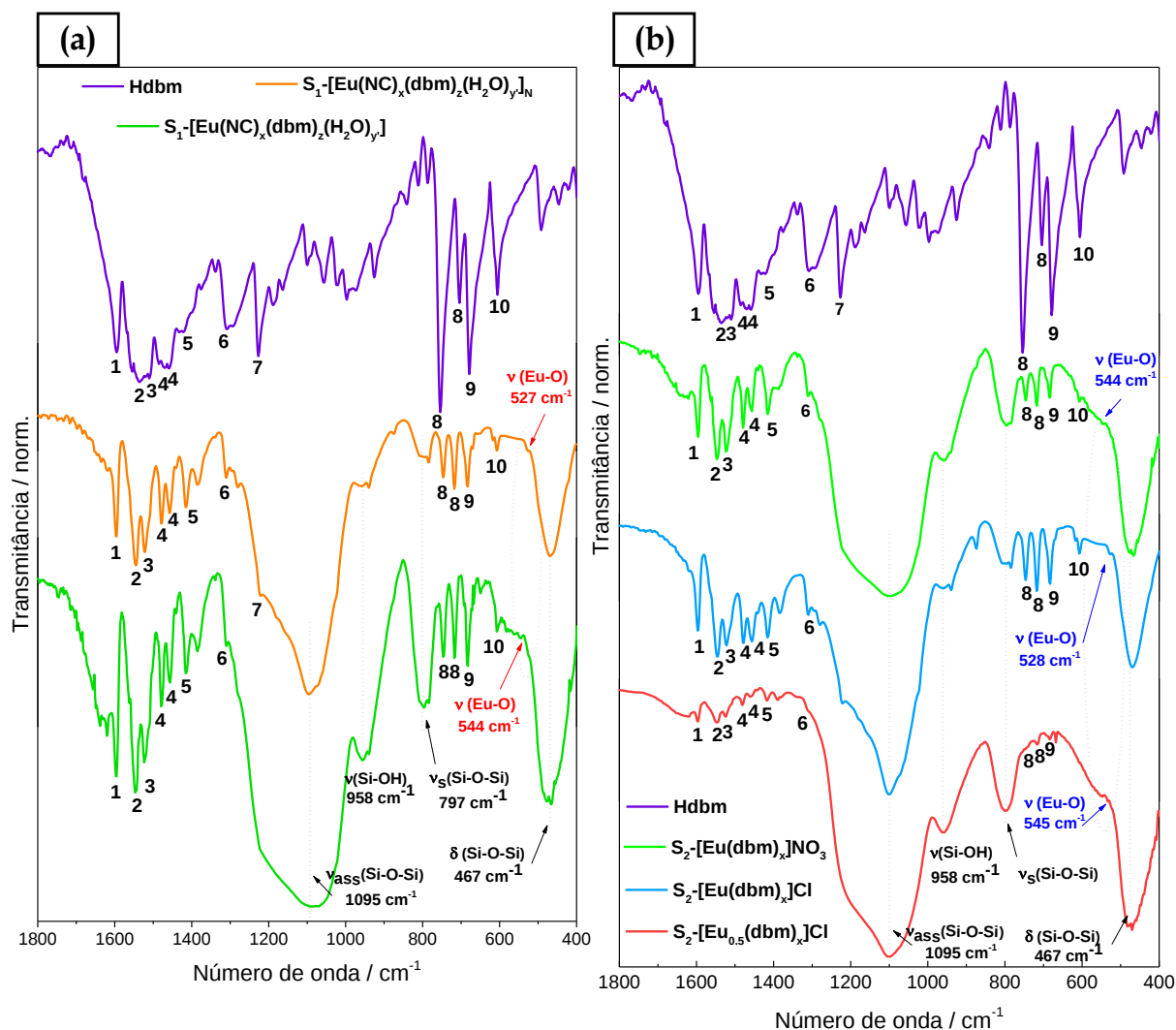
Fonte: Autor.

Na literatura, encontra-se que o grupo carboxilato livre (COO^-) para ácidos monocarboxílicos apresentam estiramentos assimétricos e simétricos nas regiões de 1560 e 1415 cm^{-1} , respectivamente, e que essas bandas apresentam deslocamento de acordo com o metal que se coordena e do modo de coordenação⁹⁷. Quando a coordenação ocorre de modo monodentado, observa-se estiramentos C=O em frequências maiores do que qualquer das duas vibrações do grupo COO^- , no qual o estiramento C-O acaba ocorrendo em frequências menores. Se for da forma bidentada, as duas bandas referentes aos estiramentos COO^- simétricos e assimétricos estão mais próximas umas das outras do que para o íon COO^- na forma livre. E se ocorrer na forma de ponte, as bandas referentes aos estiramentos COO^- encontram-se próximas ao do íon COO^- livre⁹⁷. Na Figura 39 nota-se o aparecimento de dois modos vibracionais após a coordenação do íon Eu^{3+} aos grupos carboxilatos, e estes modos podem ser atribuídos aos estiramentos assimétrico ν_{ass} (na região de 1520 cm^{-1}) e simétrico ν_{s} (na região de 1420 cm^{-1})

indicando uma possível coordenação do íon metálico aos grupos carboxilatos^{68, 102}, no qual a pequena diferença entre os números de onda se comparados a maioria dos grupos COO⁻ livre, pode indicar a coordenação de forma bidentada. Na Figura 39 (a) e (b) é encontrado na região de 1385 cm⁻¹ nas amostras S₁-[Eu]NO₃ e S₂-[Eu]NO₃, uma banda fina e intensa atribuída ao estiramento de íons NO₃⁻⁸¹ proveniente da solução precursora de nitrato de európio, Eu(NO₃)₃ utilizada na síntese. A presença de nitrato coordenado ao metal, poderia ser identificada em regiões de 1530 a 1480 cm⁻¹ referente a estiramentos assimétricos do grupo NO₂, entretanto nesta região, encontra-se as bandas referente as estiramentos dos grupos carboxilatos que pode encobrir a banda do nitrato⁹⁷. O estiramento simétrico de nitratos coordenados ocorre no intervalo de 1290 a 1250 cm⁻¹ e pode estar encoberto pela banda larga e intensa da sílica que encobre a faixa de 1300 a 1000 cm⁻¹⁹⁷.

Por fim, a Figura 40 apresenta os espectros de infravermelho das amostras finais após a adição do ligante dbm. Nota-se que ainda são encontrados todos os modos vibracionais nas mesmas regiões atribuídos a sílica, além disso, vários dos modos vibracionais que aparecem no ligante livre, também aparecem no espectro das amostras com os complexos ancorados, porém deslocados, indicando que houve a possível coordenação dos íons európio pelo dbm.

Figura 40 - Espectro no infravermelho do ligante Hdbm e dos híbridos finais após a adição de dbm na esfera de coordenação do Eu^{3+} . Os espectros de **(a)** referem-se à adição de dbm nas amostras precursoras S_1 e **(b)** referem-se as amostras precursoras S_2 .



Fonte: Autor.

Na Tabela 8 encontra-se um resumo dos modos vibracionais que puderam ser atribuídos que aparecem tanto no espectro do Hdbm livre quanto nos espectros dos híbridos finais. Os principais modos vibracionais são atribuídos à presença do estiramento $\text{C}=\text{O}$ em 1596 cm^{-1} característico do grupo cetona e do estiramento $\nu(\text{Eu-O})$ em regiões próximas a 540 cm^{-1} que caracteriza a ligação metal-oxigênio¹⁰³ indicando a coordenação dos ligantes dbm pelo íon Eu^{3+} . As demais bandas são atribuídas essencialmente aos grupos orgânicos presentes nas moléculas de dbm.

Tabela 8 - Atribuição dos principais modos vibracionais atribuídos ao Hdbm e às amostras finais.

Nº	Atribuição do modo vibracional	Ligante Hdbm / cm ⁻¹	Amostras
			com o ligante dbm / cm ⁻¹
1	ν (C=O)	1595	1596
2	ν_s (C=C)	1554	1548
3	ν_s (C=O)	1521	1522
4	δ_{ass} (C-H) _{Ar}	1484	1478
		1459	1456
5	δ -CH ₂ -C=O	1419	1415
6	ν_{ass} (C=C)	1308	1311
7	δ (C-H) _{no plano}	1226	1222
8	ν (C-H) _{Ar}	745	745
		704	718
9	δ (C-H) _{fora plano}	678	683
10	δ (C-H) _{no plano}	605	607

Fonte: Atribuições baseadas nas referências [97 e 103]

2ª Parte: *Caracterização Fotoluminescente e estudo fotofísico dos híbridos finais contendo complexos de íons Eu^{3+} ancorados à superfície de nanopartículas de sílica.*

Antes de iniciar os resultados de fotoluminescência e do estudo fotofísico dos híbridos é necessário considerar alguns pontos importantes que serão comparados nesta parte do trabalho. Como justificado anteriormente, neste trabalho houve a necessidade de ressintetizar amostras iniciais de sílica para dar continuidade na confecção dos híbridos finais, entretanto, como encontra-se no tópico 5.1, as medidas de MEV-FEG indicaram que as amostras ressintetizadas em metanol tiveram uma boa reprodutibilidade do tamanho final das nanopartículas (amostra inicial S_1 : 32 nm e a ressintetizadas $*S_1$: 43 nm), já em etanol à 60°C, as nanopartículas ressintetizadas apresentaram um diâmetro bem menor (amostra inicial S_2 : 80 nm e ressintetizadas $*S_2$: 38 nm). Além disso, um outro objetivo do trabalho foi avaliar a influência do precursor de Eu^{3+} , utilizando nas sínteses cloreto ou nitrato de európio.

Desta forma, isto acarretou durante o trabalho o desenvolvimento de híbridos luminescentes sintetizados com diâmetro de nanopartículas e precursores de Eu^{3+} diferentes, o que impede de comparar diretamente todas as amostras entre si, porque chegaremos em um ponto que não saberemos se a mudança nas propriedades fotofísicas se deu pelo mudança de tamanho da nanopartícula ou se realmente é algo específico dos complexos formados na superfície. Porém, algumas conclusões deste estudo puderam ser retiradas quando comparamos amostras específicas, por exemplo:

1 – Duas amostras foram sintetizadas utilizando o precursor cloreto de európio, EuCl_3 , entretanto, neste estudo foi utilizado a amostra $*S_1$ (43 nm) e a amostra S_2 (80 nm). Desta forma podemos concluir a influência do tamanho das nanopartículas nas propriedades fotofísicas dos híbridos finais.

2 – Duas amostras de tamanhos praticamente idênticos, mas sintetizadas em condições diferentes, S_1 (32 nm) e $*S_2$ (38 nm), foram utilizadas com o precursor $\text{Eu}(\text{NO}_3)_3$. Neste ponto podemos avaliar a repetitibilidade da síntese usando o mesmo precursor.

3 – Duas amostras também de tamanhos próximos, *S₁ (43 nm) e *S₂ (38 nm) foram utilizadas com o precursor, EuCl₃, entretanto para a amostra *S₁ foi utilizada uma proporção de 1 mol de COOH para 1 mol de Eu³⁺, já para amostra *S₂, foi utilizada uma proporção de 1 mol COOH para 0,5 mol de Eu³⁺. Neste ponto conseguiremos discutir o efeito da concentração de Eu³⁺ nas propriedades fotofísicas dos híbridos finais.

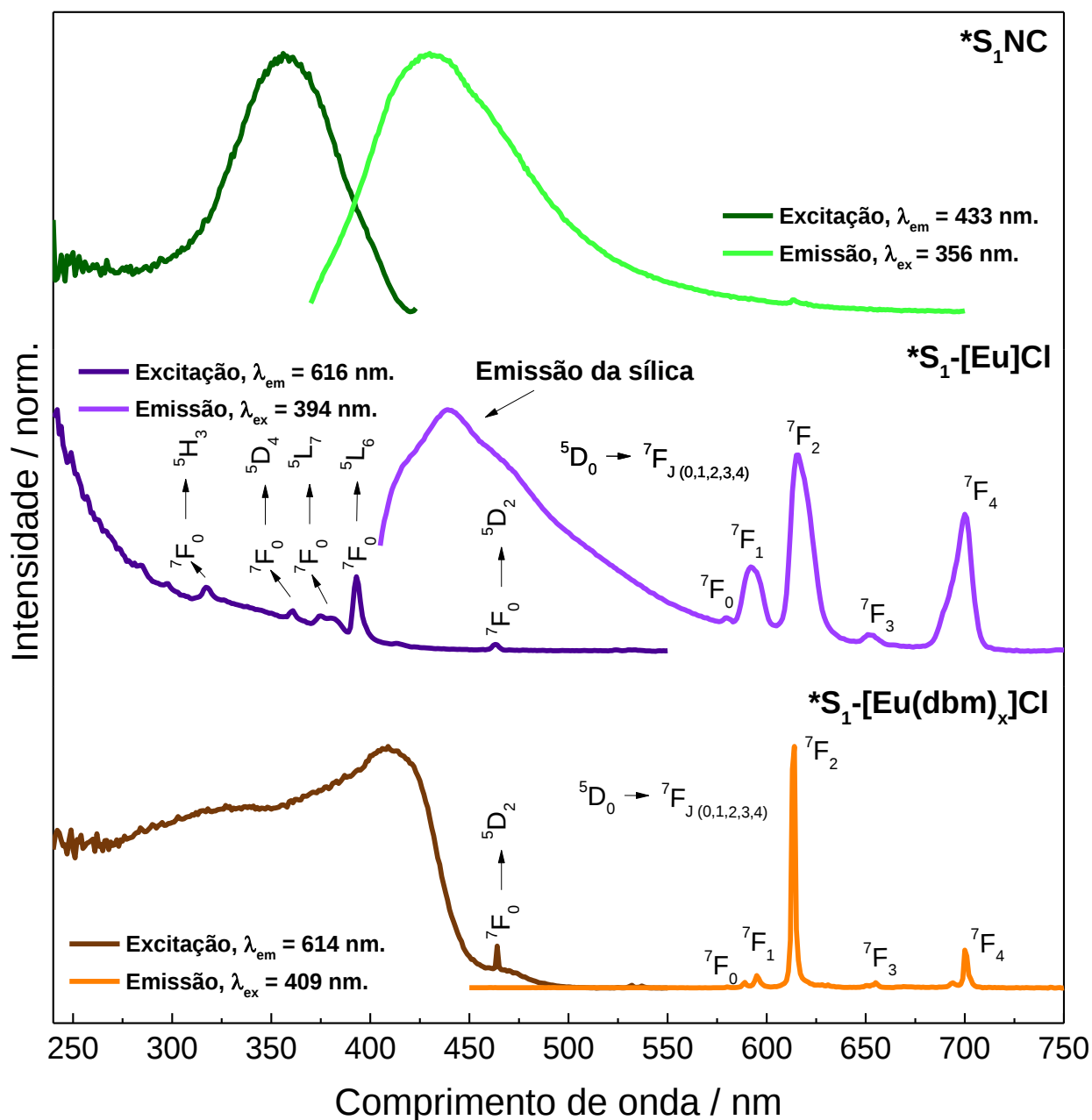
4.7 Espectroscopia de Fotoluminescência

Foram investigadas as propriedades luminescentes das amostras de sílica carboxilfuncionalizada, assim como das amostras após a coordenação dos íons Eu³⁺ aos grupos carboxilatos (usando como precursores o cloreto e o nitrato de európio como discutido anteriormente) e após a adição do ligante dbm substituindo as moléculas de água de coordenação e eventuais ligantes como cloretos ou nitratos que podem estar presentes na esfera de coordenação do európio. Os espectros de excitação e emissão obtidos a temperatura ambiente estão apresentados nas Figura 41 (precursor cloreto de európio) e Figura 42 (precursor de európio nitrato de európio).

