



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
DOUTORADO EM ENGENHARIA DE PROCESSOS**

TESE

Patrícia Tatiana Araújo dos Santos

Novos Materiais Híbridos a Base de $ZnAl_2O_4$ Dopados com Európio

Orientadores: Prof^a. Dr^a. Ana Cristina Figueiredo de Melo Costa
Prof. Dr. Marcus Vinícius Lia Fook

CAMPINA GRANDE – PB
2011

NOVOS MATERIAIS HÍBRIDOS A BASE DE $ZnAl_2O_4$ DOPADOS COM EURÓPIO

PATRÍCIA TATIANA ARAÚJO DOS SANTOS

Tese apresentada ao programa de Doutorado em Engenharia de Processos da Universidade Federal de Campina Grande-PB, em cumprimento às exigências necessárias para obtenção do grau de Doutor em Engenharia de Processos, na área de desenvolvimento de processo.

Área de Concentração: Desenvolvimento de Processos

Orientadores: Prof^a. Dr^a. Ana Cristina Figueiredo de Melo Costa
Prof. Dr. Marcus Vinícius Lia Fook

Campina Grande – PB

2011

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL DA UFCG

S237n Santos, Patrícia Tatiana Araújo dos.
Novos materiais híbridos a base de $ZnAl_2O_4$ dopados com európio /
Patrícia Tatiana Araújo dos Santos. - Campina Grande, 2011.
109f. : il.

Tese (Doutorado em Engenharia de Processos) – Universidade
Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia.
Orientadores: Prof^ª. Dr^ª. Ana Cristina Figueiredo de Melo Costa e Prof.
Dr. Marcus Vinícius Lia Fook.
Referências.

1. Biomateriais. 2. Aluminato de Zinco. 3. Európio. 4. Conjugação
Biológica. I. Título.

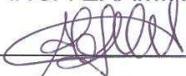
CDU 62:61 (043)

PATRÍCIA TATIANA ARAÚJO DOS SANTOS

NOVOS MATERIAIS HÍBRIDOS A BASE DE $ZnAl_2O_4$ DOPADOS COM
EURÓPIO

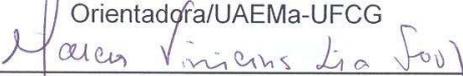
Tese apresentada ao programa de
Doutorado em Engenharia de Processos
da Universidade Federal de Campina
Grande-PB, em cumprimento às
exigências necessárias para obtenção do
grau de Doutor em Engenharia de
Processos, na área de desenvolvimento
de processo.

BANCA EXAMINADORA



Prof^a. Dr^a. Ana Cristina Figueiredo de Melo Costa

Orientadora/UAEMa-UFCG



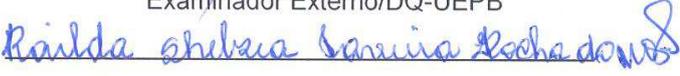
Prof. Dr. Marcus Vinícius Lia Fook

Co-Orientador/UAEMa-UFCG



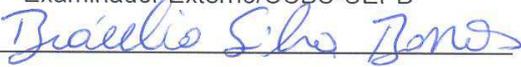
Prof^a. Dr^a. Djane de Fátima Oliveira

Examinador Externo/DQ-UEPB



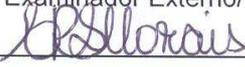
Prof^a. Dr^a. Railda Shelsea Taveira Rocha do Nascimento

Examinador Externo/CCBS-UEPB



Prof. Dr. Braúlio Silva Barros

Examinador Externo/UFRN



Prof^a. Dr^a. Crislene Rodrigues Silva Morais

Examinador Interno/ UAEMa-UFCG

Campina Grande –PB

2011

AGRADECIMENTOS

A Deus pela força que tem me dado a cada dia.

Aos meus pais Severino Francisco (in memorian) e Maria das Dores pela educação que me deu durante a minha vida, bem como meus irmãos Luiz Joaquim, Polyana Tarciana pelo carinho, apoio e incentivo.

Aos meus filhos Hugo Vinícius e Pedro Henrique pela compreensão das vezes que fiquei ausente.

Aos Professores Dra. Ana Cristina Figueiredo de Melo Costa e Marcus Vinícius Lia Fook, pela extrema orientação, dedicação, amizade, respeito e confiança em mim depositada.

Ao programa de Doutorado em Engenharia de Processos da Universidade Federal de Campina Grande, pelo incentivo financeiro na compra de passagens e diárias concedidas.

Ao Laboratório de Caracterização de Materiais da Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Campina Grande pela realização dos ensaios de difração de raios X, espectroscopia de infravermelho.

Ao Laboratório de Terras Raras, do Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco, pela realização dos ensaios de espectroscopia excitação e emissão e rendimento quântico.

Ao órgão de fomento CAPES e RENAMI (Rede de Nanotecnologia e Interfaces Nanomolecular) e ao INctINAMI (Instituto Nacional de Ciências e Tecnologia para Marcadores Integrados) pelo apoio financeiro.

A todos que de alguma forma contribuíram na minha formação pessoal e profissional.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1	Gráfico da densidade eletrônica em função da distância ao núcleo para orbitais 4f, 5s e 5p.....	21
Figura 2.2	Fotos de compostos de Eu^{3+} : (a) sólido sob luz visível, (b) sólido sob luz ultravioleta, e (c) em solução sob luz ultravioleta.....	22
Figura 2.3	Níveis de energia de uma molécula orgânica.....	26
Figura 2.4	Mecanismo de transferência de energia do ligante (T_1) para o nível de baixa energia do íon lantanídeo.....	26
Figura 2.5	Mecanismo de transferência de energia do ligante (S_1) para o nível (N_1) do lantanídeo.....	27
Figura 2.6	Mecanismo de transferência de energia do ligante (S_1) para o nível (N_2) do lantanídeo.....	28
Figura 2.7	Esquema dos níveis de energia envolvidos no processo de transferência de energia ligante-metal.....	29
Figura 2.8	Reação do agente silano em presença de água.....	34
Figura 2.9	Diferentes formas de ancoramento de organossilanos de um suporte contendo grupos silanóis: a) monodentado, b) bidentado, c) tridentado.....	36
Figura 2.10	Esquema de obtenção dos polissacarídeos: Quitina e da Quitosana.....	40
Figura 2.11	Estruturas químicas da Quitina e da Quitosana.....	40
Figura 2.12	Esquema simplificado de uma resposta imunológica.....	45
Figura 3.1	Esquema da modificação de superfície do espinélio $\text{ZnAl}_{1,9}\text{Eu}_{0,1}\text{O}_4$ utilizando (a) o 3-aminopropiltrimetoxissilano e (b) 3-aminopropiltriethoxissilano.....	56
Figura 3.2	Esquema da funcionalização do espinélio $\text{ZnAl}_{1,9}\text{Eu}_{0,1}\text{O}_4$ utilizando os monômeros metilmetacrilato e etilenodiamina(a) o 3-aminopropiltrimetoxissilano e (b) 3-aminopropiltriethoxissilano.....	58
Figura 3.3	Esquema da funcionalização do espinélio $\text{ZnAl}_{1,9}\text{Eu}_{0,1}\text{O}_4$ utilizando a quitosana a partir (a) o 3-aminopropiltrimetoxissilano e (b) 3-aminopropiltriethoxissilano.....	60
Figura 4.1	Difratograma de raios X para o espinélio ZAE	65
Figura 4.2	Difratogramas de raios X para (a) AS97 e (b) AS99	66
Figura 4.3	Difratogramas de raios X para (a) G97 e (b) G99	68
Figura 4.3	Difratograma de raios X para QP	70
Figura 4.4	Difratograma de raios X para QALSAG	70
Figura 4.5	Difratograma de raios X (a) QALCAG , (b) Q99 e (c) P2	72
Figura 4.6	Espectro de FTIR para o espinélio ZAE	73
Figura 4.7	Espectro de FTIR (a) AS97 e (b) AS99	75
Figura 4.8	Espectro de FTIR (a) G97 e (b) G99	77
Figura 4.9	Espectro de FTIR QP	78

Figura 4.10	Espectro de FTIR QALSAG	79
Figura 4.11	Espectro de FTIR (a) Q99 , (b) QALCAG e (c) P2	80
Figura 4.12	Micrografia obtida por microscopia eletrônica de transmissão para a amostra ZAE	82
Figura 4.13	Micrografia obtida por microscopia eletrônica de transmissão para a amostra (a) G97 e (b) G99	83
Figura 4.14	Micrografia obtida por microscopia eletrônica de transmissão para a amostra QP	84
Figura 4.15	Micrografia obtida por microscopia eletrônica de transmissão para a amostra (a) QALCAG , (b) Q99 e (c) P2	85
Figura 4.16	Espectro de excitação para ZAE	86
Figura 4.17	Espectro de excitação para ZAE , AS99 , G97 e G99 , emissão fixa em 614 nm.....	87
Figura 4.18	Espectro de excitação para ZAE , QP , QALSAG , QALCAG , Q99 e P2 emissão fixa em 614 nm.....	88
Figura 4.19	Espectro de emissão do espinélio $ZnAl_{1,9}Eu_{0,1}O_4$ excitação fixa em 290 nm.....	89
Figura 4.20	Espectro de emissão para as amostras ZAE , AS99 , G97 e G99 excitação fixa em 290 nm.....	91
Figura 4.21	Espectro de emissão para as amostras ZAE , QP , QALSAG , QALCAG , Q99 e P2 excitação fixa em 290 nm.	92

ÍNDICE DE TABELA

Tabela 2.1	Características das transições eletrônicas típicas para os níveis 7F_J indicados por J para o íon Eu^{3+}	23
Tabela 2.2	Limites da detectabilidade física para marcadores.....	49
Tabela 4.1	Cristalinidade e tamanho de cristalito médio para AS97 e AS99	67
Tabela 4.2	Cristalinidade, microdeformação média e tamanho de cristalito médio para G97 e G99	69
Tabela 4.3	Cristalinidade, microdeformação média e tamanho de cristalito médio para QALCAG , Q99 e P2	71
Tabela 4.4	Cálculos da emissão, reflectância e rendimento quântico de luminescência	95

SIMBOLOGIA

AB₂O₄ - estrutura do tipo espinélio normal

Ac - anticorpo

AFP - alfafetoproteína

Ag - antígeno

APS - agente silano 3-aminopropiltrimetoxisilano

AS97 - ZnAl_{1,9}Eu_{0,1}O₄ modificado a superfície com o agente silano 3-aminopropiltrimetoxisilano

AS99 - ZnAl_{1,9}Eu_{0,1}O₄ modificado a superfície com o agente silano 3-aminopropiltriétoxisilano

BTA - antígeno tumoral da bexiga

*C*₁, *C*₂, *P*₁, *P*₂ - são os coeficientes estequiométricos da reação

CA 15.3 – carcinoma de mama

CA 19.9 – carcinoma de pâncreas, intestino grosso ou fígado

CA 27.29 – marcador para câncer no sangue

CA 72.4 - antígeno utilizador como marcador para diversos tipos de câncer

CA125 – carcinoma de ovário

Ca50 – marcador tumoral do antígeno Ca 50

CEA - antígeno carcinoembrionário

C-erbB-2 - oncogenese

CFC - cúbica de face centrada

Cyfra 21.1 – Marcador sérico

DRX - difração de raios X

EIA - ensaios imunoenzimáticos

ELISA – ensaio imunoenzimático de fase sólida indireta

Fd3m - grupo espacial de simetria

FTIR - espectroscopia na região do infravermelho com Transformada de Fourier

G97 – Funcionalização do ZnAl_{1,9}Eu_{0,1}O₄ utilizando os monômeros metilmetacrilato e etilenodiamina a partir do 3-aminopropiltrimetoxisilano e (b) 3-aminopropiltriétoxisilano.

G99 – Funcionalização do $ZnAl_{1,9}Eu_{0,1}O_4$ utilizando os monômeros metilmetacrilato e etilenodiamina a partir do 3-aminopropiltriétoxisilano.

GC-MS - cromatografia e espectrofotometria gasosa de massa

HBsAb - anticorpo da doença hepatite B

HBsAg – antígeno de superfície do vírus da hepatite B

HIV – Vírus da imunodeficiência humana

HPV-16 E7- células tumorais causado pelo vírus papilloma humano

I^{131} – Iodo com número de prótons 131

IgGs – Imunoglobulina com função de anticorpo

IUPAC – International Union of Pure and Applied Chemistry (União Internacional de Química Pura e Aplicada).

K-ras – carcinoma pancreático

LDH - desidrogenase láctica

2-Microglobulina – mieloma múltiplo e linfoma maligno

MCA - antígeno mucóide associado ao carcinoma

MET - microscopia eletrônica de transmissão

MgO – Óxido de Magnésio

NaSal – Salicilato de Sódio

NMP22 - proteína da matriz nuclear

NSE - Enolase Neurônio-Específica

P2 - Funcionalização com Quitosana a partir do 3-aminopropiltrimetoxisilano na proporção 5:1

p53 – gene onde suas mutações ocorrem em mais de 50 tipos de tumores

PAP - Fosfatase Ácida Prostática

PSA - antígeno prostático específico

PSA-F - antígeno prostático

Q99 - Funcionalização com Quitosana a partir do 3-aminopropiltriétoxisilano

QALCAG - Funcionalização com Quitosana a partir do 3-aminopropiltrimetoxisilano

QALSAG - Funcionalização com Quitosana sem Agente Silano

QP - Quitosana Pura

qp - rendimento do fósforo padrão

R - áreas relativas sob os picos

r - reflectância

R21 - áreas relativas sob os picos da transição ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_2$ em relação a transição ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_1$

RIA - ensaios radioimunológicos

rp - quantidades de radiação excitante refletida pelo padrão

rx - quantidades de radiação excitante refletida pela amostra

Si(OR)₃ - grupo tri-alcóxi

T4 - tiroxina hormônio tireoidiano ativo

TC-1 – modelo da carapaça do vírus papilloma humano

TFN- α - fator necrose tumoral

TRFIA - técnica de fluoro-imunoensaio

TSH - hormônio estimulante da tireóide

UAEMa – Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais

UFCG – Universidade Federal de Campina Grande

UFRN – Universidade Federal do Rio Grande do Norte

UV-Vis - espectroscopia na região do UV visível

Y-Si(OR)₃ – Fórmula geral dos agentes silanos

ZAE – Espinélio $ZnAl_{1,9}Eu_{0,1}O_4$

$ZnAl_2O_4$ – Aluminato de zinco

β HCG - gonadotrofina coriônica humana

λ_{max} – comprimento de onda máximo

$\Delta\Phi_p$ – fluxo de fótons integrado para o padrão

$\Delta\Phi_x$ - fluxo de fótons integrado para a amostra

RESUMO

Nanopartículas de $\text{ZnAl}_{1,9}\text{Eu}_{0,1}\text{O}_4$ foram modificadas a superfície usando agentes amino-silanos, e funcionalizadas a partir de monômeros do tipo metilmetacrilato, etilenodiamina e quitosana como moléculas biocompatíveis. As nanopartículas do $\text{ZnAl}_{1,9}\text{Eu}_{0,1}\text{O}_4$ foram obtidas por reação de combustão, e silanizadas com os agentes silanos 3 – aminopropiltrimetoxissilano e 3 – aminopropiltriethoxissilano, com o intuito de tornar o caráter do espinélio hidrofóbico e em seguida funcionalizadas. As amostras resultantes foram caracterizadas por Difração de raios X, Espectroscopia de Infra Vermelho com Transformada de Fourier, Microscopia Eletrônica de Transmissão, Espectroscopia de Excitação e Emissão e Rendimento quântico. Os resultados revelaram a formação da fase cúbica $\text{ZnAl}_{1,9}\text{Eu}_{0,1}\text{O}_4$ e traços de EuAlO_3 . Para as amostras funcionalizadas com quitosana observa-se a formação da fase espinélio e da fase quitosana. Mediante os espectros de FTIR observou-se bandas abaixo de 1000 cm^{-1} atribuídas às vibrações dos sítios tetraédricos e octaédricos. As amostras funcionalizadas com quitosana apresentaram melhor complexação (interação óxido /polímero) e presença de estiramento NH atribuído ao grupo NH_2 da quitosana. A banda de C=O observada para o espinélio $\text{ZnAl}_{1,9}\text{Eu}_{0,1}\text{O}_4$ com quitosana evidenciou a funcionalização das nanopartículas. As nanopartículas $\text{ZnAl}_{1,9}\text{Eu}_{0,1}\text{O}_4$ apresentaram morfologia constituída de aglomerados com formato de agulhas, constituídos de partículas com formato aproximadamente hexagonal, e tamanho menores que 100 nm. Após funcionalização as nanopartículas $\text{ZnAl}_{1,9}\text{Eu}_{0,1}\text{O}_4$ apresentaram morfologia não homogênea, composta por um filme e partículas impregnadas de formato aproximadamente esférica, contendo fases amorfas e cristalinas, com partículas menores que 100 nm. As amostras silanizadas, funcionalizadas com os monômeros e a amostra funcionalizada com quitosana na proporção 5:1, apresentaram as linhas espectrais do íon Eu^{3+} correspondentes as transições $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_0$, $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_1$, $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_2$, $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_3$ e $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_4$. O maior rendimento quântico foi observado para a amostra funcionalizada com a mistura dos monômeros utilizando o 3-aminopropiltrimetoxissilano.

Palavras-chaves: funcionalização, aluminato de zinco, európio, conjugação biológica.

ABSTRACT

Nanoparticles $\text{ZnAl}_{1.9}\text{Eu}_{0.1}\text{O}_4$ were surface modified using amino-silane agents, and from functionalized monomers like methylmethacrylate, ethylenediamine and chitosan as biocompatible molecules. Nanoparticles of $\text{ZnAl}_{1.9}\text{Eu}_{0.1}\text{O}_4$ were obtained by combustion reaction, and silanized with silane agents and 3-aminopropyltrimethoxysilane and 3-aminopropyltriethoxysilane, in order to make the hydrophobic character of the spinel and then functionalized. The resulting samples were characterized by X-ray Diffraction, Infrared Spectroscopy Fourier Transform, Transmission Electron Microscopy, Excitation and Emission Spectroscopy and quantum yield. The results revealed the formation of cubic phase $\text{ZnAl}_{1.9}\text{Eu}_{0.1}\text{O}_4$ and traces of EuAlO_3 . For samples functionalized with chitosan, we observed the formation of spinel phase and phase chitosan. Through the FTIR spectra observed bands below 1000 cm^{-1} assigned to the vibrations of tetrahedral and octahedral sites. The samples functionalized with chitosan showed better complexation (interaction oxide / polymer) and the presence of NH stretch assigned to NH_2 group of chitosan. C = O band observed for the spinel $\text{ZnAl}_{1.9}\text{Eu}_{0.1}\text{O}_4$ with chitosan showed the functionalization of nanoparticles. Nanoparticles $\text{ZnAl}_{1.9}\text{Eu}_{0.1}\text{O}_4$ showed morphology composed of needle-shaped clusters consisting of particles with roughly hexagonal shape, and size smaller than 100 nm. Nanoparticles $\text{ZnAl}_{1.9}\text{Eu}_{0.1}\text{O}_4$ after functionalization showed inhomogeneous morphology, consisting of a film and impregnated particles of roughly spherical shape containing amorphous and crystalline phases, with particles smaller than 100 nm. The silanized samples, functionalized with monomers functionalized with chitosan and the sample in 5:1 ratio showed the spectral lines corresponding Eu^{3+} ion transitions $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_0$, $^7\text{F}_1 \rightarrow ^5\text{D}_0$, $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_2$, $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_3$ and $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_4$. The higher quantum yield observed for the sample was functionalized with a mixture of monomers using the 3-aminopropyltrimethoxysilane.

Keywords: functionalization, zinc aluminate, europium, biological conjugation.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
1.1 Objetivos	15
1.1.1 Objetivo Geral	15
1.1.2 Objetivos Específicos.....	15
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	16
2.1 Aluminato de Zinco	16
2.2 Íons Lantanídeos	19
2.2.1 Emissões do Íon Európio.....	23
2.2.2 Transferência de Energia Ligante/Metal.....	24
2.2.3 Aplicações dos Íons Lantanídeos.....	29
2.3 Agente Silano: Conceitos e Aplicação como Modificadores de Superfície	33
2.4 Funcionalização	38
2.5 Quitosana	39
2.6 Técnicas de Imunoensaios	43
2.6.1 Histórico e Conceitos Básicos.....	43
2.7 Os Marcadores	47
2.7.1 Definição e Tipos.....	47
2.7.2 Marcadores Tumorais.....	49
3 METODOLOGIA	52
3.1 Materiais	52
3.2 Métodos	53
<u>3.2.1 I Etapa: Síntese do Espinélio $ZnAl_{1.9}Eu_{0.1}O_4$ (ZAE)</u>	53
<u>3.2.2 II Etapa: Modificação da superfície das nanopartículas do ZAE com os agentes silanos (AS)</u>	55
<u>3.2.3 III Etapa - Funcionalização das nanopartículas ZAE</u>	56
I) <u>Funcionalização Com os Monômeros – Procedimento I</u>	56
II) <u>Funcionalização Usando a Quitosana - Procedimento II</u>	58
• Funcionalização com Quitosana sem Agente Silano.....	58
• Funcionalização com Quitosana com Agente Silano.....	58
3.3 Caracterizações	60
3.3.1 Difração de Raios X.....	60

3.3.2 Espectroscopia Vibracional na região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR).....	61
3.3.3 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET).....	61
3.3.4 Espectroscopia de Excitação e de Emissão.....	61
3.3.5 Rendimento quântico de Luminescência.....	61
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	63
4.1 Difração de Raios X (DRX).....	63
4.2 Espectroscopia Vibracional na região do Infra Vermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	71
4.3 Microscopia Eletrônica de Transmissão.....	80
4.4 Excitação e Emissão	84
4.5 Rendimento Quântico de Luminescência.....	92
5 CONSIDERAÇÕES E CONCLUSÕES	95
REFERÊNCIAS	97

1 INTRODUÇÃO

A origem de novos materiais com funções inteligentes é um ponto chave para a produção de novas tecnologias, e de uma maneira geral constitui a base do progresso tecnológico. A necessidade de materiais com emissão de luz sintonizável têm aumentado com o crescente desenvolvimento tecnológico. Mas, para que possam ser utilizados em aplicações tecnológicas avançadas, tais materiais devem oferecer segurança para a saúde dos indivíduos.

A dopagem de matrizes cerâmicas semicondutores com íons lantanídeos (série transição externa) também conhecidos como terras raras objetivando a obtenção de materiais com propriedades luminescentes, tem se mostrado promissora como modelo para obtenção de materiais com emissão de luz sintonizável. Principalmente devido à qualidade da luminescência observada dos lantanídeos, que podem possibilitar o desenvolvimento de dispositivos moleculares conversores de luz com aplicabilidade e como marcadores luminescentes (sensores ou sondas) em imunoenaios (BELIAN, 2008).

O interesse nos estudos híbridos de óxidos (inorgânicos) e biomoléculas (proteínas, carboidratos, enzimas) visando sua utilização em testes de imunoenaios tem aumentado significativamente, principalmente por possuírem características reconhecidas pelo nosso organismo. O uso da sílica funcionalizada com a biomolécula glutaraldeído tem se mostrado eficiente em técnicas de imunoenaios como marcadores biológicos, pois favorece a imobilização do anticorpo e assim, forma-se o complexo antígeno – anticorpo (YANG et al., 2004).

Os agentes silanos são utilizados com o intuito de modificar o caráter hidrofílico a hidrofóbico, fazendo com que a matriz orgânica ou inorgânica, tenha certa afinidade com biomoléculas (MESSING, 1975). Sua principal característica é promover a adesão entre substâncias híbridas orgânico-inorgânicas. Os silanos são utilizados como: modificadores de superfície, adesivo em resinas dentárias, cimentos ósseos, entre outras. Entre os tipos de agentes silanos mais utilizados e que tem se mostrado eficiente na funcionalização de nanopartículas temos o 3 – aminopropiltrimetoxisilano, 3-cloropropil-trimetoxisilano, e o metacriloxipropiltrimetoxisilano (YANG et al., 2004, BELIAN, 2008, SCHOLZ e KASKEL, 2008).

As biomoléculas que podem ser utilizadas para funcionalizar as nanopartículas para serem utilizadas em sistemas de detecção de imunoenaios devem apresentar alto peso molecular, boa estabilidade e sensibilidade, baixo custo, fácil conjugação entre o antígeno e a biomolécula, e detecção precisa. Entre as biomoléculas mais utilizadas e que tem se mostrado adequadas para funcionalização de alguns sistemas cerâmicos do tipo: TiO_2 , SiO_2 , são: carboidratos, enzimas, e proteínas (YANG et al., 2004, KHAN e DHAYAL, 2008).

Para que se tenha uma resposta imunológica, é necessário utilizar biomoléculas que são macromoléculas utilizadas como ponto de conjugação biológica, que possuem alto peso molecular, que quando conjugado ao antígeno (que possui baixo peso molecular) produz anticorpos que possui alto peso molecular. Dentre as biomoléculas de elevado peso molecular, a quitosana é um composto orgânico quelante (polímero natural) derivado de quitina que apresenta grupos amins e hidroxilas em sua estrutura química, o que é um ponto de conjugação biológica, pois favorece a ligação da quitosana com o antígeno, dando uma resposta imunológica (GIL et al., 1999).

O metimetacrilato e etilenodiamina são monômeros que possuem grupos funcionais $\text{C}=\text{O}$ e $-\text{NH}_2$, respectivamente em sua estrutura, o que os tornam promissores para a conjugação biológica, além disso, quando polimerizados formam uma biomolécula de alto peso molecular, o que o torna viável para utilização em testes de imunoenaios. O metilmetacrilato é utilizado como cimento ósseo em implantes de quadril, entre a prótese e o tecido ósseo do paciente; como aparelho auditivo; prótese de crânio; prótese de sustentação; entre outras aplicações. O etilenodiamina tem sido utilizado para funcionalizar suportes inorgânicos como: sílica, partículas magnéticas (SALES e AIROLDI, 2003; PAN et al., 2004).

O efeito de dopantes do tipo Eu^{3+} e Tb^{3+} em matriz cerâmica de ZnAl_2O_4 visando seu uso como fósforos de alta eficiência, foi avaliado por Barros (2005), o qual verificou que as nanopartículas de ZnAl_2O_4 apresentaram boas propriedades óticas, emitindo cores no comprimento de onda característico do vermelho (característico do íon európio) e verde (característico do íon térbio), e, presença de bandas com larguras espectrais particularmente finas, típicas dos íons lantanídeos, possibilitando o uso deste material para o desenvolvimento de marcadores luminescentes. Observou ainda, que o aumento da concentração de dopante na

matriz ZnAl_2O_4 aumentou a intensidade da luminescência. Estes resultados motivaram a utilização da matriz ZnAl_2O_4 dopada com concentração de 0,1 mol de Eu^{3+} para avaliar as propriedades luminescentes após funcionalização com moléculas biocompatíveis do tipo quitosana, etilenodiamina, metilmetacrilato, e agentes complexantes do tipo silanos, visando no futuro desenvolver marcadores (sensores) luminescentes para aplicações biológicas.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo Geral

Sintetizar e caracterizar nanopartículas $\text{ZnAl}_{1,9}\text{Eu}_{0,1}\text{O}_4$ modificada a superfície com agentes amino-silanos, e funcionalizadas com metilmetacrilato, etilenodiamina e a quitosana como moléculas biocompatíveis, visando no futuro desenvolver (sensores) luminescentes para aplicações biológicas.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Sintetizar nanopartículas de $\text{ZnAl}_{1,9}\text{Eu}_{0,1}\text{O}_4$ por reação de combustão utilizando como fonte de aquecimento uma base cerâmica resistiva.
- Modificar a superfície das nanopartículas de $\text{ZnAl}_{1,9}\text{Eu}_{0,1}\text{O}_4$ com agentes silanos.
- Funcionalizar as nanopartículas $\text{ZnAl}_{1,9}\text{Eu}_{0,1}\text{O}_4$ com quitosana, metilmetacrilato, etilenodiamina e mistura dos biopolímeros.
- Caracterizar as amostras antes e após a modificação e funcionalização por: difração de raios-X (DRX), espectroscopia na região do infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), espectroscopia na região do UV visível (UV-Vis).
- Caracterizar morfologicamente as amostras antes e após a modificação e funcionalização por microscopia eletrônica de transmissão (MET).
- Avaliar a luminescência das amostras antes e após a modificação e funcionalização por: emissão, excitação, e rendimento quântico.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Aluminato de Zinco

O aluminato de zinco é um óxido com estrutura do tipo espinélio normal AB_2O_4 , que consiste de um arranjo de empacotamento fechado CFC (cúbica de face centrada) de átomos de oxigênio com grupo espacial de simetria $Fd3m$, apresentando sítios cristalográficos não equivalentes tetraédricos A e octaédricos B, onde A e B são os sítios de rede ocupados pelos íons bivalentes e trivalentes, respectivamente (HILL et al. 1979, SAMPATH e CORDARO, 1998).

O $ZnAl_2O_4$ é um óxido semicondutor conhecido por sua larga energia de espaçamento entre as bandas de valência e de condução. Na banda de valência encontra-se elétrons na temperatura 0 Kelvin, neste estado o semicondutor tem características de um isolante. Quando há um aumento de temperatura, os elétrons absorvem energia passando para a banda de condução. Esta quantidade de energia necessária para que o elétron efetue essa transição é chamada de salto de energia (em inglês *band gap*), ou banda proibida (SINGH et al., 2008).

A energia de espaçamento entre as bandas (*banda gap*) do $ZnAl_2O_4$ policristalino é aproximadamente 3,8 eV, o que corresponde a energia para transparência em comprimentos de onda maiores que 320 nm, o que o torna útil na fabricação de dispositivos fotoeletrônicos (SAMPATH e CORDARO, 1998; HILL et al., 1979). Este material é mundialmente usado em suportes catalíticos (COSTA et al., 2006; MARION et al., 1991; WRZYSZEZ et al., 2002), como materiais fosforescentes para serem aplicados em filmes electroluminescentes (MUELLER, 2000), e como rede hospedeira para dopagem de íons de transição na fabricação de pigmentos (FUMO et al., 1999, CHEN et al., 2002).

O método mais comum para a obtenção do aluminato de zinco é o método cerâmico de mistura de óxidos convencional, o qual envolve reações no estado sólido de óxidos metálicos. Entretanto para atingir a completa reação se fazem necessárias altas temperaturas da ordem de 1300 K, sendo mantida por vários dias. Sob estas condições são obtidos materiais com baixa área superficial, impurezas provenientes do atrito entre o material e o meio de moagem, e grande consumo de energia (WRZYSZEZ et al., 2002).

Com o objetivo de minimizar as dificuldades apresentadas, pelo método de mistura de óxidos convencional, diversos métodos químicos de síntese têm sido utilizados em escala de laboratório para a obtenção de fósforos a base de aluminato de zinco dopado com íons terras raras visando, principalmente, o controle das características dos pós como pureza, morfologia, tamanho médio de partículas e homogeneidade química. Entre os vários trabalhos envolvendo diferentes métodos de síntese na obtenção do aluminato de zinco, é possível citar alguns mais importantes.

Garcia-Hipólito et al. (2003), sintetizaram filmes de ZnAl_2O_4 dopado com európio nas concentrações de 0, 5, 10, 15, 20, 25 e 30 %, pelo processo deposição spray pirolise ultrasônica, visando sua utilização como filmes fotoluminescente. Os autores só utilizaram a concentração de 30% de európio para analisar através do difratograma de raios x, e reportaram que a temperatura influenciou na fase desejada. Observaram que a 500°C , formou-se a fase hexagonal referente ao ZnO e só na temperatura de 550°C obtiveram a fase cúbica do espinélio ZnAl_2O_4 .

A temperatura não influenciou no tamanho das partículas, pois para todas as temperaturas investigadas observaram tamanho de aglomerado de $5\ \mu\text{m}$. A síntese possibilitou a obtenção de filmes finos, apresentando luminescência de cor vermelha, emitindo bandas com comprimento de ondas em 589, 615, 652 e 700nm. A banda mais intensa foi observada em 615 nm e a banda mais larga centrada aproximadamente em 540 nm é atribuída a matriz hospedeira ZnAl_2O_4 dopada com o európio (GARCIA-HIPÓLITO et al., 2003).

Strek et al. (2000), obtiveram pós de ZnAl_2O_4 dopado com 1% de európio por meio da síntese hidrotérmica, variando a temperatura de 500 e 1000°C . O tamanho de cristalito obtido foi 8 nm e 15 nm, para a temperatura de 500 e 1000°C , respectivamente. Para a temperatura de 500°C , observaram uma área superficial de $240\ \text{m}^2/\text{g}$ a para 1000°C , $32\ \text{m}^2/\text{g}$. Foi verificada a cor vermelha através do espectro de emissão excitado a 308 nm e que o tempo de meia-vida aumentou significativamente com o aumento da temperatura, de 0,90 ms a 500°C para 1,25 ms a 1000°C .

Dentre os vários tipos de métodos de síntese existentes, a síntese por reação de combustão é um método que tem sido eficaz na produção de partículas nanométricas para vários sistemas cerâmicos. Este método consiste em uma reação química muito rápida e exotérmica para formar o material. Os nitratos

metálicos (reagentes oxidantes), fonte de cátions para a formação do óxido metálico, reagem com um combustível redutor de maneira rápida, exotérmica e auto-sustentável. A reação exotérmica entra geralmente em ignição a uma temperatura inferior à temperatura de formação de fase alcançada pelo método de calcinação convencional. O resultado é usualmente um material seco, cristalino, de alta pureza, com homogeneidade química e geralmente com aspecto aglomerado poroso altamente friável (flocos porosos ligados por forças intermoleculares fracas) (KIMINAMI et al., 2009).