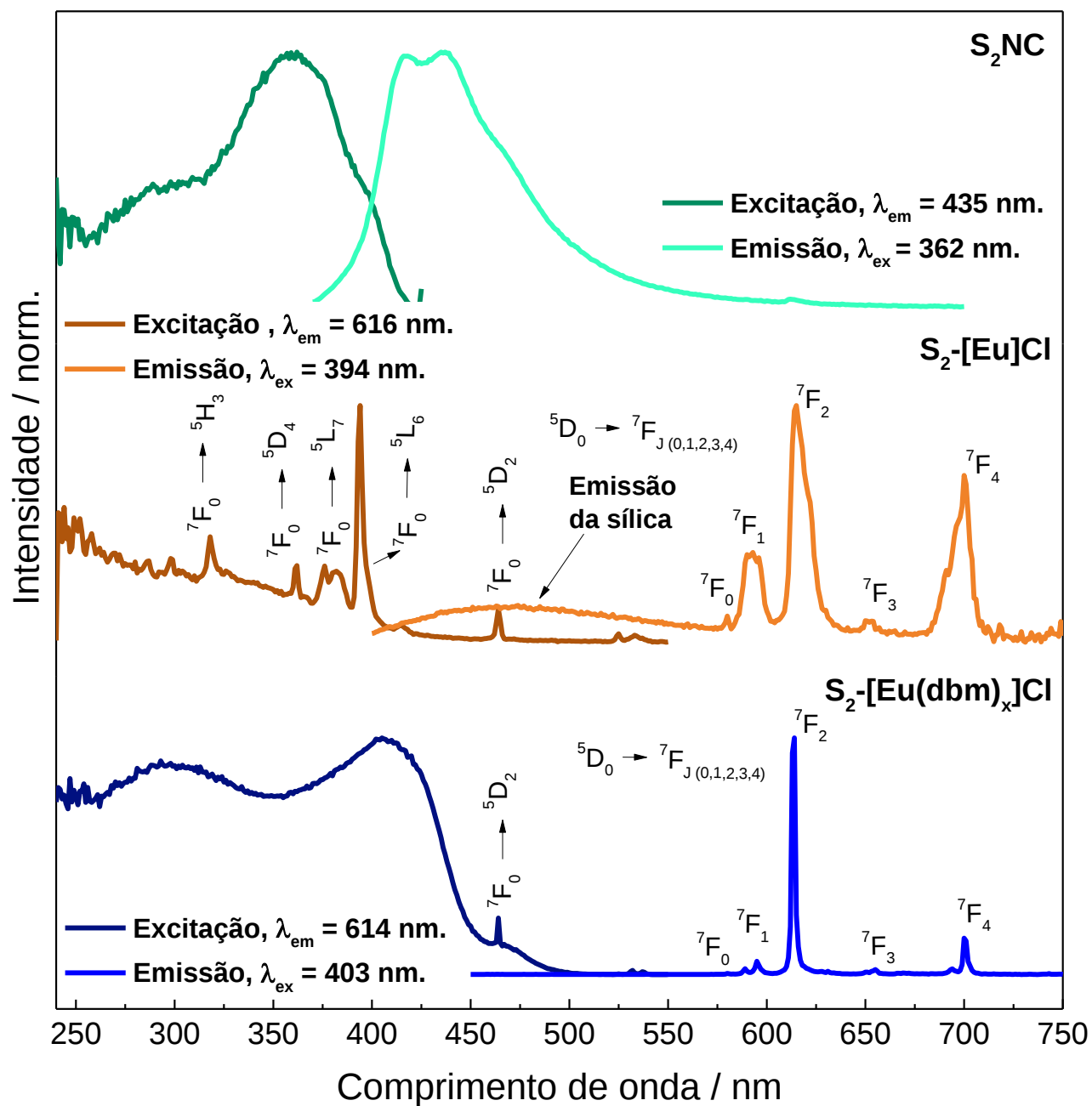
Figura 41 - Espectros de excitação e emissão obtidos a temperatura ambiente para as amostras **(A)** *S₁NC (fenda 2,5 de em e ex), *S₁-[Eu]Cl (fenda 3 de em e ex) e *S₁-[Eu(dbm)_x]Cl (fenda 0,75 de em e ex) **(B)** S₂NC (fenda 3 de em e ex), S₂-[Eu]Cl (fenda 1.5 de em e ex) e S₂-[Eu(dbm)_x]Cl (fenda 1.5 de em e ex) **(C)** *S₂NC (fenda 2 de em e ex), *S₂-[Eu_{0,5}]Cl (fenda 1.5 de em e ex) e *S₂-[Eu_{0,5}(dbm)_x]Cl (fenda 0,75 de em e ex).

Amostras sintetizadas utilizando como precursor a solução de EuCl₃

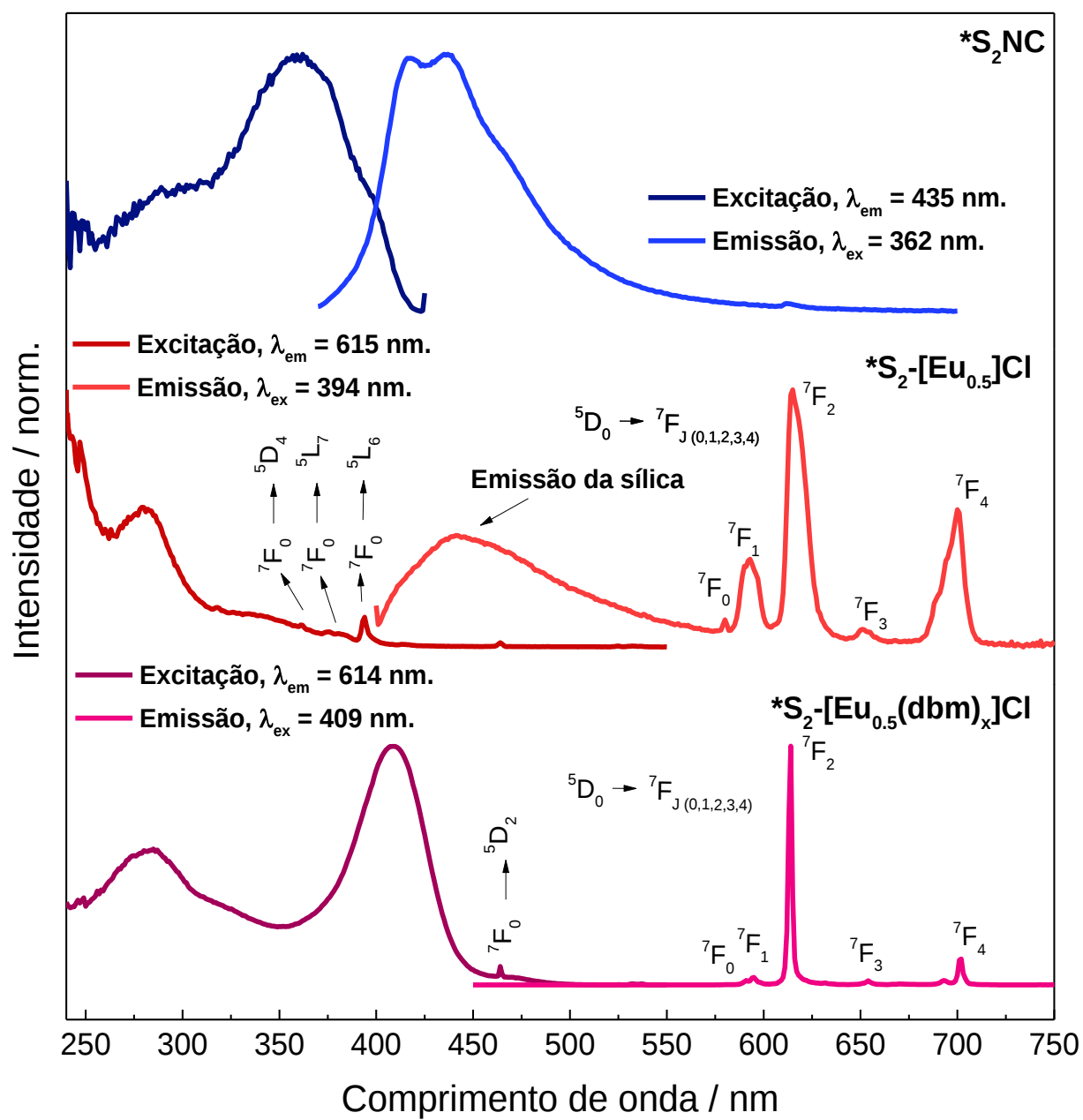
(A)



(B)



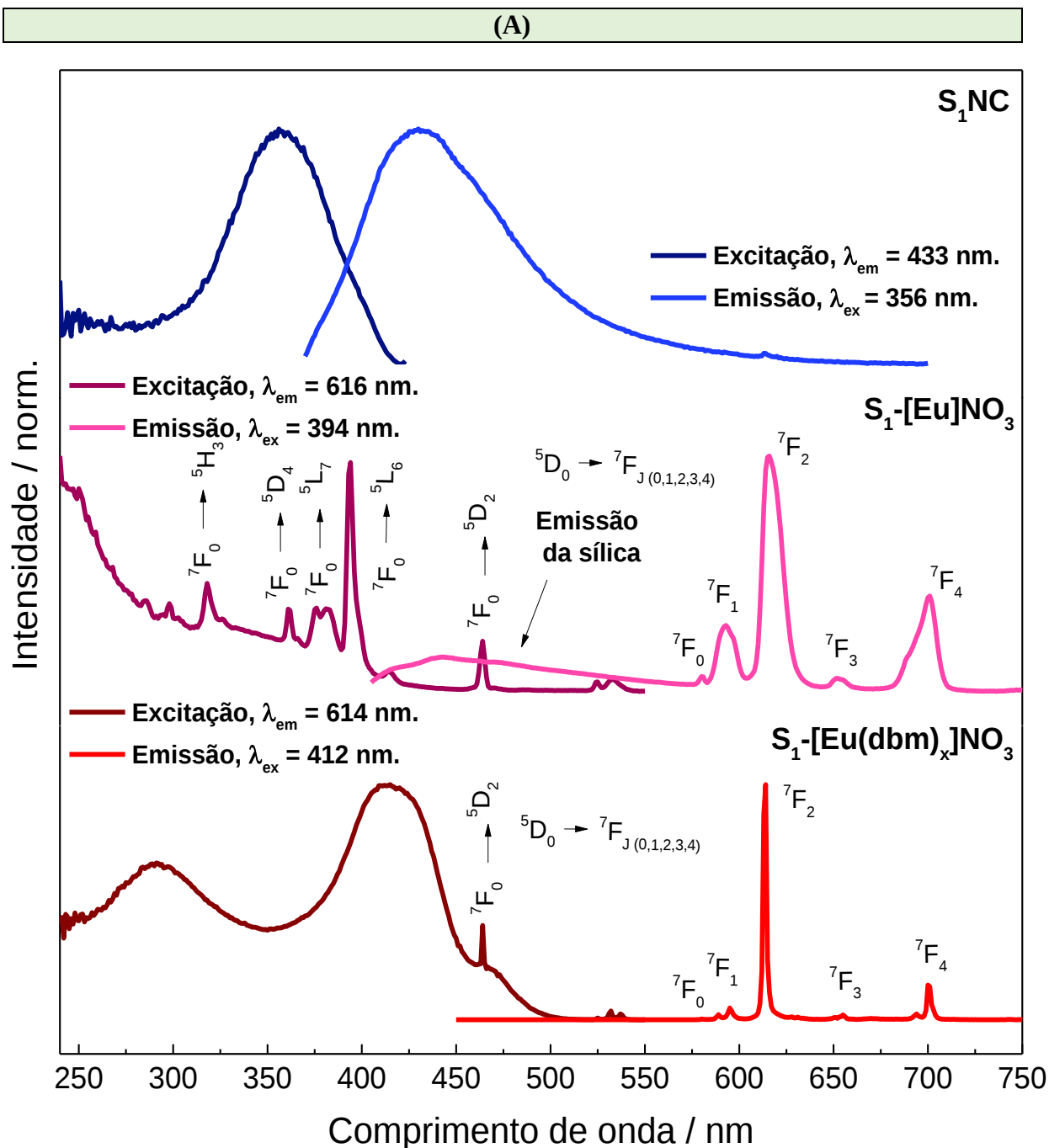
(C)

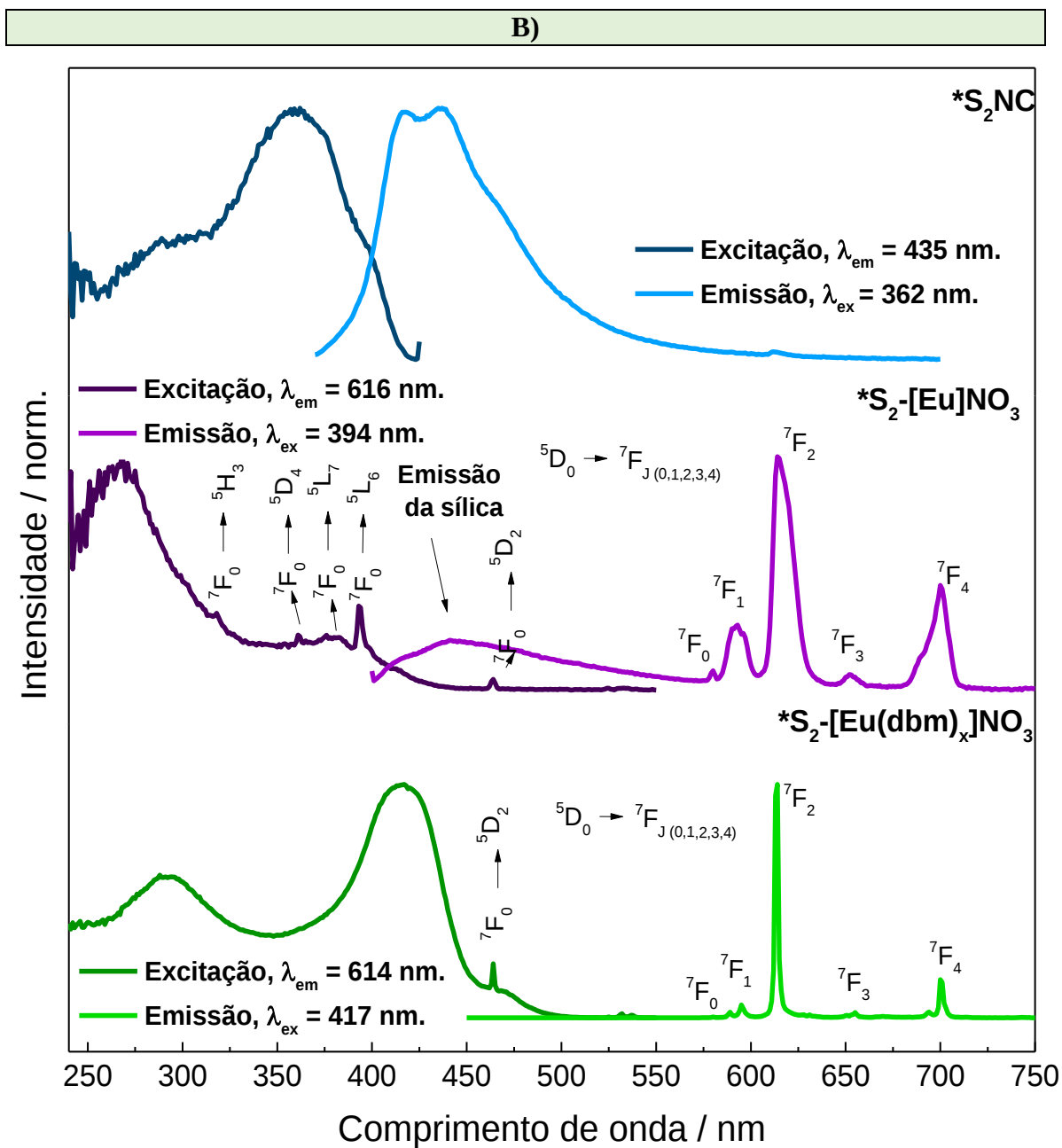


Fonte: Autor

Figura 42 - Espectros de excitação e emissão obtidos a temperatura ambiente para as amostras **(A)** S_1NC (fenda 2,5 de em e ex), $S_1-[Eu]NO_3$ (fenda 2 de em e ex) e $S_1-[Eu(dbm)_x]NO_3$ (fenda 0,75 de em e ex) **(B)** $*S_2NC$ (fenda 1.5 de em e ex), $*S_2-[Eu]NO_3$ (fenda 1.5 de em e ex) e $*S_2-[Eu(dbm)_x]NO_3$ (fenda 0,75 de em e ex)

Amostras sintetizadas utilizando como precursor a solução de $Eu(NO_3)_3$





Fonte: Autor.