Singh et al. (2007), prepararam os sistemas $Ba_{1-x}Eu_xAl_2O_4$ and $Zn_{1-x}Eu_xAl_2O_4$, com $x = 0,01$ obtido por reação de combustão com temperatura de aproximadamente $500^\circ C$. Observaram a presença da fase cúbica para o sistema $Zn_{0,99}Eu_{0,01}Al_2O_4$ e fase hexagonal para o sistema $Ba_{0,99}Eu_{0,01}Al_2O_4$. Nas amostras de $BaAl_2O_4$ o íon de Eu^{2+} na concentrações de 0,01 foi incorporado em substituição aos íons de Ba^{2+} e, nas amostras de $ZnAl_2O_4$ o íon Eu^{3+} na concentração de 0,01 foi incorporado em substituição do Zn^{2+} .

O sistema $Ba_{0,99}Eu_{0,01}Al_2O_4$ foi identificado através dos espectros de fotoluminescência, pela presença de uma intensa emissão com comprimento de onda em 439 nm correspondente a excitação em 325 nm, característico para transições de emissão dos íons Eu^{2+} entre os níveis de energia $4f^65d^1 \rightarrow 4f^7$, o que corresponde a luminescência emitida para comprimento de onda característico na região do azul ou verde. Verifica-se que o baixo estado de excitação do Eu^{2+} foi devido ao elétron mais externo do orbital d. Para o sistema $Zn_{0,99}Eu_{0,01}Al_2O_4$, os autores observaram no espectro de emissão, um pico a 613 nm excitado em 395 nm característico de íons Eu^{3+} , correspondente a transições dipolo-elétrico proibidas de $5D_0 \rightarrow 7F_2$.

Barros (2005) sintetizou por reação de combustão e caracterizou quanto a estrutura, morfologia e por espectroscopia de emissão e excitação nanopartículas de $ZnAl_2O_4$ dopadas com íon lantanídeo Eu^{3+} , Tb^{3+} , em concentrações 0,01, 0,025, 0,05, 0,075 e 0,1 moles. Todas as composições apresentaram fase cúbica do espinélio $ZnAl_2O_4$. Para o dopante európio, observou-se que os picos correspondentes a pequenas quantidades das fases secundárias $EuAlO_3$ e ZnO e para o térbio apenas a composição com 0,01 mol não apresentou fases secundárias, as demais composições apresentaram a segunda fase Tb_2O_3 , ZnO e $TbAlO_3$. Para as amostras dopadas com európio, os autores obtiveram amostras com tamanho de

cristalito na faixa 10 – 18 nm, sendo que o maior tamanho de cristalito foi de 18 nm para a composição $x = 0,05$ moles de Eu^{3+} . A concentração de 0,05 moles de Eu^{3+} foi a que apresentou a maior intensidade de luminescência. O espectro de emissão foi excitado em 265 nm (λ_{max}), o qual apresentou picos característicos do íon Eu^{3+} localizados em torno de 578, 591, 613, 653 e 703 nm. Para o espectro de emissão com o íon térbio, foi excitado em 265 nm (λ_{max}), o qual apresentou picos característicos do íon Tb^{3+} localizados em torno de 489, 543, 586 e 622 nm. O maior pico de emissão foi localizado num comprimento de onda igual a 543 nm, esse pico de emissão apresentou maior intensidade para a concentração 0,010 mols de íons Tb^{3+} .

2.2 Íons Lantanídeos

Desde a antiguidade, os íons lantanídeos eram também conhecidos como terras raras. O nome “terras” foi dado a substâncias que possuíam propriedades bem definidas quando submetidas ao aquecimento, não fundiam e nem alternavam seu aspecto exterior, quase não se dissolviam em água e não liberavam gás ao se combinar com ácidos (MOELLER, 1975). A história das terras-raras aponta para a dificuldade de separação dos diversos elementos por meio de processos químicos (SILVA, 1995). Segundo Sá et al. (2000), o termo “terras raras” não vem da dificuldade de se encontrar esses óxidos, mas dos obstáculos encontrados para separá-los dos diversos minerais que os contém.

Segundo a comissão de nomenclatura em química inorgânica da IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry), os metais terras raras compreendem os elementos da série dos lantanídeos (La e Lu), cujos elementos possuem número atômico 57-71, incluindo o Sc (escândio) e Y (ítrio), enquanto que lantanídeos Ln (Lantanídeos) são reservados exclusivamente para os elementos de número atômico 58-71, que abrange os elementos do cério ao lutécio (ABRÃO, 1994).

Apesar do Sc e Y apresentarem estruturas eletrônicas diferentes dos elementos da série do La, suas propriedades químicas são semelhantes aos elementos desta série, justificando suas inclusões na classe dos elementos terras raras. Para Abrão (1994), os íons lantanídeos são quatorze elementos que seguem o lantânio na tabela periódica.

As propriedades químicas e físicas dos elementos lantanídeos são muito semelhantes; isto é uma consequência da sua configuração eletrônica. Todos os átomos neutros possuem em comum a configuração eletrônica $6s^2$ e uma ocupação variável do nível 4f (com exceção do lantânio, que não possui nenhum elétron f no seu estado fundamental) por ser energeticamente mais favorável. Porém, para os íons trivalentes este efeito desaparece e é observado um aumento regular na configuração $4f^n$ ($n = 1 - 14$). A configuração eletrônica desses elementos pode ser resumida em: $[Xe] 4f^n 5s^2 5p^6 5d^{0-1} 6s^2$ e através desta, pode-se observar que os orbitais 4f estão protegidos do ambiente químico pelos orbitais 5s, 5p e ainda 5d 6s (LEE, 1999).

Os lantanídeos que apresentam geralmente número de oxidação 3+ possuem uma configuração eletrônica $[Xe] 4f^N$ tanto no estado sólido quanto em solução (BLASSE e GRABMAIER, 1994).

Dos estados de oxidação, o trivalente é o mais comum e característico da grande maioria dos compostos de terras raras, sendo ainda o mais estável termodinamicamente. Este estado de oxidação (3+) não depende apenas da configuração eletrônica, mas também de um balanço entre as energias de ionização, reticular, de ligação e de solvatação para o caso de soluções. Nos compostos com esses íons trivalentes, os orbitais 4f estão localizados na parte interna do átomo e são totalmente protegidos pelos elétrons dos orbitais 5s e 5p, têm extensão radial limitada e não participam das ligações, ocorrendo somente um envolvimento muito pequeno com os orbitais dos ligantes. Devido a isso os íons lantanídeos formam complexos com alto caráter iônico (LEE, 1999).

Os estados eletrônicos dos íons lantanídeos são fracamente afetados por seus vizinhos mais próximos, minimizando interações com a matriz, devido ao efeito de blindagem oriundo dos elétrons situados nos subníveis 5s e 5p (Figura 2.1). Portanto, os estados energéticos permanecem praticamente invariáveis para um dado íon em vários compostos e em diferentes meios. Os espectros de absorção e emissão são constituídos de bandas espectrais estreitas, característica importante para diversas aplicações. Sua variedade e caráter complexo ocorrem em função do grande número de níveis eletrônicos (MALTA e CARLOS, 2003).

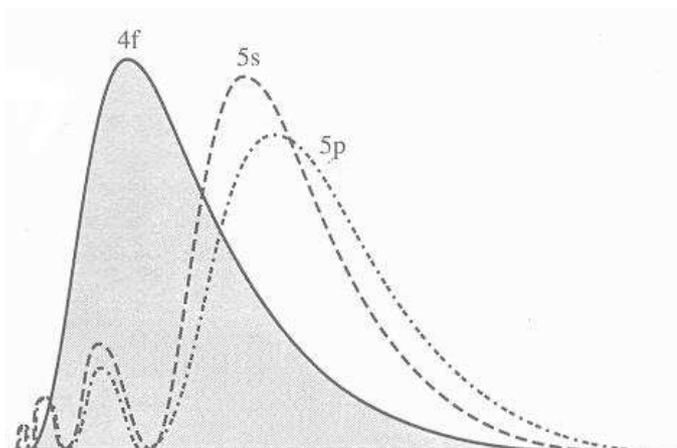


Figura 2.1 – Gráfico da densidade eletrônica em função da distância ao núcleo para orbitais 4f, 5s e 5p.
Fonte: BELIAN, 2008.

Os estados eletrônicos destes íons são representados por termos espectroscópicos $^{2S+1}L_J$, como se pode observar no diagrama da Figura 2.1 para os íons lantanídeos, onde **L** corresponde ao momento angular orbital total (0,1,2,3,...ou equivalentes à s,p,d,f,...), **S** é o número quântico de momento angular de spin total, e **J** o número quântico que descreve o momento angular total ($\vec{J} = \vec{L} + \vec{S}$) (MALTA e CARLOS, 2003).

Os diversos estados são originados devido à quebra de degenerescência da configuração eletrônica $4f^N$ em virtude da interação intereletrônica, do acoplamento spin-órbita e do campo ligante. Comparativamente, os grandes valores das constantes de acoplamento spin-órbita (1000 cm^{-1}) causam a quebra da degenerescência dos estados associados ao número quântico “J”, tornando-os bem separados e discretos. Essa quebra de degenerescência origina $2J+1$ estados, podendo ser chamada de Efeito Zeeman ou Stark, para casos de campos magnéticos ou elétricos, respectivamente. A partir desta interação os “**Js**” deixam de serem bons números quânticos e os estados do íon podem ser descritos pelas representações irredutíveis do grupo pontual ao qual este pertence (BLASSE e GRABMAIER, 1994).

A luminescência dos íons lantanídeos decorre de transições 4f-4f que são proibidas pela regra de *Laporte* (mecanismo de dipolo elétrico), porém é relaxada em complexos sem centro de inversão, pois neste caso a paridade não é bem definida (JUDD, 1962).

O relaxamento das regras de seleção gera transições do tipo dipolo elétrico forçado. Para essas transições, a intensidade depende do ambiente químico em que o íon encontra-se, sendo algumas delas chamadas de hipersensíveis (BLASSE e GRABMAIER, 1994). Alguns compostos de íons lantanídeos trivalentes quando excitados por radiação ultravioleta, exibem luminescência, que correspondem às transições 4f-4f do íon lantanídeo. Na Figura 2.2, observa-se compostos de Eu^{3+} , que quando excitados com luz ultravioleta, emitem luz vermelha.



Figura 2.2 - Fotos de óxido de Eu^{3+} : (a) sólido sob luz visível, (b) sólido sob luz ultravioleta, e (c) em solução sob luz ultravioleta.

No caso do íon Eu^{3+} cuja configuração eletrônica é $[\text{Xe}]4f^6$, os estados excitados em ordem crescente de energia são $^5\text{D}_0$ ($\sim 17000 \text{ cm}^{-1}$), $^5\text{D}_1$ ($\sim 19000 \text{ cm}^{-1}$), $^5\text{D}_2$ ($\sim 21000 \text{ cm}^{-1}$), $^5\text{D}_3$ ($\sim 24000 \text{ cm}^{-1}$), $^5\text{L}_6$ ($\sim 25000 \text{ cm}^{-1}$) e $^5\text{D}_4$ ($\sim 27000 \text{ cm}^{-1}$) (Figura 2.3) (SAMELSON et al., 1967). A luminescência para o íon Eu é observada na região do vermelho na (Tabela 2.1) devido a transições do estado excitado de menor energia $^5\text{D}_0$ aos multipletos $^7\text{F}_J$, sendo a $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_2$ considera a transição hipersensível.

Tabela 2.1 – Características das transições eletrônicas típicas para os níveis 7F_J indicados por J para o íon Eu^{3+}

Nível emissor	J	Tipo de mecanismo	Intensidade	Comentários
5D_0	0	DEF – AD	Fraca	Transição proibida não degenerada aumenta pela mistura dos J
	1	DM	Forte	Permitida, independente da vizinhança
	2	DEF – AD	Forte- muito forte	Hipersensível
	3	DEF – AD	Fraca	Proibida, sempre muito fraca
	4	DEF – AD	Forte	Sensível ao ambiente químico
	5	DEF – AD	Fraca	Proibida, raramente observada
5D_1	6	DEF – AD	Fraca	Raramente observada
	0	DM	Fraca	Raramente detectada
	1	DEF – AD	Fraca	Sensível ao meio
	2	DEF – AD	Fraca	Raramente medida

* DEF = dipolo elétrico forçado; AD = acoplamento dinâmico; DM = dipolo magnético.

Fonte: BLASSE e GRABMAIER, 1994.

2.2.1 Emissões do Íon Európio

A interpretação dos espectros eletrônicos fornece informações sobre o campo dos ligantes ao redor dos íons lantanídeos, que também são utilizados como sondas estruturais. Nesse sentido o Eu^{+3} é extensivamente utilizado devido principalmente a algumas características únicas que tornam a análise dos resultados experimentais relativamente fáceis e ricas em informações:

- estados excitados 5D_J ($J = 0, 1, 2$ e 3) são bem separados dos estados de menor energia 7F_j ($J = 0, 1, 2, 3, 4, 5$ e 6);
- o nível emissor principal, 5D_0 , e o estado fundamental, 7F_0 , são não-degenerados, levando a uma única transição ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_0$ quando o íon Eu^{+3} ocupa um único sítio cristalográfico. Este fato facilita na interpretação dos dados espectrais e fornece informação na eventual existência de mais de um sítio de simetria ocupado pelo íon Eu^{+3} ;
- a transição ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_1$ é usualmente dada como transição de referência. Isto ocorre devido o mecanismo de dipolo-magnético e, conseqüentemente, a intensidade da transição não é consideravelmente alterada por perturbação do campo cristalino;
- longo tempo de decaimento para o nível 5D_0 (milisegundos).

Com base no número de bandas observadas no desdobramento máximo $(2J+1)$ componentes das transições ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_J$, pode-se propor a simetria pontual do

ambiente químico em torno do íon Eu^{3+} . Como o principal nível emissor, $^5\text{D}_0$, e o nível fundamental $^7\text{F}_0$ são não degenerados, conduzem a uma única transição $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_0$. Assim, a presença de um único pico referente à transição $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_0$ é indicativo de um único sítio em torno do íon Eu^{3+} (KAI, 2009). Quando se observa uma assimetria em torno da transição $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_0$ do íon Eu^{3+} , sugere-se que o material analisado apresenta dois ou mais ambientes distintos (OLIVEIRA et al., 2008).

Além disso, a presença da transição $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_0$ indica a existência de um ambiente de baixa simetria, visto que esta transição é proibida para ambientes com centro de inversão. Caso esta transição apresente uma intensidade muito baixa, a simetria deve ser relativamente alta (LIMA et al., 2005).

Para que uma espécie seja usada para elucidação estrutural, seus espectros devem evidenciar diferenças quando se altera o ambiente químico ao seu redor. A transição $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_1$ do íon Eu^{3+} é de natureza dipolo-magnético, e sua intensidade é muito pouco afetada pelo ambiente do campo cristalino ao qual está submetido o íon. Ou seja, esta transição não é dependente da estrutura em suas vizinhanças. Já a transição $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_2$, de natureza dipolo elétrico, é hipersensível ao ambiente em que a espécie está inserida. Sua intensidade varia quando se altera a simetria ao redor do íon. Assim, a razão de intensidade destas duas transições pode ser usada como indicativo do sítio de simetria do Eu^{3+} (NASSAR et al., 2003 e 2007).

Como a intensidade da transição $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_1$ é muito pouco afetada pelo ambiente do campo cristalino ao qual está submetido o Eu^{3+} , pode-se considerar esta transição como um padrão interno para a medida das intensidades relativas de outras bandas do espectro. As intensidades relativas são calculadas em termos de áreas relativas (R) sob os picos. Pode-se indicar as áreas relativas da transição $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_2$ em relação a transição $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_1$, representado como R21, como uma medida da simetria ao redor do íon. Um decréscimo no valor de R21 sugere um aumento de simetria, visto que, para o valor R21, diminuir, é necessário que a transição $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_2$ seja menos intensa, o que acontecerá somente se a simetria na vizinhança do Eu^{3+} aumentar, pois esta transição ocorre preferencialmente em ambientes sem centro de inversão, ou seja, com baixa simetria (NASSAR et al., 1998).

2.2.2 Transferências de Energia Ligante/Metal

Em 1888, o físico alemão Eihard Wiedemann estabeleceu o termo luminescência como sendo: “todos os fenômenos de luz não condicionados ao aumento da temperatura” (BÜNZLI e CHOPPIN, 1989). Posteriormente, o termo luminescência foi relacionado com a diferença de energia entre dois estados quânticos, o emissor e o estado fundamental.

A luminescência é conhecida como o fenômeno de emissão de radiação eletromagnética na região do visível, por algumas espécies tradicionalmente conhecidas como fósforos e pode ser induzida de várias maneiras: a fotoluminescência é obtida a partir de absorção de radiação eletromagnética (freqüentemente UV); catodoluminescência, a partir de um feixe de elétrons; eletroluminescência, a partir de uma voltagem elétrica; luminescência de raios-X, a partir de raios-X; quimioluminescência, a partir da energia de uma reação química, etc (BLASSE e GRABMAIER, 1994).

A luminescência em compostos coordenados com íons lantanídeos envolve alguns mecanismos de transferência de energia que descrevemos abaixo:

1. emissão por parte do ligante, que se deve à transferência de energia do metal para o ligante ou por característica intrínseca do ligante;
2. emissão do íon metálico pela própria absorção dentro de sua configuração $4f^N$, que pode ocorrer via dipolo elétrico forçado, acoplamento dinâmico e vibrônico, e dipolo magnético;
3. emissão do íon lantanídeo através de uma transferência intramolecular do ligante excitado, resultando em transições radiativas dentro do nível f do íon.

Os níveis de energia localizados no ligante podem ser representados a partir das possibilidades de decaimentos da energia absorvida (Figura 2.3). As setas sólidas indicam absorção e emissão da radiação, e as pontilhadas indicam transições não-radiativas (sem emissão de fóton).

O processo de fluorescência refere-se à transição radiativa entre estados de mesma multiplicidade (ex. $S_1 \rightarrow S_0$). O tempo de vida deste processo é da ordem de 10ns (DEMAS, 1983). A fosforescência é uma transição radiativa que envolve mudança no número quântico de spin total S, ocasionando uma transição proibida por spin (ex.: $T_1 \rightarrow S_0$) e, conseqüentemente, o tempo de vida para tal transição aumenta, ficando da ordem de microsegundos ou maior.

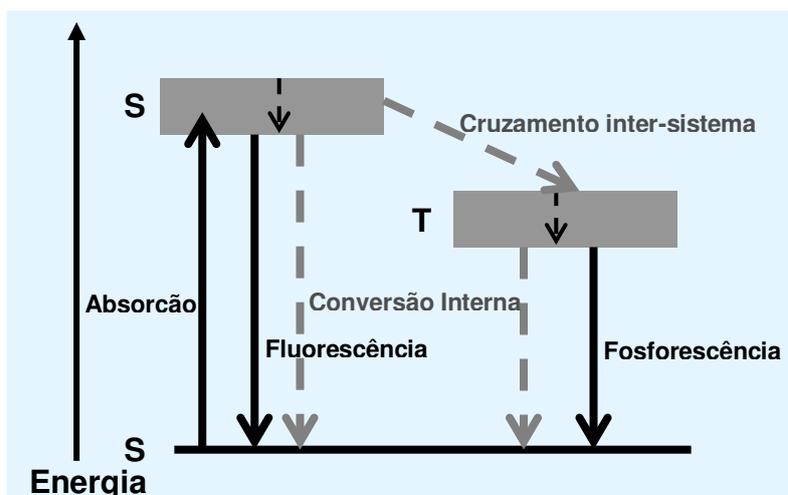


Figura 2.3 – Níveis de energia de uma molécula orgânica.
Fonte: BELIAN, 2008.

Existem três mecanismos Crosby et al., (1961) *apud* Belian (2008) pelos quais se podem descrever os processos de transferência de energia intramolecular:

- Mecanismo I – Após o cruzamento intersistema entre o estado singleto (S_1) e o tripleto (T_1) localizados no ligante, ocorre uma transferência de energia de T_1 para um estado ressonante de baixa energia (N_1), localizado no íon lantanídeo (Figura 2.4). Posteriormente, ocorre emissão de luz através das transições intraconfiguracionais $4f^N$ características do íon Ln.
- Mecanismo II – Neste caso, o estado T não participa do processo de transferência de energia, sendo considerada apenas a transferência direta do estado excitado S_1 para um estado de baixa energia (N_1) do íon lantanídeo (Figura 2.5).
- Mecanismo III – O processo de transferência de energia é descrito pelas seguintes etapas: i) transferência de energia do estado S_1 para um nível excitado do íon metálico (N_2); ii) transferência de energia do nível N_2 (Ln^{3+}) para o estado tripleto de ligante; iii) transferência de energia do estado T para o nível N_1 do íon Ln (III) (Figura 2.6).

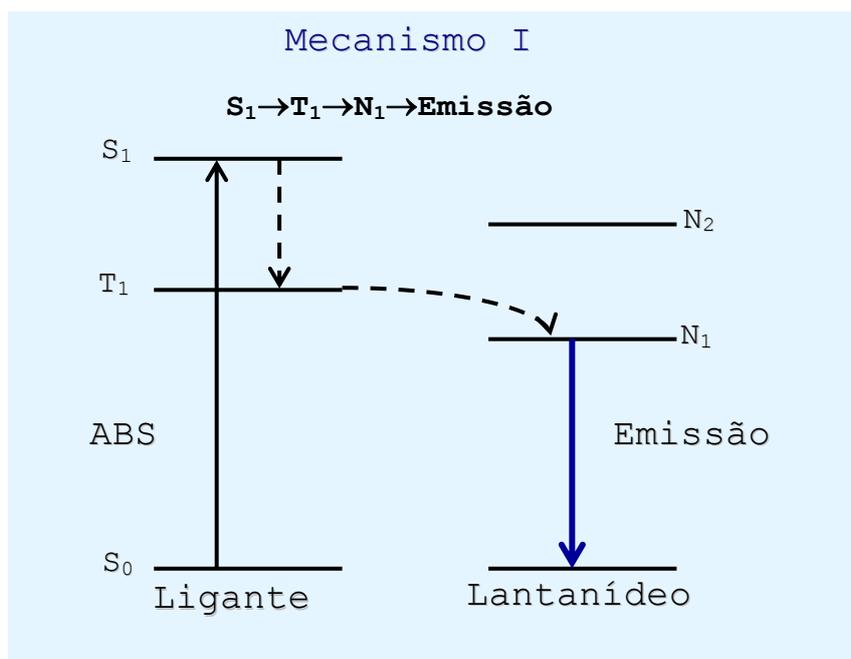


Figura 2.4 – Mecanismo de transferência de energia do ligante (T_1) para o nível de baixa energia do íon lantanídeo.

Fonte: BELIAN, 2008.

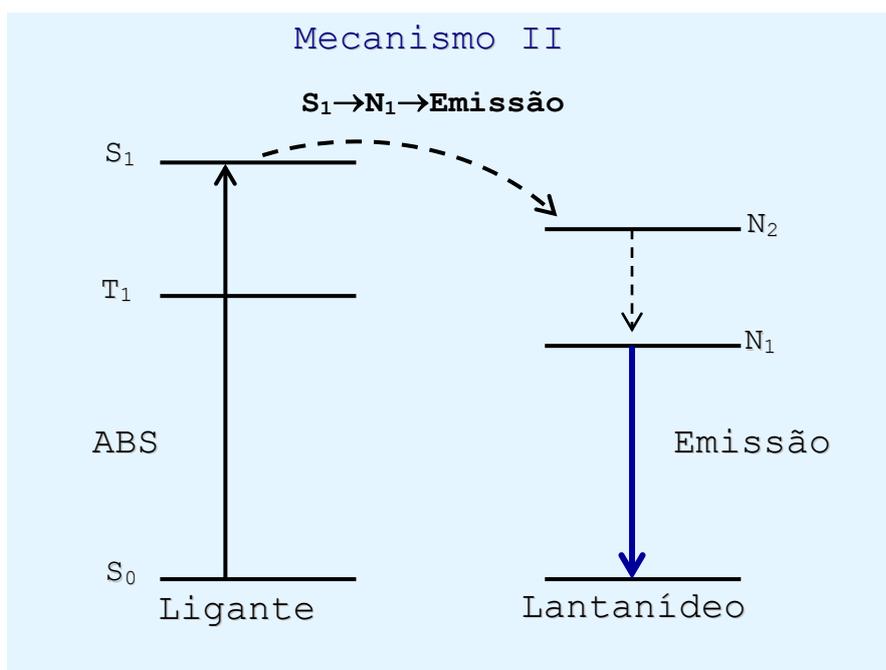


Figura 2.5 – Mecanismo de transferência de energia do ligante (S_1) para o nível (N_1) do lantanídeo.

Fonte: BELIAN, 2008.

A Figura 2.7 ilustra os principais processos fotofísicos envolvendo mecanismos de transferência de energia intramolecular em compostos de coordenação contendo íons Ln^{3+} . Os processos são descritos da seguinte forma:

- Absorção de energia na região do UV pelos ligantes, levando a excitação para o estado singlete (S_1), a partir de uma taxa de excitação ($A_{\text{exc.}}$);
- O estado S_1 pode sofrer um decaimento não-radiativo (W_{NR}) para o estado tripleto (T_1), ou transferir energia por uma taxa de W_{TE} para um estado ressonante excitado do íon lantanídeo (N_3);
- O estado tripleto pode transferir energia de forma não-radiativa para o nível (N_2) do lantanídeo, a partir de uma taxa de transferência de energia (W_{TE^*}).
- O nível N_2 pode perder energia de forma não-radiativa (relaxação) para um nível de mais baixa energia excitado do íon (N_1), sendo este o responsável pela emissão de luz.

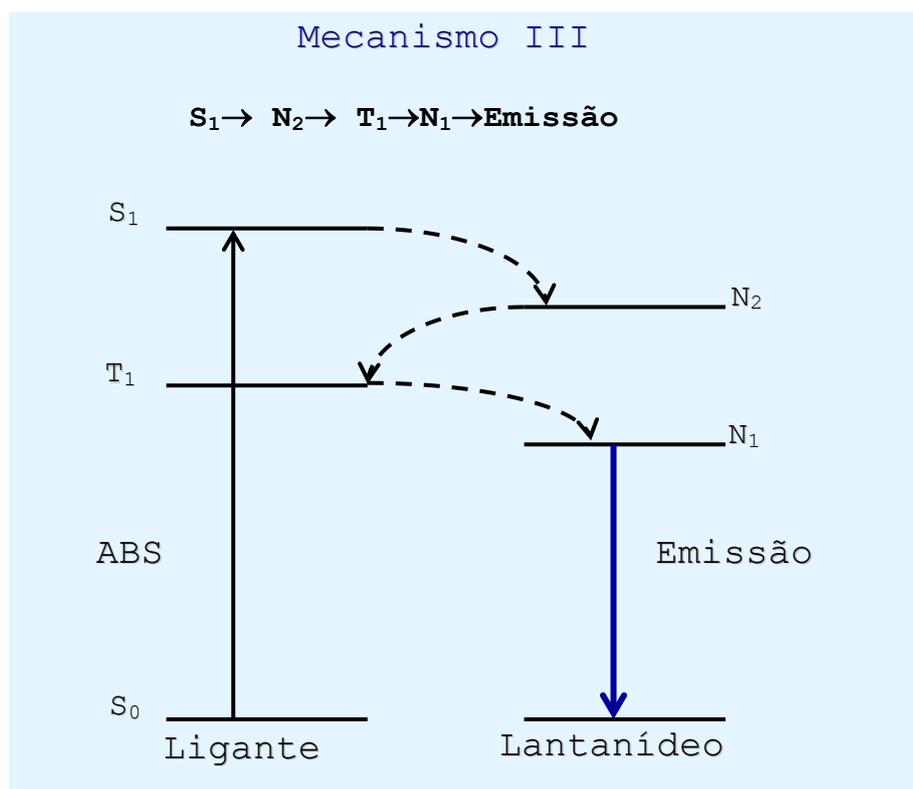


Figura 2.6 – Mecanismo de transferência de energia do ligante (S_1) para o nível (N_2) do lantanídeo.

Fonte: BELIAN, 2008.

Os canais de supressão da luminescência podem ser os mecanismos de retro-transferência (W_{RT}) e bandas de transferência de carga (TC) que tenham baixa energia.

Medidas de tempo de vida elucidam os processos que envolvem os complexos sintetizados, e a partir destes dados é possível conhecer algumas propriedades importantes, como: eficiência quântica, taxas radiativas e não radiativas. O balanceamento entre absorção, decaimentos não-radiativos, transferência de energia e taxas de emissão, fornecem a intensidade de emissão do íon envolvido.

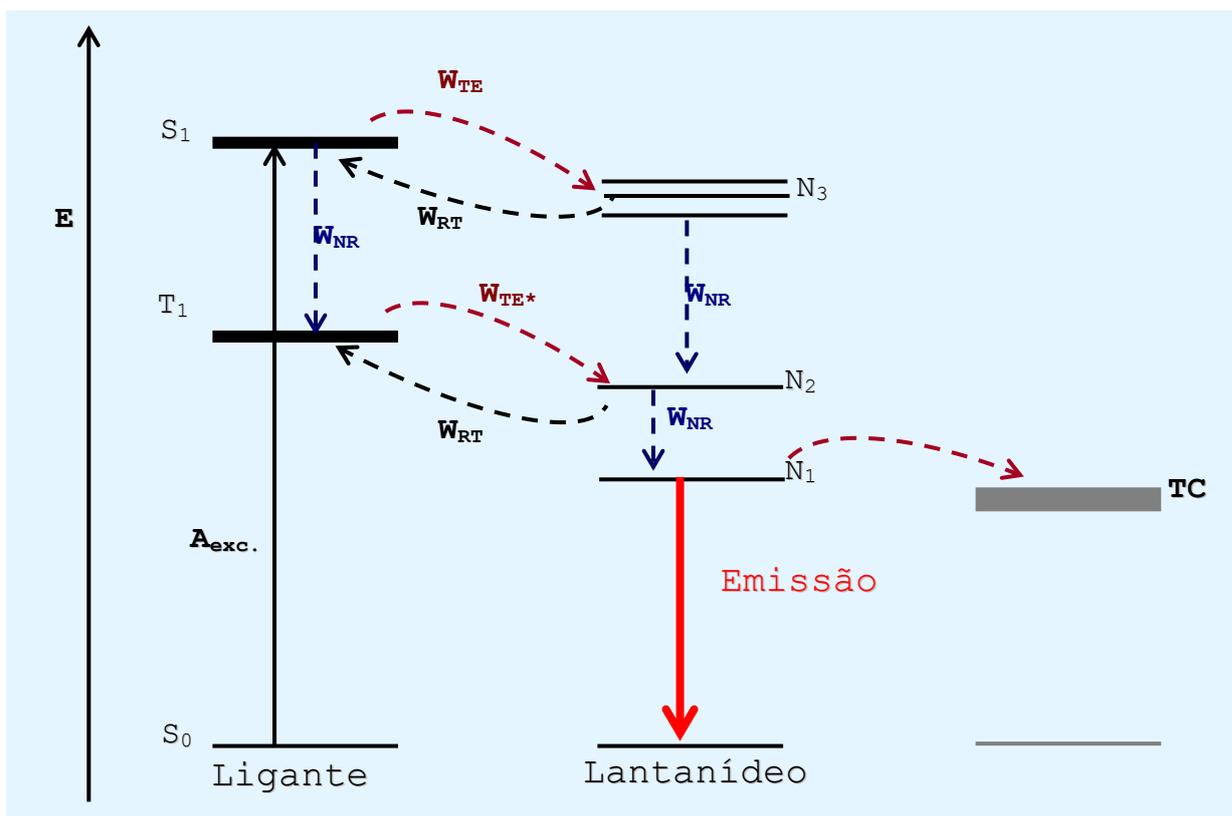


Figura 2.7 – Esquema dos níveis de energia envolvidos no processo de transferência de energia ligante-metal.
Fonte: BELIAN, 2008.

2.2.3 Aplicações dos Íons Lantanídeos

Nos últimos anos, o desenvolvimento de pesquisas envolvendo os íons lantanídeos cresceu significativamente em função das propriedades luminescentes dos elementos, possibilitando a aplicação na produção de dispositivos molecular conversores de luz, os quais podem ser utilizados, como por exemplo, em marcadores luminescentes para a utilização em técnicas de fluoro-imunoensaios (SABBATINI, 1993).

Até os anos 80, uma das maiores aplicações lantanídeos era em catálise, onde são usados geralmente na forma de óxidos (MARTINS e ISOLANI, 2005). Os lantanídeos têm sido extensivamente investigados como co-catalisadores em aplicações comerciais, pois sua adição ao material catalítico melhora a atividade, seletividade e aumenta a estabilidade térmica do mesmo. Por exemplo, os lantanídeos são usados no tratamento de emissões gasosas, rejeitos líquidos e, principalmente, no tratamento de emissões automotivas e em processos de craqueamento de frações do petróleo (estabilização de zeólitas). No tratamento de emissões automotivas, o óxido de cério (também conhecido como céria, que é um sólido não estequiométrico de duas fases, composto de óxido de Ce^{3+} e Ce^{4+}) é o mais utilizado devido às suas propriedades de oxiredução, alta mobilidade de oxigênio e também por ser um estabilizador (MAESTRO e HUGUENIN, 1995; PUCHE e CARO, 1998).

Na indústria de vidro os lantanídeos são também muito utilizados e o cério é um dos elementos mais empregados. O primeiro estudo de cério em vidro foi feito por Schott em 1880; este é usado na forma de óxido nos materiais de polimento de vidro e também na descoloração do mesmo. Como todos os vidros, com exceção daqueles de alta qualidade óptica, contém ferro e este absorve luz dando uma coloração verde intensa ao vidro, então, adiciona-se óxido de cério com a finalidade de oxidar Fe(II) a Fe(III); assim, o vidro que inicialmente tinha coloração verde passa a ter uma coloração amarela azulada. Para neutralizar este tom resultante utiliza-se um corante de cor complementar como, por exemplo, o óxido de neodímio. Na coloração de vidro, a mistura Ce/Ti é utilizada para dar a coloração amarela, Nd/Se ou Er para coloração rósea, Nd a coloração azul violeta e Pr a cor verde (VICENTINI et al., 1980; MAESTRO, 1985; PUCHE e CARO, 1998).

Devido ao fato de o íon cério absorver fortemente na região do ultravioleta, é também utilizado na fabricação de lentes oftálmicas especiais para uso solar e na fabricação de recipientes de vidro que absorvem a radiação ultravioleta para serem usados, por exemplo, para armazenar alimentos que são afetados pela luz. Uma mistura, Eu/Ce é utilizada na fabricação de óculos escuros (ABRÃO, 1994).

Outra aplicação dos lantanídeos é na fabricação de lasers. Os materiais a serem utilizados como laser ativo, para a obtenção de alta potência, deve possuir linhas de emissão (luminescência) estreitas, bandas de absorção intensas e tempos de decaimento do estado metaestável longos para armazenamento de energia.

Algumas matrizes sólidas apresentam estas características quando são incorporadas pequenas quantidades de impurezas. Os lantanídeos apresentam naturalmente estas características, pois possuem transições intraconfiguracionais proibidas por dipolo elétrico e, portanto, com tempos de decaimentos longos, além de os elétrons estarem relativamente blindados com relação ao campo cristalino sendo, então, pouco sensíveis ao hospedeiro (VICENTINI et al., 1980; REISFELD, 1987).

Em sistemas biológicos os elementos lantanídeos têm sido extensivamente estudados, devido às suas excelentes propriedades, principalmente, as espectroscópicas e magnéticas (GALAUP et al., 2002).

Esses elementos são geralmente usados como sondas espectroscópicas no estudo de biomoléculas e suas funções, especialmente proteínas que se ligam ao cálcio. Eles são usados também como agentes de contraste em RMN (Ressonância Magnética Nuclear), devido às suas propriedades magnéticas (BÜNZLI e CHOPPIN, 1989).

Nos sistemas biológicos os íons lantanídeos, todavia, interagem com materiais biológicos em caminhos específicos, substituindo os íons cálcio, bem como outros íons, tais como Zn(II), Mg(II), Fe(II) e Fe(III), fornecendo informações sobre esses materiais e os processos químicos ocorridos com biomoléculas que contém os elementos (BÜNZLI e CHOPPIN, 1989).

Estudos sobre a interação de lantanídeos com sistemas biológicos adquirem particular importância em vista da similaridade nos tamanhos dos íons Ca(II) e Ln(III), natureza de ligação na formação de sistemas biológicos, geometrias de coordenação e preferências por grupos contendo oxigênio, nitrogênio e enxofre como átomos doadores na formação de complexos.

Além disso, os raios dos íons lantanídeos são similares aos dos íons cálcio, observando-se que nos íons Ln(III) o raio varia entre 106×10^{-12} m (La) e 85×10^{-12} m (Lu), enquanto que o raio do íon cálcio é de 100×10^{-12} m (considerando-se o número de coordenação 6). Ambos os íons, Ca(II) e Ln(III), são caracterizados por uma coordenação flexível e suas ligações são principalmente de natureza eletrostática (GALAUP et al., 2002).

Diferenças significativas entre o cálcio e os lantanídeos são reveladas em suas propriedades espectroscópicas e magnéticas. O íon cálcio é incolor, diamagnético e não apresenta luminescência, enquanto que certos elementos da

série dos lantanídeos são coloridos, paramagnéticos e emitem radiação característica. As propriedades físicas e químicas dos lantanídeos fazem com que eles sejam úteis em estudos de sistemas bioquímicos e isto é uma consequência de suas estruturas eletrônicas. Também, a carga positiva extra dos íons lantanídeos, comparadas com a do íon Ca(II), na maioria dos casos, contribui para maior estabilidade dos complexos formados com proteínas. Em vista disso, os íons de lantanídeos inibem a maioria das enzimas dependentes de cálcio (GALAUP et al., 2002; TSUKUBE et al., 2001; SELVIN, 2002).

Dentre os lantanídeos, os íons Eu(III) e Tb(III), são os mais utilizados como sondas espectroscópicas, nas quais os quelatos destes elementos, tais como criptatos e β -dicetonatos, são os mais convenientes como sondas luminescentes para sistemas biológicos. Isto se deve ao fato de os mesmos serem muito estáveis e a transferência de energia do quelato para o íon Ln (Lantanídeos) ser muito eficiente (~100%), fazendo com que a luminescência seja muito intensa também, apresentando assim, alto rendimento quântico (PEURALAHTI et al., 2002).

Os tempos de vida destes complexos são longos (100 a 1000 μ s); suas transições ópticas são bastante finas; a diferença de energia entre a absorção do ligante e a emissão do íon (deslocamento Stokes) é muito grande, acima de 250 nm; possuem alta sensibilidade de detecção (10 molL^{-1}); têm boa biocompatibilidade e facilidade de se ligarem ao reagente bioanalítico usado como, por exemplo, o anticorpo (PEURALAHTI et al., 2002; PUCHE e CARO, 1998).

As propriedades luminescentes dos íons lantanídeos são altamente sensíveis a radiação na região ultra-violeta e infravermelho, possibilitando sua aplicação como métodos de diagnóstico. Além da luminescência eles coletam e transferem energia, e apresentam fotoestabilidade. O térbio e o európio são mais usados para o desenvolvimento de técnicas de imunoenaios, porque existe a possibilidade de associação O-H e C-H (PETROVAS et al., 1999).

Nanopartículas de európio foram utilizadas para quantificar a dosagem sérica do PSA-F, que é o antígeno prostático e os resultados confirmou a alta sensibilidade deste, durante o processo de imunoenasão (SOUKKA, 2003).

Baseado nas propriedades luminescente do európio e do samário Wu et al., (2003), desenvolveu um método para verificar simultaneamente a dosagem sérica de dois hormônios da tireóide: o TSH (hormônio estimulante da tireóide) e a tiroxina (T4) (hormônio tireoidiano ativo), por meio da técnica de fluoro-imunoenasão (TRFIA).

A correlação dos valores obtidos entre um método convencional e o TRFIA proposto, demonstrou que a quimioluminescência e o tempo de resolução dos íons lantanídeos é mais eficaz quando há a utilização da técnica de imunensaio TRFIA.

Brouwers et al. (2003), comparou duas técnicas de imunensaio: A técnica de imunensaio TRFIA e a GC-MS (cromatografia e espectrofotometria gasosa de massa) utilizando o európio como traçador para identificar a presença de estrogênio em urina. Observaram que a técnica de imunensaio TRFIA, apresentou uma maior precisão, redução do tempo de resolução e luminescência mais eficientes quando comparada à técnica GC-MS.

Mukkala et al. (1997), determinaram o fator necrose tumoral (TFN- α) utilizando um método altamente sensível que associa uma enzima específica ao térbio. O autor revelou que o imunensaio proposto é simples e rápido, e que é capaz de mesurar o TFN- α e espécies biológicas.

2.3 Agente Silano: Conceitos e Aplicação como Modificadores de Superfície

Um dos grandes desafios que despertou enorme interesse dos pesquisadores em Química desde a segunda metade do século passado foi sem dúvida a possibilidade de modificar a superfície de um material, que pode ser um óxido inorgânico ou polímero, por meio de reações simples ou complexas, visando o proveito das propriedades físicas e químicas dos materiais resultantes e conseqüentemente, torná-los úteis em várias aplicações tecnológicas como: biossensores, aviação, implante ósseo, etc.

Dentre os materiais de características poliméricas, pode-se destacar: poliéster, poliamina, poliuretano, celulose, dextrana, agarose, etc e, os materiais inorgânicos como a sílica, zeólita, vidro, argila, silicato, hidroxiapatita, e uma variedade de óxidos metálicos. As primeiras modificações de superfícies desses materiais começaram primariamente, quase sempre em academias, visando aplicações com o intuito de aproveitar os novos compostos para fins catalíticos (HARTLEY e VERZEY, 1977).

Para promover a interação entre materiais orgânicos e inorgânicos se faz necessário a modificação da superfície da partícula inorgânica com um agente modificador. Vários modificadores podem ser usados, entre alguns importantes

podemos citar: cloropropiltrimetoxissilano, vinil triclorossilano, aminopropilsilano, mercaptoalquiltrialcoxissilano.

Os agentes silanos são moléculas bifuncionais com a fórmula geral $Y-Si(OR)_3$, que podem atuar como promotores de adesão ou como co-agentes de reticulação. A principal vantagem decorrente de sua utilização é a promoção da aderência entre materiais orgânicos e inorgânicos. O grupo tri-alcóxi $Si(OR)_3$ corresponde à extremidade sílico-funcional que, em presença de água, é hidrolisada para formar grupos silanol ($Si-OH$), originando moléculas de álcool (Figura 2.8). Esse comportamento apresentado pelo grupo tri-álcoxi, é relevante do ponto de vista prático, porque os silanos com tais grupos reagem facilmente com substratos hidroxilados. E como resultado dessa reatividade, forma-se uma ligação covalente entre as moléculas do silano e a superfície hidroxilada de um suporte, com consequente eliminação do correspondente álcool (DESCHLER et al., 1986).

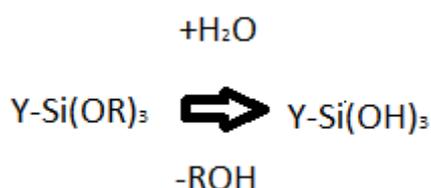


Figura 2.8 - Reação do agente silano em presença de água.
Fonte: BIRKOFER e RITTER, 1965.

Esses grupos Y (organo-funcional) e $Si(OR)_3$ (tri-alcóxi) são consideravelmente reativos e permitem a ligação da molécula de silano a substratos inorgânicos, como metal e vidros. O silano também possui uma extremidade organo-funcional (Y) (Figura 2.9) que pode conter grupos alquil, aril, vinil, amina, epóxi, metacrilato e outros, e possibilita a reação da molécula com matrizes poliméricas (BIRKOFER e RITTER, 1965). Nesse trabalho o organo-funcional utilizado é do tipo amina.

No decorrer de uma série de reações, o agente sililante é imobilizado na superfície do suporte. O termo sililação refere-se à fixação no suporte de um composto triorganossilil, principalmente espécies como trimetilalcoxissilil em superfícies, obtendo assim compostos silanos organofuncionalizados (DESCHLER et al., 1986; BIRKOFER e RITTER, 1965). Os silanos organofuncionalizantes mais utilizados são do tipo bifuncional: $Y_3Si-R-X$.

O agente silano apresenta às duas extremidades da molécula de silano, que estando livres, podem sofrer modificações químicas, separadamente ou simultaneamente, dependendo das condições de reação. A reatividade do grupo trialcoxi e a natureza específica do grupo funcional X são determinantes na utilidade de certos silanos, que podem ser extensivamente variados, facilitando uma ampla aplicabilidade desses tipos de compostos. De um modo geral, após a imobilização no suporte, o novo material pode ser utilizado na extração de cátions metálicos de soluções aquosas ou não aquosas, catálise, trocadores iônicos, cromatografia, uso industrial, entre outros (ARAKAKI e AIROLDI, 1999).

Os suportes inorgânicos sintéticos ou naturais contêm dispersos por toda superfície uma elevada densidade de grupos silanóis (-OH), de acordo com a Figura 2.9, sensíveis ao efeito de reação que pode provocar o agente sililante. Entre os vários materiais cerâmicos existentes sintéticos e/ou naturais, o óxido sintético conhecido como “aluminato de zinco” é um dos materiais promissores para desenvolvimento de marcadores luminescentes. Este óxido é obtido por vários métodos de sínteses e tem sido extensivamente estudado, por apresentar excelentes propriedades ópticas tais como, luz, espectro eletromagnético, absorção, refração, reflexão, espalhamento, extinção, eficiência de extinção (SAMPATH e CORDARO, 1998, SINGH et al., 2007).

Por apresentar tais propriedades, este óxido pode ser aplicado em aparelhos de televisão, em fibras ópticas, lâmpadas fluorescentes, LEDs, tintas, vernizes, marcadores ópticos luminescentes, telas de computadores, detecção de radiação (raios- γ e elétrons) (BLASSE e GRABMAIER, 1994).

Este fato, impulsionou a desenvolver um marcador luminescente de $ZnAl_{1,9}Eu_{0,1}O_4$. Além disso, baseando-se em estudos levantado por outros autores que investigaram o uso de óxidos como: sílica, (YANG et al., 2004) e Fe_2O_3 , (KOH, 2005) para serem utilizados em testes de imunoensaios, modificadas com agente silano (YANG et al., 2004; BELIAN, 2008).

Para um efetivo uso do agente modificador de superfície, é necessário explorar as atividades que acompanha o grupo ativo funcional X, da molécula do organossilano. Durante o processo de funcionalização ou imobilização (modificação da superfície), a nova superfície muda suas propriedades e a mesma tem a denominação de organofuncionalizada. Para que ocorra este processo é indispensável haver a ativação dos grupos silanóis, no sentido de facilitar a ligação

hidrofóbico, e a introdução do agente silano na superfície da sílica, aumentava o caráter hidrofóbico (SANCHEZ-CAPEL et al., 2004).

Wang et al. (2008) avaliaram o efeito do agente silano 3-aminopropiltrimetoxisilano (APS) em nanocompósitos de $\text{NiFe}_2\text{O}_4/\text{SiO}_2$ preparado pelo método sol-gel, onde investigaram as proporções de APS: NiFe_2O_4 de 1:11, 1:22 e 1:33. Os autores observaram a fase majoritária da ferrita com distância interplanar principal (311) em todas as amostras obtidas e o tamanho de cristalito aumentou com a elevação da proporção da quantidade de ferrita para sílica. O maior tamanho de cristalito foi observado para a composição 1:33 (1: APS, 33: NiFe_2O_4) que foi 10,3 nm, e o menor tamanho de cristalito foi observado para a composição 1:11 (1: APS, 11: NiFe_2O_4) que foi 5,9 nm.

O moderado raio de APS para amostra 1:33 proporcionou uma ponte entre a SiO_2 e NiFe_2O_4 , formando nanopartículas esféricas. Através da microscopia eletrônica de transmissão, os autores observaram que o raio do agente silano APS modificou a morfologia do nanocompósito, pois o menor raio de APS resultou numa maior interação da NiFe_2O_4 na superfície da sílica amorfa (WANG et al., 2008).

Silva et al. (2006) estudaram complexos luminescentes de európio encapsulado em mesoporos de sílica. Os autores sintetizaram a sílica em microondas e em seguida encapsularam o complexo na sílica modificada com o agente silano (3-aminopropiltriétoxissilano), e na sílica sem o uso de agente silano. Observaram através da difração de raios X, que os picos referentes ao agente silano eram observados em ângulos baixos ($0,4 - 0,8^\circ$).

Esse comportamento também foi observado por Matos et al., (2002), quando obteve sílica pelo método de síntese sol-gel e por Fantini et al., (2004) quando sintetizou sílica mesoporosa hidrotermalmente utilizando microondas com temperatura fixa de 100°C por 60 minutos e depois calcinado a 600°C . Pela análise termogravimétrica Silva et al., (2006) observaram que a decomposição térmica do agente silano e o complexo de európio ocorreu na temperatura de 373-1173 K. Os autores ainda confirmaram a presença de agente silano por meio da comparação da sílica modificada e a não modificada por meio da análise termogravimétrica.

A sílica modificada apresentou menor área superficial ($44\text{ m}^2/\text{g}$) quando comparado com a sílica não modificada ($748\text{ m}^2/\text{g}$). Os espectros de emissão revelam que o complexo de európio com a sílica modificada com agente silano apresentou baixas intensidades quando comparado com o complexo de európio.

Atribuem essa baixa emissão ao encapsulamento de parte dos íons de európio e a presença de água no complexo de európio.

Yang et al. (2004), funcionalizou nanopartículas de sílica através do agente silano 3-aminopropiltrimetoxisilano e o carboidrato glutaraldeído que é um monossacarídeo de estrutura química bastante simples, que recebe esse nome por apresentar um grupo funcional aldeído em sua estrutura. Utilizaram as nanopartículas funcionalizadas em técnicas de imunensaio, imobilizando o anticorpo HBsAg (antígeno de superfície da hepatite B) e analisaram pelo método convencional ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay), que é um teste imunoenzimático que permite a detecção de anticorpos específicos no plasma sanguíneo. As nanopartículas de sílica funcionalizadas e imobilizadas com HBsAg apresentaram precisão, e confiabilidade e resultados satisfatórios de 92% nos testes de recuperação sobre a média de seis determinações, com um desvio padrão relativo de 9,0% .

Ma et al. (2006), estudaram a funcionalização de nanotubos de carbono usando agente de acoplamento do tipo silano glicidoxipropiltrimetoxisilano. Os nanotubos funcionalizados apresentaram melhor estabilidade, devido ao efeito da funcionalização na superfície. A boa dispersão quando dissolvidas em etanol observada para os nanotubos funcionalizados, foi devido à conversão da superfície de hidrofóbica para hidrofílica, onde os grupos funcionais da superfície dos nanotubos ligaram-se ao hidrogênio do silano formando pontes de hidrogênio. Comprovaram a funcionalização através do espectro de XPS, pelo o aparecimento de uma banda em 282,8 eV atribuída a ligação Si-C. A detecção do Si através da técnica de EDX confirma que este material é amorfo derivado a partir de moléculas silanos.

2.4 Funcionalização

A funcionalização é caracterizada pela modificação química da superfície para manter uma fotoestabilidade elevada, alta luminescência e, principalmente baixa toxicidade. Ela nos proporciona condições ótimas para marcações em materiais biológicos e permite o monitoramento através da luminescência das nanopartículas (CHAVES, 2006). Através da funcionalização pode-se observar possíveis alterações fisiológicas e destacar resultados interessantes na biologia.

Para obtenção dos resultados confiáveis é necessário estudar de que forma as nanopartículas serão acopladas ao material biológico. Através da modificação química da superfície das nanopartículas, pode-se torná-las biocompatíveis, facilitando a entrada do marcador e a especificidade da marcação. Para a funcionalização é necessário o uso de pequenas moléculas orgânicas (funcionalizantes) capazes de formar ligações químicas com a superfície das nanopartículas. Assim, novos grupos funcionais da superfície da partícula, podem se complexar aos componentes biológicos. Moléculas mais complexas também podem ser usadas como funcionalizantes desde que estes, não suprimam a luminescência das nanopartículas. Imunoglobinas, proteínas produzidas pelo sistema imunológico de mamíferos, também são utilizadas como funcionalizantes. Elas são capazes de reconhecer agentes patógenos ao organismo (CHAVES, 2006).

O recobrimento das nanopartículas com polímeros vem sendo muito destacado através do crescimento de cadeias poliméricas sobre sua superfície. A força de ligação química entre a nanopartícula e a cobertura de polímero torna o nanomaterial muito mais estável, podendo ser submetido a processos industriais como se fosse um plástico, sem perder as propriedades características das nanopartículas (CHAVES, 2006).

2.5 Quitosana

Quitina e quitosana (Figura 2.10) são homopolímeros e copolímeros, respectivamente. Constituídos por unidades *N*-acetil-*D*-glicosamina e *D*-glicosamina em proporções variáveis, sendo que o primeiro tipo dessas unidades predomina no caso de quitina, enquanto quitosana é composta predominantemente, por unidades *D*-glicosamina. A quitina é o segundo polissacarídeo mais abundante na natureza depois da celulose, sendo o principal componente do exoesqueleto de crustáceos e insetos; sua presença ocorre também em nematóides e parede celular de fungos e leveduras (KUBOTA et al., 2000).

A quitosana pode ser obtida a partir da quitina por meio da desacetilação com álcalis, podendo também estar naturalmente presente em alguns fungos, como os pertencentes aos gêneros *Mucor* e *Zygomycetes*. A Figura 2.11 representa as estruturas químicas parciais da quitina e quitosana (KUBOTA et al., 2000, SINGLA e CHAWLA 2001).

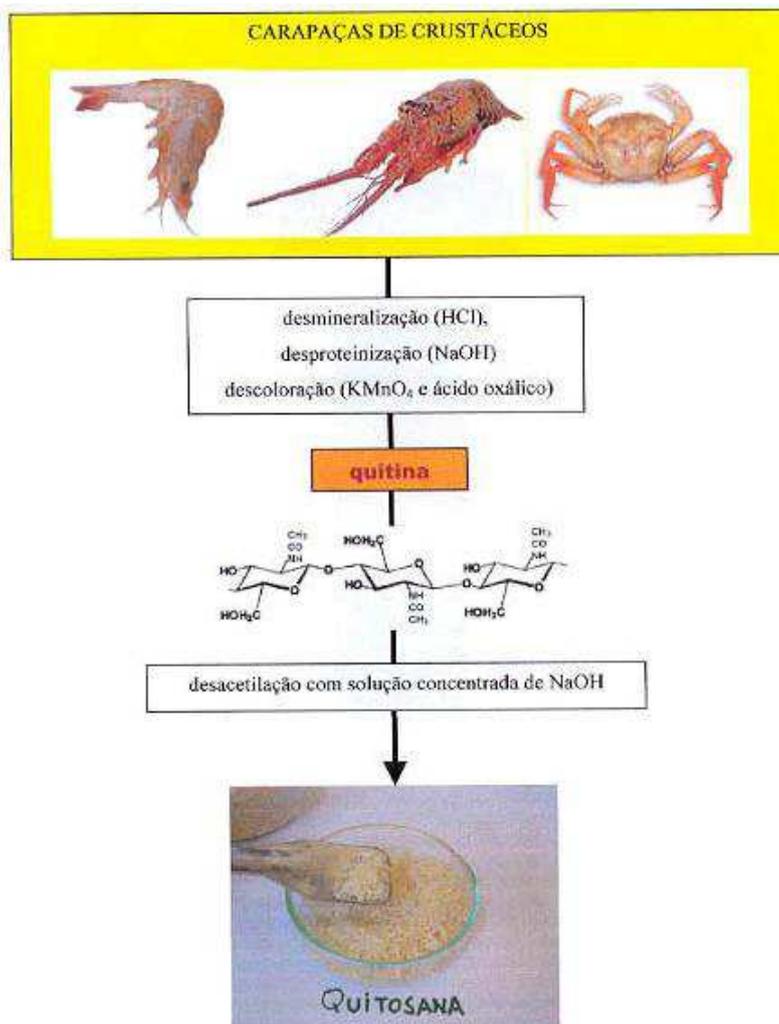


Figura 2.10- Esquema de obtenção dos polissacarídeos: Quitina e da Quitosana.
Fonte: SILVA et al., 2007.

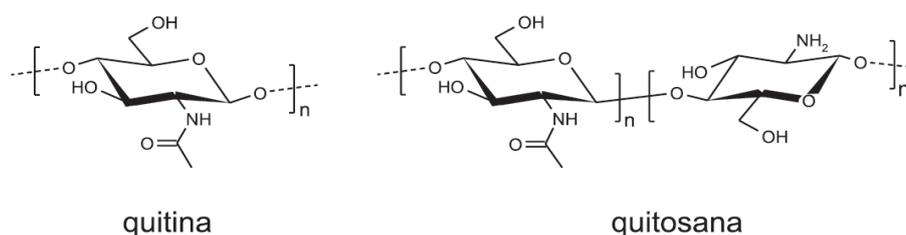


Figura 2.11 - Estruturas químicas da Quitina e da Quitosana.
Fonte: SILVA et al., 2007.

O emprego de quitina e quitosana e a pesquisa por novas aplicações têm aumentado exponencialmente em diversas áreas, como na agricultura, indústria de alimentos, mas, especialmente, na indústria farmacêutica no desenvolvimento de cosméticos e biomateriais, tais como géis, filmes e membranas poliméricas. Dentre essas áreas podemos destacar o uso da quitosana como: carreador de fármaco com

o intuito de diminuir a toxicidade das drogas utilizadas em pacientes com câncer submetidos a tratamentos quimioterápicos; na fabricação de um biosensor potenciométrico biocompatível para determinar doenças como hepatite B, em queimaduras, pois a quitosana além de cicatrizar, estimula o crescimento de novas células, entre outras. Essa aplicabilidade da quitosana está associada a propriedades como: facilidade para formação de gel, hidrofílica, biodegradável, biocompatível e anti-bactericida. Além disso, é economicamente viável, e bastante empregada na medicina, em produtos farmacêuticos, na agricultura, em biotecnologia, na indústria de cosméticos e de alimentos e, também, como adsorvente na remoção de corantes e no tratamento de efluentes industriais.

De acordo com Khor (2002), um aspecto importante na utilização de quitosana diz respeito à sua produção a partir da quitina. Esta deve ser realizada de forma adequada, de maneira que garanta, ao final do processo, a obtenção de quitosana com alto grau de pureza, sobretudo isenta de contaminantes, como proteínas, endotoxinas e metais tóxicos.

Neste âmbito, é válido ressaltar que o polímero obtido deve ser caracterizado adequadamente quanto à massa molar, grau de acetilação e distribuição deste grupo ao longo da cadeia polimérica. Estas características podem influenciar na biodegradabilidade do mesmo, principalmente na acessibilidade enzimática, influenciando a hidrólise do polissacarídeo (PHAECHAMUD et al., 2000; KHOR, 2002).

Khan e Dhayal (2008) utilizaram nanopartículas de TiO_2 com quitosana visando sua utilização em um imunossensor impedimétrico para detectar ochratoxina-A (*Aspergillus ochraceus*). Imobilizaram o anticorpo IgGs com a proteína albumina. A quitosana apresenta excelentes vantagens dentre elas, a de possuir NH_2 livres e grupos funcionais OH que podem ligar-se covalentemente com o hidrogênio (conjugação biológica).

He e Lium (2004) reportaram que o óxido de titânio apresenta excelente resposta quando utilizada em sistemas biológicos, por apresentar vantagens como: boa propriedade de adesão com substratos, facilitando a funcionalização; biocompatibilidade, tempo de meia-vida longo.

Boonsongrit et al. (2008), caracterizaram a interação da quitosana empregada como matriz para drogas de ácido benzóico, benzoato de sódio e insulina humana. Os autores observaram que a quitosana adsorvia facilmente a insulina que é uma

molécula de peso molecular alto como também moléculas pequenas de baixo peso molecular como é o caso do ácido benzóico.

Han et al. (2008), investigaram uma nova técnica quimioimunoterapia utilizando hidrogel de quitosana acoplado a doxorubicin e a vacina viral Sig/E7/LAMP-1 ambos utilizados para o tratamento de câncer de cólo de útero. Este foi injetado no interior das células tumorais do tipo HPV-16 E7 caracterização TC-1, causado pelo vírus papilloma humano, e compararam com a droga doxorubicin, que foi administrado por injeção intravenosa. A melhor atividade antitumoral foi para a composição hidrogel de quitosana acoplado a droga e vacina, e que esta atividade antitumoral é devido a liberação das drogas diretamente no interior do tumor e o prolongado tempo de exposição das drogas dentro do mesmo, quando comparado com a droga doxorubicin administrada no sistema intravenoso. O tumor foi monitorado por 17 dias in vivo e o a composição hidrogel de quitosana acoplado a droga e vacina foi quem melhor conteve o tumor.

Han et al. (2004), reportaram que a quitosana apresenta grande potencial como um sistema de carreador de drogas injetável termosensível para ser administrado em células cancerígenas.

Olson et al. (2003), revelaram que o hidrogel de quitosana pode reduzir a imunotoxicidade das drogas aplicados no tratamento da doença e, podendo ser o melhor sistema de carreador, para os agentes quimioterapêuticos e quimioimunoterapia no tratamento de tumores.

Liang et al. (2008) prepararam membranas de quitosana porosa tridimensional e encapsularam o anticorpo da doença hepatite B (HBsAb) para a fabricação de um imunossensor potenciométrico. Observaram que a membrana tridimensional de quitosana/HBsAb apresentou uma resposta imunológica rápida com o aumento do tempo, mas após três minutos esse sinal permanecia inalterado. O anticorpo estava incorporado a matriz tridimensional através do espectro na região do UV-visível, indicado por uma banda em 290 nm, que não foi observada no espectro para a matriz de quitosana tridimensional. Relataram ainda que, HBsAb/quitosana apresentou excelente compatibilidade biológica. Os mesmos avaliaram a concentração de HBsAb necessária para obter um bom sinal, essas concentrações variaram de 10 a 300 ng mL⁻¹, e a melhor resposta imunológica para serem utilizadas em pesquisas futuras foi 200 ng mL⁻¹.

2.6 Técnicas de Imunoensaios

2.6.1 Histórico e Conceitos Básicos

Os métodos imunológicos foram desenvolvidos no final da década de 50 quando, Yalow e Berson (1959) descreveram o primeiro ensaio imunológico para detectar insulina humana, o que lhes rendeu o prêmio Nobel em 1977. A partir de então, as técnicas imunohistoquímicas passaram a serem desenvolvidas como métodos para análise de macromoléculas a exemplo de enzimas e hormônios, e posteriormente, para moléculas orgânicas pequenas, como fármacos, favorecendo sua utilização na química medicinal.

Na Inglaterra em 1960, Ekins desenvolveu um método similar ao de Yalow e Berson para a determinação das concentrações de tiroxina no plasma, o qual era também baseado no princípio da ligação competitiva, embora ele empregasse uma proteína carregadora ao invés de anticorpo. Os estudos tiveram continuidade na década de 60, período que surgiram ensaios imunoenzimáticos, cujo objetivo era a identificação de localização de antígenos em preparações histológicas. Os imunoensaios tiveram sua utilidade em outras áreas como: ambiental, ocupacional (ambiente de trabalho) e de alimentos (TIJSSEN e KURSTAK, 1974; FINDLAY et al., 2000).

Embora o trabalho de Yalow e Berson tenha começado com estudos sobre o comportamento do iodo (I^{131}) como marcador para proteínas *in vivo*, só na década de 70, foi desenvolvido por Langone e Nvunakis (1975) o primeiro ensaio biológico radioativo para pesticidas. Após este ensaio, surgiram outros, também baseados na marcação radioativa, chamados ensaios radioimunológicos (radioimmunoassay, RIA) (NAKANE e PIERCE, 1966; NAKANE e PIERCE, 1967).

A partir destes eventos, surgiram várias técnicas para a medição de hormônios e outras substâncias presentes em quantidades mínimas nos fluidos corpóreos (SHARON, 2000).

Por definição, imunoensaios trata-se de técnicas analíticas que têm por base interações específicas de anticorpo/antígeno e que produzem um sinal mensurável que pode ser relacionado com a concentração de um composto numa solução (MATTOS et al., 2005).

Geiseler e James (1992) definiram imunoenaios como sendo um método analítico que quantificam substâncias biológicas em concentrações de 10^{-12} M, demonstrando alta precisão e especificidade. O princípio deste método consiste na ligação específica de uma substância biológica desconhecida ao marcador de concentração conhecida.

Desde o desenvolvimento do primeiro marcador (biosensor), em 1962, diversos outros foram construídos utilizando diferentes enzimas e procedimentos de imobilização. Nos últimos anos a construção de biosensores, (TURNER et al., 1989, FATIBELLO FILHO e CAPELATO, 1992) tem despertado considerável interesse no monitoramento de analitos nas áreas biológica, clínica, (GIL et al., 1999) e industrial, como também no monitoramento e controle de alguns poluentes ambientais (ROSATTO et al., 2001).

O crescente emprego de biosensores deve-se à possibilidade de atenderem algumas exigências que os métodos clássicos de análises não conseguem, sendo as características mais relevantes: simplicidade de construção, potencial de automação resposta rápida, redução de custo, seletividade, sensibilidade, potencial para miniaturização, precisão, facilidade de uso e pequeno volume de amostra (ROSATTO et al., 2001).

Uma das principais desvantagens encontradas nos métodos convencionais de imunoenalises está à significativa complexidade associada a sua automação e longo tempo de análise (TANG et al. 1996).

Um biosensor pode ser definido como um dispositivo de detecção, contendo um componente biológico ativo (enzimas, anticorpos, antígenos, células, etc.) diretamente acoplado à superfície de um transdutor, o qual converte um sinal biológico em sinal elétrico (ROSATTO et al. 2001, TURNER et al. 1989, CARR e BROWERS, 1980).

Antígeno são substâncias imunogênicas que possuem alta complexidade química que os diferenciam das substâncias reconhecidas pelo organismo, pelo menos inferior a 1 KD (kilodáltons), são capazes de desencadear reações em cadeia no organismo, ativando linfócitos (glóbulos brancos) e a síntese de anticorpos específicos (sistema imune humoral). A resposta imune inicia-se a partir da formação do antígeno (Figura 2.12).

O antígeno é uma substância não protéica de baixo peso molecular, por isso são facilmente diferenciados pelo organismo que reconhece como uma substância

estranha. Pode se ligar a sítios específicos de combinação de anticorpos, mas não pode por si só, iniciar uma resposta imune. O anticorpo são proteínas de alto peso molecular (~150 KD) que fornecem resposta seletiva a substâncias imunológicas (RICCARDI et al., 2002, FERREIRA et al., 2005, WILSON e ALWIS, 1987).

Com base no reconhecimento do sinal de interesse pelo detector encontram-se, por exemplo, os imunossensores e sensores enzimáticos. Enquanto nos biosensores com enzima são monitoradas as concentrações de substratos, produtos ou mediadores, nos imunossensores, que são dispositivos analíticos, baseados nos princípios de imunoenaios heterogêneos e nos eventos físico-químicos, são monitorados resultantes da reação de afinidade antígeno-anticorpo (Ag-Ac) (MORGAN et al., 1996; RICCARDI et al., 2002; FERREIRA et al., 2005).