A discussão entre os espectros de emissão e excitação das amostras sintetizadas com cloreto ou nitrato serão feitas a seguir de acordo com a sequência das etapas de síntese e de forma generalizada, já que não houve mudança aparente nos perfis dos espectros de emissão e excitação.

As amostras carboxilfuncionalizadas foram caracterizadas por espectroscopia de fotoluminescência mesmo sabendo que moléculas orgânicas com ligações saturadas não devem

apresentam luminescência. De acordo com os espectros de emissão é possível observar uma banda larga na região do azul com máximo de emissão por volta de 435 nm. Já os espectros de excitação, apresentam uma banda larga de excitação com o máximo próximo a 360 nm. Tanto o espectro de emissão quanto o de excitação apresentam baixa intensidade e são atribuídos apenas à sílica e não é referente ao ligante ácido carboxílico de cadeia saturada. A emissão na região do azul é atribuída à matriz inorgânica da sílica, e é explicada na literatura devido à recombinação elétron-buraco causada por defeitos estruturais na superfície de materiais que contem grupos siloxanos⁴⁴. Normalmente a banda de emissão apresenta deslocamentos de acordo com o comprimento de onda de excitação e são de baixa intensidade.

A segunda etapa de modificação foi a inserção de íons Eu^{3+} aos grupos carboxilatos utilizando os precursores cloreto e nitrato de európio. Esses espectros foram monitorados a partir da fixação do λ_{em} na transição hipersensível $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_2$. Nota-se que os perfis espectrais de excitação para todas as amostras são semelhantes devido aos sistemas produzidos serem iguais. Os espectros, em sua maioria, apresentam bandas finas referentes às transições intraconfiguracionais $4f^6$ atribuídas às excitações diretas do íon Eu^{3+} , sendo a mais evidente atribuída a $^7\text{F}_0 \rightarrow ^5\text{L}_6$ em 394 nm. Também são encontradas as demais excitações diretas do íon Eu^{3+} em 316 nm ($^7\text{F}_0 \rightarrow ^5\text{H}_3$), 361 nm ($^7\text{F}_0 \rightarrow ^5\text{D}_4$), 382 nm ($^7\text{F}_0 \rightarrow ^5\text{L}_7$), 464 nm ($^7\text{F}_0 \rightarrow ^5\text{D}_2$) e 525 nm ($^7\text{F}_0 \rightarrow ^5\text{D}_1$)^{83, 104, 105}.

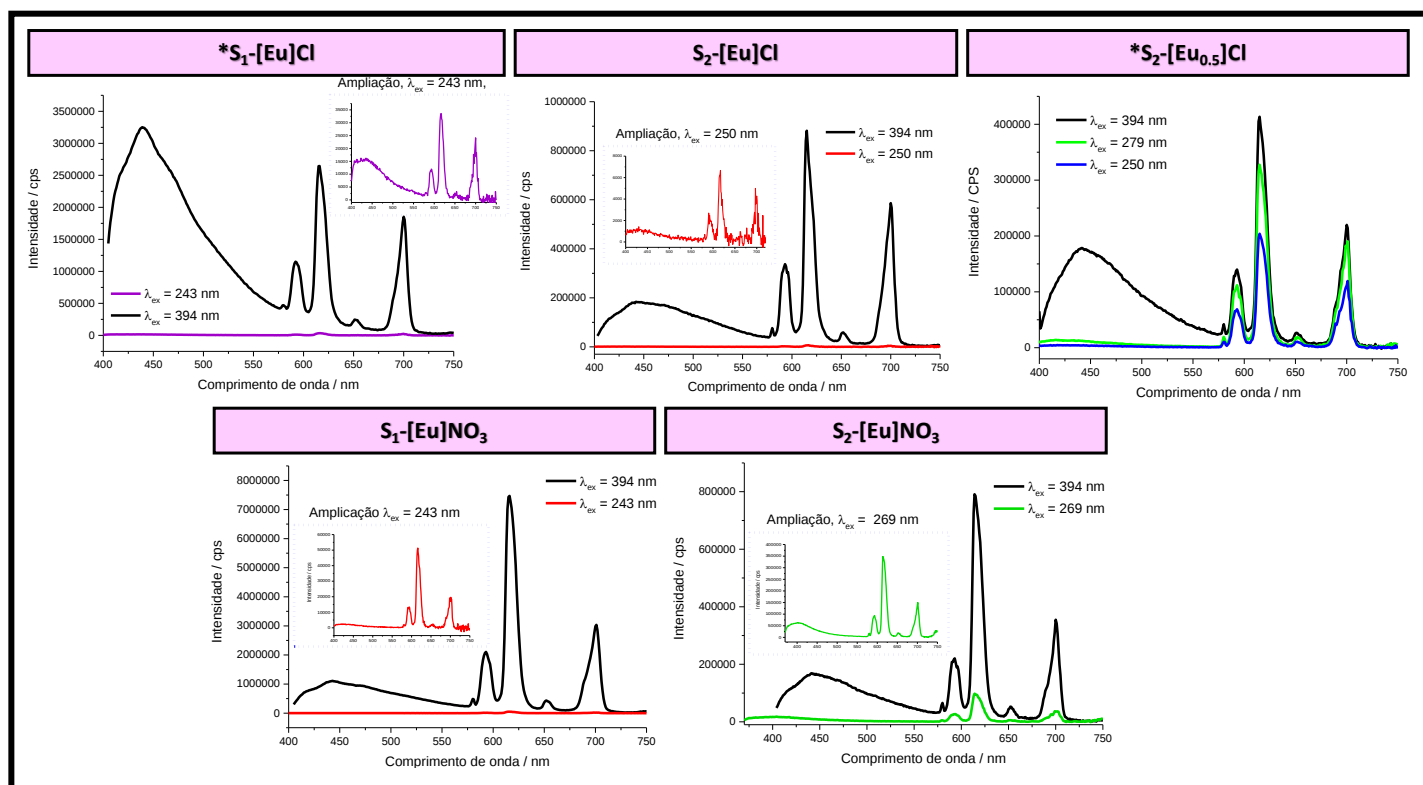
O perfil encontrado para todos os espectros de excitação mostra que não foram observadas bandas de excitação referentes ao ácido carboxílico ancorado à superfície da sílica. Desta forma a função dos grupos carboxilatos está sendo a de atuar apenas como um agente coordenante do tipo ponte, entre a sílica e os íons Eu^{3+} , não contribuindo como sensibilizador. Por ser um ácido alifático a energia do seu estado tripleto excitado deve ser muito alta e distante do estado excitado $^5\text{D}_0$ do íon Eu^{3+} , não favorecendo a sensibilização do íon metálico.

Para os espectros de emissão foi selecionado para todas as amostras o comprimento de onda de 394 nm ($^5\text{L}_6$) e que está dentro da banda de excitação da sílica (vide Figura 41 e 42). Desta forma, os dois sistemas são excitados simultaneamente e observamos nos espectros de emissão tanto as transições referentes ao decaimento do nível excitado $^5\text{D}_0$ para os estados fundamentais $^7\text{F}_J$ ($J = 0, 1, 2, 3$ e 4), quanto uma banda larga na região do azul atribuída a matriz das nanopartículas de sílica. As linhas de emissão referentes ao íon Eu^{3+} encontram-se alargadas, provavelmente devido ao fato do európio estar ocupando vários sítios de coordenação levemente diferentes entre si^{77, 106}. Outro fator que contribui bastante para o alargamento das

bandas de emissão é a presença de moléculas de água na primeira esfera de coordenação do íon Eu^{3+} , resultando em uma baixa intensidade de emissão tornando-a comparável à emissão da matriz de sílica neste comprimento de onda de excitação. A alta quantidade de moléculas de água prejudica as propriedades luminescentes do íon Eu^{3+} pois atuam como supressoras de luminescência favorecendo a perda de radiação por processos não radiativos. Em todos os espectros de emissão a temperatura ambiente é encontrado apenas uma componente referente à transição $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_0$ em 580 nm, indicando que o íon Eu^{3+} está inserido pelo menos em um sítio de baixa simetria sem centro de inversão⁷⁸.

Outro fator que chama atenção é que nos espectros de excitação observamos a presença de uma banda larga entre 243 e 279 nm atribuída a própria sílica que também tem um ombro. Foi fixado o comprimento de onda de excitação nos máximos localizados em posições mais energéticas do espectro de excitação e o resultado é mostrado na Figura 43 sendo comparado com o espectro de emissão fixado em 394 nm, referente a excitação direta do Eu^{3+} .

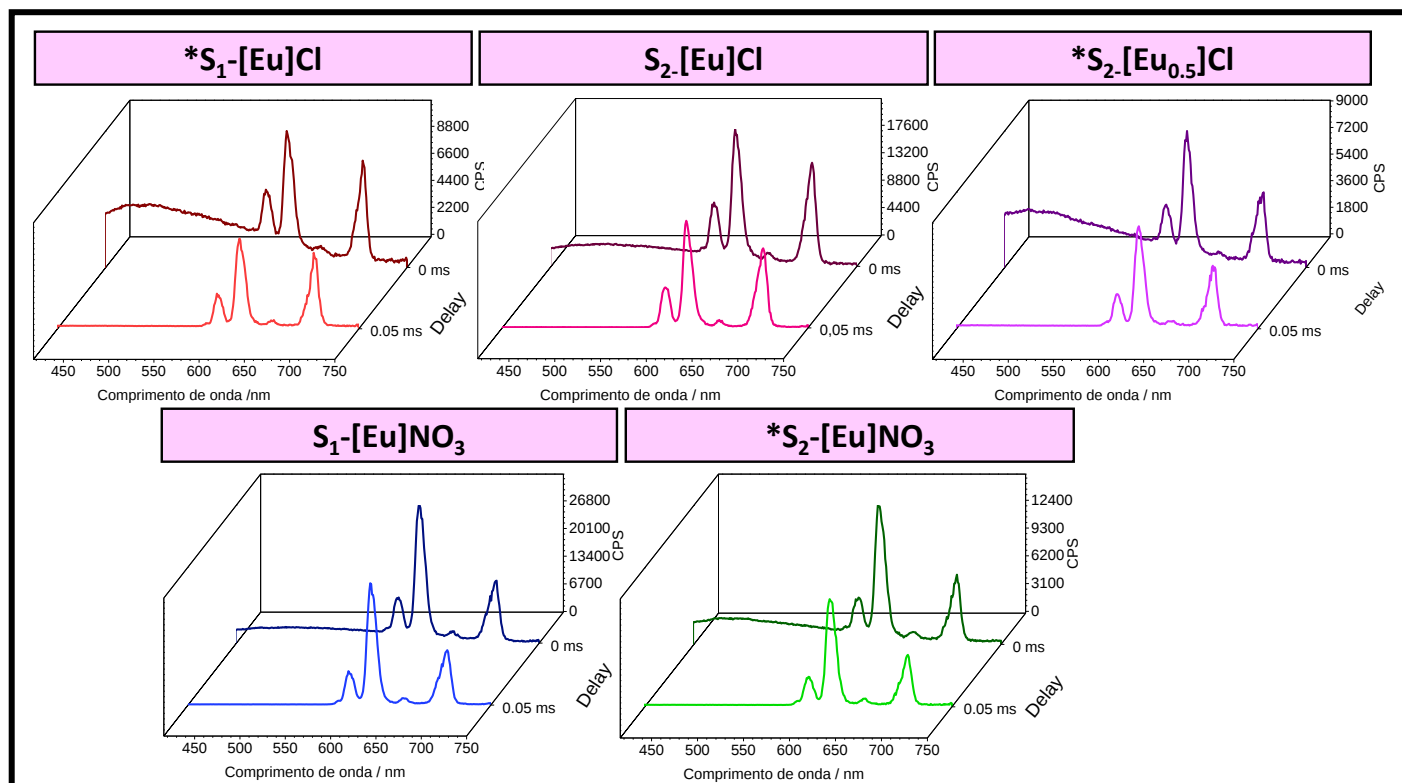
Figura 43 - Comparação dos espectros de emissão quando são fixados na transição intraconfiguracional $^7\text{F}_0 \rightarrow ^5\text{L}_6$ em 394 nm e quando são fixados em posições mais energéticas do espectro de excitação entre 243 e 279 nm. Os espectros foram obtidos a temperatura ambiente e na mesma fenda de emissão e excitação a fim de comparação de intensidade.



Fonte: Autor

Nota-se, nos espectros da Figura 43, que em todos os casos quando é fixado o $\lambda_{\text{ex}} = 394 \text{ nm}$, são obtidos espectros de emissão com uma banda larga na região do azul referente a emissão da sílica sobreposta as transições intraconfiguracionais referentes ao íon európio. Isto pode ser explicado devido a transição em 394 nm estar dentro da banda larga de excitação da sílica, ou seja, tanto európio quanto sílica estão sendo excitados, porém podemos ver um favorecimento na maioria dos casos das transições referente ao íon Eu^{3+} . Entretanto, ao deslocarmos o comprimento de onda para porções mais energéticas, nota-se uma diminuição da intensidade de emissão da sílica e o favorecimento das transições referente ao íon európio. Isto pode estar relacionado ao fato de deslocarmos o comprimento de onda de excitação para uma região em que a sílica absorve menos. O fato da sílica e do o ácido carboxílico não terem capacidade de transferência de energia para os íons Eu^{3+} explica a baixa intensidade de emissão do Eu^{3+} . A Figura 44 apresenta os espectros de emissão resolvidos no tempo para ambas às amostras. Os atrasos foram feitos nos tempos de 0 e 0,05 ms.

Figura 44 - Espectros de emissão resolvidos no tempo para as amostras sintetizadas com cloreto de európio **(a)** $\text{*S}_1\text{-[Eu]Cl}$, **(b)** $\text{S}_2\text{-[Eu]Cl}$, **(c)** $\text{*S}_2\text{-[Eu}_{0.5}\text{]Cl}$ e para as amostras sintetizadas com nitrato de európio **(d)** $\text{S}_1\text{-[Eu]NO}_3$ e **(e)** $\text{*S}_2\text{-[Eu]NO}_3$.



Fonte: Autor

A partir dos atrasos foi possível observar em ambos os casos que no tempo de 0,05 ms não se encontra mais a banda larga na região do azul referente a emissão da sílica. Os resultados corroboram já que os tempos de decaimento do estado excitado do íon európio e da matriz sílica são diferentes por se tratar de processos diferentes. Isto ficou bem mais evidente para algumas das amostras em que a banda de emissão da sílica tem uma intensidade comparável com as bandas referente a emissão do európio. Devido ao tempo de decaimento de estado excitado do európio ser maior, a emissão dele prevalece mesmo após um atraso de 0,05 ms na leitura. Além disso, percebe-se que a intensidade das transições diminui conforme aumenta-se os atrasos mais para as amostras que foram sintetizadas com cloreto de európio do que as que foram sintetizadas com nitrato de európio, o que pode ser um indicio de que o Eu^{3+} esta coordenado a um maior número de moléculas de água que contribui para desativação do estado excitado $^5\text{D}_0$.

A fim de intensificar as propriedades luminescentes desses materiais, faz-se necessário substituir as moléculas de água coordenadas aos íons Eu^{3+} e introduzir moléculas que apresentem alta absorvidade molar e que consigam sensibilizar de forma mais eficiente o íon Eu^{3+} , melhorando a eficiência quântica de emissão do material. Para isso, utilizou-se o ligante β -dicetonato Hdbm por apresentar bons resultados de sensibilização na literatura^{78, 103}. Os resultados da substituição estão apresentados nas Figuras 41 e 42, referentes aos espectros de excitação e emissão das amostras finais contendo os complexos luminescentes ancorados na superfície das nanopartículas.

Os espectros de excitação foram monitorados na faixa de 240 a 550 nm, fixando o λ_{em} em 614 nm referente a transição hipersensível $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_2$. A primeiro momento, nota-se a grande mudança no perfil do espectro de excitação das amostras finais quando comparadas com as amostras anteriores sem dbm. Novamente o mesmo perfil dos espectros de excitação é encontrado para todas as amostras. É possível observar o aparecimento de duas bandas largas de absorção com seus máximos próximos a 290 e 405 nm, além de apresentar as excitações diretas do íon Eu^{3+} em 464 nm ($^7\text{F}_0 \rightarrow ^5\text{D}_2$) e 525 nm ($^7\text{F}_0 \rightarrow ^5\text{D}_1$). A banda larga no espectro de excitação é atribuída à presença do ligante dbm, confirmando sua habilidade de atuar como antena, absorvendo energia e transferindo para o íon európio.