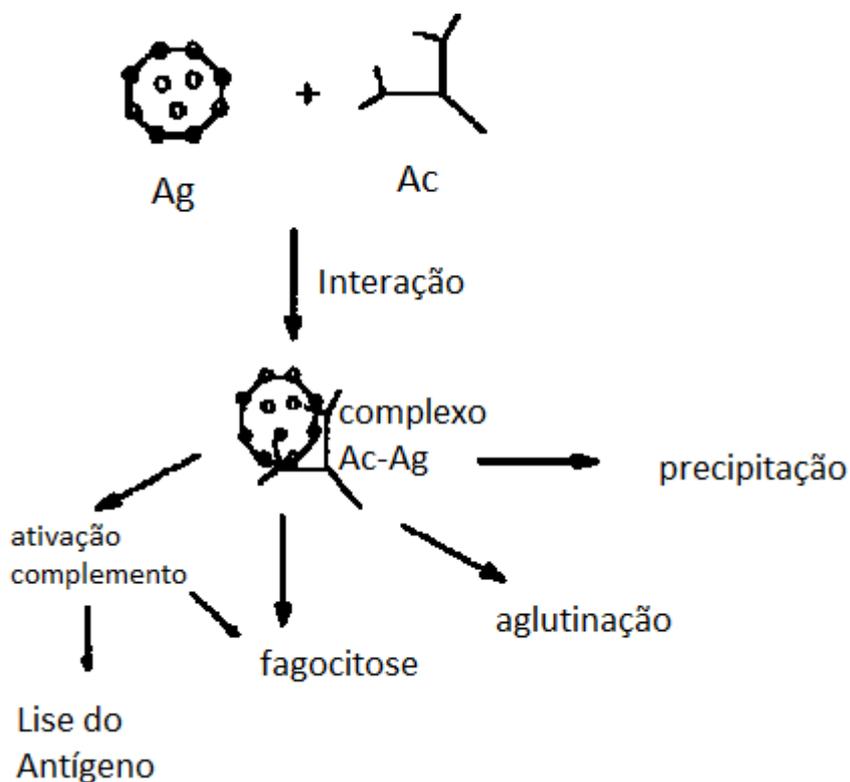


Figura 2.12 - Esquema simplificado de uma resposta imunológica.

Fonte: GIL et al., (1999).

No imunoenensaio, o sítio combinatório do anticorpo (Ac) ou paratopo (parte do anticorpo que faz contato com um determinante antigênico) interage especificamente com porções mais superficiais (determinantes antigênicos ou epitopos que é a menor parte de um antígeno capaz de estimular resposta imunológica se ligando a

um anticorpo) do antígeno (Ag) ou hapteno (substância não protéica de baixo peso molecular que sozinho que não consegue induzir uma resposta imunológica, precisa-se a uma substância transportadora de maior peso para sanar esse problema), formando um complexo Ag-Ac (GIL et al., 1999).

Esta interação é caracterizada por uma constante de afinidade que é função das concentrações do complexo formado, do antígeno e do anticorpo livres no meio de reação. Essa interação é mantida por forças, como forças iônicas, ligações de hidrogênio, forças eletrodinâmicas (Van der Waals) e hidrofóbicas, garantindo o fenômeno da especificidade antígeno-anticorpo. Grupos NH_2 , COOH , SH , OH , CO e HCO normalmente, são os principais pontos de conjugação envolvidos neste evento (RICCARDI et al., 2002, FERREIRA et al., 2005).

Também podem ocorrer reações não-específicas (reações cruzadas) de outros anticorpos que competem pela ligação com o antígeno, como, por exemplo, ligação com o antígeno (RICCARDI et al., 2002, FERREIRA et al., 2005, WILSON e ALWIS, 1987).

A formação do complexo (Ag-Ac) pode ser monitorada diretamente (sem a presença de marcador) ou pelo método indireto (com a presença de marcadores). Tanto o antígeno quanto o anticorpo podem ser marcados (conjugados) e as enzimas, atualmente, são os marcadores mais empregados em imunoenaios.

As dosagens imunológicas são agrupadas junto dos métodos analíticos que colocam em jogo a reação antígeno-anticorpo (Ag-Ac) e são utilizadas para a determinação quantitativa de moléculas biologicamente ativas existentes em concentrações muito baixas como as proteínas, hormônios, medicamentos e microorganismos (DICKSON et al., 1995; GALAUP et al., 2001; GALAUP et al., 1999).

A reação imunológica antígeno-anticorpo é quantificada se um dos reagentes é marcado por uma entidade (íon, molécula, etc) que pode liberar um sinal físico-químico (direto ou indireto) suficientemente intenso que proporcione sua medida de forma quantitativa.

2.7 Os Marcadores

2.7.1 Definição e Tipos

Por definição, marcadores são substâncias que emitem um sinal físico de intensidade proporcional a sua quantidade. Desta forma, se o marcador está ligado irreversivelmente ao complexo de reconhecimento Ag-Ac, sua quantificação permite a determinação do complexo formado (DICKSON et al., 1995; GALAUP et al., 2001; GALAUP et al., 1999).

Um fator importante é pré-estabelecer o sistema de detecção, pois este definirá a escolha dos marcadores adequados, os quais devem apresentar boa estabilidade cinética e termodinâmica, alto rendimento quântico e sensibilidade, além de baixo custo e fácil conjugação. Dentre as classes de marcadores existentes, detalharemos as mais empregadas em imunoenaios, que são os radioelementos (o iodo 125, por exemplo), as enzimas (a peroxidase, por exemplo) e as substâncias fluorescentes (as moléculas orgânicas como a fluoresceína ou os quelatos de certos lantanídeos).

Os métodos que empregam enzimas como marcadores são freqüentemente aplicados em ensaios menos sensíveis que os radioimunológicos (Tabela 2.2). Apesar de serem mais simples e mais acessíveis que os radioimunológicos, a metodologia também precisa ser extremamente controlada já que reações enzimáticas são muito dependentes da temperatura e do tempo. Além disso, se o substrato a ser marcado ou detectado no ensaio for uma substância cromofórica, fluoro ou luminescente, a absorção ou emissão de luz da reação enzimática muda (NOVA, 2003).

Os métodos de dosagem fluoroimunológicos apresentam um grande interesse na área da medicina principalmente na detecção de doenças cancerígenas, porque eles apresentam inúmeras vantagens tais como a rapidez da medida, a estabilidade, a inocuidade dos reagentes marcadores e o custo relativamente reduzido. Por outro lado, juntamente com o progresso realizado na instrumentação, as imunodosagens que utilizam quelatos de lantanídeos como marcadores tem longa vida de duração e alcançam os limites de detecção apresentados pelas dosagens radioimunológicas (NOVA, 2003).

Tabela 2.2 - Limites da detectabilidade física para marcadores.

Marcador	Sensibilidade f Mol.L⁻¹
<i>Radioisótopos</i>	
I ¹²⁵	<10
H ³	<100
<i>Enzimas</i>	
Peroxidase, fosfatase	<100
<i>Partículas Sólidas</i>	
Látex	<10
<i>Fluorescentes</i>	
Fluoresceína	<10
Lantanídeos (Európio)	0,01-1
<i>Luminescentes</i>	
Isoluminol	<1
Acridina	0,01-1

Fonte: GEISELER e JAMES, 1992

Os marcadores fluorescentes utilizam dentro de suas dosagens, moléculas orgânicas que são derivadas da fluoresceína e da rodamina, as quais liberam um intenso sinal (rendimento quântico elevado), mas pouco específico. As características fotofísicas destes compostos tais como o fraco deslocamento Stokes (intervalo do comprimento de onda que separa os máximos dos espectros de emissão e excitação: 20-50 nm), comprimento de onda de emissão inferior a 600 nm e duração do tempo de vida da fluorescência curto (<20 ns), causam sérias limitações a este método, por não permitir a distinção dos fenômenos parasitas (provenientes do meio) nas medidas de fluorescência, tanto em solução aquosa (método heterogêneo) como em meio biológico (método homogêneo) (GEISELER e JAMES, 1992; DICKSON et al., 1995; GALAUP et al., 1999).

O sistema de detecção mais comum é o radioativo, porém apresenta uma série de desvantagem como: tempo de decaimento limitado, laboratório e técnicos especializados, instrumentação de alto custo, além de comprometer a saúde do operador e do paciente submetido ao exame. Os ensaios que utilizam quelatos de lantanídeos são conhecidos como fluoroimunoensaios e apresentam vantagens quanto a sua sensibilidade (10^{-12} M) (NOVA, 2003).

Qualquer que seja o marcador, o princípio de uma imunodosagem consiste na indução da reação antígeno-anticorpo e a determinação da quantidade de antígeno por meio de curvas de calibração por comparação dos sinais obtidos (tais como

contagem, absorvância, quantidade de fótons emitidos) pelas amostras das quais apresentam concentrações conhecidas (NOVA, 2003).

2.7.2 Marcadores Tumorais

De acordo com Capelozzi (2001), os marcadores tumorais são macromoléculas presentes no tumor, no sangue ou em outros líquidos biológicos, cujo aparecimento e/ou alterações em suas concentrações estão relacionadas com a gênese e o crescimento de células neoplásicas. Sua importância está no papel que desempenha no manejo clínico de pacientes com câncer, desde o auxílio no diagnóstico e estadiamento, até a avaliação da resposta terapêutica, detecção de recidivas e prognósticas (SILVEIRA, 2005; MATTOS et al., 2005; ALONZO, 2005), além de auxiliar na decisão da terapia a ser utilizada, bem como terapias adjuvantes (PACHECO et al., 2002).

Segundo Almeida (2004) os marcadores tumorais, em sua maioria, são proteínas ou pedaços de proteínas, incluindo antígenos de superfície celular, proteínas citoplasmática, enzimas e hormônios que funcionam como indicadores da presença de câncer, e podem ser produzidas diretamente pelo tumor ou pelo organismo, em resposta à presença do tumor (MATTOS et al., 2005; SILVEIRA, 2005).

A caracterização ou quantificação dessas substâncias pode ser feita por meios bioquímicos ou imunohistoquímicos nos tecidos ou no sangue, e por testes genéticos para pesquisas de oncogenes, genes supressores de tumores e alterações genéticas (MATTOS et al., 2005).

Do ponto de vista clínico cada marcador tumoral tem um valor determinado, onde taxas acima do valor de referência, quando apresentadas por pacientes, devem ser investigadas. Entre os principais marcadores tumorais estão: AFP (alfafetoproteína); MCA (antígeno mucóide associado ao carcinoma); Cromogranina A; BTA (antígeno tumoral da bexiga); Telomerase; NMP22 (proteína da matriz nuclear); Cyfra 21.1; PAP (Fosfatase Ácida Prostática); CA 72.4; β HCG (gonadotrofina coriônica humana); CA125; CA 15.3; CA 19.9; CA 27.29; Ca50; Calcitonina; Catepsina D; CEA (antígeno carcinoembrionário); *C-erbB-2* (oncogene); LDH (desidrogenase láctica); K-ras; NSE (Enolase Neurônio-

Específica); PSA (antígeno prostático específico); p53 e 2-Microglobulina (ALMEIDA et al., 2007).

De acordo com Silveira (2005), o marcador ideal reúne as características de diagnóstico precoce de neoplasias e de sua origem, estabelecimento da extensão da doença, monitorização da resposta terapêutica e detecção precoce de recidiva, além de ser órgão-sítio específico e ter meia-vida curta, permitindo acompanhar temporariamente as mudanças do tumor (REIS, 2005; GOMES, 1997).

Para Almeida (2004), este marcador ainda não existe no Brasil, e a maioria dos marcadores disponíveis peca pela falta de especificidade e sensibilidade, exceção feita ao PSA que é utilizado para rastreamento de neoplasia prostática. Os marcadores tumorais, como qualquer exame complementar de diagnóstico, têm indicações precisas e indicações discutíveis. Apesar disso a interpretação do valor sérico fornecido pelo laboratório terá que ser avaliada à luz do senso crítico, epidemiológico e de característica de cada marcador e da técnica usada para a detecção (ROSA et al., 2005; GOMES, 1997; GUIMARÃES, 2002).

Marcadores biológicos diagnósticos são substâncias e estruturas, tais como núcleos, a angiogênese, os microvilos, microácinos, que podem ser medidos quantitativamente por métodos bioquímicos, imunológicos, morfométricos, ultra estruturais e moleculares nos fluidos ou nos tecidos corporais associados a neoplasias e possivelmente ao órgão de origem no caso de eventual neoplasia (SCHWARTZ, 1993). Nas últimas décadas, várias proteínas e pequenos peptídeos têm sido identificados como produtos de secreção de diferentes neoplasias sólidas podendo ser utilizados como marcadores tumorais diagnósticos (BAGASHAWE e RUSTIN, 1995).

Atualmente, os marcadores são classificados de radioativos e não-radioativos. A radioimunoanálise (RIA), uma das principais técnicas radioativas de imunoensaio utiliza o isótopo radioativo do elemento iodo, que tem meia-vida de 59 dias e emite radiação gama para a dosagem de hormônios protéicos. Contudo, pequenos antígenos, como os hormônios estereóides, não comportam na sua estrutura elementos como o iodo, sendo necessária a utilização de trítio, isótopo do hidrogênio, com meia vida de 12 anos, emissor de radiações beta e contadores de cintilação líquida para a identificação dos mesmos tornando a marcação com esse traçador significativamente mais cara. Uma técnica alternativa é o imunoradiométrico

(IRMA) que utiliza anticorpos monoespecíficos radiomarcados para quantificar o antígeno (BURDON et al., 1990).

Como marcador não-radioativo, a literatura referênciã os ensaios enzimáticos (EIA), a fluorescência e a luminescência. Os ensaios enzimáticos podem ser divididos em duas categorias: ensaios de amplificação do sinal e ensaio modelador de atividade. Nos EIA, são utilizadas enzimas como fosfatase alcalina e a peroxidase de raiz forte.

A enzima uma vez fixada pode produzir conversão de um dos substratos adicionado em produto colorido. Dependendo do substrato, o produto colorido é solúvel ou insolúvel. Os produtos solúveis podem ser detectados calorimetricamente por um espectrofotômetro que mede a absorção de luz em um determinado comprimento de onda por soluções coloridas, diferente dos produtos insolúveis que são detectados em microscópio (MATTOS et al., 2005).

3 METODOLOGIA

Para a síntese das nanopartículas do espinélio $\text{ZnAl}_{1,9}\text{Eu}_{0,1}\text{O}_4$, designadas por **ZAE**, utilizou-se o método de reação de combustão por fase líquida, o qual baseia-se na teoria dos propelentes e explosivos proposta por Jain et al. (1981). O teor de európio e a composição química do espinélio foram definidos com base nos resultados obtidos por Barros (2005), quando avaliou diferentes concentrações de íons terras raras no ZnAl_2O_4 preparado por reação de combustão para uso como materiais luminescentes. Assim, a metodologia proposta para este trabalho foi estabelecida em três etapas distintas:

I Etapa: Síntese das nanopartículas do **ZAE**

II Etapa: Modificação da superfície das nanopartículas do **ZAE** com agentes silanos (**AS**);

III Etapa: Funcionalização das nanopartículas do **ZAE** com moléculas orgânicas.

3.1 Materiais

Os reagentes utilizados neste trabalho foram:

- Nitrato de alumínio $[\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}]$;
- Nitrato de zinco $[\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$;
- Uréia $[\text{CO}(\text{NH}_2)_2]$;
- Óxido de európio Eu_2O_3 ;
- 3-aminopropiltrimetoxissilano $[\text{H}_2\text{N}(\text{CH}_2)_3\text{Si}(\text{OCH}_3)_3]$;
- 3-aminopropiltriethoxissilano $[\text{H}_2\text{N}(\text{CH}_2)_3\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3]$;
- Álcool etílico $[\text{C}_2\text{H}_6\text{O}]$;
- Quitosana $(\text{C}_{12}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_9)$;
- Metilmetacrilato $[\text{H}_2\text{C}=\text{C}(\text{CH}_3)\text{CO}_2\text{CH}_3]$;
- Etilenodiamina $[\text{C}_2\text{H}_8\text{N}_2]$;
- Ácido acético $[\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2]$.

Todos os reagentes utilizados apresentam pureza igual ou superior a 98%, fabricados pela ALDRICH, com exceção do álcool etílico e ácido acético que são fabricados pela Sigma.

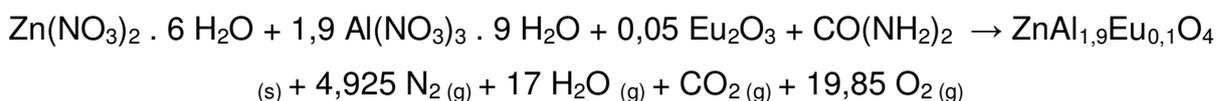
3.2 Métodos

3.2.1 I Etapa: Síntese das nanopartículas $ZnAl_{1,9}Eu_{0,1}O_4$

A reação química proposta para síntese do espinélio $ZnAl_{1,9}Eu_{0,1}O_4$ seguiu a seguinte equação:



onde, C_1 , C_2 , P_1 , P_2 , são os coeficientes estequiométricos da reação, responsáveis pelo balanceamento molar dos componentes químicos.



Para realização das sínteses por reação de combustão utilizou-se um cadinho de sílica vítrea como recipiente e uma base cerâmica com resistência espiral exposta a atmosfera (temperatura máxima na resistência é de aproximadamente 600°C). Inicialmente, os reagentes, nitratos de zinco e de alumínio (agentes oxidantes) e fonte de cátions (Zn^{2+} e Al^{3+}), o Eu_2O_3 dopante e fonte do cátion Eu, e o combustível uréia (agente redutor), necessários para obter a composição desejada $ZnAl_{1,9}Eu_{0,1}O_4$ foram pesados em balança de precisão e colocados no cadinho, que foram diluídos diretamente pelo aquecimento externo da base cerâmica formando uma mistura oxi-redutora, onde a proporção de cada reagente foi determinada com base na teoria dos propelentes e explosivos, usando as valências dos elementos reativos, de modo a favorecer a relação oxidante / redutor = 1 (JAIN et al., 1981).

A quantidade de uréia empregada na composição estequiométrica foi determinada com base na quantidade (em mol) dos elementos metálicos e na valência total dos nitratos dos elementos de acordo com a equação 1 proposta por Jain 1981:

$$\varnothing_e = 1 = \sum (\text{coef. dos elementos oxidantes} \times \text{valência}) / (-1) \sum (\text{coef. dos elementos oxidantes} \times \text{valência})$$

$$\sum (\text{coef. do oxidante} \times \text{valência}) + (\text{coef. do redutor} \times \text{valência}) = 0$$

Com base na equação,

(1 mol de zinco x valência total do nitrato de zinco) + (1,9 moles de alumínio x valência total do nitrato de alumínio) + (0,1 mol de óxido de európio x valência total do óxido de európio) = n6

$$1 [2+(-12)] + 1,9[3+(-18)] + 0,1[0] = -n6$$

Onde n é a quantidade de uréia que se deseja encontrar e 6 corresponde a valência total da uréia que é +6, de acordo com sua fórmula química $[\text{CO}(\text{NH}_2)_2]$. Efetuando-se os cálculos determinou-se a quantidade de uréia necessária para estabelecer a estequiometria.

Para determinar a quantidade estequiométrica (em gramas) da uréia, multiplicou-se a quantidade (em mol), da mesma, pelo seu peso molecular.

Para determinar a quantidade estequiométrica (em gramas) dos nitratos, multiplica-se a quantidade (em mols) dos mesmos pelo seu peso molecular e, para o óxido de európio, como existem dois mols de európio, então é preciso fazer a multiplicação do número de mols da estequiometria da reação, pelo peso molecular dividido pelo número de mols de európio contido no óxido de európio.

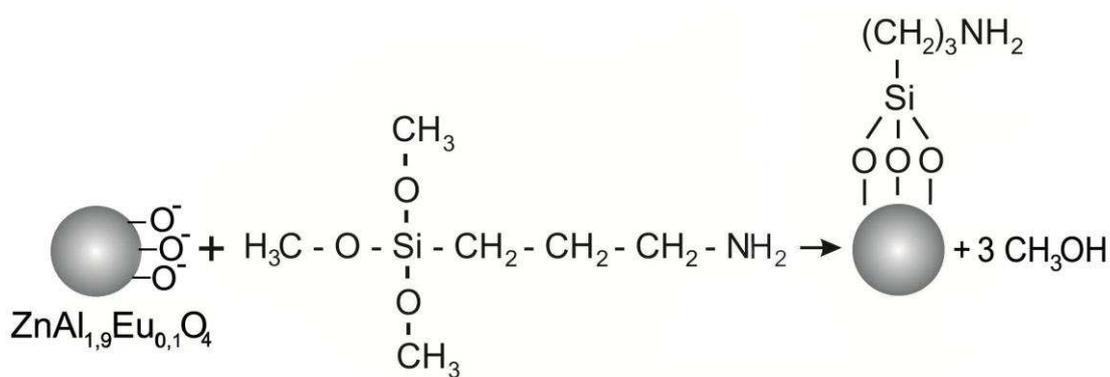
Em seguida, o cadinho contendo todos os reagentes foi colocado sobre a base cerâmica com resistência espiral, onde se formou uma solução devido à desidratação dos nitratos (agentes oxidantes), óxido de európio e do combustível (agente redutor).

Com o aquecimento ocorreu um aumento da viscosidade, formando bolhas e dando início à volatilização de gases e posteriormente a combustão. Ao término da reação de combustão, o produto resultante (flocos porosos) foi mantido no forno tipo mufla a 500°C/10 minutos para a eliminação do resíduo de voláteis remanescentes, que surgem devido à formação de bolhas e ao inchamento do volume da mistura nas bordas do cadinho, o qual não entra em combustão. Depois, apenas o produto que entrou em combustão foi retirado e desaglomerado em um almofariz, peneirado em peneira malha #325 (abertura de 44 μm). E assim, obteve-se **ZAE**.

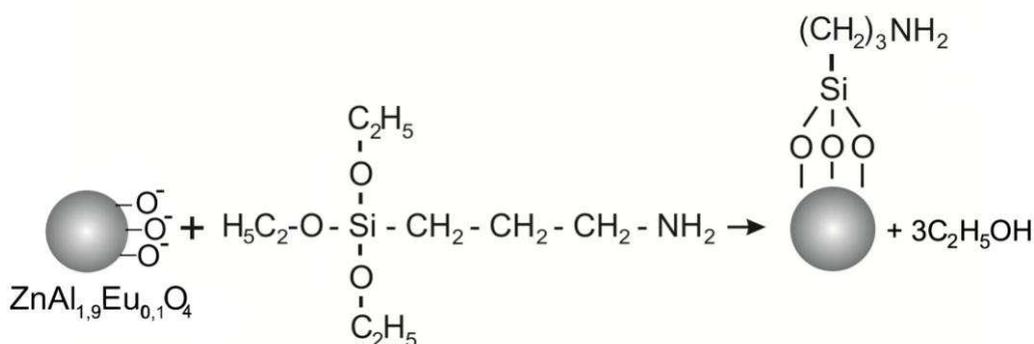
3.2.2 II Etapa: Modificação da superfície das nanopartículas do **ZAE** com agentes silanos (**AS**).

Para modificação da superfície das nanopartículas dois tipos de agente silanos de acoplamento, o 3-aminopropiltrimetoxissilano [$\text{H}_2\text{N}(\text{CH}_2)_3\text{Si}(\text{OCH}_3)_3$] e o 3-aminopropiltriethoxissilano [$\text{H}_2\text{N}(\text{CH}_2)_3\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3$] foram utilizados de acordo com a metodologia, proposta por FENG, et al. (2003) para a modificação da superfície do **ZAE**.

A modificação da superfície do espinélio $\text{ZnAl}_{1,9}\text{Eu}_{0,1}\text{O}_4$ (Figura 3.1), com os agentes silanos 3-aminopropiltrimetoxissilano e 3-aminopropiltriethoxissilano, respectivamente seguiu a seguinte reação química.



(a)



(b)

Figura 3.1- Esquema da modificação de superfície do espinélio $\text{ZnAl}_{1,9}\text{Eu}_{0,1}\text{O}_4$ utilizando (a) o 3-aminopropiltrimetoxissilano e (b) 3-aminopropiltriethoxissilano.

Inicialmente, 1 g das nanopartículas do **ZAE** foi colocada em 50 mL de etanol, permanecendo por 30 minutos em banho ultrassom. As nanopartículas suspensas

foram separadas por uma centrífuga FANEM modelo baby com velocidade 500 rpm/30 minutos e em seguida, secas em estufa FANEM Modelo 315 a 150°C/12 horas.

Foram pesadas duas porções de 0,1 g do **ZAE**, e adicionado 2 mL de cada agente silano, separadamente, tendo-se, assim, duas amostras. Para homogeneização dos materiais nas amostras utilizou-se um banho ultrassom modelo 712 da marca Fisatom XE100 RPM por 15 minutos. Em seguida, as amostras foram submetidas ao aquecimento em forno microondas (Eletrolux, 28 L) na potência de 900 W/2 minutos, sendo, posteriormente colocadas novamente no banho ultrassom por 5 minutos. Esta etapa foi repetida por cinco vezes para cada amostra, deixando em temperatura ambiente por 12 horas.

As amostras foram secas em estufa modelo FANEM Modelo 315, SE a 150°C/30 minutos, e em seguida adicionou-se água destilada para serem centrifugadas em centrífuga FANEM modelo baby, com rotação de 600 rpm/20 minutos. As amostras foram lavadas por cinco vezes com água destilada, e em seguida, permaneceram na estufa por 24 horas. As amostras resultantes deste procedimento foram identificadas com código **AS97 e AS99** para os agentes silanos 3-aminopropiltrimetoxisilano e 3-aminopropiltriethoxisilano, respectivamente.

3.2.3 III Etapa: Funcionalização das nanopartículas do **ZAE**

Para funcionalização usaram-se os monômeros, metilmetacrilato e etilenodiamina, e o polímero natural “quitosana”. Assim, a etapa de funcionalização foi dividida em dois procedimentos. O procedimento I detalha a funcionalização com os monômeros, e o procedimento II, detalha a funcionalização usando a quitosana.

I) Funcionalização com os Monômeros – Procedimento I

As amostras com a superfície previamente modificadas, **AS97 e AS99** foi adicionado 10 mL da mistura dos monômeros (3 mL de metilmetacrilato e 7 mL de etilenodiamina), e posteriormente colocado em uma placa com agitação sem aquecimento por 2 horas. Depois, se adicionou mais 10 mL da mistura dos monômeros, deixando sob agitação por mais 2 horas. A quantidade e o tempo de cura dos monômeros utilizados foram definidos com base nos resultados obtidos por PAN et al., (2004).

Após a cura, o líquido foi colocado em tubos de 12 mL em centrífuga FANEM modelo baby, com velocidade 500 rpm/20 minutos, sendo, posteriormente o líquido desprezado e as nanopartículas funcionalizadas foram lavadas com água destilada e centrifugadas por várias vezes, de forma, que todo o excesso de reagente tenha sido removido. Foram realizadas 5 lavagens consecutivas seguindo de centrifugação. A amostra resultante foi colocada em vidro de relógio e seca por 24 horas.

A reação química proposta para funcionalização das nanopartículas do **ZAE** com os monômeros metilmetacrilato e etilenodiamina, com os agentes silanos 3-aminopropiltrimetoxissilano e 3-aminopropiltriétoxissilano, respectivamente seguiu a seguinte reação (Figura 3.2):

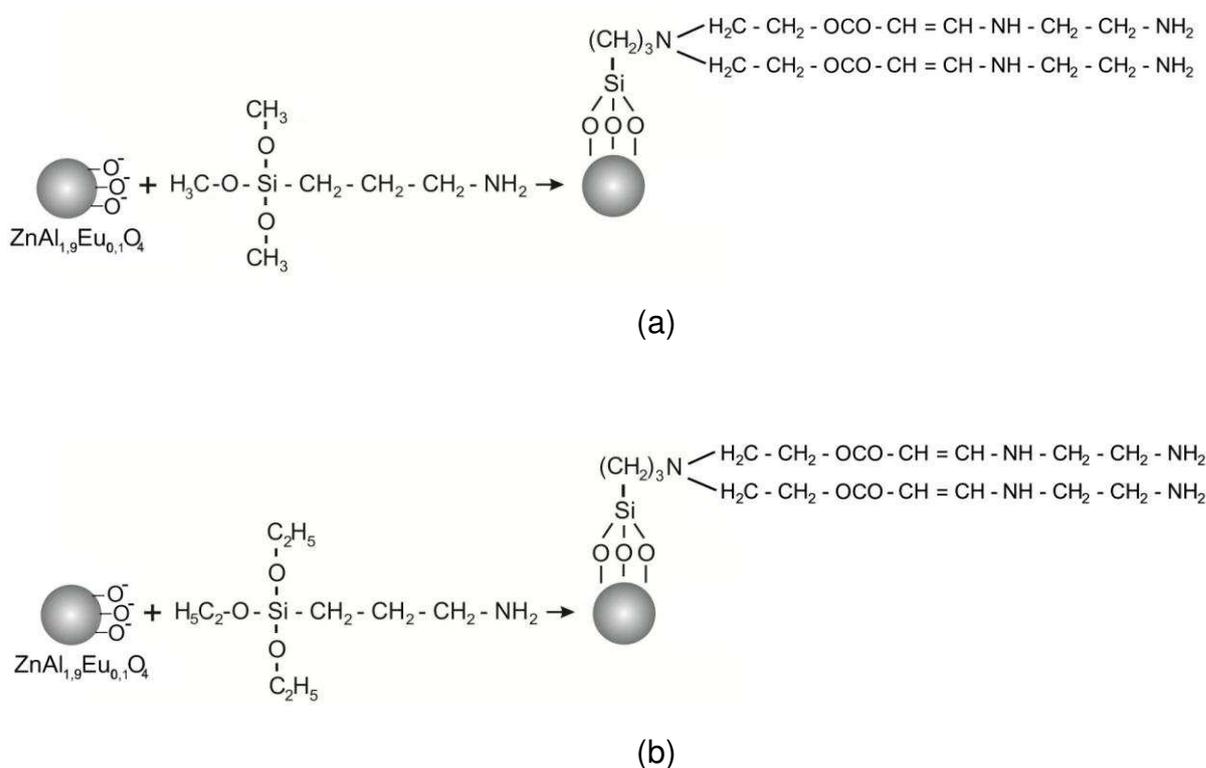


Figura 3.2 - Esquema da funcionalização do espinélio $\text{ZnAl}_{1,9}\text{Eu}_{0,1}\text{O}_4$ utilizando os monômeros metilmetacrilato e etilenodiamina (a) o 3-aminopropiltrimetoxissilano e (b) 3-aminopropiltriétoxissilano.

As amostras resultantes deste procedimento foram identificadas com código **G97** e **G99** para os agentes silanos 3-aminopropiltrimetoxissilano e 3-aminopropiltriétoxissilano, respectivamente

II) Funcionalização Usando Quitosana - Procedimento II

A funcionalização com quitosana (**QP**) foi realizada com e sem a adição de agentes silanos (**AS**). Inicialmente, 1,5 g de quitosana foram adicionadas a 50 mL de ácido acético a 1 %, sob agitação em uma placa BIOSTAR sem aquecimento por 30 minutos.

- Funcionalização com Quitosana sem Agente Silano

Nesta etapa, 0,5 g grama das nanopartículas do **ZAE** foi adicionada em 25 mL de álcool etílico e, então, colocado 50 mL da solução de quitosana, sob agitação a temperatura ambiente por 2 horas. Depois a mistura foi centrifugada por 25 minutos com velocidade 600 rpm. Após centrifugação, desprezou-se o líquido e colocou-se água destilada nos tubos (sempre agitando com uma espátula) para a lavagem da mistura (quitosana e nanopartículas).

Esse procedimento de lavagem e centrifugação foi repetido por cinco vezes. Recolhido a amostra com uma espátula em um vidro de relógio, levou-se a estufa por 24 horas a temperatura de 60°C. A amostra foi identificada com o código **QALSAG**.

- Funcionalização com Quitosana com Agente Silano

Nesta etapa, foram preparadas amostras com proporções 1:3 e 5:1 de nanopartículas do **ZAE** modificadas a superfície com agentes silanos e quitosana. Para tanto, 0,5 grama das nanopartículas **ZAE** modificada a superfície foi adicionada em 25 mL de álcool etílico. Essa mistura foi introduzida em 1,5 g de quitosana dissolvida em 50 mL de ácido acético a 1%, sob agitação em uma placa BIOSTAR sem aquecimento por 2 horas.

A mistura foi colocada em centrífuga por 25 minutos com velocidade 600 rpm. Posteriormente, desprezou-se o líquido e colocou-se água destilada nos tubos (sempre agitando com uma espátula) para a lavagem da mistura final. Esse processo de lavagem foi repetido por cinco vezes, obtendo-se um gel, que foi recolhido em um vidro de relógio e submetido à secagem em estufa por 24 horas a temperatura de 60 °C.

Para este procedimento as amostras foram identificadas com os códigos **QALCAG e Q99** para as nanopartículas previamente modificadas a superfície na proporção 1:3 com o agente silano 3 - aminopropiltrimetoxissilano e 3 - aminopropiltriétoxissilano e funcionalizadas com quitosana, respectivamente. A amostra preparada na proporção 5:1 modificada a superfície com o agente silano 3 - aminopropiltrimetoxissilano foi identificada com o código **P2**.

A reação química proposta para funcionalização das nanopartículas do ZAE com quitosana, com os agentes silanos 3-aminopropiltrimetoxissilano e 3-aminopropiltriétoxissilano, respectivamente seguiu a seguinte reação (Figura 3.3):

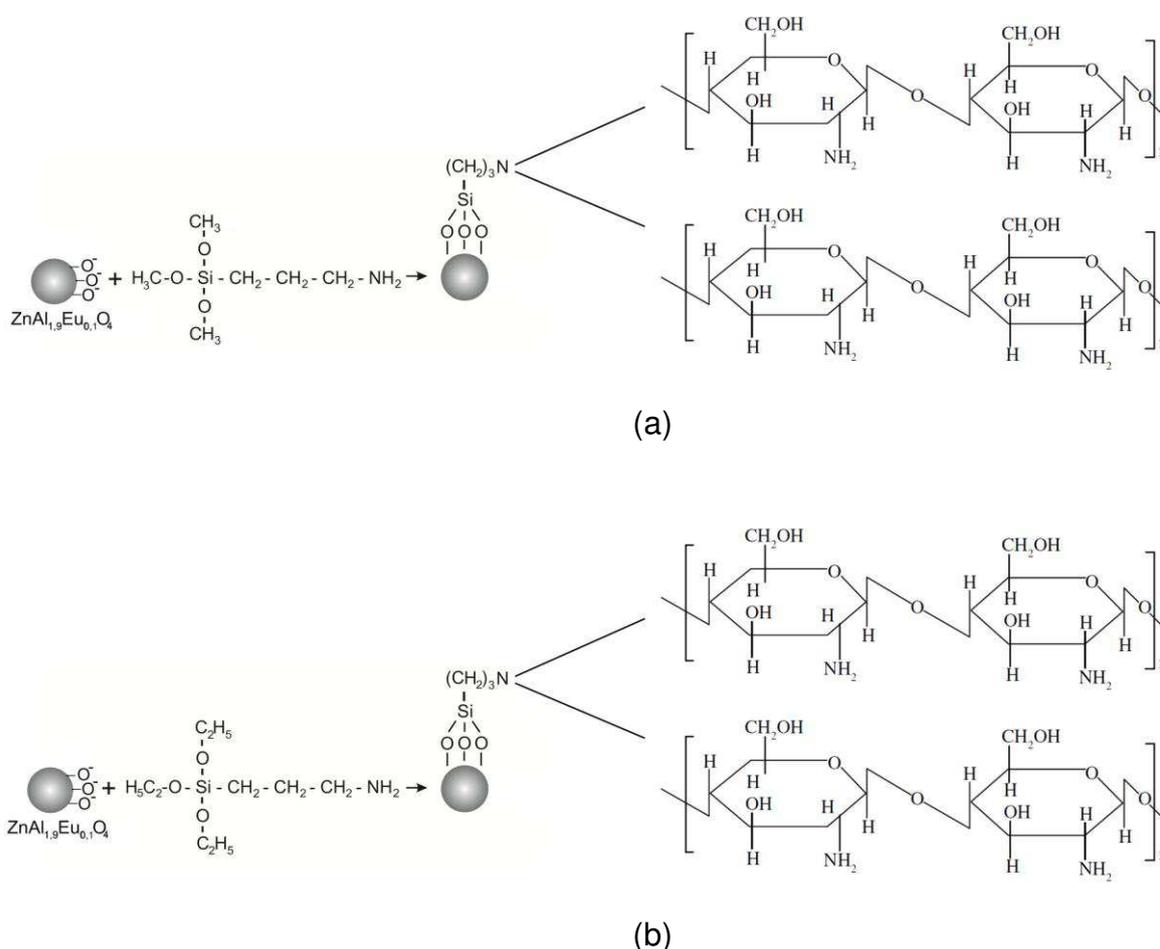


Figura 3.3 - Esquema da funcionalização do espinélio ZnAl_{1.9}Eu_{0.1}O₄ utilizando a quitosana a partir (a) o 3-aminopropiltrimetoxissilano e (b) 3-aminopropiltriétoxissilano.

3.3 Caracterizações

3.3.1 Difração de Raios X

As amostras resultantes foram caracterizadas quanto à estrutura por difração de raios X. A partir dos dados de difração foi realizada a identificação das fases formadas, cálculo do tamanho de cristalito, cristalinidade. O equipamento utilizado foi LAB X-Ray Diffractometer 6000 da Shimadzu, com radiação monocromática de cobre. A varredura foi realizada na região de 5 a 75° 2 θ , usando uma velocidade de 2°.min⁻¹ e radiação CuK α ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$) gerada aplicando-se voltagem e corrente de 35KV e 15mA, respectivamente.

Para identificação das fases foi utilizado o programa (Pmgr) da Shimadzu e para obtenção das fichas cristalograficas padrões foi acessado o banco de dados JCPDS. A cristalinidade foi obtida no programa PDF-2, o qual utilizou o coeficiente de correção de Lorentz, onde foi possível calcular a percentagem de fase cristalina.

A análise do tamanho de cristalito D_{hkl} para cada conjunto da família de planos {hkl} foi realizada pelo uso da equação de Scherrer (AZÁROFF, 1968).

$$D_{hkl} = \frac{k\lambda}{\beta \cos \theta} \quad (1)$$

onde k é o coeficiente de forma do ponto da rede recíproca (0,9-1,0), λ é o comprimento de onda da radiação a ser utilizada (1,54Å), β é a largura a meia altura do pico (FWHM) e θ o ângulo de difração. O parâmetro β deve ser corrigido de utilizando a seguinte equação:

$$\beta = \sqrt{\beta_{\text{exp}}^2 - \beta_{\text{inst}}^2} \quad (2)$$

onde β_{inst} é a largura instrumental extraída da amostra padrão que tenha um tamanho de partícula muito grande ($\sim 6\mu\text{m}$), para este propósito foi usado LaB₆ (NIST), e β_{exp} é a largura experimental da amostras a ser analisada.

3.3.2 Espectrometria vibracional na região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de FTIR das amostras foram obtidos através do uso de pastilhas de KBr que foram prensadas em prensa hidráulica marca Carver com 5 toneladas. Para as amostras em forma de pó, pesou-se 0,1 g de KBr e 0,007 g da amostra. Para as amostras em forma de filme, cortou-se um pedaço do filme e anexou ao porta-amostra. Os espectros foram obtidos através de um espectrofotômetro marca Nicolet, modelo Avatar 360, e o programa OMNIC E.S.P. 5.1, entre 4000 e 400 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} e 100 varreduras. Apenas a amostra P2, o espectro de FTIR foi obtido usando um espectrômetro modelo 400 FT-IR/FT-NIR da marca Perkin Elmer, entre 4000 e 650 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} e 20 varreduras. Esta técnica foi utilizada para identificar os compostos, dando informações estruturais sobre uma molécula. A presença de bandas vibracionais, localizadas na região de um número de onda, indica os grupos funcionais presentes na estrutura de uma molécula.

3.3.3 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

Através da microscopia eletrônica de transmissão foi avaliada a morfologia das amostras obtidas. Para a análise foi utilizado um microscópio eletrônico de transmissão Philips, modelo EM420 (voltagem de 120 KV).

3.3.4 Espectroscopia de Excitação e de Emissão

Os espectros de excitação e de emissão foram obtidos usando-se uma lâmpada de xenônio (150W), fazendo-se a excitação num espectrofotômetro Jobin Ivon Ramanor U1000 modelo H-10, com monocromador duplo Jobin Ivon modelo U1000 de 1 m.

3.3.5 Rendimento Quântico de Luminescência (q)

O rendimento quântico de emissão (q), expresso em porcentagem, é calculado pela razão entre o número de fótons emitidos e o número de fótons absorvidos pela matriz. Segundo o método desenvolvido por Malta et al. (1998) o valor de q de uma amostra é determinado pela comparação com o rendimento do

fósforo padrão, cujo valor foi previamente determinado por método absoluto. O valor do rendimento quântico q_x de uma amostra é calculado por:

$$q_x = \left[\left(\frac{1-r_p}{1-r_x} \right) \cdot \left(\frac{\Delta\Phi_x}{\Delta\Phi_p} \right) \right] \cdot q_p \quad (3)$$

onde q_p é o rendimento do fósforo padrão, q_x é o rendimento da amostra, r_p e r_x são as quantidades de radiação excitante refletida pelo padrão e pela amostra, respectivamente, $\Delta\Phi_p$ e $\Delta\Phi_x$ são o fluxo de fótons integrado para a amostra e para o padrão, respectivamente.

Para as medidas foi utilizado o salicilato de sódio como padrão, o qual apresenta um rendimento quântico de 55%. O padrão de reflectância (branco) escolhido foi o MgO de alta pureza, que apresenta uma reflectância (r) de 0,91 e, dessa forma, funciona como um espalhador ideal. Os valores de $\Delta\Phi_p$ e $\Delta\Phi_x$ das amostras e do salicilato de sódio são determinados integrando-se a intensidade de emissão sobre o intervalo espectral total no espectro de emissão.

Foram realizadas medidas de reflectância e emissão para o MgO, salicilato de sódio e para as amostras **ZAE**, **AS99**, **G97** e **G99** e, em seguida, utilizou-se um software de acesso livre, com a ferramenta analysis calculus integrate com o intuito de integrar as curvas obtidas. Todas essas medidas foram feitas a temperatura ambiente. Apenas as amostras em forma de pó e com granulometria semelhantes aos padrões foram analisadas. Em todas as medidas, o comprimento de onda de excitação foi fixado em 370 nm e utilizou-se fenda de 2 mm na entrada do monocromador e fenda de 0,5 mm na saída do monocromador.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Difração de Raios X (DRX)

A Figura 4.1 apresenta os resultados de difração de raios X para o espinélio **ZAE** obtido por reação de combustão. Pode-se observar a formação de fase majoritária fase cristalina cúbica do espinélio normal $ZnAl_2O_4$ de acordo com a ficha JCPDS 05-0669, e também picos correspondentes a fase secundária $EuAlO_3$ de acordo com a ficha JCPDS 30-0012. Os picos referentes a fase majoritária cúbica do espinélio normal estão localizados em $31,30^\circ$; $36,88^\circ$; $38,30^\circ$; $44,53^\circ$; 49° ; $55,68^\circ$; $59,37^\circ$; $64,86^\circ$; $65,26^\circ$; 68° ; $74,20^\circ$. Os picos referentes a segunda fase $EuAlO_3$ estão localizados em 29° ; e 33° .

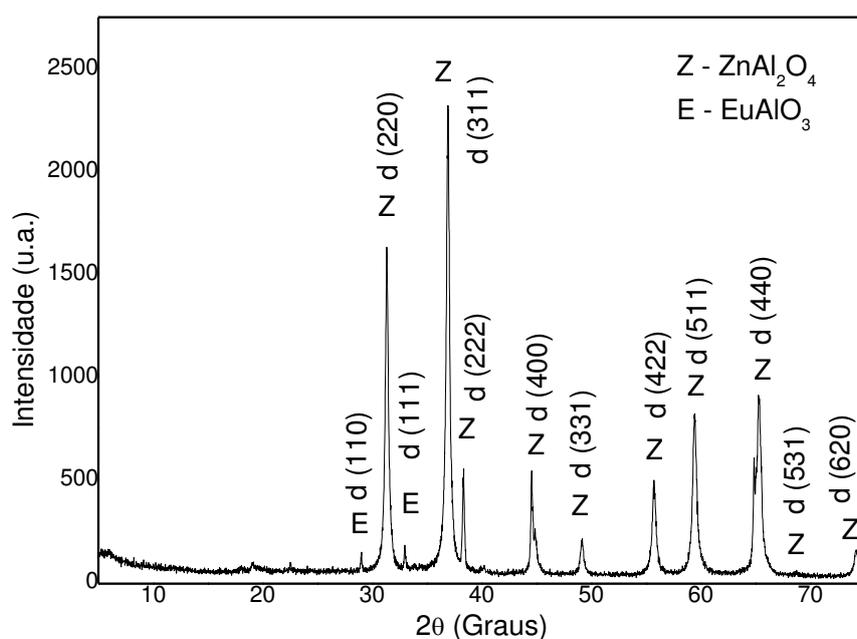


Figura 4.1– Difratoograma de raios X para o espinélio **ZAE**.

Os resultados obtidos neste trabalho de pesquisa corroboram com os resultados obtidos por Barros (2005), onde a viabilidade do uso da base cerâmica com resistência espiral para a reação de amostras do **ZAE** possibilitou a produção de amostras com traços apenas de fase secundária. Isto possivelmente foi atribuído a maior temperatura de combustão que deve ser alcançada durante a síntese usando a resistência espiral, o que permite uma maior homogeneidade e rapidez na

cinética da reação favorecendo ao aumento do limite de solubilidade e possibilitando que maior quantidade de íons de Eu substituam os íons de Al na rede do ZnAl_2O_4 .

A partir dos dados dos difratogramas de raios X, calculou-se a cristalinidade das nanopartículas do **ZAE** que foi de 72%, e tamanho de cristalito médio de 33 nm. O tamanho de cristalito, calculado para o pico de maior intensidade, $2\theta = 36,8^\circ$ referente ao plano (311), apresentou valor igual a 27 nm.

Barros et al. (2005) quando obteve o aluminato de zinco com concentrações 0,025; 0,050, 0,075 e 0,100 de európio por reação de combustão, observaram que todas as composições apresentaram um tamanho de cristalito médio menor que 20 nm. Os resultados obtidos neste trabalho estão bem próximos dos resultados obtidos por BARROS et al. (2005).

A Figura 4.2 apresenta os resultados de difração de raios X para o espinélio modificado a superfície com os agentes silanos **AS97** e **AS99**.

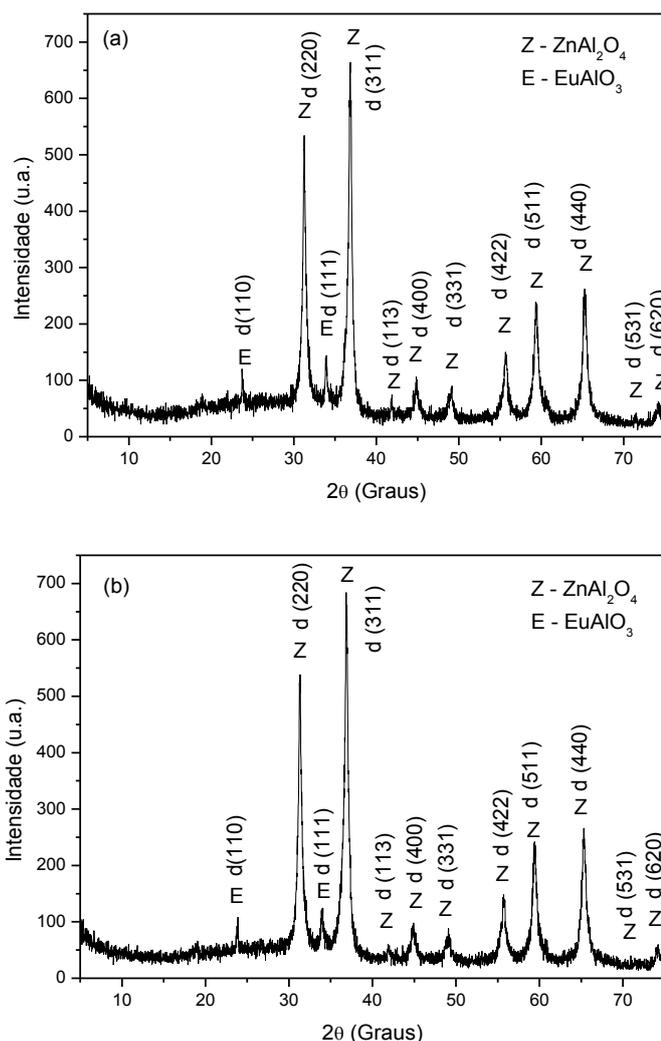


Figura 4.2 – Difratogramas de raios X para (a) **AS97** e (b) **AS99**.

Mediante a Figura 4.2a, observa-se picos na amostra **AS97** picos referentes a fase majoritária cúbica do espinélio normal, localizados em 31,32°; 36,84°; 41,88°; 44,94°; 49,04°; 55,61°; 59,36°; 65,23°; 70,85°; e 74,14°. Os picos referentes a segunda fase EuAlO_3 estão localizados em 23,55°, 33,90°. Para a amostra **AS99** (Figura 4.2b) os picos referentes a fase majoritária cúbica do espinélio normal estão localizados em 31,21°; 36,84°; 41,88°; 44,94°; 49,16°; 55,72°; 59,36°; 65,35°; 70,85°; e 74,02°. Os picos referentes a segunda fase EuAlO_3 estão localizados em 23,90°, 33,80°. Esse deslocamento dos picos para um ângulo 2θ maior, deve ter se dado devido a modificação da superfície das nanopartículas **ZAE**.

Na Tabela 4.1 encontra-se os resultados de cristalinidade e tamanho de cristalito médio para as nanopartículas do **ZAE** modificado a superfície com os agentes silanos. Observa-se que, a modificação da superfície do espinélio **ZAE** causou redução de 23,7 e 9,09 %, para **AS97** e 23,7 e 12,12% para **AS99** tanto na cristalinidade quanto no tamanho médio de cristalito, quando comparado com a amostra **ZAE**.

Tabela 4.1 – Cristalinidade e tamanho de cristalito médio para as amostras **AS97** e **AS99**.e **ZAE**

	AS97	AS99	ZAE
Cristalinidade (%)	55	55	72
Tamanho de cristalito médio (nm)	30	29	33

A Figura 4.3 apresenta os resultados de difração de raios X para o espinélio **ZAE** funcionalizado com os monômeros metilmetacrilato e etilenodiamina, **G97** e **G99**. Pode-se verificar a presença da fase do espinélio normal $\text{ZnAl}_{1,9}\text{Eu}_{0,1}\text{O}_4$ para ambos os espectros. Os picos na amostra **G97** referentes a fase majoritária cúbica do espinélio normal estão localizados em 31,60°; 37,17°; 38,28°; 42°, 44,57°; 49,36°; 55,96°; 59,67°; 65,54°; 71,86°; e 74,45°. Os picos referentes a segunda fase EuAlO_3 estão localizados em 24,35°, 34°. Para a amostra **G99** os picos referentes a fase majoritária cúbica do espinélio normal estão localizados em 31,40°; 37,42°; 38,34°; 42,33°, 44,67°; 49,51°; 56,09°; 59,74°; 65,64°; 71,86°; e 74,41°. Os picos referentes a segunda fase EuAlO_3 estão localizados em 24,35°, 34,36°.

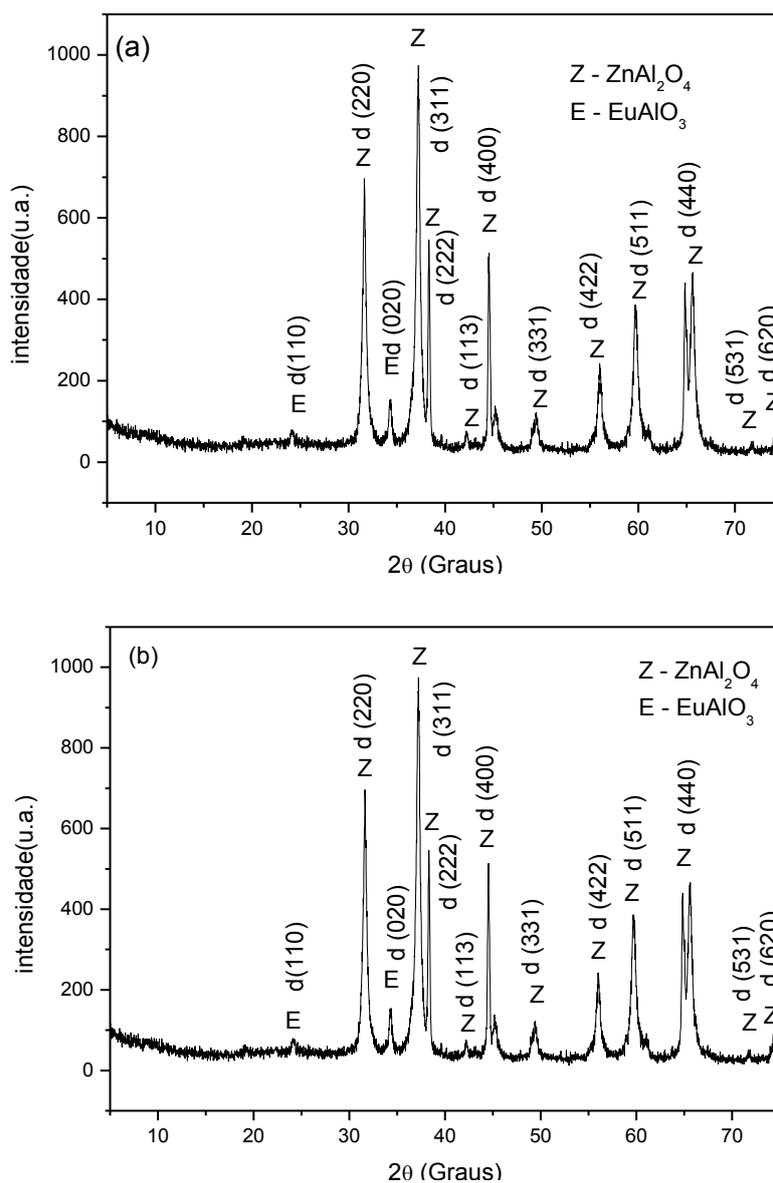


Figura 4.3 - Difratogramas de raios X para (a) **G97** e (b) **G99**.

Comparando os difratogramas de raios X da Figura 4.3 com o da Figura 4.1, observa-se que os picos do espinélio apresentam-se deslocados para um ângulo 2θ maior, em virtude da adição da mistura dos monômeros etilenodiamina e metilmetacrilato na matriz do **ZAE** para Z ambos os agentes silanos utilizados. A funcionalização ou interação dos monômeros nas nanopartículas do espinélio **ZAE** causou uma redução na intensidade dos picos aumentando a largura basal dos mesmos, o que fica evidenciado que, houve interação química dos monômeros causando uma redução na cristalinidade e no tamanho de cristalito.

Na Tabela 4.2 encontram-se os resultados de cristalinidade e tamanho de cristalito médio para as nanopartículas do **ZAE** funcionalizadas com os monômeros.

Observa-se, que o tipo de agente silano causou mudanças quanto à característica estrutural do material. Para a amostra **G99**, observa-se cristalinidade e tamanho de cristalito médio menor, em torno de 13,5 e 18,5 % quando comparado com a amostra **G97**. A funcionalização das nanopartículas **ZAE** com os monômeros resultou em partículas com tamanho de cristalito menores, isso deve ter se dado em função do tamanho de cristalito ser relacionado com a largura e meio altura dos picos de difração, que quando introduzida a mistura dos monômeros, material de característica amorfa, a largura dos picos aumenta e diminuindo a intensidade, por isso que o tamanho do cristal e a cristalinidade diminui.

Tabela 4.2 – Cristalinidade e tamanho de cristalito médio para **G97, G99 e ZAE**.

	G97	G99	ZAE
Cristalinidade (%)	66,5	57,5	72
Tamanho de cristalito médio (nm)	27	22	33

A Figura 4.4 apresenta o difratograma de raios X para quitosana pura (**QP**). Pode-se observar a presença de três picos de difração próximos a 10°, 20° e 26°, respectivamente. Isto indica que a base polimérica da quitosana seguida pelas ligações N-glicosídicas que ligam os monômeros faz com que essa estrutura não tenha um ordenamento cristalino a longas distâncias interatômicas, gerando uma estrutura aleatória comprovada pelo difratograma de raios X e que condiz com a ficha JCPDF 40-1518. A cristalinidade calculada para a quitosana pura foi 13%, o que é justificado por ser um polímero que apresenta uma estrutura desordenada. O tamanho de cristalito médio para a amostra foi 8 nm.

Segundo Varma et al. (1999), as ligações amino terminais da estrutura da quitosana também contribuem para o caráter amorfo da estrutura, pois as pontes de hidrogênio que atuam como ligações secundárias também contribuem para a mudança do ângulo de ligação entre as moléculas de quitosana.

A Figura 4.5 apresenta o difratograma de raios X para o espinélio funcionalizado com quitosana, sem adição de agente silano (**QALSAG**). Observa-se picos característicos da fase cristalina do espinélio de acordo com a ficha JCPDS 05-0669 e apenas um pico localizado em $2\theta = 22^\circ$ referente à quitosana. Comparando com a Figura 4.3, observa-se apenas um pico referente à quitosana, os demais picos observados sofreram deslocamento para um ângulo 2θ menor, com a

adição das nanopartículas $\text{ZnAl}_{1,9}\text{Eu}_{0,1}\text{O}_4$. Observou-se uma cristalinidade de 85 %, esse aumento em relação a quitosana pura, deve ter se dado devido a inserção das nanopartículas **ZAE**. Para a determinação do tamanho de cristalito médio obteve-se 16,5 nm.

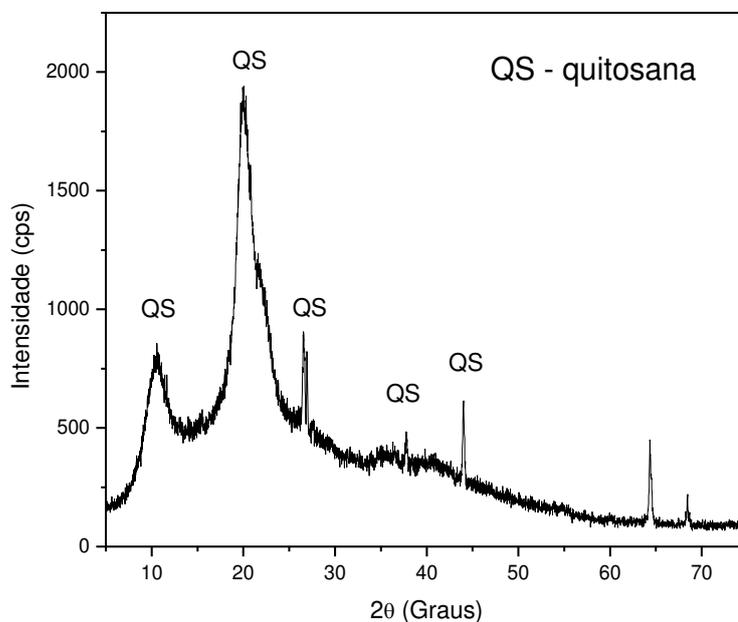


Figura 4.4 - Difratoograma de raios X para a amostra **QP**.

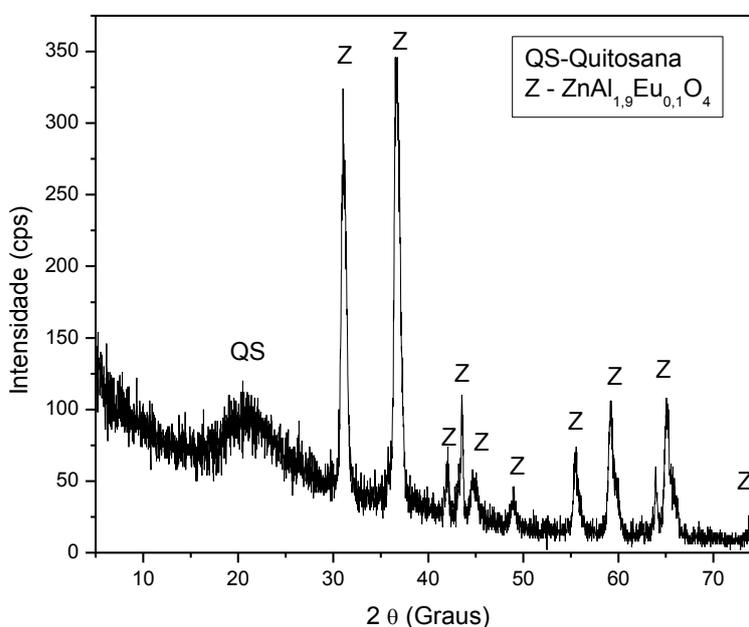


Figura 4.5 - Difratoograma de raios X para a amostra **QALSAG**.

Na Figura 4.6 encontram-se os difratogramas de raios X para as nanopartículas do **ZAE**, modificada a superfície com os agentes silanos, o 3-

aminopropiltrimetoxisilano e, o 3 – aminopropiltriétoxisilano e funcionalizados com quitosana, **QALCAG**, **Q99** e **P2**, respectivamente.

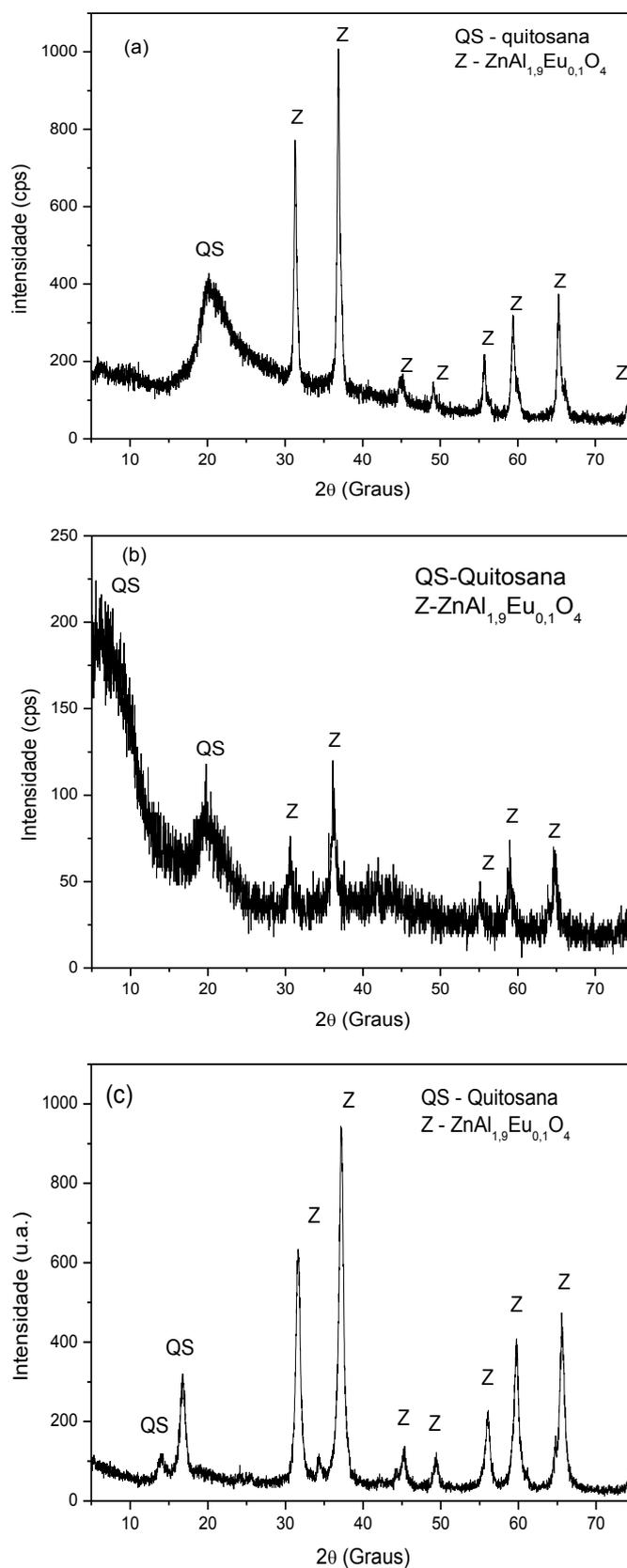


Figura 4.6 - Difratoogramas de raios X (a) **QALCAG**, (b) **Q99** e (c) **P2**.

Observa-se nas Figuras 4.6a, 4.6b e 4.6c a presença dos picos característicos da fase cristalina do espinélio **ZAE** de acordo com a ficha JCPDS 05-0669 e da quitosana (**QP**) de acordo com a ficha JCPDS 40-1518. Para o difratograma da Figura 4.6a, verifica-se apenas um pico localizado em $2\theta = 21^\circ$ referente à quitosana. Verifica-se também este pico na Figura 4.4 localizado em $2\theta = 26^\circ$ e, que com a adição das nanopartículas do **ZAE** modificadas sofreu deslocamento para um ângulo 2θ menor. Observa-se na Figura 4.6b e 4.6c, dois picos referentes à quitosana. Os demais picos pertencentes ao espinélio **ZAE** sofreram deslocamento para um ângulo menor. Fica evidenciado que houve a difusão do polímero quitosana na estrutura do espinélio **ZAE**, formando um material híbrido orgânico-inorgânico, confirmado pelo deslocamento dos picos da quitosana.

Na Tabela 4.3 encontram-se os resultados de cristalinidade e tamanho de cristalito médio para as nanopartículas **ZAE** funcionalizadas com quitosana, determinados a partir dos dados de difração de raios X. Observa-se que, a funcionalização das nanopartículas do **ZAE** com quitosana, resultou em tamanho de cristalito médio inferior de 24,3%; 45,5%; 42,5% para as amostras **QALCAG**, **Q99** e **P2**, respectivamente, quando comparado com a amostra do **ZAE** que apresentou tamanho de cristalito médio de 33 nm. O maior tamanho médio de cristalito foi observado para a amostra **QALCAG** (25 nm) e o menor tamanho de cristalito para amostra **Q99** (18 nm). A cristalinidade das nanopartículas **ZAE** antes de funcionalizar foi de 72% e depois de funcionalizadas com quitosana, apresentaram um decréscimo nesse percentual de 29%; 5%; 16% para as amostras **QALCAG**, **Q99** e **P2**, respectivamente. Esse decréscimo pode ter se dado, em virtude do baixo percentual de cristalinidade observado para a quitosana pura (13%), pois a quitosana é um biopolímero que possui característica amorfa (baixa cristalinidade). A redução no tamanho de cristalito para as amostras funcionalizadas com quitosana quando comparado com a amostra **ZAE**, deve ter se dado em função do tamanho de cristalito ser relacionado com a largura e meio altura dos picos de difração, pois se observa que a largura dos picos aumenta, diminuindo a intensidade, por isso que o tamanho do cristal e a cristalinidade diminuem.

Tabela 4.3 – Cristalinidade e tamanho de cristalito médio para as amostras **QALCAG, Q99, P2 e QP**.

Amostras	QALCAG	Q99	P2	QP
Cristalinidade (%)	43	67	56	13
Tamanho de cristalito médio (nm)	25	18	19	7

4.2 Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A Figura 4.7 apresenta o espectro vibracional na região do infravermelho na faixa de $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$ para o espinélio **ZAE** obtido por reação de combustão. Observa-se, uma banda de absorção OH, em torno de 3400 cm^{-1} , e uma banda em torno de 2350 cm^{-1} de estiramento C=O. A banda característica de CO_2 deve provavelmente ser proveniente de gases remanescentes oriundo da combustão, o qual possivelmente não foi totalmente removido durante a síntese. Observa-se ainda uma banda, correspondente à deformação angular assimétrica de N-H ($-\text{NH}_3^+$) na região de 1650 cm^{-1} , outra banda de deformação angular simétrica próxima de 1535 cm^{-1} e duas bandas abaixo de 1000 cm^{-1} , que são atribuídas às vibrações intrínsecas dos sítios tetraédricos (Al-O) e octaédricos (Zn-O) característicos do espinélio.