Os espectros de emissão foram monitorados em todas as amostras fixando o comprimento de onda de excitação, λ_{ex} , em regiões próximas a 409 nm. Após a substituição das moléculas de água por ligantes dbm é evidente a intensificação das linhas de emissão no vermelho referente às transições intraconfiguracionais do íon európio $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_J$ ($J = 0, 1, 2, 3$ e 4), não

sendo mais observada a emissão na região do azul atribuída a sílica. A intensificação da emissão do íon Eu^{3+} é consequência da sensibilização pelo ligante dbm que apresentam a energia do estado tripleto ($\sim 20660 \text{ cm}^{-1}$)⁸³ um pouco maior do que a energia do estado emissor ($^5\text{D}_0$) do metal ($\sim 17264 \text{ cm}^{-1}$)¹⁰⁴. A transição $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_0$ foi observada em ambos espectros com máximo em 580 nm indicando a ocupação do európio em pelo menos um sítio de baixa simetria sem centro de inversão. A transição $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_2$ aparece como a mais intensa e é a principal componente que contribui para a cor vermelha da emissão característica do íon Eu^{3+} . Sua alta intensidade esta atribuída a baixa simetria ao redor do íon Eu^{3+} principalmente se avaliarmos sua intensidade em relação à transição $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_1$ que não sofre influência pelo ambiente químico ao redor do íon Eu^{3+} .

4.7.1 Diagrama de Cromaticidade

Uma questão importante quando pretende-se aplicar materiais luminescentes como dispositivos emissores de luz é ter conhecimento do comprimento de onda dominante de emissão, da percepção de cor e da pureza desta cor emitida pelo sistema. Para isso, a CIE (Comissão Internacional de Iluminação) apresenta um diagrama tridimensional contendo todas as cores na região do visível (420 a 680 nm), na qual cada cor do diagrama é representada por coordenadas cartesianas x , y e z na forma de vetores $X(\lambda)$, $Y(\lambda)$, $Z(\lambda)$. Essas coordenadas representam as cores primárias azul, verde e vermelho, e a soma delas deve ser igual a 1. Portanto, o diagrama pode ser representado como uma projeção binária no plano xy . As cores primárias são encontradas nos vértices do diagrama e o centro é representado pela cor branca indicando a mistura perfeita entre as três cores primárias, ou seja, na posição $x = y = z = 3,33$. Quanto mais próximo da borda do diagrama estiver às coordenadas, mais puro vai ser a cor do sistema. A pureza de cor é medida através da regra da alavanca, ou seja, é uma relação de distância entre o centro até as coordenadas cartesianas x , y dividido pela distância do centro até a extremidade do diagrama que corresponde a uma cor pura.

O diagrama de cores CIE tem sido muito utilizado na área de espectroscopia de íons lantanídeos devido as propriedades luminescentes na região do visível destes íons e visando aplicação destes em dispositivos de visualização. Utilizando o software SpectraLux¹⁰⁷ e os espectros de emissão das amostras é possível determinar todas os parâmetros de cor do material.

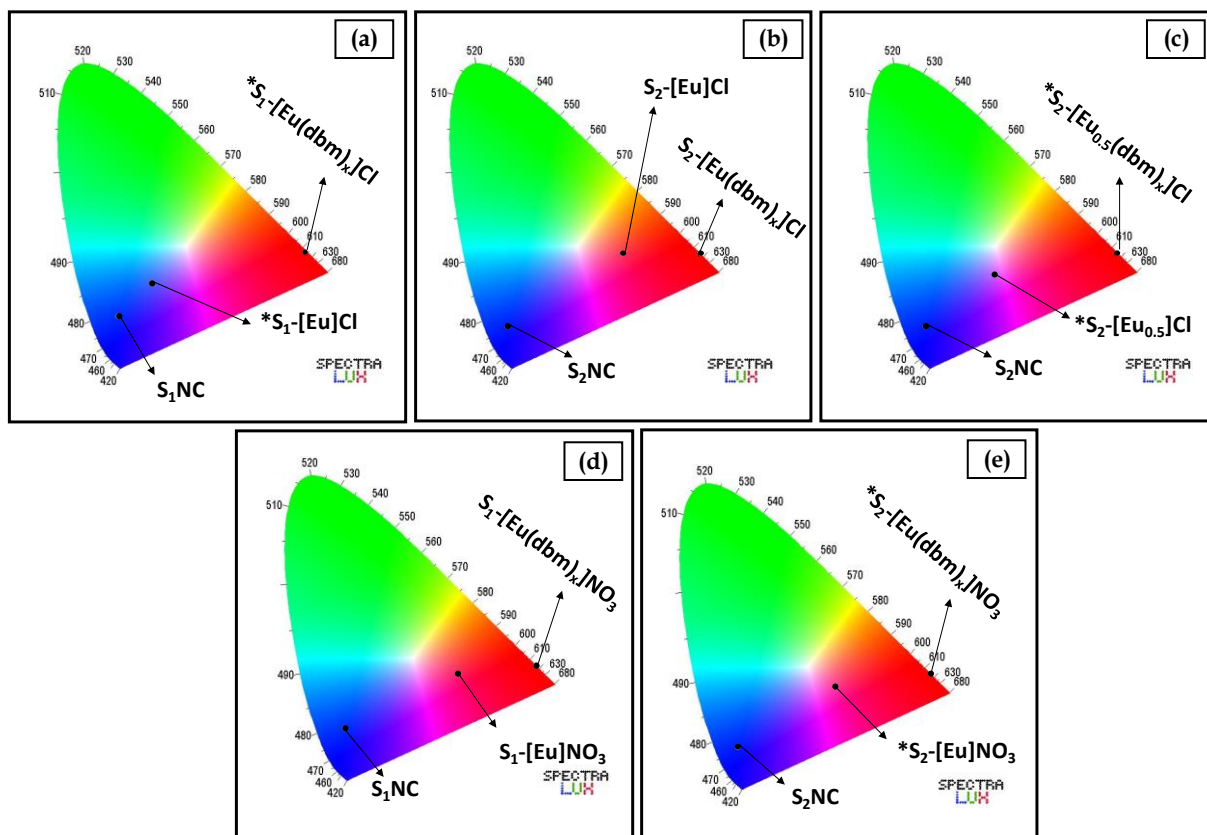
Desta forma, os espectros de emissão das Figuras 41 e 42 foram utilizados para gerar os diagramas de cores apresentados na Figura 45. Na Tabela 9 são apresentadas todas as informações a respeito das coordenadas cartesianas, do comprimento de onda dominante da cor, λ_{dom} , e da pureza de cor de cada amostra.

Tabela 9 - Coordenadas de cores, comprimento de onda dominante (λ_{dom}), e pureza de cor para as amostras de sílica carboxilfuncionalizadas, após a adição de Eu^{3+} e após a substituição das moléculas de água por dbm.

Nome das amostras	(x;y)	λ_{dom} / nm	Pureza de cor / %
S ₁ NC	(0,1652;0,1653)	475	76,1
*S ₁ -[Eu]Cl	(0,2569;0,2568)	473	38,1
*S ₁ -[Eu(dbm) _x]Cl	(0,6704;0,3193)	615	97,9
S ₁ -[Eu]NO ₃	(0,4698;0,2940)	-	39,4
S ₁ -[Eu(dbm) _x]NO ₃	(0,6818;0,3162)	615	100,0
S ₂ NC	(0,1598;0,1184)	472	81,5
S ₂ -[Eu]Cl	(0,4729;0,3164)	643	33,2
S ₂ -[Eu(dbm) _x]Cl	(0,6799;0,3166)	616	100,0
*S ₂ -[Eu]NO ₃	(0,4250;0,2815)	-	34,5
*S ₂ -[Eu(dbm) _x]NO ₃	(0,6818;0,3163)	616	100,0
*S ₂ -[Eu _{0.5}]Cl	(0,3462;0,2572)	-	30,4
*S ₂ -[Eu _{0.5} (dbm) _x]Cl	(0,6788;0,3173)	616	100,0

Fonte: Autor.

Figura 45 - Diagrama de cor das amostras de sílica carboxilfuncionalizadas, após a adição de Eu^{3+} e após a substituição das moléculas de água por dbm.



Fonte: Autor

Analisando a Tabela 9 e Figura 45, foi verificado que de modo geral:

1) Para as amostras carboxilfuncionalizadas foi possível observar a cor predominante no azul com os comprimentos de onda dominantes próximos a 470 nm, entretanto, é pouca intensa e por apresentar uma banda larga possui uma baixa pureza de cor próxima a 80 %.

2) Após a adição do Eu^{3+} aos grupos carboxilatos percebe-se o deslocamento da emissão para a região rosa/vermelho, já que esta é a cor resultante da mistura da banda larga da região do azul com as transições do európio na região do vermelho. O deslocamento para o azul de algumas amostras deve-se a maior contribuição da banda de emissão da sílica. Todas as amostras apresentaram baixa pureza de cor, menor do que 30 % devido à presença de bandas largas de emissão e pela combinação de diferentes comprimentos de onda. A região do comprimento de onda dominante variou de acordo com as intensidades relativas.

3) Após a substituição das moléculas de água pelo ligante dbm, percebe-se em todos os casos o deslocamento do comprimento de onda dominante para valores próximos de 615 nm, região do vermelho, devido a maior contribuição da banda referente transição $^5D_0 \rightarrow ^7F_2$ nos espectros de emissão. Essas amostras também apresentaram alta pureza de cor, próximo ao 100 % devido a presença da banda fina nesta região do vermelho, característica dos íons Eu^{3+} indicando a alta eficiência de sensibilização do dbm por efeito antena.

4.7.2 Tempo de Vida, eficiência quanta e número de moléculas de água de coordenação.

O tempo de vida do estado excitado 5D_0 (τ) é um parâmetro extremamente importante e através dele podemos calcular a eficiência quântica (η)¹⁰⁸, estimar o número de moléculas de água coordenadas ao íon Eu^{3+} (N_{H_2O})⁸⁷ e também calcular os parâmetros de intensidade de Judd-Ofelt (Ω_λ , $\lambda = 2$ e 4) do material. Este tempo está relacionado ao tempo necessário para que a população do estado excitado se reduza a 1/e de seu valor inicial. Além disso, também está associado às contribuições de processos radiativos e não radiativos do decaimento dos elétrons do estado excitado para o estado fundamental. A curva que representa esse decaimento tem forma exponencial, uma vez que a equação que governa esse decaimento depende de $e^{-t/\tau}$.

Desta forma, o tempo de vida das amostras contendo európio antes e após a adição de dbm foi avaliado em todos os casos monitorando a intensidade da transição ($^5D_0 \rightarrow ^7F_2$). Para as amostras sem dbm, o tempo de vida foi obtido através da fixação do $\lambda_{\text{ex}} = 394 \text{ nm}$ ($^7F_0 \rightarrow ^5L_7$) e para as amostras com dbm, o tempo de vida foi monitorado com λ_{ex} fixado na banda mais intensa de excitação do dbm, próximo a 410 nm. As curvas de decaimento antes e após a adição de dbm estão apresentadas entre as Figura 46 e 50. Os valores de tempo de vida estão apresentados na Tabela 10, juntamente com todos os parâmetros fotofísicos avaliados para os híbridos contendo os complexos de európio ancorados à superfície das nanopartículas de sílica. Através dos dados de tempo de vida foi possível calcular os dados de eficiência quântica e os parâmetros de Judd-Ofelt (Ω_λ , $\lambda = 2$ e 4) através do pacote de *software* LUMPAC¹⁰⁹. Assim, foi utilizado para os híbridos antes de adicionar dbm os espectros de emissão resolvidos no tempo com atraso de 0,05 ms (vide Figura 44) e para os híbridos após adição de dbm os espectros de emissão das Figuras 41 e 42. Além disso, com os dados de tempo de vida

experimental, podemos estimar o número de moléculas de água coordenadas ao íon Eu^{3+} através da equação de Horrocks^{87, 88}.

Figura 46 - Curvas de decaimento exponencial referentes ao estado excitado $^5\text{D}_0$ do íon Eu^{3+} das amostras (a) $\text{S}_1\text{-[Eu]Cl}$ e (b) $\text{S}_1\text{-[Eu(dbm)}_x\text{)]Cl}$.

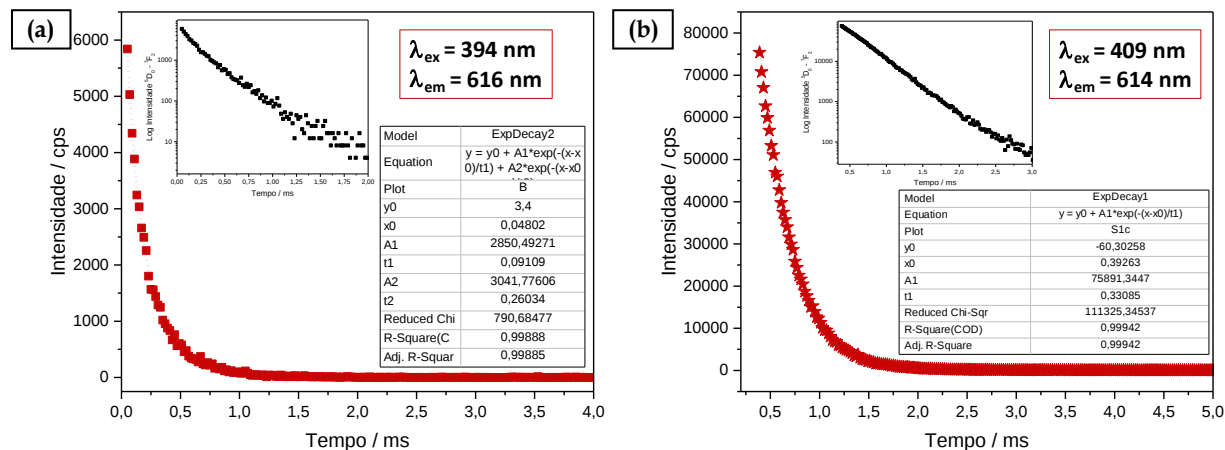


Figura 47 - Curvas de decaimento exponencial referentes ao estado excitado $^5\text{D}_0$ do íon Eu^{3+} das amostras (a) $\text{S}_1\text{-[Eu]NO}_3$ e (b) $\text{S}_1\text{-[Eu(dbm)}_x\text{)]NO}_3$.

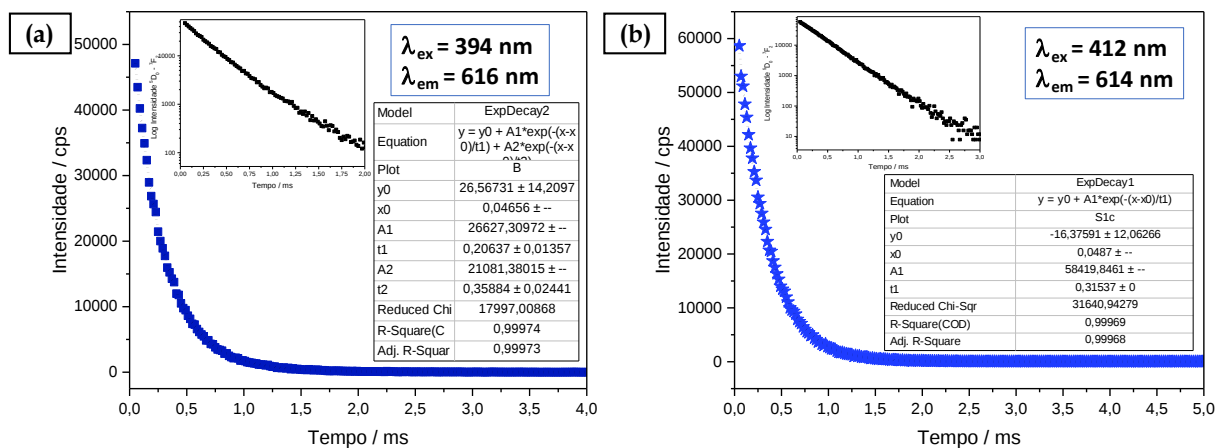


Figura 48 - Curvas de decaimento exponencial referentes ao estado excitado 5D_0 do íon Eu^{3+} das amostras (a) $\text{S}_2\text{-[Eu]Cl}$ e (b) $\text{S}_2\text{-[Eu(dbm)}_x\text{)]Cl}$.