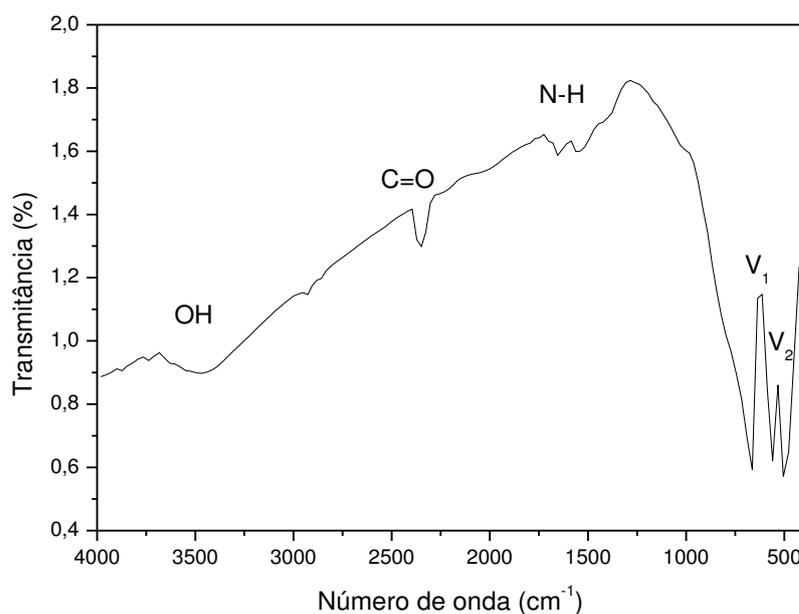


Figura 4.7 - Espectro de FTIR para o espinélio **ZAE**.

As vibrações características observadas no espectro da Figura 4.7 foram semelhantes às vibrações observadas por El-Sayed et al. (2002), quando estudaram a influência do zinco em algumas propriedades das ferritas Ni-Zn obtida pelo método convencional de mistura de óxidos. Os autores observaram as bandas de absorção ν_1 e ν_2 características da ferrita do espinélio inverso abaixo de 1000 cm^{-1} . Waldron (1955) e Hafner (1961) atribuíram à banda ν_1 como sendo vibrações intrínsecas dos sítios tetraédricos e a banda ν_2 a vibrações dos sítios octaédricos. Os autores identificaram uma terceira banda ν_3 na faixa abaixo de 400 cm^{-1} e foi associada com as vibrações do íon metal entre os campos de força dos seus vizinhos octaédricos ou tetraédricos.

A terceira banda identificada por Waldron (1955) e Hafner (1961), não foi observada no espectro da Figura 4.6, devido o limite de detecção do equipamento utilizado, ser 400 cm^{-1} . O espectro apresentado na Figura 4.6 foi similar com os espectros de compostos inorgânicos. Isso foi comprovado porque o material é um óxido e também por apresentar uma banda larga de estiramento O-H na faixa de 3400 cm^{-1} (EVANGELISTA et al., 2007).

Singh et al. (2008), quando prepararam e caracterizaram o espinélio $\text{ZnAl}_2\text{O}_4:\text{Mn}$ por reação de combustão, também observaram uma banda em 3435 cm^{-1} correspondente as vibrações dos grupos hidroxilas e uma banda em 1627 cm^{-1} atribuída a deformação vibracional da molécula da água. Observaram três picos abaixo de 1000 cm^{-1} e atribuíram ao estiramento do Al-O no sítio octaédrico de coordenação 6 (AlO_6).

Desta forma, comparando os resultados obtidos por meio do espectro de infravermelho para a amostra do **ZAE** neste trabalho com os resultados dos autores citados verifica-se as mesmas características das vibrações.

As Figuras 4.8a e 4.8b apresentam espectros vibracionais na região do infravermelho na faixa de $4000 - 400\text{ cm}^{-1}$ para as nanopartículas do espinélio **ZAE** obtido por reação de combustão modificada com dois tipos de agentes silanos. Verificando os espectros, observa-se que o tipo de agente silano não causou diferenças significativas entre eles. Porém, o espectro para o agente silano 3-aminopropiltrimetoxisilano, é constituído de bandas mais intensas quando comparado com o agente silano 3-aminopropiltriethoxisilano. Em ambos os espectros

das Figuras 4.8a e 4.8b, observa-se uma banda de 3700 - 3200 cm^{-1} correspondente às vibrações de deformação axial de O-H do grupo silanol (Si-OH).

A modificação da superfície do espinélio **ZAE** foi identificada pela presença do grupo silanol (OH), pois os oxigênios existentes na superfície do espinélio formaram pontes de hidrogênio com os átomos de hidrogênio do agente silano, tornando o caráter que antes era hidrofílico para hidrofóbico. Ambos os espectros apresentaram bandas de estiramento na região de 2900 cm^{-1} atribuídas a $\nu(\text{C-H})$ alifáticos tipo sp^3 . Em 1623 cm^{-1} observa-se uma banda de estiramento referente a C=O, que indica possivelmente a coordenação com metais. As bandas múltiplas em torno de 1157 cm^{-1} e 1046 cm^{-1} correspondem ao estiramento assimétrico ν_{ass} Si-O-.

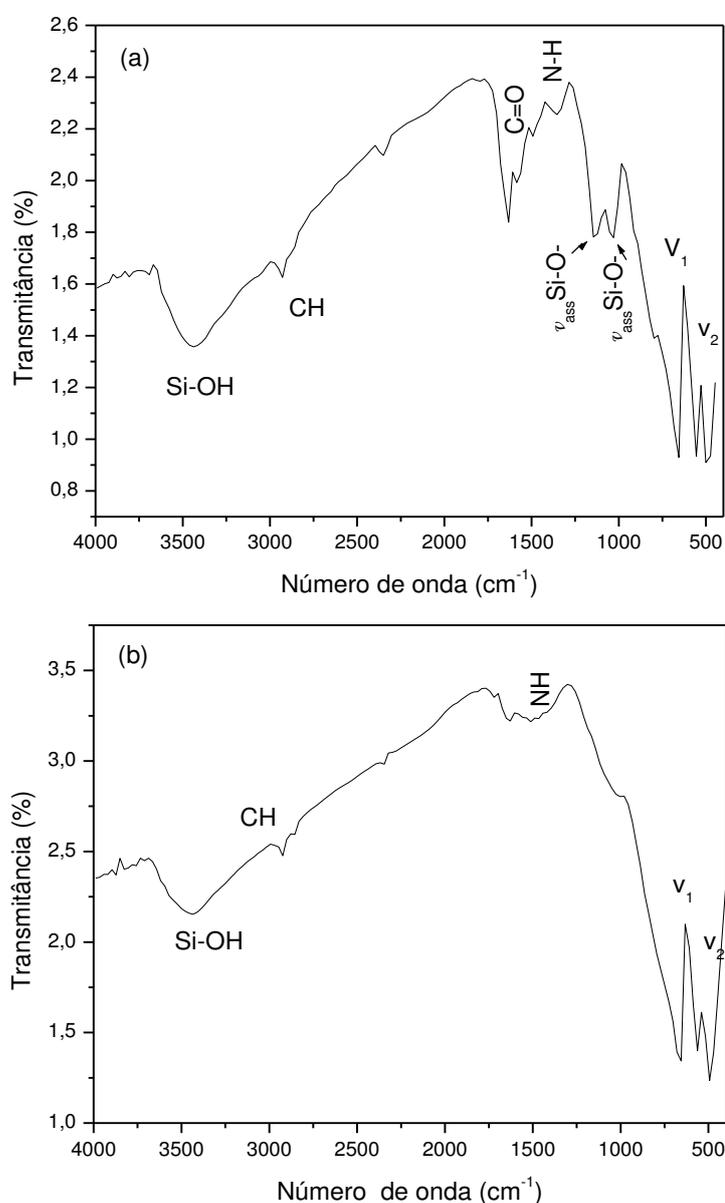


Figura 4.8 - Espectro de FTIR (a) **AS97** e (b) **AS99**.

As Figuras 4.9a, 4.9b, apresentam espectros vibracionais na região do infravermelho na faixa de 4000 – 400 cm^{-1} para as nanopartículas do espinélio **ZAE** modificada a superfície a partir dos agentes silanos e funcionalizados com os monômeros.

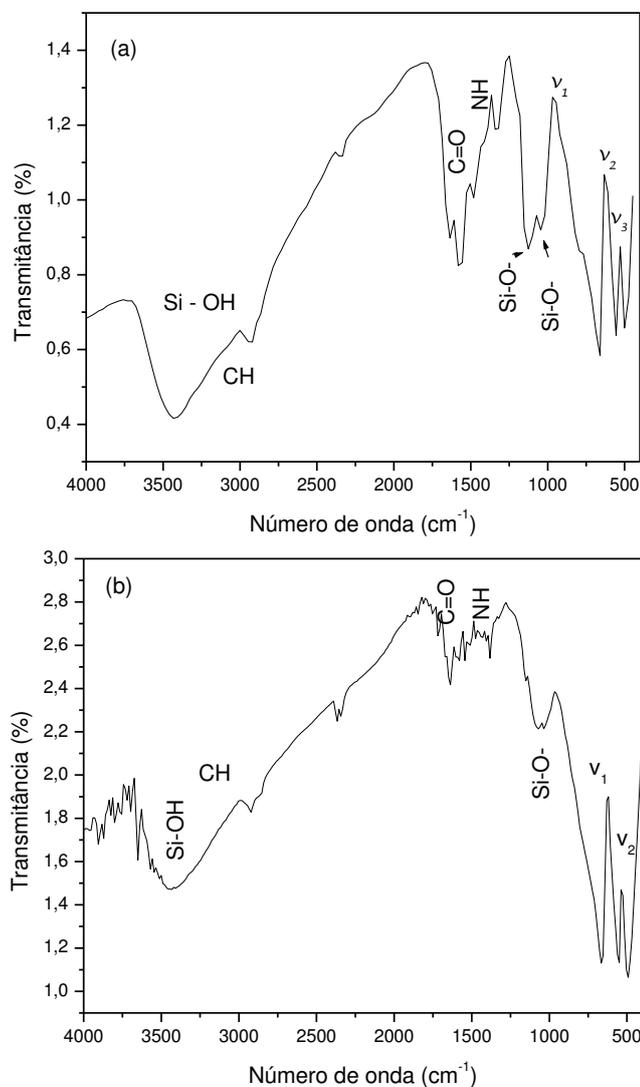


Figura 4.9 - Espectro de FTIR (a) **G97** e (b) **G99**.

Mediante as Figuras 4.9a e 4.9b, observa-se uma banda de 3700 - 3200 cm^{-1} correspondente as vibrações de deformação axial de O-H do grupo silanol (Si-OH). Esta banda indica a completa remoção de grupos O-H, que antes estavam presente na amostra, constatando que houve uma reação química da estrutura do espinélio com o agente silano. Em 2900 cm^{-1} observa-se um pequeno pico referente ao estiramento vibracional CH.

Pelo espectro da Figura 4.9a e 4.9b pode-se observar duas bandas conjugadas, uma aparece em 1600 cm^{-1} , que foi atribuída a presença de grupos NH_2

livres, e a outra banda em 1557 cm^{-1} correspondente a ligação do oxigênio com o grupo NH_2 do agente silano. As bandas observadas ν_1 e ν_2 abaixo de 1000 cm^{-1} que são atribuídas as vibrações dos metais nos sítios tetraédricos e octaédricos, sofreram um deslocamento para um comprimento de onda maior. Para os espectros da Figura, a terceira banda ν_3 que antes não era detectada pelo equipamento se deslocou para um comprimento de onda próximo de 500 cm^{-1} . Isso deve ter se dado, devido à modificação da superfície do espinélio a partir dos agentes silanos funcionalizados com os monômeros.

El-Sayed et al. (2002), quando estudaram a influência do zinco em algumas propriedades das ferritas Ni-Zn obtida pelo método convencional de mistura de óxidos observaram bandas de absorção abaixo de 1000 cm^{-1} .

Sanchez-Capel et al. (2004), observaram essas bandas quando estudaram a sililação de sílica com dois agentes silanos 1,1,1,3,3,3-hexametildisiloxane e 1,1,1,3,3,3-hexametildisilanaze. A presença de uma banda muito fraca em 2349 cm^{-1} é devido a parcial transferência do próton $\text{SiOH} - \text{NH}_2^+$ dentro da estrutura em anel do agente silano. As bandas conjugadas em 1500 cm^{-1} , 1370 cm^{-1} e 1240 cm^{-1} são atribuídas a presença de grupos metilenos ($-\text{CH}_2$), presentes no metilmetacrilato e etilenodiamina.

Wang et al. (2008), encapsularam nanopartículas de sílica utilizando o polimetilmetacrilato, os autores observaram duas bandas localizadas em 1380 e 1464 cm^{-1} e atribuíram essas bandas ao grupo metil presente no metilmetacrilato.

Os resultados obtidos neste trabalho corroboram com os resultados obtidos por estes autores.

A Figura 4.10 apresenta o espectro vibracional para quitosana pura (**QP**). Pode-se observar que o espectro apresenta uma banda larga em torno de 3449 cm^{-1} devido ao estiramento axial - OH, a qual constitui a absorção mais característica desse composto carboidrato, visto que a quitosana é um carboidrato do tipo polissacarídeo. Na faixa de 2939 cm^{-1} observa-se uma banda de estiramento - NH.

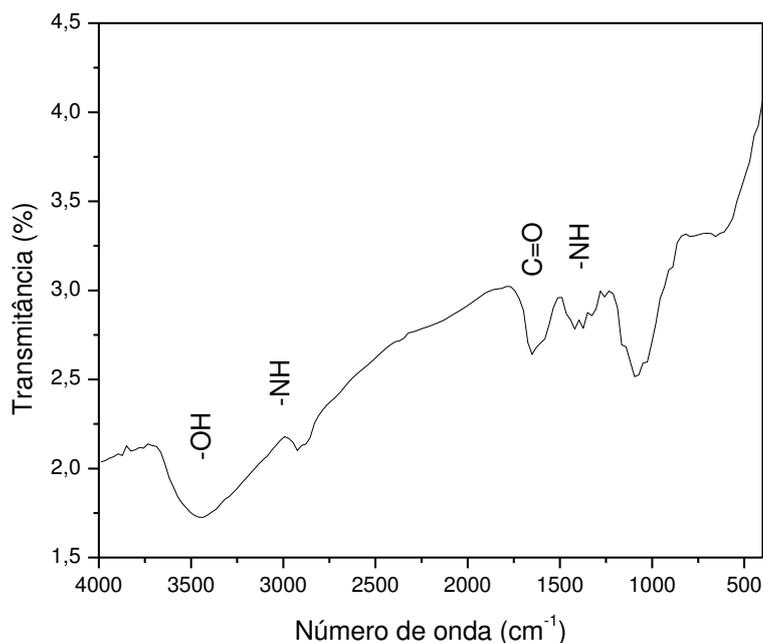


Figura 4.10 - Espectro FTIR **QP**.

Em torno de 1650 cm^{-1} observa-se uma banda de estiramento C=O de amida secundária, sendo uma contribuição da quitina, e às vibrações de deformação N-H do grupo amina em torno de 1414 cm^{-1} . O efeito +M (mesomérico doador) do nitrogênio predomina sobre o efeito -I (eletro negativo) do nitrogênio, diminuindo o caráter de dupla ligação C=O e diminuindo a frequência de estiramento C=O.

Essas bandas características da quitosana foram observadas por Sionkowska et al. (2006), quando estudaram a influência da irradiação UV na superfície de filmes de quitosana. Boonsongrit et al. (2008), quando estudaram a interação eletrostática quitosana - isulina/ácido benzóico observaram mesmo comportamento reportado por Sionkowska et al. (2006). Os resultados obtidos neste estudo corroboram com resultados reportados por estes autores. As bandas de $1000 - 1200\text{ cm}^{-1}$ foram atribuídos, então, à estrutura sacarídea da quitosana.

A Figura 4.11 apresenta o espectro vibracional para as nanopartículas do espinélio **ZAE** não modificado a superfície e funcionalizados com quitosana (**QALSAG**).

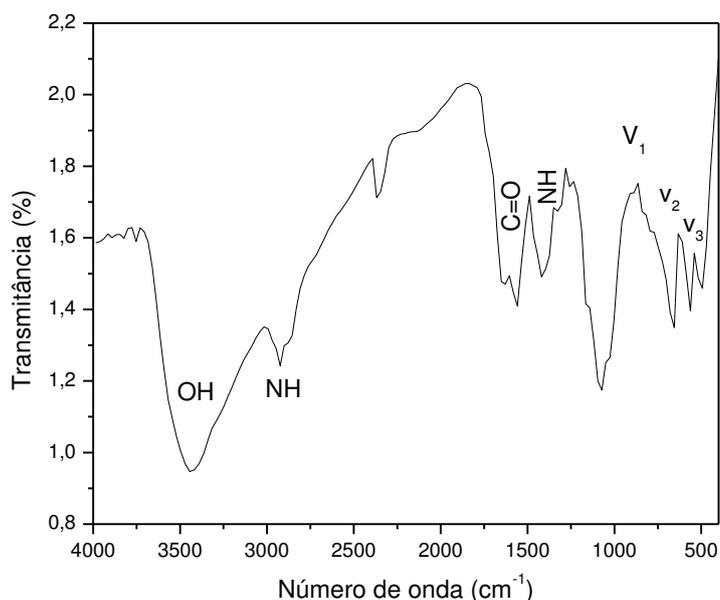


Figura 4.11 - Espectro de FTIR para **QALSAG**.

Observa-se que o espectro apresenta comportamento semelhante ao espectro da quitosana pura (Figura 4.10). A banda de estiramento – NH localizada em 2923 cm^{-1} encontra-se deslocada para comprimento de onda menor, quando comparada com o espectro para **QP** (Figura 4.10). Isso deve ter sido provavelmente devido a interação metal/ grupo NH_2 do polímero quitosana. Verifica-se a presença das bandas abaixo de 1000 cm^{-1} , característico do espinélio. Estas se apresentam deslocadas para um número de onda maior, isso deve ter se dado devido à presença na quitosana nas nanopartículas **ZAE**, formando um material híbrido.

A Figura 4.12 apresenta os espectros vibracionais na região do infravermelho na faixa de $4000 - 400\text{ cm}^{-1}$ para as nanopartículas do **ZAE**, modificados a partir dos dois agentes silanos, o 3-aminopropiltrimetoxissilano e, o 3 – aminopropiltriétoxissilano e funcionalizados com quitosana, **QALCAG**, **Q99** e **P2**. Os espectros apresentam comportamento semelhante ao espectro da quitosana pura (Figura 4.10). A banda de estiramento - NH observada nos espectros encontra-se deslocada para comprimento de onda menor, quando comparada com o espectro da Figura 4.10. Isso deve ter sido provavelmente devido a interação metal/ grupo NH_2 do polímero quitosana.

A banda de estiramento ($\text{C}=\text{O}$), em geral, apresenta um deslocamento para menores comprimentos de onda com a complexação, indicando que, nestes casos,

a interação com o metal provoca uma diminuição na ordem de ligação C=O. Para a Figura 4.12c, observa-se bandas múltiplas em torno de 1074 cm^{-1} e 1032 cm^{-1} que correspondem ao estiramento assimétrico ν_{ass} Si-O-. Ainda, se pode observar bandas abaixo de 1000 cm^{-1} que é característica do espinelio **ZAE**.

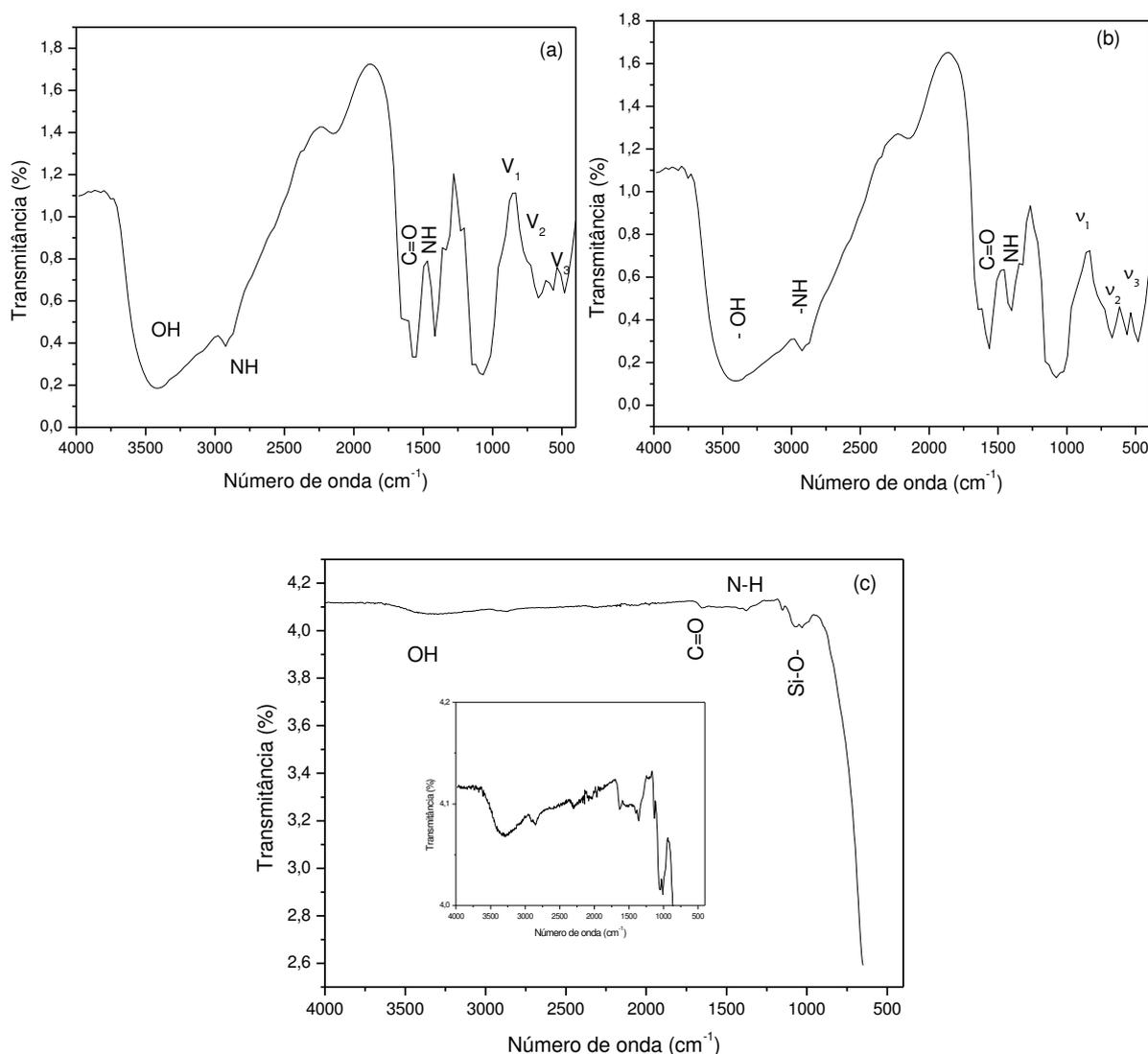


Figura 4.12 - Espectro de FTIR (a) **Q99**, (b) **QALCAG** e (c) **P2**.

Waldron (1995) e Hafner (1961) atribuíram à banda ν_1 as vibrações intrínsecas dos sítios tetraédricos e a banda ν_2 às dos sítios octaédricos. Para uma terceira banda ν_3 que foi observada na faixa abaixo de 400 cm^{-1} , eles associaram com as vibrações do íon metal entre os campos de força dos seus vizinhos octaédricos ou tetraédricos. Essa banda ν_3 foi observada no espectro da Figura 4.12

na faixa de 510 cm^{-1} , apresentando-se deslocada para um número de onda maior, e a qual corresponde a vibração do íon európio.

4.3 Microscopia Eletrônica de Transmissão

A Figura 4.13 ilustra a morfologia das partículas determinadas por microscopia eletrônica de transmissão (MET) em campo claro (DF) juntamente com o padrão de difração (SADPs) para o espinélio **ZAE**. Observa-se, uma morfologia bastante heterogênea, constituída de aglomerados com partículas em formato de agulhas e partículas com formato aproximadamente hexagonal, com tamanho menor que 100 nm. Esta variedade de tamanho e formas resulta no alargamento da banda espectral de absorção óptica. No padrão de difração de elétrons observam-se anéis concêntricos, bem definidos que correspondem a família de planos $\{hkl\}$ pertencentes à fase do espinélio **ZAE**, comprovando que o material se encontra cristalino. A abertura selecionada permitiu revelar os principais anéis correspondentes a estrutura do espinélio.

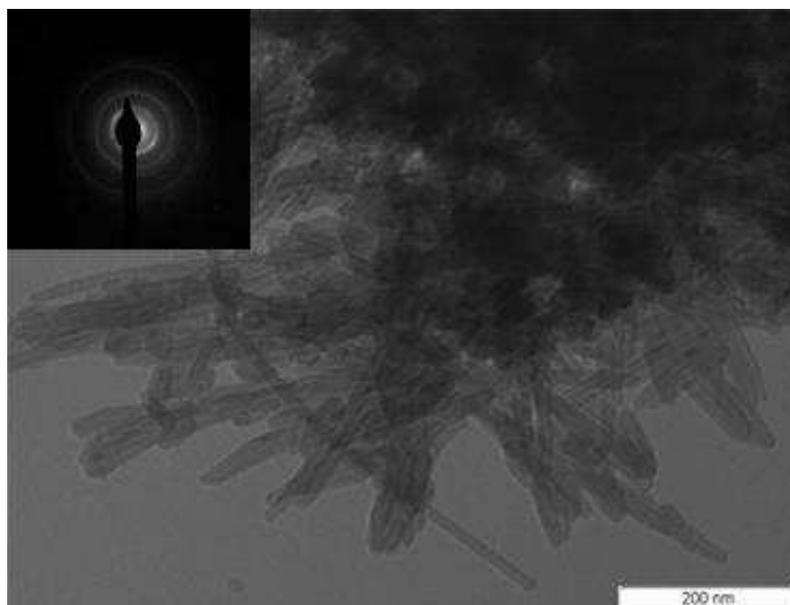


Figura 4.13 - Micrografia obtida por microscopia eletrônica de transmissão para a amostra **ZAE**.

Yang et al., (2004a) prepararam o ZnAl_2O_4 e $\text{ZnAl}_2\text{O}_4/\text{Eu}$ por via rota hidrotermal e observaram através da técnica de caracterização por microscopia

eletrônica de transmissão um tamanho de partícula de 5 nm, e formato aproximadamente hexagonal.

Zawadzki (2006), sintetizaram amostras de ZnAl_2O_4 por síntese microondas-hidrotermal. Através da microscopia eletrônica de transmissão observaram que o material obtido apresentava partículas de formato similarmente esférico com tamanho de 2,4 nm. Afirmaram que as partículas por está aglomeradas não interferem na natureza cristalina do material confirmado pelo padrão de difração.

Este resultado obtido neste trabalho corrobora com os resultados obtidos por estes autores, pois a morfologia é constituída de aglomerados com partículas com formato hexagonal, semelhante à morfologia encontrada por Yang et al., (2004a). Por outro lado, este resultado obtido neste trabalho difere nos resultados de tamanho de partícula obtidos por estes autores.

Nas Figuras 4.14a e 4.14b, encontram-se a morfologia das nanopartículas **ZAE** funcionalizados com a mistura dos monômeros metilmetracrilato e etilenodiamina.

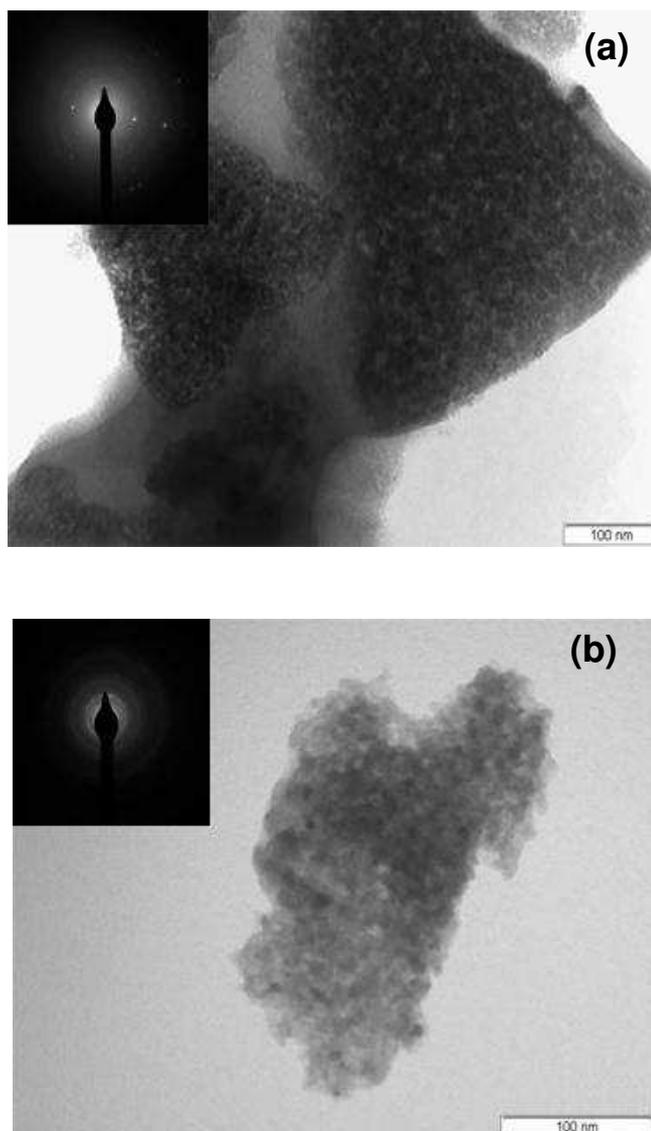


Figura 4.14 - Micrografia obtida por microscopia eletrônica de transmissão para a amostra (a) **G97** e (b) **G99**.

Na Figura 4.14a, observa-se que o material é constituído de partículas não homogênea composta por aglomerados de partículas, contendo as fases: amorfa e cristalina, com tamanho menor que 100 nm. Na Figura 4.14b, as partículas são de formato esférico, com tamanho menor que 100 nm. No padrão de difração de elétrons, observam-se anéis não tão concêntricos com linhas finas, pertencentes ao espinélio, verificando que a funcionalização das nanopartículas **ZAE** com a mistura dos monômeros, alterou significativamente a cristalinidade do material. A abertura selecionada permitiu revelar os principais anéis correspondentes a estrutura do espinélio.

A Figura 4.15 apresenta a morfologia das partículas determinadas por MET em campo claro (DF) juntamente com o padrão de difração (SADPs) para a quitosana pura (**QP**). Observa-se uma morfologia com partículas de formato irregular com tamanho menor que 200 nm. No padrão de difração de elétrons, as linhas de difração referem-se aos principais planos pertencentes à quitosana.

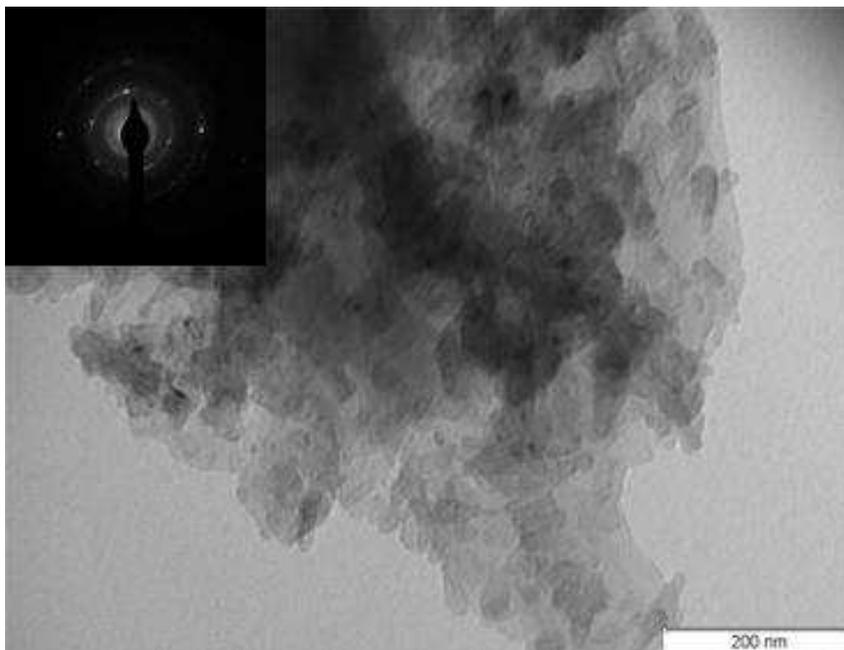


Figura 4.15 - Micrografia obtida por microscopia eletrônica de transmissão para a amostra **QP**.

As Figuras 4.16a, 4.16b e 4.16c apresentam a morfologia das nanopartículas do **ZAE** funcionalizada com quitosana, determinadas por MET em campo claro (DF) juntamente com o padrão de difração (SADPs) **QALCAG**, **Q99** e **P2**. Observa-se uma morfologia não homogênea, composta por um filme e partículas impregnadas de formato aproximadamente esférica, contendo fases amorfas e cristalinas, com partículas da ordem 100 nm.

O padrão de difração de elétrons para **QALCAG** (Figura 4.16a) e **P2** (Figura 4.16c) apresenta os anéis com linhas bem definidas e afastadas umas das outras. Para a amostra **Q99** (Figura 4.16b) os anéis se apresentam com linhas bem definidas e distam uma das outras por pequenas distâncias. Estes anéis correspondem a família de planos $\{hkl\}$ do espinélio e da quitosana, isso pode ser comprovado pelo difratograma de raios X da Figura 4.6, onde se observou picos referente ao espinélio e a quitosana. A funcionalização do espinélio **ZAE** com a quitosana causou uma desorganização na rede do espinélio. Isso é comprovado

pela larga distância entre os anéis e pelo deslocamento do ângulo 2θ observado no difratograma de raios X da Figura 4.6.