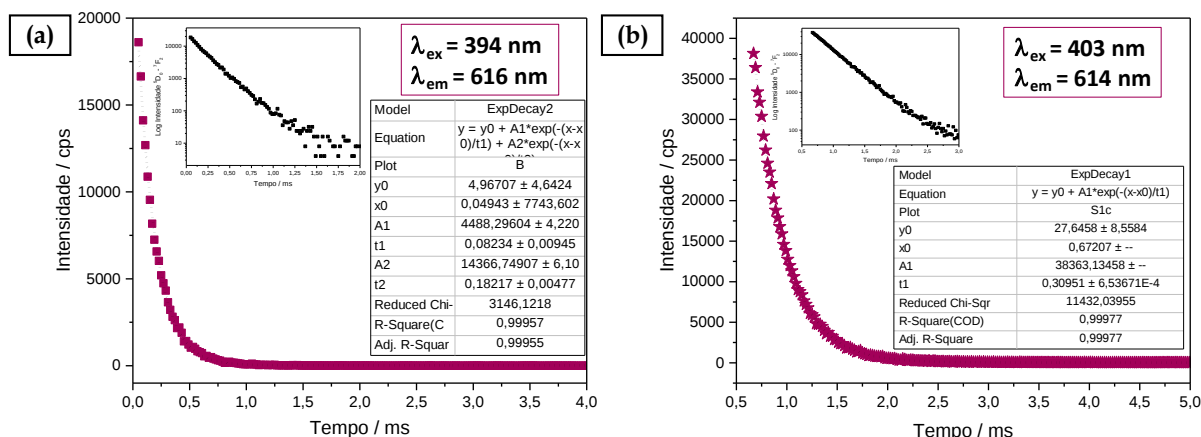


Figura 49 - Curvas de decaimento exponencial referentes ao estado excitado 5D_0 do íon Eu^{3+} das amostras (a) $\text{S}_2\text{-[Eu]NO}_3$ e (b) $\text{S}_2\text{-[Eu(dbm)}_x\text{)]NO}_3$.

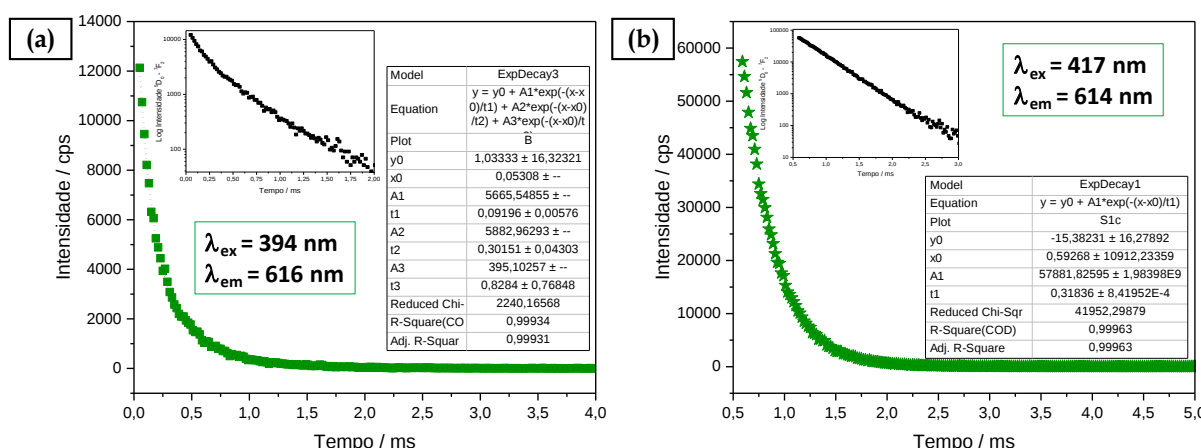
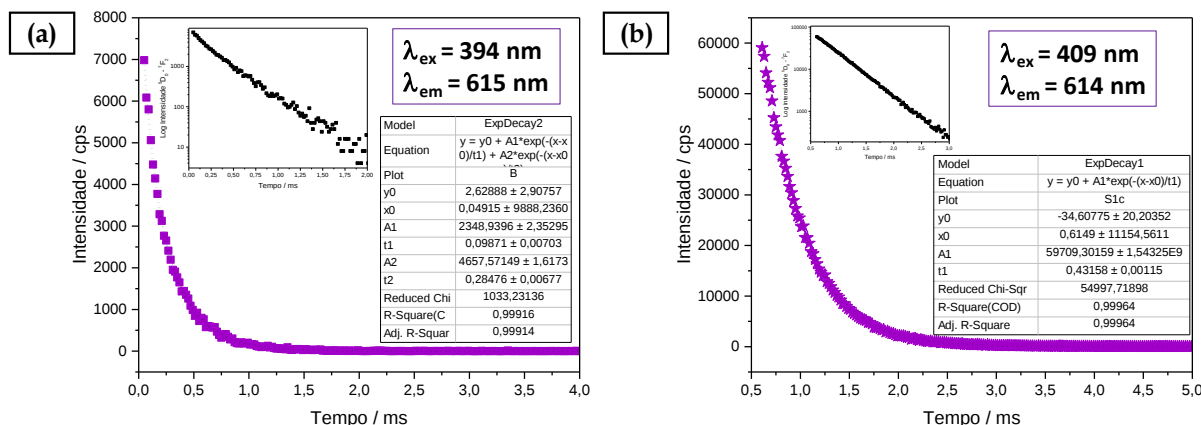


Figura 50 - Curvas de decaimento exponencial referentes ao estado excitado 5D_0 do íon Eu^{3+} das amostras (a) $\text{S}_2\text{-[Eu}_{0.5}\text{]Cl}$ e (b) $\text{S}_2\text{-[Eu}_{0.5}\text{(dbm)}_x\text{)]Cl}$.



Fonte (Figuras 46 a 50): Autor

Tabela 10 - Tempo de vida do estado excitado 5D_0 (τ), Taxa de decaimentos radiativos (A_{rad}) e não-radiativos (A_{nrad}), eficiência quântica (η), número de moléculas de água de coordenação (N_{H_2O}), parâmetros de intensidade de Judd-Ofelt Ω_2 e Ω_4 para as amostras antes e após a adição de Hdbm.

Amostras	$\langle \tau \rangle /$ ms	N_{H_2O}	$\eta /$ %	$A_{\text{rad}} /$ s^{-1}	$A_{\text{nrad}} /$ s^{-1}	$\Omega_2 /$ 10^{-20} cm^2	$\Omega_4 /$ 10^{-20} cm^2
*S₁-[Eu]Cl	0,22	4,5	8,4	381,78	4194,88	5,8	10,1
*S₁-[Eu(dbm)_x]Cl	0,33	2,5	25,8	780,38	2241,68	18,6	8,9
S₁-[Eu]NO₃	0,29	3,2	11,7	398,27	2995,02	7,2	8,6
S₁-[Eu(dbm)_x]NO₃	0,32	2,6	25,3	801,87	2368,71	19,0	9,6
S₂-[Eu]Cl	0,17	5,9	5,8	343,40	5545,88	5,0	9,1
S₂-[Eu(dbm)_x]Cl	0,31	2,7	24,1	778,22	2452,80	18,5	9,0
*S₂-[Eu]NO₃	0,29	3,3	11,5	403,88	3109,82	7,5	7,9
*S₂-[Eu(dbm)_x]NO₃	0,32	2,6	24,9	780,81	2359,90	18,3	9,5
*S₂-[Eu_{0.5}]Cl	0,26	3,8	9,7	376,21	3513,33	6,2	8,8
*S₂-[Eu_{0.5}(dbm)_x]Cl	0,43	1,6	40,0	926,34	1390,62	23,0	9,7

Fonte: Autor

De modo geral, em todas as amostras antes da adição do ligante dbm, foram observados ajustes bi ou triexponenciais, indicando que o íon Eu^{3+} está inserido em pelo menos dois sítios de simetria distintos, o que era de ser esperado devido a diferentes estequiometrias de coordenação do íon na superfície das nanopartículas. Foi visto também que em todas as amostras, após a adição de dbm, os ajustes obtidos foram monoexponenciais, indicando que provavelmente a estrutura dos complexos formados (com exceção da amostra $\text{S}_2\text{-[Eu}_{0.5}\text{(dbm)}_x\text{]Cl}$ que será tratada mais pra frente) está muito próxima, refletindo em valores semelhantes nos demais parâmetros avaliados. Nota-se também, que após a coordenação do ligante dbm substituindo as moléculas de água de coordenação e eventuais contra íons como cloretos ou nitratos, aumenta-se o tempo de vida de todas as amostras. A coordenação do dbm

e aumento do tempo de vida de estado excitado, corrobora com os cálculos de moléculas de água estimados pela equação de Horrocks, que após a adição de dbm diminui.

Vimos, através da Equação 2, que o tempo de vida é associado as taxas dos processos radiativos, A_{rad} , e não radiativos, A_{nrad} . O valor de A_{nrad} é obtido através do tempo de vida da amostra. Este valor é muito influenciado pela presença de moléculas de água coordenadas aos íons lantanídeos devido ao forte acoplamento vibrônico do grupo O-H da água com o nível emissor do európio, 5D_0 (vide Figura 9). Após a sensibilização do íon pelo estado tripleto T_1 o processo de relaxamento pode seguir dois caminhos, sendo que a forma não radiativa é privilegiada quando as moléculas de água estão coordenadas ao íon, desativando o estado emissor e causando supressão da luminescência, baixos tempos de vida de estado excitado e baixas eficiências quânticas. Portanto, o deslocamento das moléculas de água e eventuais contra íons coordenados ao íon Eu^{3+} pelo ligante dbm aumenta o tempo de vida e consequentemente, aumenta a eficiência quântica das amostras. Este fato é observado pelos valores de A_{rad} e A_{nrad} em todas as amostras.

Os parâmetros de intensidade de Judd-Ofelt são representados pelos valores de Ω_2 e Ω_4 os quais baseiam-se nos valores das intensidades das transições $^5D_0 \rightarrow ^7F_2$ e 7F_4 , respectivamente e que acontecem através de mecanismos governados por dipolo elétrico forçado e acoplamento dinâmico. Atualmente, as teorias mais aceitas relacionam Ω_2 à simetria em que o íon Eu^{3+} está inserido enquanto que Ω_4 está relacionado ao grau de covalência da ligação entre o íon Eu^{3+} e os ligantes no sistema em que se encontra. Desta forma, quanto maior o valor de Ω_2 menor a simetria do sistema indicando que o íon Eu^{3+} encontra-se em um sistema distorcido. Já o aumento do valor do Ω_4 indica aumento da densidade eletrônica nos ligantes e um fortalecimento dessa ligação.

De modo geral os híbridos apresentam maior valor de Ω_2 após a adição de dbm, isso pode ser explicado por conta do aumento da intensidade da transição hipersensível $^5D_0 \rightarrow ^7F_2$ e comumente domina os espectros de emissão dos complexos de β -dicetonas¹⁰⁴. Esse aumento da transição 0-2 vem acompanhado da maior distorção do campo já que os ligantes dbm são volumosos e possivelmente se acomodam de forma distorcida ao entorno do íon Eu^{3+} . Antes da coordenação dos ligantes dbm, nota-se que o valor de Ω_2 um pouco maior para as amostras em que foram sintetizadas com nitrato de európio, $\text{Eu}(\text{NO}_3)_3$, o que pode indicar a presença de contra íons nitratos na esfera de coordenação do európio, já que um número maior de ligantes promove uma diminuição ainda mais da simetria aumentando consequentemente o valor do Ω_2 .

Os valores de Ω_4 também aumentam após a adição dos ligantes dbm devido ao maior caráter covalente entre o íon Eu^{3+} e os átomos de oxigênio do dbm em comparação aos átomos de oxigênio da água, outro fator que contribui para o aumento do Ω_4 está na capacidade de polarizabilidade dos ligantes β -dicetonatos, sendo muito maior do que as moléculas de água, eles são mais polarizáveis e tendem a formar ligações mais covalentes.

Outra informação importante que podemos retirar da Tabela 10 é que a maioria dos parâmetros avaliados em todas as amostras são muito semelhantes antes e após a adição do dbm, indicando que os ambientes químicos (natureza e estequiometria) sejam muito próximas. A partir de agora iremos separar essas amostras em conjunto para podermos comparar e tirar algumas conclusões deste estudo.

4.7.3 Efeito do tamanho das nanopartículas nas propriedades fotofísicas dos híbridos finais.

A Tabela 11, apresenta um recorte da Tabela 10, em que podemos comparar os resultados fotofísicos de dois materiais diferentes sintetizados nas mesmas condições e proporções de síntese, tendo apenas uma boa diferença no tamanho das nanopartículas de sílica (sendo a amostra *S₁ de 43 nm e S₂ de 80 nm) utilizadas como base para suportar os complexos luminescentes formados com o mesmo precursor de európio, EuCl_3 .

Tabela 11 – Comparação das propriedades fotofísicas dos híbridos finais sintetizados com o precursor cloreto de EuCl_3 , utilizando partículas com tamanhos diferentes, 43 nm (*S_1) e 80 nm (S_2).

Nome das amostras	$\langle \tau \rangle /$ ms	$N_{\text{H}_2\text{O}}$	$\eta /$ %	$A_{\text{rad}} /$ s^{-1}	$A_{\text{nrad}} /$ s^{-1}	$\Omega_2 /$ pm^2	$\Omega_4 /$ pm^2
$\text{*S}_1\text{-[Eu]Cl}$	0,22	4,5	8,4	381,78	4194,88	5,8	10,1
$\text{*S}_1\text{-[Eu(dbm)}_x\text{]Cl}$	0,33	2,5	25,8	780,38	2241,68	18,6	8,9
$\text{S}_2\text{-[Eu]Cl}$	0,17	5,9	5,8	343,40	5545,88	5,0	9,1
$\text{S}_2\text{-[Eu(dbm)}_x\text{]Cl}$	0,31	2,7	24,1	778,22	2452,80	18,5	9,0

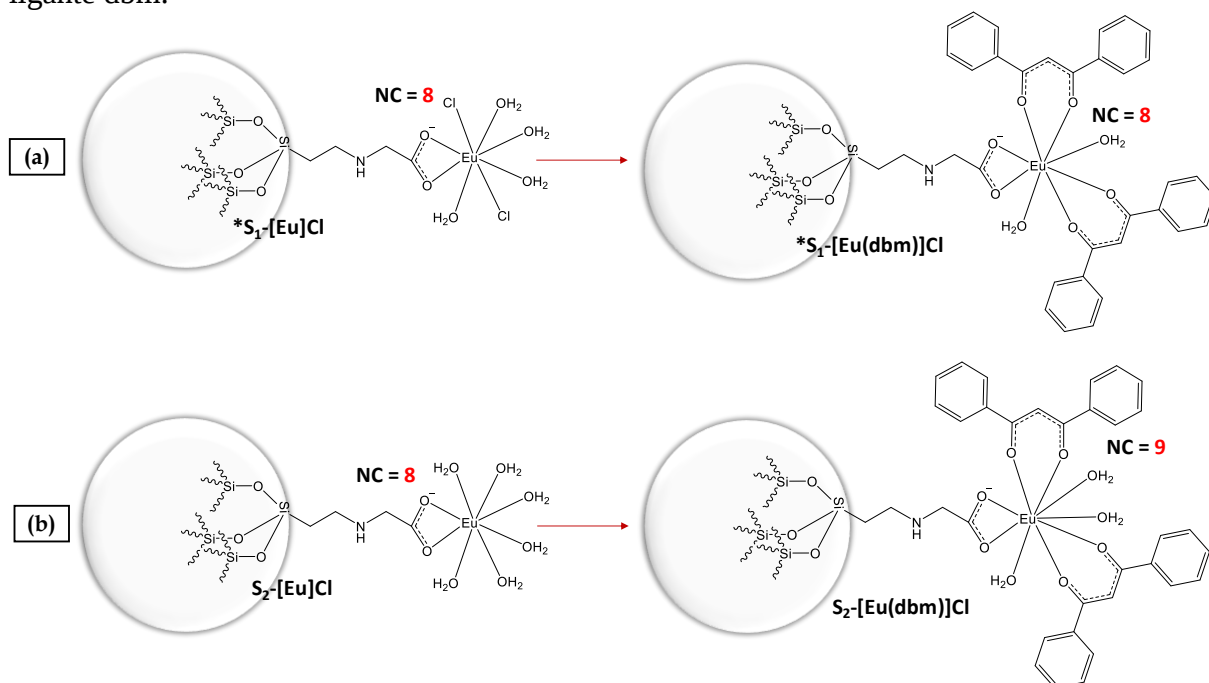
Fonte: Autor

Nota-se que, ao utilizar o conjunto de nanopartículas menores, *S_1 , houve a formação de híbridos tanto antes quanto após a adição de dbm que possuem maiores valores de tempo de vida e eficiência quântica. Entretanto, ainda percebe-se que esses valores são levemente maiores, mas não são tão discrepantes mesmo considerando o fato de dobrar o tamanho das nanopartículas, concluindo que o tamanho não é tão significativo nas propriedades luminescentes do material. Percebe-se que os valores de A_{rad} e A_{nrad} , Ω_2 e Ω_4 são muito próximos indicando que a estrutura do complexo formado nessas condições foi praticamente idêntica. A análise do número de moléculas de água pode ser um indicativo para supor o número de ligantes dbm que entrou na esfera de coordenação do íon Eu^{3+} , sendo que por ser um ligante bidentado, a cada ligante dbm que se coordena ao metal pelo menos duas moléculas de água são deslocadas. Foi visto por FTIR que provavelmente o modo de coordenação do grupo carboxilato ao íon európio foi de forma bidentada. No caso da amostra *S_1 vemos que houve uma diferença de 2 moléculas de água após a adição de dbm e caso da amostra S_2 , mostra o deslocamento de 3 moléculas de água, mas os valores de A_{rad} , A_{nrad} e Ω_2 após a adição de dbm são muito parecidos com a amostra *S_1 , o que leva a inferir a formação de um complexo com mesma estequiometria entre os ligantes. Podemos propor a partir do número de coordenação mais estável do európio variando de 7 a 8 a estrutura dos complexos formados na superfície.

O número de moléculas de água para a amostra *S_1 é um pouco menor do que o encontrado para a amostra S_2 . Considerando o grupo carboxilato ligado de forma bidentada e as 4 moléculas de água, o íon Eu^{3+} na amostra *S_1 apresenta um número de coordenação 6 que

não é muito estável. Assim para esta amostra, possivelmente dois ânions cloretos podem estar coordenados completando o NC = 8 mais comum. Como os ânions cloretos também são facilmente substituídos (até mais do que a água), podemos indicar a entrada de dois ligantes dbm nesta amostra (1 dbm deslocando 2 Cl⁻ e 1 dbm deslocando 2 H₂O), Figura 51 (a). Já para amostra S₂, podemos supor que o íon európio esteja coordenado por 1 ligante carboxilato de forma bidentada e 6 moléculas de água completando o NC igual a 8 para o íon Eu³⁺, Figura 51 (b). Levando em conta a semelhança entre os parâmetros fotofísicos podemos propor que na amostra S₂ também houve a entrada de 2 ligantes dbm, deslocando 3 moléculas de água, atingindo o NC igual a 9. Nesta amostra, pela grande semelhança do A_{nr} com a amostra *S₁, também é possível que apenas duas moléculas de água estejam presentes, completando um NC igual a 8. A Figura 51 ainda apresenta a possíveis estrutura propostas dos complexos formados após a entrada do ligante dbm considerando o número de coordenação do európio.

Figura 51 - Possíveis representações da formação dos complexos de európio na superfície das nanopartículas de sílica *S₁ e S₂ utilizando o precursor EuCl₃ e posteriormente adicionando o ligante dbm.



Fonte: Autor

4.7.4 Efeito de reprodutibilidade da síntese para formação dos híbridos finais

A Tabela 12 também é um recorte da Tabela 10, apresentando as propriedades fotofísicas dos híbridos obtidos utilizando o precursor nitrato de európio. Nestes casos, temos sistemas sintetizados nas mesmas condições reacionais e proporções e com tamanhos de nanopartículas semelhantes, sendo a amostra S₁ de 32 nm e a amostra *S₂ de 38 nm.

Tabela 12 – Comparação das propriedades fotofísicas dos híbridos finais sintetizados com o precursor nitrato de európio, Eu(NO₃)₃, utilizando partículas com tamanhos semelhantes, 32 nm (S₁) e 38 nm (*S₂).

Nome das amostras	$\langle \tau \rangle /$ ms	N_{H_2O}	$\eta /$ %	$A_{rad} /$ s ⁻¹	$A_{nrad} /$ s ⁻¹	$\Omega_2 /$ pm ²	$\Omega_4 /$ pm ²
S ₁ -[Eu]NO ₃	0,29	3,2	11,7	398,27	2995,02	7,2	8,6
S ₁ -[Eu(dbm) _x]NO ₃	0,32	2,6	25,3	801,87	2368,71	19,0	9,6
*S ₂ -[Eu]NO ₃	0,29	3,3	11,5	403,88	3109,82	7,5	7,9
*S ₂ -[Eu(dbm) _x]NO ₃	0,32	2,6	24,9	780,81	2359,90	18,3	9,5

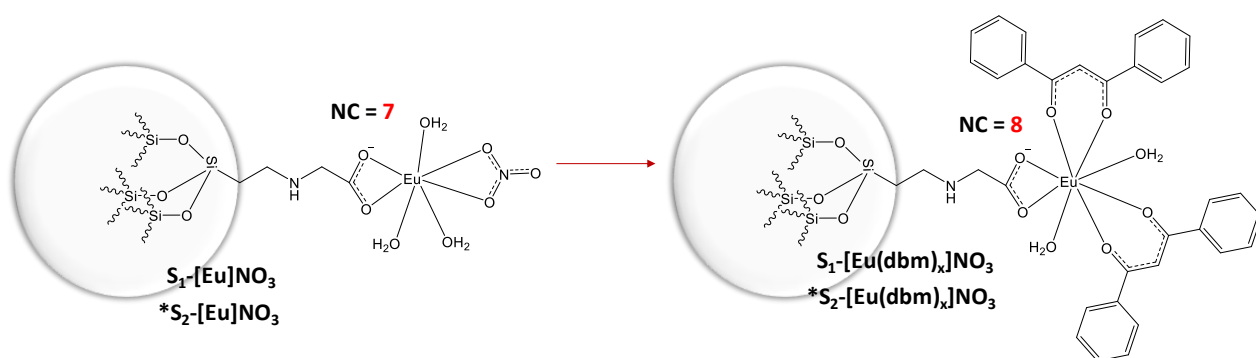
Fonte: Autor

Analisando a Tabela 12, nota-se valores praticamente idênticos entre as duas amostras com relação a qualquer parâmetro analisado, mostrando que ao utilizar nanopartículas de sílica com diâmetros próximos, nas mesmas condições de síntese, houve uma boa coerência dos dados obtidos, validando a metodologia utilizada. Um detalhe que chamou atenção nos híbridos sintetizados com o nitrato de európio foi do número de águas de coordenação. A diferença deste número é menor do que 1, indicando que provavelmente apenas 1 tenha se deslocado ao entrar o dbm. Entretanto, vemos novamente valores de A_{rad} e Ω_2 muito próximos indicando que o mesmo número de ligantes dbm está coordenado em ambas as amostras. Foi evidenciado por FTIR a presença do íon nitrato nas amostras S₁-[Eu]NO₃ e *S₂-[Eu]NO₃ (vide espectros, Figura 39 (a) e (b)) antes da adição de dbm, mas não após, provavelmente esse íon também foi substituído pelo ligante dbm. O íon nitrato é mais coordenante do que os íons cloretos, e também pode se coordenar de forma bidentada, sendo possível por tanto a troca de 1 nitrato por 1 dbm.

Desta forma, podemos estimar que a estrutura do complexo formado inicialmente em ambas as amostras seja pela coordenação do íon európio a um grupo carboxilato de forma

bidentada, com um íon nitrado em sua esfera de coordenação e 3 moléculas de água completando a esfera de coordenação com NC igual a 7, como representado na Figura 52. Comparando os valores de A_{rad} , A_{nrad} , Ω_2 e Ω_4 dessas amostras com as sintetizadas com cloreto, podemos inferir também que houve a entrada de dois ligantes dbm deslocando o íon nitrato e uma molécula de água, como proposto na Figura 52.

Figura 52 - Possível representação ilustrativa das possibilidades de formação dos complexos de európio na superfície das nanopartículas de sílica S_1 e $*S_2$ utilizando o precursor $\text{Eu}(\text{NO}_3)_3$ e posteriormente adicionando o ligante dbm



Fonte: Autor

4.7.5 Efeito da concentração de Eu^{3+} nas propriedades fotofísicas dos híbridos finais

A Tabela 13 apresenta as propriedades fotofísicas de dois sistemas em que o tamanho das nanopartículas utilizadas são $*S_1$ (43 nm) e $*S_2$ (38 nm), sendo que em ambas as sínteses foi utilizado o cloreto de európio, nas mesmas condições, mudando apenas a estequiométrica utilizada na síntese. Para o híbrido formado com as nanopartículas $*S_1$ foi utilizada uma proporção de 1 COOH para 1 Eu^{3+} e para a amostra $*S_2$ foi utilizada 1 COOH para 0,5 Eu^{3+} .

Tabela 13 – Comparação das propriedades fotofísicas dos híbridos finais sintetizados com o precursor cloreto de EuCl_3 , utilizando partículas com tamanhos, 43 nm ($*S_1$) e 38 nm (S_2), porém com proporções de COOH-Eu diferentes.

Nome das amostras	$\langle \tau \rangle /$ ms	N_{H_2O}	$\eta /$ %	$A_{\text{rad}} /$ s^{-1}	$A_{\text{nrad}} /$ s^{-1}	$\Omega_2 /$ pm^2	$\Omega_4 /$ pm^2
$*S_1\text{-[Eu]Cl}$	0,22	4,5	8,4	381,78	4194,88	5,8	10,1
$*S_1\text{-[Eu(dbm)}_x\text{]Cl}$	0,33	2,5	25,8	780,38	2241,68	18,6	8,9
$*S_2\text{-[Eu}_{0.5}\text{]Cl}$	0,26	3,8	9,7	376,21	3513,33	6,2	8,8
$*S_2\text{-[Eu}_{0.5}\text{(dbm)}_x\text{]Cl}$	0,43	1,6	40,0	926,34	1390,62	23,0	9,7

Fonte: Autor

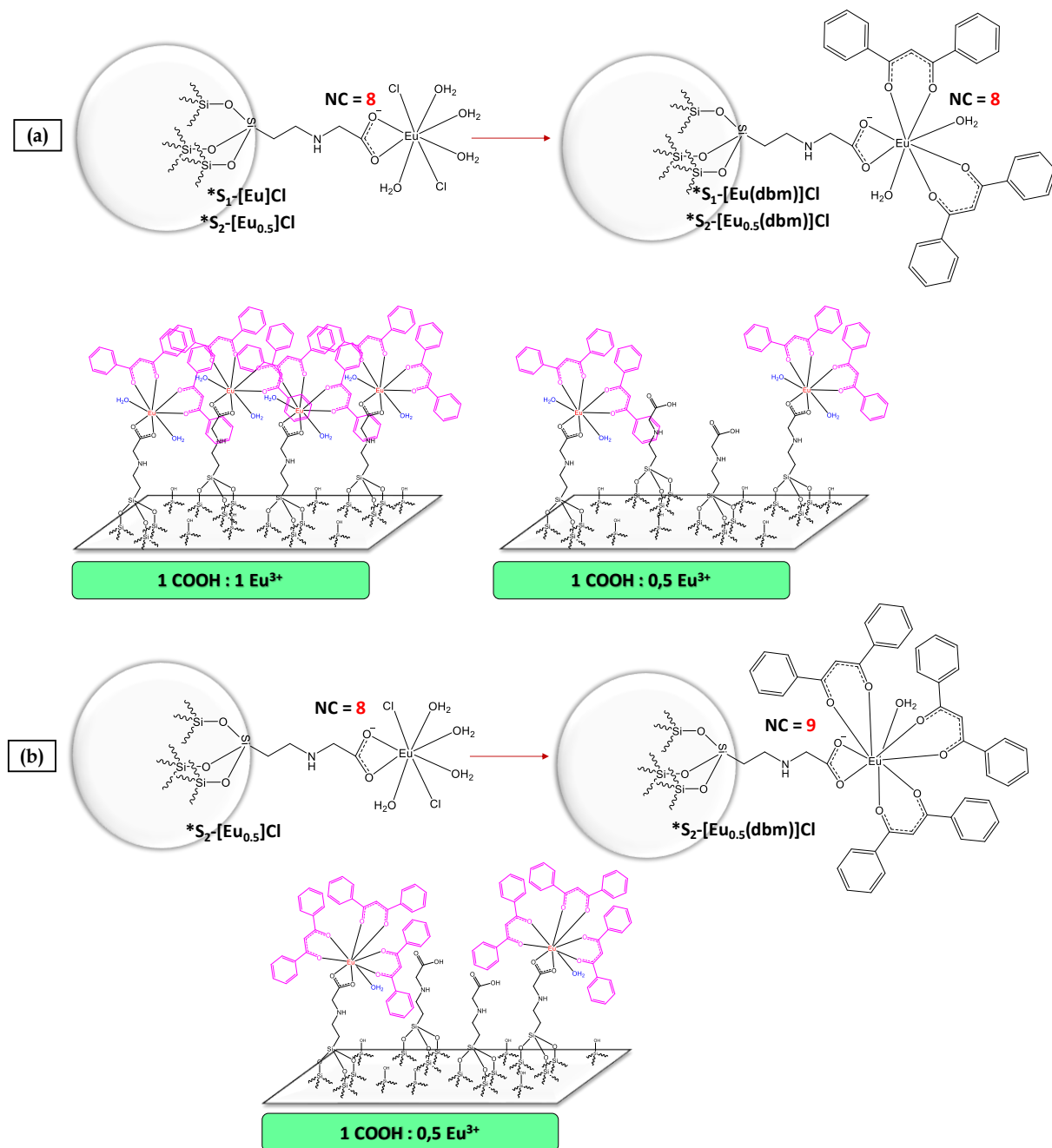
Foi notado que ao diminuir a concentração de íons Eu^{3+} na superfície das nanopartículas de sílica, houve a obtenção de um híbrido com um maior tempo de vida de decaimento do estado excitado assim como um maior valor de eficiência quântica, o que é muito vantajoso, pois além de diminuir a quantidade do precursor, tendo menos gastos, foi produzido um material com melhor propriedades luminescentes. Além disso, podemos estimar da mesma forma a estrutura dos complexos formados. Ao comparar o número de moléculas de água coordenada, vemos que em ambos os casos, o número está indo de aproximadamente 4 moléculas antes de adicionar dbm para 2 moléculas após adicionar dbm. Além disso, pela primeira vez, temos para a amostra $*S_2\text{-[Eu}_{0.5}\text{(dbm)}_x\text{]Cl}$ um valor de A_{rad} e Ω_2 maior do que o encontrado para amostra $*S_1\text{-[Eu(dbm)}_x\text{]Cl}$.