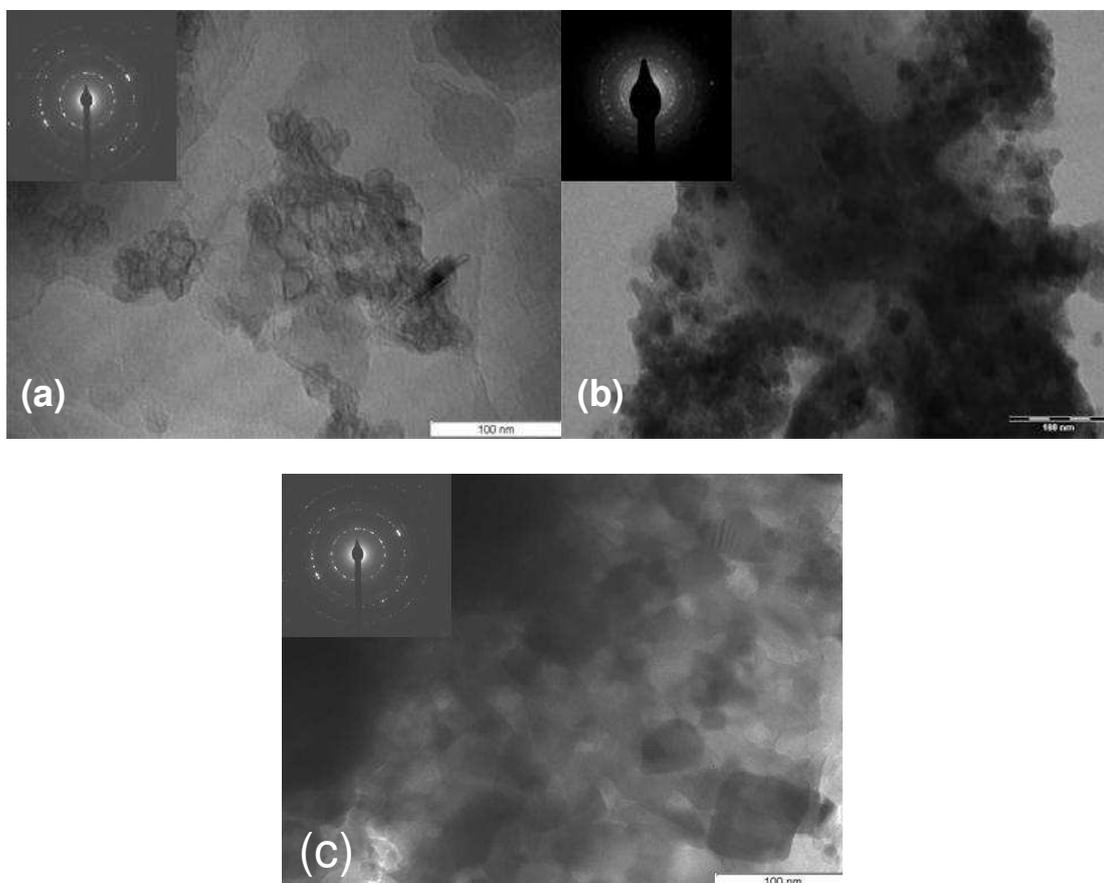


Figura 4.16 - Micrografia obtida por microscopia eletrônica de transmissão para a amostra (a) **QALCAG**, (b) **Q99** e (c) **P2**.

4.4 Excitação e Emissão

Na Figura 4.17, observa-se o espectro de excitação para o espinélio $\text{ZnAl}_{1,9}\text{Eu}_{0,1}\text{O}_4$ (**ZAE**), onde estão assinaladas as transferências de energia relativas a cada linha espectral. Observam-se dois tipos característicos de picos. Entre 225-350 nm temos um pico ou banda de excitação “larga”. Esta banda é originada por transições de transferência de carga do íon O^{2-} para o íon Eu^{3+} . Esta banda pode indicar a presença de Eu^{3+} inserido na rede cristalina do aluminato de zinco. Por outro lado, os picos de excitação observados acima de 350 nm são característicos das transferências de energia entre subníveis energéticos do próprio íon Eu^{3+} , ou seja, excita-se diretamente o íon Eu^{3+} , sem transferência de energia entre o mesmo e a matriz.

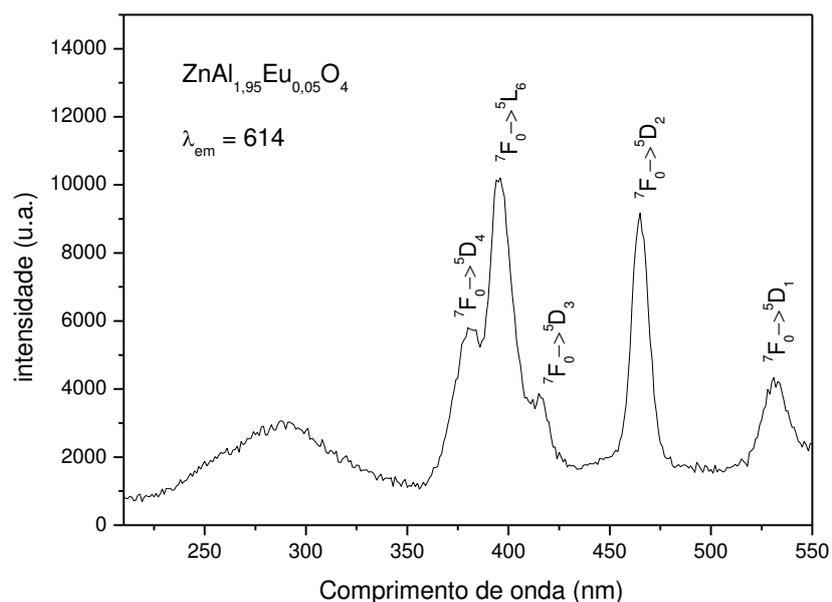


Figura 4.17 – Espectro de excitação para **ZAE**.

A Figura 4.18 ilustra o espectro de excitação para **ZAE**, **AS99**, **G97** e **G99**, emissão fixa em 614 nm, na faixa de 210 a 550 nm. Observa-se que todas as amostras, apresentaram comportamento semelhante, e onde as transições ${}^7F_0 \rightarrow {}^5D_4$, ${}^7F_0 \rightarrow {}^5L_6$, ${}^7F_0 \rightarrow {}^5D_3$, ${}^7F_0 \rightarrow {}^5D_2$ e ${}^7F_0 \rightarrow {}^5D_1$ pertencentes ao íon európio foram observadas. Isto indica, que a modificação da superfície das nanopartículas do **ZAE** com a utilização dos agentes silanos em estudo e a funcionalização das mesmas com a mistura dos monômeros etilenodiamina e metilmetacrilato não interferiu nas linhas espectrais observadas para a amostra **ZAE**. A amostra **G97** apresentou um aumento de intensidade na transição ${}^7F_0 \rightarrow {}^5D_4$, localizado em 379 nm, quando comparado com a amostra **ZAE**. Observa-se ainda que, os espectros são constituídos de bandas largas, isto sugere que, bandas largas no espectro de emissão do Eu^{3+} indicam sítios não homogêneos, que normalmente acontecem em sistemas amorfos. Este comportamento foi observado por Ávila (2010) quando preparou matrizes híbridas orgânico-inorgânicas a base de sílica e caulinita, pelo método sol-gel e observaram uma banda larga de emissão num comprimento de onda de 500 a 560 nm e atribuiu a sistemas amorfos.

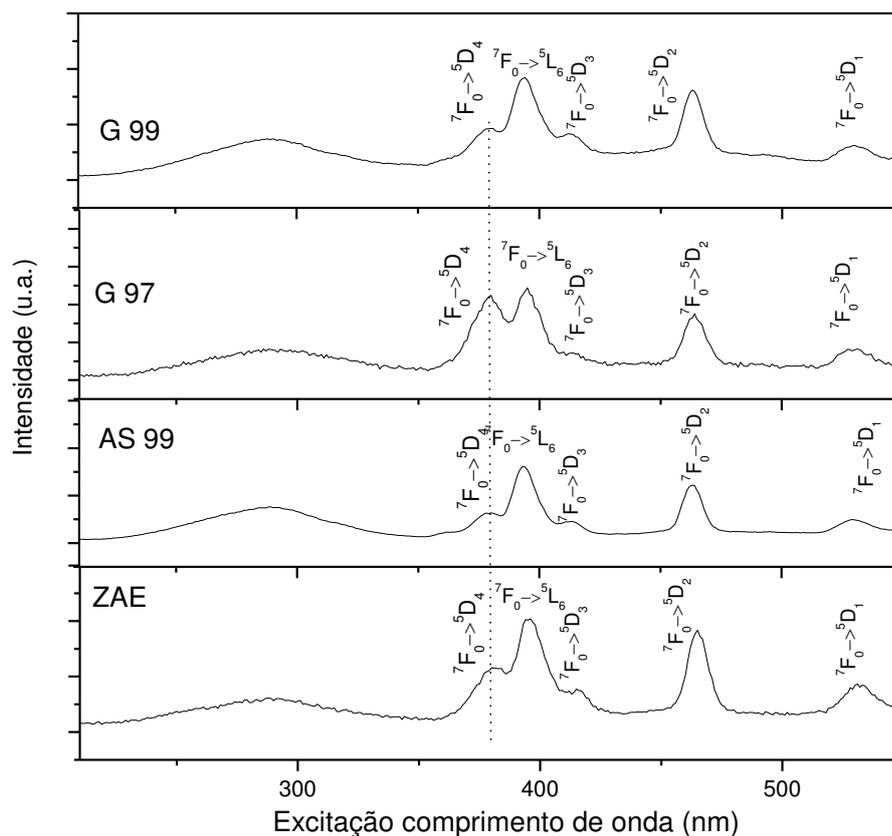


Figura 4.18 – Espectro de excitação para **ZAE**, **AS99**, **G97** e **G99**, emissão fixa em 614 nm.

A Figura 4.19 ilustra o espectro de excitação para **ZAE**, **QP**, **QALSAG**, **QALCAG**, **Q99** e **P2** emissão fixa em 614 nm, na faixa de 210 a 550 nm. Observa-se que, apenas a amostra **P2** apresentou as transições ${}^7F_0 \rightarrow {}^5D_4$, ${}^7F_0 \rightarrow {}^5L_6$, ${}^7F_0 \rightarrow {}^5D_3$, ${}^7F_0 \rightarrow {}^5D_2$ e ${}^7F_0 \rightarrow {}^5D_1$ correspondentes as linhas espectrais observadas para a amostra **ZAE**. Com isso fica evidenciado que, houve a funcionalização das nanopartículas **ZAE** melhorando as propriedades luminescentes dessas nanopartículas. Por outro lado, observa-se que as amostras **QALSAG**, **QALCAG** e **Q99** funcionalizadas com quitosana apresentaram uma banda larga iniciada em torno de 300 nm observada no espectro de excitação para a quitosana pura.

Observa-se ainda que, as amostras **QALSAG**, **QALCAG** e **Q99** apresentaram uma banda sobreposta à banda da quitosana em torno de 470 nm atribuída à transição ${}^7F_2 \rightarrow {}^5D_2$ característica do íon európio. As demais linhas espectrais do íon európio não são observadas para estas amostras, mostrando que a quantidade de quitosana utilizada, causou o recobrimento das nanopartículas **ZAE**, evidenciado pelo desaparecimento das transições do íon európio.

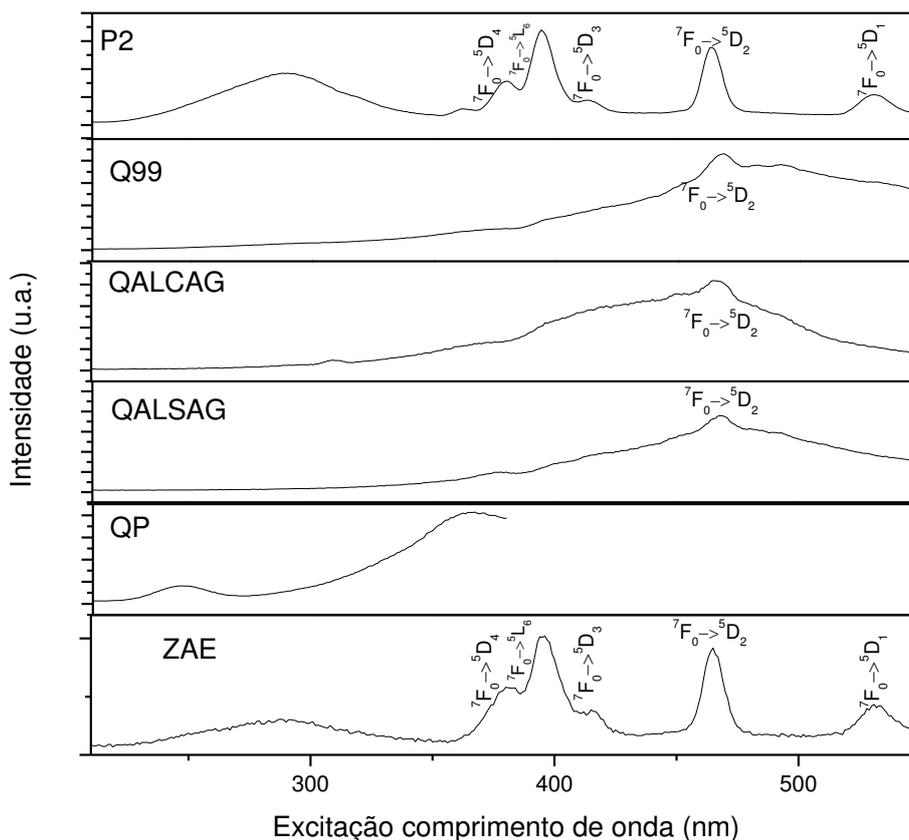


Figura 4.19 – Espectro de excitação para **ZAE**, **QP**, **QALSAG**, **QALCAG**, **Q99** e **P2** emissão fixa em 614 nm.

A Figura 4.20 ilustra o espectro de emissão do espinélio $\text{ZnAl}_{1,9}\text{Eu}_{0,1}\text{O}_4$ excitação fixa em 290 nm, na faixa de 370 a 720 nm. Os espectros das nanopartículas **ZAE** emitem na região do vermelho e transições características do íon Eu^{3+} foram observadas. Mediante o espectro observam-se os picos de emissão característicos do aluminato de zinco dopado com o íon Eu^{3+} na faixa de 572 a 703 nm. Segundo Lou e Hao, 2004; o espectro de luminescência deste íon é significativamente influenciado pela rede cristalina utilizada como hospedeira por causa das transições eletrônicas envolvendo apenas a redistribuição de elétrons dentro da subcamada 4f.

Estas transições podem ocorrer via dipolo elétrico forçado (DEF), dipolo magnético (DM) ou quadripolo elétrico (QM) e são provocadas pela ação do campo ligante gerado pela rede hospedeira que distorce o íon livre. Na Figura 4.20, o pico de emissão mais intenso centrado em 614 nm, correspondente a transição ${}^5\text{D}_0 \rightarrow {}^7\text{F}_2$ que ocorre via dipolo elétrico forçado (DEF), possui intensidade consideravelmente superior à do pico centrado em 591 nm, transição ${}^5\text{D}_0 \rightarrow {}^7\text{F}_1$, que ocorre via dipolo magnético (DM), indicando que o íon Eu^{3+} encontra-se em uma ambiente de baixa

simetria. A transição $^5D_0 \rightarrow ^7F_1$ desdobra-se em duas bandas de intensidade média. Os picos de emissão com menor intensidade observados em 654 e 704 nm correspondem às transições, $^5D_0 \rightarrow ^7F_3$ e $^5D_0 \rightarrow ^7F_4$, respectivamente. Segundo Kodaira et al., 2006; a presença da transição $^5D_0 \rightarrow ^7F_0$ no espectro de luminescência indica que os íons Eu^{3+} poderiam estar ocupando um ambiente de baixa simetria. Os espectros de emissão também apresentam picos de emissão entre 370 e 490 nm, provavelmente gerados pela matriz (ZnAl_2O_4).

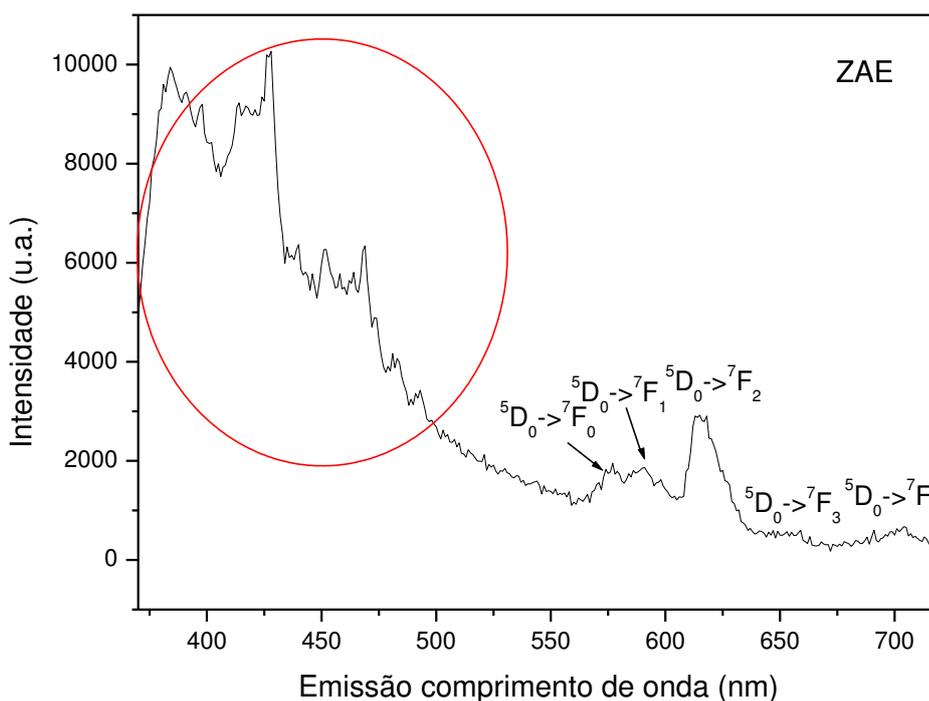


Figura 4.20 – Espectro de emissão do espínio $\text{ZnAl}_{1,9}\text{Eu}_{0,1}\text{O}_4$ excitação fixa em 290 nm.

Dentre as transições $^5D_0 \rightarrow ^7F_j$ ($J = 0,1,2,3,4$) características do íon Eu^{3+} , as transições $^5D_0 \rightarrow ^7F_1$ e $^5D_0 \rightarrow ^7F_2$ apresentam um especial interesse, visto que a relação de intensidade entre as mesmas, pode ser usada na determinação do nível de simetria local do íon, dentro da rede cristalina. Rakov et al. (2003), observou que a transição $^5D_0 \rightarrow ^7F_1$ dificilmente é afetada pelo campo cristalino em torno do íon Eu^{3+} . Por outro lado, a transição hipersensível $^5D_0 \rightarrow ^7F_2$ é um dipolo elétrico, o que implica na sua dependência com o campo gerado pela rede cristalina e consequentemente com a simetria local a que o íon Eu^{3+} está submetido. A partir das intensidades relativas ($^5D_0 \rightarrow ^7F_2 / ^5D_0 \rightarrow ^7F_1$), determinou-se a área relativa (R21), como uma medida da simetria ao redor do íon e observou-se uma relação de 1,60.

A Figura 4.21 ilustra o espectro de emissão para **ZAE**, **AS99**, **G97** e **G99** excitação fixa em 290 nm, na faixa de 370 a 720 nm. Observa-se que todas as amostras apresentaram as transições característica do európio $^5D_0 \rightarrow ^7F_0$, $^5D_0 \rightarrow ^7F_1$, $^5D_0 \rightarrow ^7F_2$, $^5D_0 \rightarrow ^7F_3$ e $^5D_0 \rightarrow ^7F_4$. Observa-se também que a modificação da superfície com o agente silano e a funcionalização com a mistura dos monômeros, não causou desaparecimento das linhas espectrais do európio, porém alterou significativamente na intensidade da luminescência. A modificação da superfície com o agente silano 3-aminopropiltrióxido (AS99) aumentou significativamente a intensidade do pico de $^5D_0 \rightarrow ^7F_2$, isto é observado quando comparamos a intensidade do pico em 614 nm da amostra **ZAE** que apresenta intensidade 3044, com a intensidade da amostra **AS99** que apresenta intensidade 36504. Com isso fica evidenciado que a sinalização aumentou a luminescência do material.

Para as amostras funcionalizadas com a mistura dos monômeros metilmetacrilato e etilenodiamina, se observa que apenas a amostra **G99** apresentou um aumento na intensidade da luminescência da transição $^5D_0 \rightarrow ^7F_2$. Para este pico observa-se uma intensidade de 14579.

Para a amostra **G97** observa-se que a intensidade da transição $^5D_0 \rightarrow ^7F_2$ sofreu uma redução, isto é observado quando comparamos a intensidade deste pico para a amostra **ZAE** antes de funcionalizar (3044) com a amostra funcionalizada **G97** (1610). A relação de intensidade ($^5D_0 \rightarrow ^7F_2 / ^5D_0 \rightarrow ^7F_1$) foi de 2,60; 2,80; 2,55 para as amostras **AS99**, **G97**, **G99**, respectivamente. Segundo Nassar et al., (1998), esse aumento no valor da área relativa (R21) sugere um decréscimo na simetria, ou seja, para o valor R21 aumentar, é necessário que a transição $^5D_0 \rightarrow ^7F_2$ seja mais intensa, o que acontecerá somente se a simetria na vizinhança do Eu^{3+} diminuir.

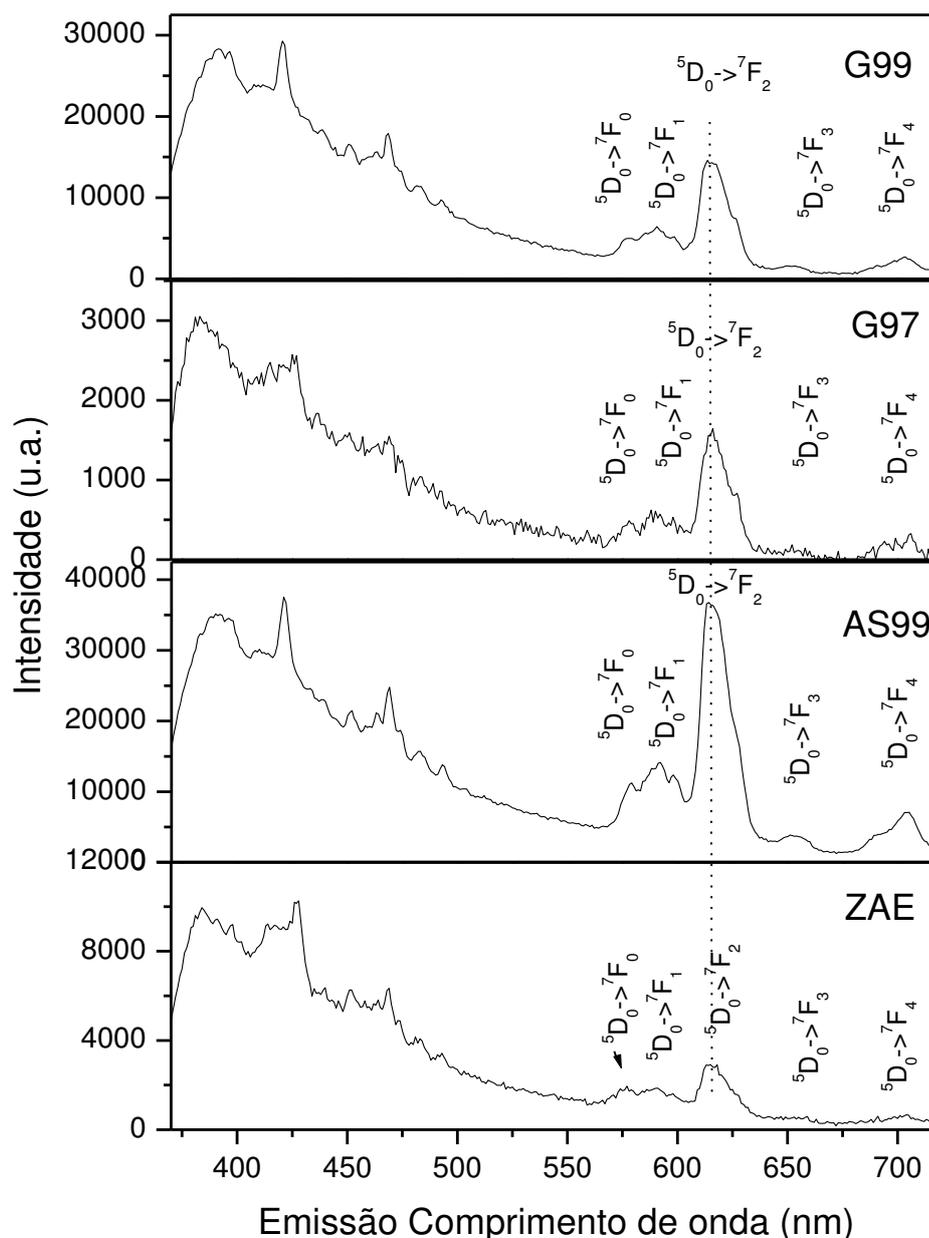


Figura 4.21 – Espectro de emissão para as amostras **ZAE**, **AS99**, **G97** e **G99** excitação fixa em 290 nm.

A Figura 4.22 ilustra o espectro de emissão para as amostras **ZAE**, **AS99**, **G97** e **G99** com excitação fixa em 290 nm, na faixa de 370 a 720 nm. Pode-se observar que apenas a amostra **P2** apresentou as linhas espectrais do európio ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_0$, ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_1$, ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_2$, ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_3$ e ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_4$ verificadas para a amostra **ZAE**. As amostras **QALSAG**, **QALCAG** e **Q99** apresentam uma banda em 370 a 600 nm que observada no espectro para a amostra **QP**. Observa-se ainda que a amostra **P2**,

apresentou um aumento na intensidade do pico de ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_2$, quando comparado com a amostra **ZAE**.

A amostra **P2** apresentou intensidade de luminescência através do pico referente à transição ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_2$ de 91756. A relação de intensidade (${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_2 / {}^5D_0 \rightarrow {}^7F_1$) para a amostra **P2** foi de 3,31, verificando que a funcionalização das nanopartículas com quitosana aumentou o valor da área relativa (R21), quando comparado com a amostra **ZAE** que foi de 1,60. Esse aumento no valor da área relativa (R21) sugere um decréscimo na simetria. Este comportamento foi observado por Nassar et al., (1998) quando estabeleceram condições de troca e obteve informações sobre a posição dos íons Eu^{3+} na zeólita Y, incorporados através de reação no estado sólido seguida de tratamento térmico com diferentes tempos de reação. Os autores relataram que um aumento na R21 indica um decréscimo na simetria ao redor do íon, com a possível migração dos íons para cavidades mais externas, de menor simetria.

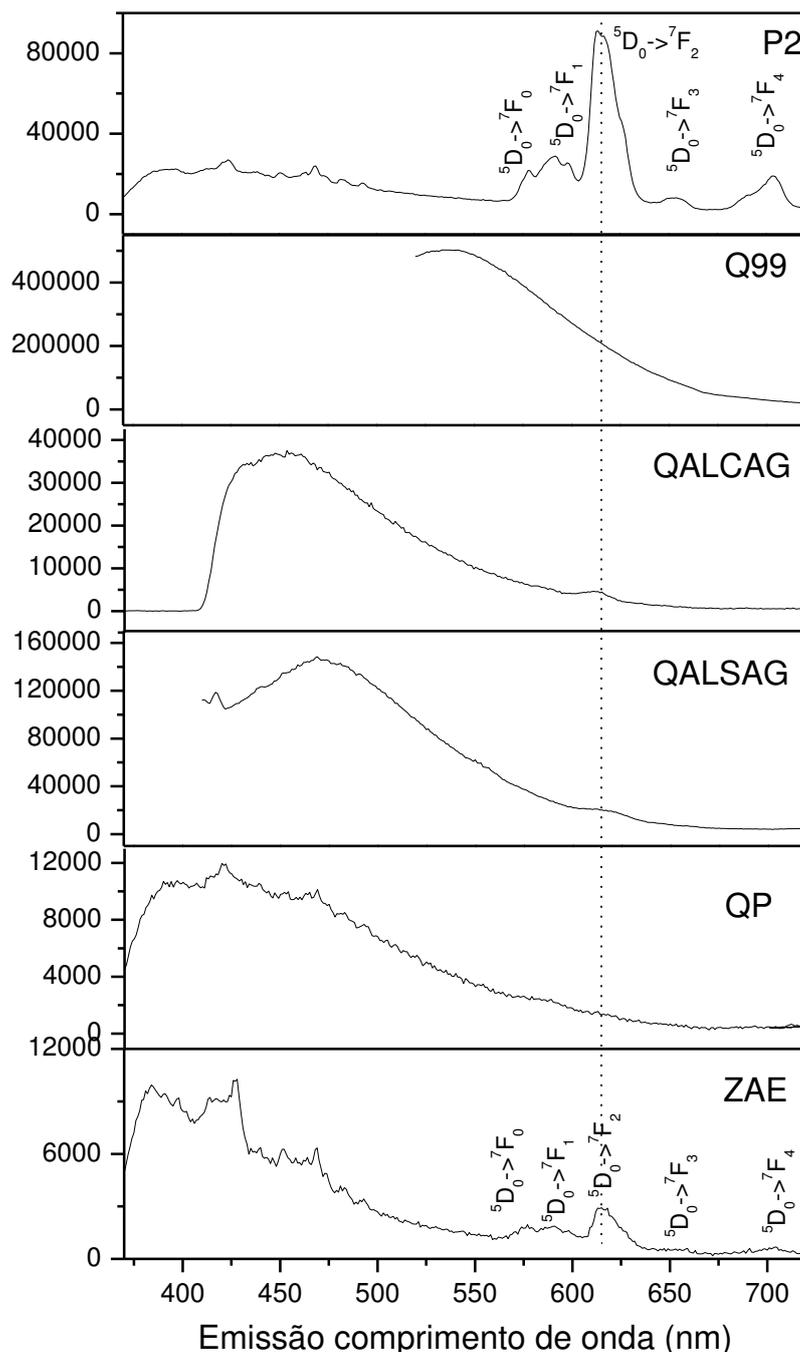


Figura 4.22– Espectro de emissão para as amostras **ZAE**, **QP**, **QALSAG**, **QALCAG**, **Q99** e **P2** excitação fixa em 290 nm.

4.5 Rendimento Quântico de Luminescência

O Rendimento quântico foi determinado através do espectro de emissão para o comprimento de onda na faixa de 370 a 720 nm para o cálculo da emissão e do espectro de emissão para o comprimento de onda na faixa de 250 a 350 nm para o cálculo das reflectividades. Esses espectros de emissão encontra-se no apêndice A.

Na Tabela 4.4 encontram-se os cálculos das emissões e reflectividades extraídos dos espectros da Figura A1 e A2, que encontra-se no Apêndice A, calculados a partir da área utilizando o programa de software de acesso livre. Depois de obtidos os valores das integrais dos padrões e das amostras, foram substituídos na equação de rendimento quântico (equação 3) e obteve-se o rendimento quântico de luminescência. Observa-se que as amostras em estudo apresentaram uma emissão baixa, quando comparado com o padrão NaSal. Para o cálculo da reflectância, observa-se que as amostras apresentaram valores de reflectância bem próximos do valor do padrão MgO, na ordem de 10^6 . A amostra ZAE apresentou 59% de rendimento quântico de luminescência e que após a modificação da superfície e funcionalização com a mistura dos monômeros observa-se que houve um aumento no rendimento quântico de luminescência.

Tabela 4.4 - Cálculos da emissão, reflectância e rendimento quântico de luminescência.

	$_{370} \int ^{720}$ emissão	$_{250} \int ^{350}$ reflectância	Rendimento quântico (q) (%)
ZAE	47832,5	$2,12058 \times 10^6$	58,4
AS99	56462,1	$2,34346 \times 10^6$	72,2
G97	59307,4	$2,13434 \times 10^6$	72,7
G99	56799,1	$1,91018 \times 10^6$	67
NaSal	$5,59334 \times 10^6$	882633,8	55
MgO	n.d.	$6,55819 \times 10^6$	91

n.d. – não determinado

A modificação da superfície e funcionalização das nanopartículas ZAE levou a um aumento no rendimento quântico de luminescência. O maior rendimento quântico foi observado para a amostra G97 (1,22%). O baixo rendimento quântico observado para as nanopartículas **ZAE** foi atribuído primeiramente, a maior diferença de energia entre o nível tripleto e os níveis emissores do Eu^{3+} ($^5\text{D}_0$, $^5\text{D}_1$), o que resultou em um processo menos eficiente de população dos estados excitados do metal. E segundo, aos grupos OH que promovem perdas de energia por mecanismos vibracionais, despopulando o estado excitado $^5\text{D}_0$, diminuindo a intensidade da

luminescência. Este comportamento foi reportado por Nassar et al., (2007) quando estudaram a síntese e as caracterizações de matrizes híbridas orgânico-inorgânicas à base de silício obtidas pela rota sol-gel convencional.