A explicação mais provável para isto é o efeito da distancia entre os complexos formados na superfície das nanopartículas. Foi proposto anteriormente que o complexo formado na amostra $*S_1\text{-[Eu(dbm)}_x\text{]Cl}$ apresenta dois ligantes dbm e duas moléculas de águas coordenadas ao íon Eu^{3+} , Figura 53 (a). Pode-se propor que esta mesma estequiometria possa ter sido formada para a amostra $*S_2\text{-[Eu}_{0.5}\text{(dbm)}_x\text{]Cl}$ já que os valores dos parâmetros fotofísicos não aumentaram a ponto de ser justificado a entrada de mais um ligante dbm. Considerando que foi utilizando uma estequiometria de 1 COOH : 1 Eu^{3+} , a superfície das nanopartículas estão saturadas e que esses complexos estão muito próximos entre si. Ao diminuirmos a concentração de íons európio podemos promover um distanciamento desses complexos evitando fenômenos de supressão de luminescência causados pela transferência de

energia entre íons Eu^{3+} . Isto poderia explicar o pequeno incremento nos valores de processos radiativos, A_{rad} , assim como de eficiência quântica. O aumento da eficiência quântica também pode ser justificado pela menor contribuição dos osciladores O-H, já que analisando os parâmetros fotofísicos, o híbrido $^*S_2\text{-[Eu}_{0.5}(\text{dbm})_x\text{]Cl}$ provavelmente apresenta uma molécula a menos de água coordenada, fazendo o valor de A_{nrad} diminuir pela metade quando comparado com a amostra $^*S_1\text{-[Eu}(\text{dbm})_x\text{]Cl}$.

Outra possibilidade menos provável é a entrada de um ligante dbm a mais, distorcendo mais o ambiente químico ao redor do íon Eu^{3+} causando um valor de Ω_2 levemente maior. Antes, uma das estruturas propostas para a formação dos complexos luminescentes na amostra $^*S_1\text{-[Eu}(\text{dbm})_x\text{]Cl}$ era a possível coordenação do európio a um grupo carboxilato, seguido da coordenação de 4 moléculas de água e dois íons cloreto, totalizando um $\text{NC} = 8$. Nota-se que os valores de A_{rad} antes de adição de dbm são semelhantes para ambas as amostras, indicando a formação de complexos com a mesma estrutura. Ao saturar a superfície com íons Eu^{3+} , vimos que dois ligantes dbm puderam ocupar sua esfera de coordenação junto com mais duas moléculas de água. A estequiometria utilizada na síntese desses materiais é baseada em 1 Eu^{3+} para 3,5 dbm, entretanto os cálculos estimam a entrada de apenas dois desses ligantes. A entrada de dois dbm em todos os casos pode ser explicada devido a grande proximidade dos íons európio e pelo grande volume espacial do dbm. Em contrapartida, utilizar uma concentração de európio menor, pode ter propiciado o afastamento dos íons Eu^{3+} na superfície das nanopartículas, fazendo com que fosse possível estericamente a entrada de 3 ligantes dbm, deslocando ainda uma molécula de água de coordenação, Figura 53 (b) o que explicaria a grande diminuição do A_{nrad} , deixando o európio com $\text{NC} = 9$.

Figura 53 - Possíveis representações ilustrativas das possibilidades de formação dos complexos de európio na superfície das nanopartículas de sílica $*S_1$ e $*S_2$ utilizando o precursor EuCl_3 quando utilizado uma proporção (a) 1 COOH : 1 Eu^{3+} e (b) 1 COOH : 0,5 Eu^{3+} .



Fonte: Autor

5 CONCLUSÃO FINAL

Nanopartículas de sílica com diâmetros entre 32 e 80 nm foram funcionalizadas com grupos ácidos carboxílicos na qual serviram de grupos quelantes para a formação dos complexos β -dicetonatos de Eu^{3+} emissores na região do vermelho.

As medidas de MEV-FEG serviram para avaliar forma e tamanho das nanopartículas e a reprodutibilidade das sínteses desses materiais. Em todos os casos foram obtidas nanopartículas com formato esférico/esferoidal, reflexo da catalise básica utilizada. Concluimos que, o protocolo utilizado em metanol mostrou um melhor controle de síntese do que o utilizado em etanol, levando a obter partículas resintetizadas com diâmetros mais próximos entre si. Ainda por MEV-FEG, observou-se que a morfologia das nanopartículas finais não foram alteradas mesmo após cinco etapas reacionais, indicando que os processos de síntese são considerados topotáticos. Por EDS foram identificados picos atribuídos aos átomos de Eu, indicando que os mesmos estão presentes e não foram lixiviados mesmo após vários processos de lavagens e centrifugações.

O RMN- ^{29}Si comprovou a ancoragem do APTES na superfície das nanopartículas aminofuncionalizadas e a concentração de grupos aminos ($-\text{NH}_2$) e carboxilatos (COOH , indiretamente) foram obtidas através da quantificação utilizando o reagente ninidrina. Valores variando entre 3,7 a 11,7 mmol de NH_2/g foram encontrados e variaram de acordo com o tamanho das nanopartículas. Da mesma forma, a concentração de grupos COOH foi estimada entre 3,2 e 10,8 mmol/g de amostra.

As medidas de TG foram realizadas até a etapa das amostras carboxilfuncionalizadas, e deram fortes indícios de que as etapas de funcionalização de fato aconteceram pelo aumento de perda de massa entre 200 e 800 °C conforme aumenta-se a cadeia carbônica do ligante ancorado na superfície das nanopartículas.

A técnica de FTIR não foi tão conclusiva nas primeiras etapas de funcionalização, mas foi extremamente útil nas etapas finais, na qual comprovou a presença dos grupos carboxilatos após a coordenação dos íons Eu^{3+} , intensificando as bandas referente aos $\nu_{\text{ass}}(\text{COO}^-)$ e $\nu_{\text{s}}(\text{COO}^-)$ onde foi possível inferir o modo de coordenação bidentado do európio aos grupos carboxilatos. Além disso, por FTIR foi possível identificar vários dos modos vibracionais referentes ao ligante dbm, indicando sua coordenação ao íon európio. A técnica de Raman/SERS, mesmo

que para apenas uma amostra, apresentou resultados interessantes na caracterização das nanopartículas carboxilfuncionalizadas, sendo possível atribuir bandas referentes aos grupos carboxilatos e aminos, comprovando que a superfície de fato foi modificada. As medidas de Potencial Zeta também apresentaram fortes indícios de que as etapas de funcionalizações de fato ocorreram.

Por fim, independentemente do tamanho das nanopartículas de sílica inicial, conseguimos realizar um estudo fotoluminescente dos híbridos finais. Foi possível avaliar as etapas de formação dos complexos na superfície das nanopartículas, onde vimos que o ligante ácido carboxílico está servindo apenas como quelante dos íons Eu^{3+} , não apresentando sensibilização por efeito antena.

Em todos os casos estudados, os espectros de emissão para as amostras antes da adição de dbm apresentaram uma banda larga na região do azul atribuída a emissão da sílica e bandas alargadas na região do vermelho atribuídas ao Eu^{3+} . Essas bandas largas refletiram em baixas purezas de cor, tempo de vida e eficiência quântica desses materiais. Nesta etapa foi avaliado através dos perfis dos espectros de emissão e das propriedades fotofísicas o efeito dos contra íons cloreto e nitrato, concluindo que possivelmente esses íons ainda podem permanecer na esfera de coordenação do Eu^{3+} e que quando utilizamos nitrato de európio, obtemos amostras com valores de tempo de vida, A_{rad} e Ω_2 maiores, dando fortes indícios de que realmente íons nitratos podem permanecer na esfera de coordenação do európio já que são ligantes mais coordenantes do que os íons cloretos.

Ao adicionar o ligante dbm, em todos os híbridos houve o favorecimento da intensidade de emissão na região do vermelho referente a transição $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_2$, promovendo um aumento no tempo de vida, eficiência quântica e Ω_2 . Através da avaliação dos parâmetros fotofísicos concluiu-se que a estrutura desses complexos apresentam-se praticamente a mesma após adicionar dbm, indicando que mesmo que estes ânions estejam coordenados, estes são deslocados juntamente com as moléculas de água.

Os parâmetros fotofísicos foram extremamente importantes, no qual a sua análise permitiu concluirmos que o efeito do tamanho das nanopartículas não alterou fortemente as propriedades do material final, mesmo indicando que partículas menores apresentaram valores de eficiência quântica levemente maiores. Vimos que houve uma reprodutibilidade de síntese na formação dos complexos luminescentes. E que ao diminuir a concentração de európio

promovemos um aumento na eficiência quântica do material, provavelmente devido a uma maior distância entre os íons Eu^{3+} o que leva a uma menor perda por transferência.

6 PERSPECTIVAS FUTURAS

- Caracterização dessas nanopartículas por MET afim de avaliar com maior precisão tamanho e forma.
- Realizar medidas de RMN de Carbono (^{13}C) para as amostras amino e carboxilfuncionalizadas.
- Realizar medidas de XPS (Espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X) das amostras amino e carboxilfuncionalizadas.
- Terminar a caracterização por SERS das amostras funcionalizadas.
- Concluir os estudos por TG das amostras com os complexos luminescentes.
- Realizar medidas de fotoluminescência a baixa temperatura.
- Avaliar a toxicidade desses materiais e realizar testes de imageamento celular avaliando a possível atuação desses híbridos em meio biológico.

7 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

¹ JAQUE, D. et al. Inorganic nanoparticles for optical bioimaging. **Advances in Optics and Photonics**, v. 8, p. 1 – 103, 2016.

² WANG, L.; ZHAO, W.; TAN, W. Bioconjugated Silica Nanoparticles: Development and Applications. **Nano Research**, v. 1, p. 99-115, 2008.

³ SOINI, E.; HEMMILA, I. Fluoroimmunoassay: Present Status and Key Problems. **Clinical Chemistry**, v. 25, n. 3, p. 353-361, 1979.

⁴ ESCRIBANDO, P. et al. Photonic and nanobiophotonic properties of luminescent lanthanide-doped hybrid organic – inorganic materials. **Journal of Materials Chemistry**, v. 18, p. 23–40, 2008.

⁵ LI, Q.-F. et al. Hybrid luminescence materials assembled by $[\text{Ln}(\text{DPA})_3]^{3-}$ and mesoporous host through ion-pairing interactions with high quantum efficiencies and long lifetimes. **Scientific Reports**, v. 5: 8385, p. 1-9, 2015.

⁶ GIAUME, D. et al. Organic Functionalization of Luminescent Oxide Nanoparticles toward Their Application As Biological Probes. **Langmuir**, v. 24, p. 11018-11026, 2008.

⁷ AZEVEDO, C. B. et al. Nanospherical silica as luminescent markers obtained by sol-gel. **Journal of Fluorescence**, v. 25(2), p. 433–40. 2015.

-
- ⁸ RANJAN, S.; JAYAKUMAR, M. K. G.; ZHANG, Y. Luminescent lanthanide nanomaterials: an emerging tool for theranostic applications. **Nanomedicine (Lond.)**, v. 10(9), p. 1477–1491, 2015.
- ⁹ SILVA, R. R. et al. Silylated Bipyridine Tris (β -diketonate) Complex. **ChemistrySelect**, v. 1, p. 5923–5928, 2016.
- ¹⁰ DUARTE, A. P. et al. Organosilylated complex [Eu(TTA)₃(Bpy-Si)]: a bifunctional moiety for the engineering of luminescent silica-based nanoparticles for bioimaging. **Langmuir: the ACS journal of surfaces and colloids**, v. 29, n. 19, p. 5878–88, 2013.
- ¹¹ SÁBIO, R. M. et al. Luminescent multifunctional hybrids obtained by grafting of ruthenium complexes on mesoporous silica. **Materials Letters**, v. 174, p. 1–5, 2016.
- ¹² TANG, L., CHENG, J. Nonporous silica nanoparticles for nanomedicine application. **Nano Today**, v. 8(3), p. 290–312, 2013.
- ¹³ FONTES, A.; SANTOS, B. S. **Quantum Dots: Applications in Biology. Methods in Molecular Biology (Methods and Protocols)**. Humana Press, New York, NY, 2014.
- ¹⁴ GELAMOS, J. P. et al. Up-converter nanophosphor Y₂O₂S:Er,Yb aminofunctionalized containing or not spherical silica conjugated with BSA. **Jornal of Luminescence**, v. 129, p. 1726-1730, 2009.
- ¹⁵ MUTTI, Alessandra Mara Garbosa. **Estudo de nanocompósitos luminescentes baseados em complexos de Eu(III) e Ir(III) ancorados à nanopartículas de sílica por bases de Schiff**. 2015, 185 p. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Biociência, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2015.
- ¹⁶ MUTTI, A.M.G. et al. Decorated silica particles with terbium complexes as luminescent biomarker for cell imaging. **Optical Materials**, v.90, p.57 - 63, 2019.
- ¹⁷ COSTA, André Lucas. **Desenvolvimento de híbridos orgânico-inorgânicos do tipo core@shell luminescentes visando aplicação em marcação biológica**. 2017, 201 p. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Biociência, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2015.
- ¹⁸ STERN, S. T.; MCNEIL, S. E. Nanotechnology safety concerns revisited. **Toxicological Sciences**, v. 101(1), p. 4–21, 2008.
- ¹⁹ LIBERMAN, A. et al. Synthesis and surface functionalization of silica nanoparticles for nanomedicine. **Surface Science Reports**, v. 69(2-3), p. 132–158, 2014.
- ²⁰ YOSHIDA, T.; YOSHIOKA, Y.; MATSUYAMA, K. Surface modification of amorphous nanosilica particles suppresses nanosilica-induced cytotoxicity, ROS generation, and DNA damage in various mammalian cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 427(4), p. 748–752, 2012.
- ²¹ BELTRÁN-OSUNA, Á. A., PERILLA, J. E. Colloidal and spherical mesoporous silica particles: synthesis and new technologies for delivery applications. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, v. 77, p. 480-496, 2016.
- ²² LIU, T-M. et al. Smart NIR linear and nonlinear optical nanomaterials for cancer theranostics: Prospects in photomedicine, **Progress in Materials Science**, v 88, p. 89–135, 2017.

-
- ²³ OLIVEIRA, L. F. et al. Functionalized Silica Nanoparticles As an Alternative Platform for Targeted Drug-Delivery of Water Insoluble Drugs. **Langmuir**, v. 32, p. 3217-3225, 2016.
- ²⁴ FLUENTE, J. M.; GRAZU, V. **Nanobiotechnology: Inorganic Nanoparticles vs Organic Nanoparticles**. Vol 4. Elsevier. 2012.
- ²⁵ FRANGIONI, J. V.; HAJJAR, R. J. In vivo tracking of stem cells for clinical trials in cardiovascular disease. **Circulation**. v. 110, p. 3378–3383, 2004.
- ²⁶ LIN, W. et al. In vitro toxicity of silica nanoparticles in human lung cancer cells. **Toxicology and applied pharmacology**. v 217. p 252-259. 2006.
- ²⁷ KIM I. Y. et al. Toxicity of silica nanoparticles depends on size, dose, and cell type. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, v. 11, p. 1407–1416, 2015.
- ²⁸ RABOLLI, V. et al. The cytotoxic activity of amorphous silica nanoparticles is mainly influenced by surface area and not by aggregation, **Toxicology Letters**, v. 206, p. 197–203, 2011.
- ²⁹ SHAO, D. et al. The shape effect of magnetic mesoporous silica nanoparticles on endocytosis, biocompatibility and biodistribution. **Acta Biomaterialia**, v. 49, p. 531–540, 2017.
- ³⁰ HUANG, X. et al. The effect of the shape of mesoporous silica nanoparticles on cellular uptake and cell function. **Biomaterials**, v. 31(3), p. 438–448, 2010.
- ³¹ LI, Y.; KRÖGER, M.; LIU, W. K. Shape effect in cellular uptake of PEGylated nanoparticles: Comparison between sphere, rod, cube and disk. **Nanoscale**, v. 7(40), p. 16631–16646, 2015.
- ³² NAPIERSKA, D. et al. The nanosilica hazard: Another variable entity. **Particle and Fibre Toxicology**, v. 7, p. 1–32, 2010.
- ³³ MURUGADOSS, S. et al. Toxicology of silica nanoparticles: an update. **Archives of Toxicology**, v. 91(9), p. 2967–3010, 2017.
- ³⁴ SHRIVER; ATKINS; **Química Inorgânica**. 4ª edição. Bookman. 2008.
- ³⁵ FARIAS, R. F. **Química de Coordenação – fundamentos e atualidades**. 2ª ed. Editora Átomo. 2009.
- ³⁶ NASSAR, E.J.; MESSADDEQ, Y.; RIBEIRO, S.J.L. Influência da catálise ácida e básica na preparação da sílica funcionalizada pelo método sol–gel. **Química Nova**. v. 25, p. 27–31, 2002
- ³⁷ PRADO, A. G. S., PADILHA, P. M. Aplicação e modificação química da sílica gel obtida de areia **Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 544-547, 2005.
- ³⁸ AIROLDI, C.; FARIAS, R. F. O uso de sílica gel organofuncionalizada como agente sequestrante para metais. **Química Nova**, v. 23, n. 4, p. 496–503, 2000.
- ³⁹ RAHMAN, I. A.; PADAVETTAN, V. Synthesis of Silica nanoparticles by Sol-Gel: Size-dependent properties, surface modification, and applications in silica-polymer nanocomposites a review. **Journal of Nanomaterials**, v. 2012, p. 1-16, 2012.
- ⁴⁰ BRINKER, C.J. Hydrolysis and condensation of silicates: effects on structure. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 100, p. 31-50, 1988.

-
- ⁴¹ STÖBER, W.; FINK, A.; BOHN, E. Controlled Growth of Monodisperse Silica Spheres in the Micron Size Range. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 26, p. 62–69, 1968.
- ⁴² BENVENUTTI, E. V. et al. Materiais híbridos à base de sílica obtidos pelo método sol-gel. **Química Nova**, v. 32, n.7, p. 1926-1933, 2009.
- ⁴³ MALAY, O.; YILGOR, I.; MENCELOGLU, Y. Z. Effects of solvent on TEOS hydrolysis kinetics and silica particle size under basic conditions. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, v. 67, p. 351–361, 2013.
- ⁴⁴ JAFARZADEH, M.; RAHMAN, I. A.; SIPAUT, C. S. Synthesis of silica nanoparticles by modified sol–gel process: the effect of mixing modes of the reactants and drying techniques. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, v. 50, n. 3, p. 328-336, 2009.
- ⁴⁵ PLUMERÉ, N. et al. A. Stöber silica particles as basis for redox modifications: Particle shape, size, polydispersity, and porosity. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 368(1), p. 208–219, 2012.
- ⁴⁶ NASSOR, E. C. O. et al. Influence of the Hydrolysis and Condensation Time on the Preparation of Hybrid Materials. **Materials Research**. v. 14(1), p. 1-6, 2011.
- ⁴⁷ SADASIVAN, S. et al. Alcoholic Solvent Effect on Silica Synthesis — NMR and DLS Investigation. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, v. 12, p. 5-14, 1998.
- ⁴⁸ NOZAWA, K. et al. Smart control of monodisperse Stöber silica particles: effect of reactant addition rate on growth process. **Langmuir: the ACS journal of surfaces and colloids**, v. 21, n. 4, p. 1516-23, 2005.
- ⁴⁹ SPERLING, R. A.; PARAK, W. J. Surface modification, functionalization and bioconjugation of colloidal inorganic nanoparticles, **Philosophical Transactions of the Royal Society A**, v. 368, p. 1333–1383, 2010.
- ⁵⁰ KANGO, S. et al. Surface modification of inorganic nanoparticles for development of organic – inorganic nanocomposites — A review, **Progress in Polymer Science**, v. 38, p. 1232–1261, 2013.
- ⁵¹ POPOVA, M. D. et a. Carboxylic modified spherical mesoporous silicas as drug delivery carrier. **International Journal of Pharmaceutics** v. 436, p. 778– 785, 2012.
- ⁵² BINNEMANS, K. Lanthanide-Based Luminescent Hybrid Materials, **Chemical Reviews**, v. 109, p. 4283–4374, 2009.
- ⁵³ JUNG, H.-S.; MOON, D.-S.; LEE, J.-K. Quantitative Analysis and Efficient Surface Modification of Silica Nanoparticles. **Journal of Nanomaterials**, v. 2012, p. 1–8, 2012.
- ⁵⁴ WIGHT, A. P.; DAVIS, M. E. Design and Preparation of Organic – Inorganic Hybrid Catalysts, **Chemical Reviews**, v. 102, p. 3589–3614, 2002.
- ⁵⁵ QIAN, J. et al. Carboxyl-functionalized and bio-conjugated silica-coated quantum dots as targeting probes for cell imaging. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 10(3), p. 1668–1675, 2010.
- ⁵⁶ CHEN, Z. et al. Versatile synthesis strategy for carboxylic acid-functionalized upconverting nanophosphors as biological labels. **Journal of the American Chemical Society**, v. 130(10), p. 3023–3029, 2008.

-
- ⁵⁷ HE, Y. P. et al. Synthesis and characterization of functionalized silica-coated Fe₃O₄ superparamagnetic nanocrystals for biological applications. **Journal of Physics D: Applied Physics**, v. 38(9), p. 1342–1350, 2005.
- ⁵⁸ ZHANG, Z. et al. One-step synthesis of carboxyl-functionalized rare-earth fluoride nanoparticles for cell imaging and drug delivery. **RSC Advances**, v. 5, p. 33999–34007, 2015.
- ⁵⁹ AN, Y. et al. Preparation and self-assembly of carboxylic acid-functionalized silica. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 311, p. 507–513, 2007.
- ⁶⁰ PRADO, A.G.S.; MOURA, A. O.; R. NUNES, A. R. Nanosized Silica Modified with Carboxylic Acid as Support for Controlled Release of Herbicides. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 8847–8852, 2011.
- ⁶¹ XIE, M. et al. A multifunctional mesoporous silica nanocomposite for targeted delivery, controlled release of doxorubicin and bioimaging, **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 110, p. 138–147, 2013.
- ⁶² MAJEWSKI, P.; ALBRECHT, T.; WEBWE, S. COOH-functionalisation of silica particles. **Applied Surface Science**, v. 257, p. 9282–9286, 2011.
- ⁶³ COHEN, R.; C.N. SUKENIK, C. N. Highly loaded COOH functionalized silica particles, **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 504, p. 242–251, 2016.
- ⁶⁴ EKKAPONGPISIT, M. et al. Biocompatibility, endocytosis, and intracellular trafficking of mesoporous silica and polystyrene nanoparticles in ovarian cancer cells: effects of size and surface charge groups, **International Journal of Nanomedicine** v. 2012:7, p. 4147–4158, 2012.
- ⁶⁵ MOORE, C. J. et al. Controlling colloidal stability of silica nanoparticles during bioconjugation reactions with proteins and improving their longer-term stability, handling and storage. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 3, p. 2043–2055, 2015.
- ⁶⁶ SPERLING, R. A.; PARAK, W. J. Surface modification, functionalization and bioconjugation of colloidal inorganic nanoparticles, **Philosophical Transactions of the Royal Society A**, v. 368, p. 1333–1383, 2010.
- ⁶⁷ JANICKI, R.; MONDRY, A.; STARYNOWICZ, P. Carboxylates of rare earth elements. **Coordination Chemistry**, v. 340, p. 89–133, 2017.
- ⁶⁸ ASSUNÇÃO, I. P. **O efeito odd-even dos ligantes dicarboxilatos de cadeia alifática sobre a fotoluminescência dos complexos de terras raras**. 2017, 206 p. Tese (Doutorado) – Instituto de Química da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.
- ⁶⁹ ALLENDORF, M. D. et al. Luminescent Metal-Organic Frameworks. **Chemical Society Reviews**, v. 38, p. 1330–52, 2009.
- ⁷⁰ ZHAO, J. et al. Recent developments in multimodality fluorescence imaging probes. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, v. 8(3), p. 320–338, 2018.
- ⁷¹ PATTERSON, A. P.; BOOTH, S. A.; SABA, R. The Emerging Use of In Vivo Optical Imaging in the Study of Neurodegenerative Diseases. **BioMed Research International**, v. 2014, p. 1–14, 2014.

-
- ⁷² GARCIA, R. S.; STAFFORD, S.; GUN'KO, Y.K. Recent Progress in Synthesis and Functionalization of Multimodal Fluorescent-Magnetic Nanoparticles for Biological Applications. **Applied Sciences**, v. 8(2), p. 1-23, 2018.
- ⁷³ CHAN, W. T. K.; WONG, W. T. Recent development in lanthanide coordination compounds for biomedical imaging applications. **Polyhedron**, v. 83, p. 150–158, 2014.
- ⁷⁴ TIAN, Y. et al. Silica-Coated $\text{CaF}_2\text{:Eu}^{3+}$ Nanoparticles Functionalized with Oxalic Acid for Bio-conjugation to BSA Proteins. **Chinese Journal of Chemistry**, v. 28, p. 921–927, 2010.
- ⁷⁵ DeOLIVEIRA, E. et al. Antenna effect in highly luminescent Eu^{3+} anchored in hexagonal mesoporous silica. **Chemistry of Materials**, v. 19(22), p. 5437–5442, 2007.
- ⁷⁶ LI, Y.; SUI, Y. L.; YAN, B. Photofunctional terbium centered inorganic/organic hybrid material with the functionalized 5-dihydroxybenzoate linkage. **Materials Science- Poland**, v. 30(1), p. 39–44, 2012.
- ⁷⁷ LIMA, P. P. et al. Spectroscopic Study of a UV-Photostable Organic–Inorganic Hybrids Incorporating an Eu^{3+} β -Diketonate Complex. **ChemPhysChem**, v. 7, p. 735 – 746, 2006.
- ⁷⁸ GAGO, S. et al. Highly Luminescent Tris (β -diketonate)europium(III) Complexes Immobilized in a Functionalized Mesoporous Silica. **Chemistry of Materials**, v. 17(20), p. 5077–5084, 2005.
- ⁷⁹ BÜNZLI, J. C. G. Lanthanide Luminescence for Biomedical Analyses and Imaging, **Chemical Reviews**, v.110, p. 2729-2755, 2010.
- ⁸⁰ CONNELLY, N.G., DAMHUS, T. Nomenclature of Inorganic Chemistry: IUPAC Recommendations 2005. **Cambridge: RSC Publ.**, 2005.
- ⁸¹ ROCHA, L. A. et al. Luminescence properties of Eu-complex formations into ordered mesoporous silica particles obtained by the spray pyrolysis process. **Nanotechnology**, v. 26(33), p. 335604, 2015.
- ⁸² HUANG, C. Rare earth coordination chemistry: fundamentals and applications. **Singapura: JohnWiley & Sons**, 2010.
- ⁸³ AGUIAR, F. P. et al. Luminescent hybrid material sfunctionalized with lanthanide ethylenodiaminetetraacetate complexes containing β -diketonate as antenna ligands. **Journal of Luminescence**. v. 170, p. 538–546, 2016.
- ⁸⁴ ZHANG, X. Spectroscopic studies on the luminescence properties of ternary europium complexes with different ligands. **Journal of Luminescence**, v. 130, p. 1060–1066, 2010.
- ⁸⁵ BRITO, H.F. et al. Luminescence phenomena involving metal enolates, *in*: ZABICKY, J. (ed.) **The Chemistry of Metal Enolates**, John Wiley & Sons Ltd, 2009, Cap 4.
- ⁸⁶ SILVA, A. I. S. et al. Substantial luminescence enhancement in ternary europium complexes by coordination of different ionic ligands. **RSC Advances**, v. 6(93), p. 90934–90943, 2016.
- ⁸⁷ HORROCKS, W. D. SUDNICK, D. R. Lanthanide Ion Luminescence Probes of the Structure of Biological Macromolecules. **Accounts of Chemical Research**, v. 14, p. 384–392, 1981.
- ⁸⁸ NASSAR, E. J.; SERRA, O. A. Propriedades fotofísicas de Eu^{3+} e Tb^{3+} imobilizados em sílica gel funcionalizada com β -dicetonas. **Química Nova**, v. 23(1), p. 16–19, 2000.

-
- ⁸⁹ AJLOO, D. et al. Synthesis , characterization , spectroscopy , cytotoxic activity and molecular dynamic study on the interaction of three palladium complexes of phenanthroline and glycine derivatives with calf thymus DNA. **Inorganica Chimica Acta**, v. 430, p. 144–160, 2015.
- ⁹⁰ HOZHABR, S.; ENTEZARI, M. H. Amino-functionalized silica magnetite nanoparticles for the simultaneous removal of pollutants from aqueous solution. **Applied Surface Science**. v. 333, p. 68-77, 2015.
- ⁹¹ LU, H. T. Synthesis and Characterization of Amino Functionalized Silica Nanoparticles. **Colloid Journal**, v. 75, n. 3, p. 311–318, 2013.
- ⁹² YOO, J.W.; YUN, D.S.; KIM, H.J. Influence of Reaction Parameters on Size and Shape of Silica Nanoparticles. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 6, n. 11, p. 3343-6, 2006.
- ⁹³ Image J 1.52^a. Wayne Rasband. National Institutes of Health, USA. <http://imagej.nih.gov/ij>. Java 1.8.0_112 (64 bit).
- ⁹⁴ KIM, J. M. et al. Control of hydroxyl group content in silica particle synthesized by the sol-precipitation process. **Ceramics International**, v. 35(3), p. 1015–1019, 2009.
- ⁹⁵ SHARMA, R. K. et al. Novel, efficient and recyclable silica based organic – inorganic hybrid Nickel catalyst for degradation of dye pollutants in a newly designed chemical reactor. **Applied Catalysis B, Environmental**, v. 125, p. 247–258, 2012.
- ⁹⁶ BAGWE, R. P.; HILLIARD, L. R.; TAN, W. Surface modification of silica nanoparticles to reduce aggregation and nonspecific binding. **Langmuir**, v. 22(9), p. 4357–4362, 2006.
- ⁹⁷ SOCRATES, G. **Infrared and Raman Characteristic Group Frequencies**. 3^a ed. JOHN WILEY & SONS, LTD, 2001.
- ⁹⁸ FELICZAK-GUZIŁ, A. et al. Synthesis and characterization of SBA-16 type mesoporous materials containing amine groups. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 220, p. 231–238, 2016.
- ⁹⁹ GAO, J. et al. Adsorption of benzoic acid, phthalic acid on gold substrates studied by surface-enhanced Raman scattering spectroscopy and density functional theory calculations. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 104, p. 41–47, 2012.
- ¹⁰⁰ CAMACHO, Sabrina Aléssio. Síntese de nanopartículas de ouro para amplificação do espalhamento Raman (SERS) e da fluorescência (SEF) visando aplicações sensoriais. 2018, 179 f. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Ciências e Tecnologia, Presidente Prudente, 2018.
- ¹⁰¹ PODSTAWKA, E.; OZAKI, Y.; PRONIEWICZ, L. M. Part III: Surface-Enhanced Raman Scattering of Amino Acids and Their Homodipeptide Monolayers Deposited onto Colloidal Gold Surface, **Applied Spectroscopy**, v. 59, p. 1516-1526, 2005.
- ¹⁰² DEACON, G.; PHILLIPS, R.J.; Relationships between the carbon-oxygen stretching frequencies of carboxylato complexes and the type of carboxylate coordination. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 33, p. 227-250, 1980.
- ¹⁰³ MALBA, C. et al. Structural and photophysical properties of rare-earth complexes encapsulated into surface modified mesoporous silica nanoparticles. **Dalton Transactions**., v. 43(43), p. 16183–16196, 2014.

-
- ¹⁰⁴ BINNEMANS, K. Interpretation of europium(III) spectra. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 295, p. 1–45, 2015.
- ¹⁰⁵ CARNALL, W. T.; FIELDS, P. R.; RAJNAK, K. Electronic energy levels of the trivalent lanthanide aquo ions. IV. Eu^{3+} . **The Journal of Chemical Physics**, v. 10, p. 4450–4455, 1968.
- ¹⁰⁶ NASSAR, E. J. et al. Spherical hybrid silica particles modified by methacrylate groups. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, 43(1), 21–26, 2007.
- ¹⁰⁷ SANTA-CRUZ, P. A.; TELES, F. S. Spectra Lux Software v.2.0. Recife: Ponto Quântico Nanodispositivos, UFPE, 2003
- ¹⁰⁸ SILVA, A. I. S. et al. Substantial luminescence enhancement in ternary europium complexes by coordination of different ionic ligands. **RSC Advances**, v. 6(93), p. 90934–90943, 2016.
- ¹⁰⁹ DUTRA, J. D. L.; BISPO, T. D.; FREIRE, R. O. LUMPAC lanthanide luminescence software: efficient and user friendly. **Journal of Computational Chemistry**, New York, v. 35, p. 772–775, 2014.