5 CONSIDERAÇÕES E CONCLUSÕES

Tendo em vista o objetivo do trabalho que foi funcionalizar e caracterizar nanopartículas $\text{ZnAl}_{1,9}\text{Eu}_{0,1}\text{O}_4$ usando agentes amino-silanos, metilmetacrilato, etilenodiamina e a quitosana como moléculas biocompatíveis, temos as seguintes considerações:

- O espinélio $\text{ZnAl}_{1,9}\text{Eu}_{0,1}\text{O}_4$ foi obtido com eficiência possibilitando a formação da fase majoritária com traços de segunda fase EuAlO_3 .
- As nanopartículas $\text{ZnAl}_{1,9}\text{Eu}_{0,1}\text{O}_4$ antes e após a funcionalização, apresentaram bandas vibracionais observadas nos espectros de infravermelho, abaixo de 1000 cm^{-1} .
- As nanopartículas de $\text{ZnAl}_{1,9}\text{Eu}_{0,1}\text{O}_4$ apresentaram melhor funcionalização com a quitosana, isso foi evidenciado pela banda C=O, presentes nos espectros característico de formação de complexos. Bandas de NH_2 livres foram observadas, o que foi um ponto importante de conjugação biológica, pois acarretou numa melhor interação antígeno-anticorpo.
- Na técnica de DRX observou-se que a melhor funcionalização das nanopartículas $\text{ZnAl}_{1,9}\text{Eu}_{0,1}\text{O}_4$ foi utilizando o biopolímero quitosana, na proporção utilizada 5:1 (**P2**), pois a mesma apresentou picos da quitosana e picos do espinélio, e a proporção utilizada 5:1 não mascarou os picos do espinélio. A funcionalização das nanopartículas $\text{ZnAl}_{1,9}\text{Eu}_{0,1}\text{O}_4$ com os monômeros e com a quitosana resultou num menor tamanho de cristalito.
- As nanopartículas **ZAE** antes e após a funcionalização resultaram em partículas menores que 100 nm.
- Os espectros de excitação para nanopartículas $\text{ZnAl}_{1,9}\text{Eu}_{0,1}\text{O}_4$ funcionalizadas com os monômeros e quitosana não causou desaparecimento das linhas espectrais do európio.
- As amostras modificadas a superfície com o agente silano e funcionalizadas com os monômeros apresentaram as transições característica do európio $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_0$, $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_1$, $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_2$, $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_3$ e $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_4$.
- Das amostras funcionalizadas com quitosana, apenas a **P2** apresentou as transições $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_0$, $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_1$, $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_2$, $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_3$ e $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_4$ característica do európio.

- A modificação e funcionalização das nanopartículas $\text{ZnAl}_{1,9}\text{Eu}_{0,1}\text{O}_4$ resultaram num maior rendimento quântico.

De acordo com os resultados obtidos pode-se concluir que:

- Foi possível sintetizar com sucesso as nanopartículas $\text{ZnAl}_{1,9}\text{Eu}_{0,1}\text{O}_4$ em escala nanométrica com presença da fase EuAlO_3 , com promissoras propriedades luminescentes.
- As amostras funcionalizadas com monômeros e quitosana na proporção 5:1, apresentaram linhas espectrais do európio e aumento da intensidade de luminescência.
- A melhor funcionalização se deu para a amostra **P2**, pois a mesma apresentou as linhas espectrais do európio observadas para o espinélio $\text{ZnAl}_{1,9}\text{Eu}_{0,1}\text{O}_4$, e maior aumento na intensidade da luminescência, quando comparado com a intensidade da luminescência observada para nanopartículas $\text{ZnAl}_{1,9}\text{Eu}_{0,1}\text{O}_4$.

REFERÊNCIAS

- ABRÃO, A. **Química e Tecnologia das Terras Raras**, Série Tecnológica Mineral, 66, CETEM/CNPq, Rio de Janeiro, 1994.
- ALMEIDA, J. R. C. **Farmacêuticos em oncologia: uma nova realidade**. Ed. Atheneu, São Paulo, 2004, 61-72p.
- ALMEIDA, J. R. C.; PEDROSA, N. L.; LEITE, J. B.; FLEMING, T. R. P.; CARVALHO, Y. H. C.; CARDOSO, A. A. A. **Marcadores tumorais: Revisão de literatura**. Revista Brasileira de Cancerologia, 53 (3), p.305-316, 2007.
- ALONZO, T. A. **Standards for reporting prognostic tumor marker studies**. Journal Clinical Oncologic, 23 (6), p. 9053-9054, 2005.
- ARAKAKI, L. N. H.; AIROLDI, C. **O relevante papel do agente sililante na modificação de superfícies de polímeros**, Review Química Nova, 22 (2), p. 246-253, 1999.
- ÁVILA, L. R. **Preparação e caracterização de materiais híbridos à base de sílica e de caulinita para diferentes aplicações**, 2010, Tese (Doutor em Ciências) Universidade de Franca.
- AZÁROFF, L. V, **Elements of X-ray crystallography**, McGraw-Hill Book Company, 1968.
- BAGASHAW, K. D.; RUSTIN, G. J. S. **Circulating tumor markers**. In: PERKHAN, M.; PINEDO, H.; VERONESI, U. Eds Oxford Textbook of oncology. 1 st ed. Oxford: Oxford University Press, p. 412-419, 1995.
- BARROS, B. S. **Síntese e caracterização das propriedades morfológicas e luminescentes do aluminato de zinco ($ZnAl_2O_4$) dopado com íons terras raras**. 2005, Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Programa de Pós Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Campina Grande.
- BARROS, B. S., MELO, P. S., GAMA, L., ALVES-JR, S., FAGURY-NETO, E., KIMINAMI, R. H. G. A., COSTA, A. C. F. M. **Caracterização morfológica e luminescente de nanopartículas de aluminato de zinco dopadas com Eu^{3+}** , Cerâmica 51, p. 63-69, 2005.
- BELIAN, M. F. **Éteres Coroa com Íons Lantanídeos: De Compostos de Coordenação a Novos Materiais Nanoestruturados de Sílica**, 2008. Tese (Doutorado em Química) Programa de Pós-Graduação em Química, Recife.
- BIRKOFER, L.; RITTER, A. **The chemistry of silica**. Chemistry International Edition England, 4, p. 417, 1965.

BLASSE, G.; GRABMAIER, B. C. **Luminescent Material**, Ed. Springer Verlag Berlin Heidelberg, Almemanha, 1994.

BOONSONGRIT, Y.; MUELLER, B. W.; MITREVEJ, A. **Characterization of drug-chitosan interaction by ^1H NMR, FTIR and isothermal titration calorimetry**, European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 69, p. 388–395, 2008.

BROUWERS, E.; L'HOMME, R.; AL-MAHARIK, N.; LAPCÍK, O.; HAMPL, R.; WÄHÄLÄ, K.; MIKOLA, H.; ADLERCREUTZ, H. **Time-resolved fluoroimmunoassay for equol in plasma and urine**. Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology, 84, p. 577–588, 2003.

BÜNZLI, J.-C. G.; CHOPPIN, G. R. **Lanthanide Probes in Life**, Chemical and Earth Sciences, Theory and Practice, Elsevier: New York, 1989.

BURDON, R. H.; KNIPPENBERG, P. H.; CHARD, T. **Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology- An Introduction to Radioimmunoassay and Related Techniques**, 4^a ed. Elsevier, p. 288, 1990.

CAPELOZZI, V. L. **Entendendo o papel de marcadores biológicos no câncer de pulmão**. Journal Pneumology, 27 (6), p. 321-28, 2001.

CARR, P. W.; BOWERS, L. D. **Immobilized Enzymes in Analytical and Clinical Chemistry**, John Wiley: New York, 1980.

CHAVES, C. R. **Síntese e caracterização de nanopartículas de sulfeto de cádmio: aplicações biomédicas**, 2006, Dissertação (Mestrado em Ciências dos Materiais), Programa de Pós Graduação em Ciências dos Materiais, UFPE, Recife-PE.

CHEN, Z.; SHI, E.; ZHENG, Y.; LI, W.; WU, N.; ZHONG, W. **Synthesis of mono dispersed ZnAl_2O_4 powders under hydrothermal conditions**. Materials Letters, 56, p. 601-605, 2002.

COSTA, A. C. F. M.; VIEIRA, D. A.; LULA, R. P. T.; ANDRADE, H. M. C.; SOUSA, E. C.; GAMA, L.; SANTOS, P. T. A. **Preparação do Suporte ZnAl_2O_4 via Reação de Combustão e sua Caracterização**. Revista Eletrônica de Materiais e Processos, 1 (2), p. 37-45, 2006.

DEMAS, J. N. **Photophysical pathways in metal complexes**, Journal of Chemical Education, 60, p. 803- 808, 1983.

DESCHLER, U.; KLEINSCHMIT, P.; PANSTER, P.; **3-Chloropropyltrialkoxysilanes—key intermediates for the production of organofunctionalized silanes**. Angewandte Chemie International Edition England. 25, p. 236, 1986.

DICKSON, E. F. G.; POLLAK, A.; DIAMANDIS, E. P. **Time-resolved detection of lanthanide luminescence for ultrasensitive bioanalytical assays**, Journal of photochemistry and photobiology b-biology, 27, p. 3-19, 1995.

EL-SAYED, A. M. **Influence of zinc content on some properties of Ni-Zn ferrites.** *Ceramics International*, 28, p. 363-367, 2002.

EVANGELISTA, S. M., OLIVEIRA E., CASTRO G. R., ZARA, L. F., PRADO, A. G. S. **Hexagonal mesoporous silica modied with 2-mercaptothiazoline for removing mercury from water solution.** *Surface Science*, 601, p. 2194–2202, 2007.

FANTINI, M. C. A.; MATOS, J. R.; SILVA, L. C. C.; MERCURI, L. P.; CHIERECI, G. O.; CELER, E. B.; JARONIEC, M. **Ordered mesoporous silica: microwave synthesis.** *Materials Science and Engineering B*, 112, p.106–110, 2004.

FATIBELLO FILHO, O.; CAPELATO, M. D. **Biossensores.** *Química Nova*, 15 (1), p. 28-39, 1992.

FENG, J.; HAMMOCK, B. D.; KENNEDY, I. M.; GOUMIN, S.; MAQUIEIRA, A. United States Patent Application Publication, US 2003/0180780 A1, 2003.

FERREIRA, A. A. P.; COLLI, W.; COSTA, P. I.; YAMANAKA, H. **Immunosensor for the diagnosis of Chagas' disease.** *Biosensors Bioelectronics*, 21, p. 175–181, 2005.

FINDLAY, J. W. A.; SMITH, W. C.; LEE, J. W.; NORDBLOM, G. D.; DAS, I.; DE SILVA, B. S.; KHAN, M. N.; BOWSHER, R. R. **Validation of immunoassays for bioanalysis: a pharmaceutical industry perspective.** *Journal Pharmaceutical Biomedical Analysis*, 21, p. 1249-1273, 2000.

FUMO, D. A.; MORELLI, M.R.; SEGADÃES, A. M. **Combustion synthesis of calcium aluminates.** *Materials Research Bulletin*, 31, p. 1243-1255, 1996.

GALAUP, C.; AZÉMA, J.; TISNÈS, P.; PICARD, C.; RAMOS, P.; JUANES, O.; BRUNET, E.; RODRÍGUEZ-UBIS. **Luminescence of Eu³⁺ and Tb³⁺ complexes of two macrobicyclic ligands derived from a tetralactam ring and a chromophoric antenna.** *Helvetica Chimica Acta*, 85, p. 1613 1625, 2002.

GALAUP, C.; CARRIÉ, M. -C.; TISNÈS, P.; PICARD, C. **Time-Resolved Luminescence in Aqueous Solution - New Europium Labels Derived from Macro(bi)cyclic Ligands with Aminocarboxylic Units.** *European Journal of Organic Chemistry*, 2001(11), p. 2165–2175, 2001.

GALAUP, C.; PICARD, C.; CATHALA, B.; CAZAUX, L.; TISNÈS, P.; ANTIERO, H.; ASPE, D.; **Mono(di)nuclear Europium(III) Complexes of Macro(bi)tri)cyclic Cryptands Derived from Diazatetralactams as Luminophores in Aqueous Solution.** *Helvetica Chimica Acta*, 82, p. 543-560, 1999.

GARCÍA-HIPÓLITO, M.; HERNÁNDEZ-PÉREZ, C. D.; ALVAREZ-FREGOSO, O.; MARTÍNEZ, E.; GUZMÁN-MENDOZA, J., FALCONY, C. **Characterization of europium doped zinc aluminate luminescent coatings synthesized by ultrasonic spray pyrolysis process.** *Optical Materials*, 22, p. 345-351, 2003.

GEISELER, D.; JAMES, W. **Inovação nos imunoenaios: Quimiluminescência.** Revista Brasileira de Análises Clínicas, 24, p. 61, 1992.

GIL, E. S.; KUBOTA, L. T.; YAMAMOTO, Y. I. **Alguns aspectos de imunoenaios aplicados à química analítica.** Química Nova, 22, p. 874-881, 1999.

GOMES, F. R. **Marcadores tumorais: Alcances e limites.** Acta Médica Portuguesa, 10 (1), p. 75-80, 1997.

GUIMARÃES, R. C.; RODRIGUES, V. H.; PÁDUA, C. A. J.; ANDRADE, F. A. F. **Uso dos marcadores tumorais na prática clínica.** Prática Hospitalar-Belo Horizonte, 4 (23), p. 1-8, 2002.

HAFNER, S. **The absorption of some metal oxides with spinel structure,** Zeitschrift für Kristallographie, 115, p. 331-358, 1961.

HAN, H. D.; NAM, D. E.; SEO, D. H.; KIM, T. W. ; SHIN, B. C. **Preparation and biodegradation of thermosensitive chitosan hydrogel as a function of pH and temperature.** Macromolecule Research, 12, p. 507-511, 2004.

HAN, H. D.; SONG, C. K.; PARK, Y.; NOH, K. H.; KIM, J. H.; HWANG, T.; KIM, T. W.; SHIN, B. C. **A chitosan hydrogel-based cancer drug delivery system exhibits synergistic antitumor effects by combining with a vaccinia viral vaccine.** International Journal of Pharmaceutics, 350, p. 27-34, 2008.

HARTLEY, F. R.; VEZEY P. N. **Supported Transition Metal Complexes as Catalysts.** Advanced Organometallic Chemistry, 15, p. 189-234, 1977.

HE, F.; LIUM, S. **Detection of P. aeruginosa using nano-structured electrode-separated piezoelectric DNA biosensor.** Talanta, 62, p. 271-277, 2004.

HILL, R.J.; CRAIG, J.R.; GIBBS, G.V. **Systematics of the Spinel Structure.** Type. Physical Chemistry Minerals, 4, p. 317, 1979.

ILER, R. K. **The chemistry of silica,** John Wiley & Sons: New York, 1979.

JAIN, S. R.; ADIGA, K. C., PAI VERNEKER, V. **A new approach to thermochemical calculations of condensed fuel – oxide mixture.** Combustion and Flame, 40, p. 71-79, 1981.

JUDD, B. R. **Optical absorption intensities of rare-earth ions.** Physical Review, 127, p. 750-761, 1962.

KAI, J. **Desenvolvimento de sistemas luminescentes à base dos polímeros PHB e PMMA dopados com complexos de terras raras.** Tese de doutorado. Universidade de São Paulo, 2009.

KHAN, R.; DHAYAL, M. **Nanocrystalline bioactive TiO₂ –chitosan impedimetric immunosensor for ochratoxin-A**. *Electrochemistry Communications*, 10, p. 492–495, 2008.

KHOR, E. **Chitin: a biomaterial in waiting**. *Current Opinion in Solid State & Materials Science*, 6, p. 313–317, 2002.

KIMINAMI, R. H. G. A.; COSTA, A. C. F. M.; MORELLI, M. R. **Combustion Synthesis Processing of Nanoceramics**, *Handbook of Nanoceramics and Their Based Nanodevices* Edited by Tseung-Yuen Tseng and Hari Singh Nalwa, XX: Chapter 80, p.1–18, 2009.

KODAIRA, C. A.; FELINTO, M. C. F. C.; BRITO, H. F.; FALLA, P. H.; PERES, H. E. **Estudo fotoluminescente de SnO₂:Eu³⁺ preparado pelo método Pechini**. *Resumos da 30ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química*. Águas de Lindóia, Brasil, 2006.

KOH, I. **Functionalization of nanoparticles for biological applications**. Tese (Doctor of Chemical and Biomolecular Engineering), 2005. Programa de Pós-Graduação em Química e Engenharia Biomolecular.

KUBOTA, N.; TASTUMOTO, N.; SANO, T.; TOYA, K. **A simple preparation of half N-acetylated chitosan highly soluble in water and aqueous organic solvents**, *Carbohydrate Research*, 268, p. 324, 2000.

LANGONE, J. J., NVUNAKIS, H., BARCHUR, N. R. **Adriamycin and metabolites: Separation by high-pressure liquid chromatography and quantitation by radioimmunoassay**, *Biochemical Medicine*, 12(3), p. 283-289, 1975.

LEE, J. D. **Química Inorgânica não tão Concisa**; Tradução: TOMA, H. E.; ROCHA, R. C.; Edgard Blücher Ltda., cap. 29, São Paulo 1999.

LIANG, R.; PENG, H.; QIU, J. **Fabrication, characterization, and application of potentiometric immunosensor based on biocompatible and controllable three-dimensional porous chitosan membranes**, *Journal of Colloid and Interface Science*, 320, p. 125–131, 2008.

LIMA, P. P.; MALTA, O. L.; JÚNIOR, S. A. **Estudo espectroscópico de complexos de Eu³⁺, Tb³⁺ e Gd³⁺ com ligantes derivados de ácidos carboxílicos**. *Química Nova*, 28 (5), p.805-808, 2005.

LIU, D. ; WEI, Y. ; YAO, P. ; JIANG, L. **Determination of the degree of acetylation of chitosan by UV spectrophotometry using dual standards**. *Carbohydrate Research*, 341 (6), p. 782-785, 2006.

LOU, Z.; HAO, J. **Cathodoluminescence of rare-earth-doped zinc aluminate films** *Thin Solid Films*, 450 (2), p. 334-340, 2004.

MA, P. C.; KIM, J.-K.; TANG, B. Z. **Functionalization of carbon nanotubes using a silane coupling agent**, *Carbon*, 44, p. 3232–3238, 2006.

MAESTRO, P.; HUGUENIN, D. **Industrial applications of rare earths**. **Which way for the end of the century**. Journal Alloys and Compounds, 225, p. 520, 1995.

MAESTRO, P. **Rare earths and color: Properties and industrial applications**. Journal Less-Common Metals, 111, p. 43-48, 1985.

MALTA, O. L., BRITO, H. F., MENEZES, J. F. S., SILVA, F. R. G. E.; DONEGA, C. D., ALVES, S. **Experimental and theoretical emission quantum yield in the compound Eu(thenoytrifluoroacetate)₃·2(dibenzyl sulfoxide)** Journal Chemical Physics Letters, 282, p. 233, 1998.

MALTA, O. L.; CARLOS, L. D. **Intensities of 4f-4f transitions in glasses**. Química Nova, 26, p. 889-895, 2003.

MARION, M.C.; GARBOWSKI, E.; PRIMET, M. **Catalytic properties of copper oxide supported on zinc aluminate in methane combustion**. Journal Chemistry Society Faraday Transactions, 87, p. 1795-1800, 1991.

MARTINS, T. S.; ISOLANI, P. C. **Terras Raras: Aplicações Industriais e Biológicas**, Química Nova, 28 (1), p. 111-117, 2005.

MATOS, J. R.; MERCURI, L. P.; KRUK, M.; JARONIEC, M. **Synthesis of Large-Pore Silica with Cage-Like Structure Using Sodium Silicate and Triblock Copolymer Template**, Langmuir, 18, p. 884-890, 2002.

MATTOS, L. L.; MACHADO, L. N.; SUGIYAMA, M. M.; BOZZETTI, R. M.; PINHAL, M. A. S. **Tecnologia aplicada na detecção de marcadores tumorais**. Arquivo médico ABC. 30 (1), p. 19-25, 2005.

MESSING, R. A.; **Immobilized enzymes for industrial reactors**, Academic Press: New York, 1975.

MOELLER, T. **The Chemistry of the Lanthanides**, Pergamon Texts in Comprehensive Inorganic Chemistry; Pergamon Press, p. 26, New York, 1975.

MORGAN, C. L.; NEWMAN, D. J.; PRICE, C. P. **Immunoassays: technology and opportunities in laboratory medicine**. Clinical Chemistry 42, p. 193-209, 1996.

MUELLER, **Electroluminescence II, Semiconductors and Semimetals**, 65 Academic Press, San Diego, 2000.

MUKKALA, V. M.; HELENIUS, M.; HEMMILÄ, I.; KANKARE, J.; TAKALO, H. **Development of luminescent lanthanide chelate labels for diagnostic assays**, 249, p. 158-162, 1997.

NAKANE, P. K.; PIERCE, G. B. Jr. **Enzyme-labeled antibodies: preparation and application for the localization of antigens**. Journal Histochem Cytochem, 14 (12), p. 929- 931, 1966.

NAKANE, P. K.; PIERCE, G. B. Jr. **Enzyme-labeled antibodies for the light and electron microscopic localization of tissue antigens**. *Journal Cells Biology*, 33, p. 307-318, 1967.

NASSAR, E. J.; SERRA, O. A.; AGUIAR, E. F. S. **Troca iônica no estado sólido de Eu^{3+} em zeólita Y: Influência do tempo de reação**. *Química Nova*, 21 (2), p.121-124, 1998.

NASSAR, E. J.; CIUFFI, K. J.; GONÇALVES, R. R.; MESSADDEQ, Y.; RIBEIRO, S. J. L. **Filmes de titânio-silício preparados por “spin” e “dip-coating”**. *Química Nova*, 26 (5), p. 674-677, 2003.

NASSAR, E. J.; ÁVILA, L. R.; PEREIRA, P. F. S.; NASSOR, E. C. O.; CESTARI, A.; CIUFFI, K. J.; CALEFI, P. S. **Fenilsilicato dopado com Eu III obtido pelo método sol-gel**. *Química Nova*, 30 (7), p.1567-1572, 2007.

NOVA, S. P. V. **Novos Macrociclos de Lantanídeos: Marcadores Fotônicos Projetados para Aplicações Biotecnológicas**. 2003. Tese (Doutorado em Química). Programa de Pós-Graduação em Química, Recife.

OLIVEIRA, C. K.; MALVESTITI, I.; NUNES, R. L.; JÚNIOR, S. A. **Propriedades fotoluminescentes de complexos de Eu(III) contendo ligantes β -dissulfóxidos**. Resumos da 31ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. Águas de Lindóia, 2008.

OLSON, L. E.; BEDJA, D.; ALVEY, S. J.; CARDOUNEL, A. J.; GABRIELSON, K. L.; REEVES, R. H. **Protection from doxorubicin-induced cardiac toxicity in mice with an allele of carbonyl reductase 1**. *Cancer Research*, 63, p. 6602– 6606, 2003.

PACHECO, F. A.; PASCHOAL, M. E. M.; CARVALHO, M. G. C. **Marcadores tumorais no câncer de pulmão: um caminho para uma terapia biológica**. *Journal de Pneumologia*, 28 (3), p. 143-149, 2002.

PAN, B.; GAO, F.; GU, H. **Synthesis and characterization of surface-hyperbranched magnetite nanoparticle for bovine serum albumin immobilization**. *China Partcuology*, 2 (6), p. 261-265, 2004.

PETROVAS, C.; DASKAS, S. M.; LIANIDOU, E. S. **Determination of tumor necrosis factor (TNF- α) in serum by highly sensitive enzyme amplified lanthanide**, *Clinical Biochemistry*, 32 (4), p. 241-247, 1999.

PEURALAHTI, J.; PUUKKA, K.; HAKALA, H.; MUKKALA, V-M.; MULARI, O. **Synthesis of nonluminescent lanthanide(III) chelates tethered to an aminoxy group and their applicability to biomolecule derivatization**. *Bioconjugate Chemistry*, 13, p. 876-880, 2002.

PHAECHAMUD, T.; KOIZUMI, T.; RITTHIDEJ, G. C. **Chitosan citrate as film former: compatibility with water-soluble anionic dyes and drug dissolution from coated tablet**. *International Journal of Pharmaceutics*, 198, p. 97–111, 2000.

PLUEDDEMANN, E. P. **Silane Coupling agents**, Plenum Press, New York and London, 1982.

PUCHE, R. S.; CARO, P. **Rare Earths**, Cursos de Verano de El Escorial, Editorial Complutense: Madrid, 19.

RAKOV, N.; RAMOS, F.E.; HIRATA, G.; XIAO, M. **Strong photoluminescence and cathodoluminescence due to f-f transitions in Eu^{3+} doped Al_2O_3 powders prepared by direct combustion synthesis and thin films deposited by laser ablation**. Applied Physics Letters, 83 (2), p. 272, 2003.

REIS, F. J. C. **Rastreamento e diagnóstico das neoplasias dos ovários: papel dos marcadores tumorais**. Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia, 27 (4), p. 22-27, 2005.

REISFELD, R. **Industrial applications of rare earths in fiber optics, luminescent solar concentrators and lasers**. Inorganic Chimica Acta, 140, p. 345, 1987.

RICCARDI, C. S.; COSTA, P. I.; YAMANAKA, H. **Imunossensor amperométrico**. Química Nova, 25 (2), p. 316-320, 2002.

ROSA, G.D.; BARCELLOS, G. B.; CARVALHAL, G. F.; DORNELLES NETO, E. J. **Marcadores tumorais em urologia**. Acta Médica, 26, p. 55-65, 2005.

ROSATTO, S. S.; FREIRE, R. S.; DURÁN, N.; KUBOTA, L. T. **Biossensores amperométricos para determinação de compostos fenólicos em amostras de interesse ambiental**. Química Nova, 24 (1), p.77, 2001.

SÁ, G. F.; MALTA, O. L.; DONEGÁ, C. M. ; SIMAS, A. M. ; LONGO, R. L. ; SANTA-CRUZ, P.; SILVA JR, E. **Spectroscopic Properties and Design of Highly Luminescent Lanthanide Coordination Complexes**. Coordination Chemistry Reviews, 196 (1), p. 165-195, 2000.

SABBATINI, N.; GUARDIGLI, M.; LEHN, J.-M.; **Luminescent lanthanide complexes as photochemical supramolecular devices**. Coordination Chemistry Review, 123, p. 201-228, 1993.

SALES, J. A. A.; AIROLDI, C. **Epoxide silylant agent ethylenediamine reaction product anchored on silica gel – thermodynamics of cation-nitrogen interaction at solid/liquid interface**. Journal of Non-Crystalline Solids, 330, p. 142-149, 2003.

SAMELSON, H.; BRECHER, C., LEMPICKI, A. **Europium chelate Lasers**. Journal Chemistry Physics, 64, p. 165-172, 1967.

SAMPATH, S. K.; CORDARO, J. F. **Optical Properties of Zinc Aluminate, Zinc Gallate, and Zinc Aluminogallate Spinel**s. Journal American Ceramic Society, 81 (3), p. 649-54, 1998.

SANCHEZ –CAPEL, M.C., BARRIO, L., MARTIN-CAMPOS, J.M., FIERRO, J.L.G. **Silylation and surface properties of chemically grafted hydrophobic silica.** Journal of Colloid and Interface Science, 277, p. 146–153, 2004.

SCHOLZ, S.; KASKEL, S. **Surface functionalization of ZrO₂ nanocrystallites for the integration into acrylate nanocomposite films.** Journal of Colloid and Interface Science, 323, p. 84–91, 2008.

SCHWARTZ, M. K. **Cancer Markers.** In: DE VITA, J. R.; HELLMANS, S.; ROSEMBERG, A. S. **Cancer: Principles and practices of oncology.** 4 th ed. Philadelphia: Lippincott-Raven, p. 531-542, 1993.

SELVIN, P. R. **Principles and biophysical applications of lanthanide-based probes.** Annu. Rev. Biophys. Biomolecul. Structure, 31, p. 275-302, 2002.

SHARON, J. *Imunologia Básica*, Ed. Koogan, p. 32-91, Rio de Janeiro, 2000.

SILVA, A. C. **Produção de quitina e quitosana em cultura submersa de *Rhizopus arrhizus* nos meios milhocina e sintéticos para mucoles.** 2007, 27f. Dissertação, 2007 (Mestrado em Desenvolvimento de Processos Ambientais) Universidade Católica do Pernambuco.

SILVA, F. R. G. **Síntese, Caracterização e Análise dos Parâmetros de Intensidade das Transições 4f-4f Nos Complexos do Íon Európio Trivalente Com Ligantes Derivados da Piridina.** 1995, 57f. Dissertação (Mestrado em Química), Programa de Pós-Graduação em Química, Recife.

SILVA, L. C. C.; MARTINS, T. S.; SANTOS FILHO, M.; TEOTÔNIO, E. E. S.; ISOLANI, P. C.; BRITO, H. F.; TABACNIKS, M. H.; FANTINI, M. C. A.; MATOS, J. R. **Luminescent europium complexes encapsulated in cage-like cubic ordered mesoporous sílica.** Microporous and Mesoporous Materials, p. 94-100, 2006.

SILVEIRA, A. S. **Câncer Ginecológico: Diagnóstico e tratamento.** In: GIL, R. A. Fatores prognósticos, preditivos e marcadores tumorais no câncer ginecológico. Florianópolis: UFSC, 52, p.132, 2005.

SINGH V.; CHAKRADHAR, R. P. S.; RAO, J. L.; KIM, D-K. **Characterization, EPR and luminescence studies of ZnAl₂O₄:Mn phosphors,** Journal of Luminescence, 128, p. 394-402, 2008.

SINGH V.; NATARAJAN, V.; ZHU, J.-J. **Studies on Eu doped Ba and Zn aluminate phosphors prepared by combustion synthesis,** Optical Materials, 29, p. 1447–1451, 2007.

SINGLA, A. K.; CHAWLA, M. **Chitosan: some pharmaceutical and biological aspects – an update.** Journal Pharmacy Pharmacology, 53, p. 1047, 2001.

SIONKOWSKA, A., KACZMAREK, H., WISNIEWSKI, M., SKOPINSKA, J., LAZARE, S., TOKAREV, V. **The influence of UV irradiations on the surface of chitosan films,** Surface Science, 600 (80), p. 3775-3779, 2006.

SOUKKA, T.; ANTONEN, K.; HÄRMÄ, H.; PELKKIKANGAS, A. M.; HUHTINEN, P.; LÖVGREN, T. **Highly sensitive immunoassay of free prostate-specific antigen in serum using europium (III) nanoparticle label technology**. *Clinica Chimica Acta*, 328, p. 45–58, 2003.

STREK, W.; DERÉN, P.; BEDNARKIEWICZ, A.; ZAWADZKI, M.; WRZYSZCZ, J. Emission properties of nanostructured Eu^{3+} doped zinc aluminate spinels. *Journal Alloys and Compounds*, 300-301, p. 456-458, 2000.

TANG, L. X.; ROWELL, F. J.; CUMMING, R. H. **Development of near real-time monitoring systems for some protease enzymes in the industrial atmosphere**. *Annals of Occupational Hygiene*, 40, p. 381–389, 1996.

TIJSSEN, P.; KURSTAK, E. In: **viral immunodiagnosis**; KURSTAK, E.; MORISSET, R. Eds.; Academic Press Ltda, p. 125, New York, 1974.

TSUKUBE, H.; HOSOKUBO, M.; WADA, M.; SHINODA, S.; TAMIKI, H. **Specific Recognition of Chiral Amino Alcohols via Lanthanide Coordination Chemistry: Structural Optimization of Lanthanide Tris(β -diketonates) Toward Effective Circular Dichroism/Fluorescence Probing**. *Inorganic Chemistry*, 40, p. 740-745, 2001.

TURNER, A. P. F.; KARUBE, I.; WILSON, G. S. **Biosensors: fundamentals and applications**, Oxford University Press: Oxford, 1989.

VARMA, H. K., YOKOGAWA, Y., ESPINOSA, F. F, KAWAMOTO, Y., NISHIZAWA, K., NAGATA, F., KAMEYAMA, T. **Porous calcium phosphate coating over phosphorylated chitosan film by a biomimetic method**. *Biomaterials*, 20, p.879–884, 1999.

VICENTINI, G.; ZINNER, L. B.; CARVALHO, L. R. F. Folheto - **Produção e Aplicações das Terras Raras**, São Paulo, 1980.

WALDRON, R. D. **Infrared spectra of ferrites**. *Physical Review A*, 99, p. 1727-1735, 1955.

WANG, H.; ZHANG, W.; ZHANG, F.; CAO, Y.; SU, W. **The effect of 3-aminopropyltrimethoxysilane on the formation of NiFe_2O_4 / SiO_2 nanocomposites**. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 320, p. 1916–1920, 2008.

WILLIAMS, D. F. **Systemic Aspects of Blood Compatibility**, CRC Press, Boca Raton, FL, 1987.

WILSON, G. S.; ALWIS, U. **Rapid Heterogeneous Competitive Electrochemical Immunoassay for IgG in the Picomole Range**. *Analytical Chemistry*, 59, p. 2786-2789, 1987.

WONG, J. Y.; BRONZINO, J. D. **Biomaterials**. Taylor & Francis Group Boca Raton, p. 1-227, 2007.

WRZYSZEZ, J.; ZAWADZKI, M.; TRZECIAK, A. M.; ZIÓKOWSKI, J. J. **Rhodium complexes supported on zinc aluminate spinel as catalysts for hydroformylation and hydrogenation: preparation and activity**. Journal of Molecular Catalysis A: Chemical, 189, p. 203-210, 2002.

WU, F. B.; HAN, S. Q.; XU, T.; HE, Y. F. **Sensitive time-resolved fluoroimmunoassay for simultaneous detection of serum thyroid-stimulating hormone and total thyroxin with Eu and Sm as labels**. Analytical Biochemistry, 314, p. 87-96, 2003.

WYBOURNE, B. G. **Spectroscopy Properties of Rare Earths**. New York: Wiley-Interscience, 1965.

YALOW, R. S.; BERSON, S. A. **Immunoassay of endogenous plasma insulin in man**. Journal of Clinical Investigation, 39, p.1157, 1960.

YANG, W.; ZHANG, C. G.; QU, H. Y.; YANG, H. H.; XU, J. G. **Novel Fluorescence silica nanoparticle probe for ultrasensitive immunoassays**. Analytica Chimica Acta, 503, 163-169, 2004.

YANG, C.-C.; CHEN, S.-Y.; CHENG, S.-Y. **Synthesis and physical characteristics of $ZnAl_2O_4$ nanocrystalline and $ZnAl_2O_4/Eu$ core-shell structure via hydrothermal route**. Powder Technology, 148, p.3-6, 2004a.

ZAWADZKI, M. **Synthesis of nanosized and microporous zinc aluminate spinel by microwave assisted hydrothermal method (microwave-hydrothermal synthesis of $ZnAl_2O_4$)**. Solid State Sciences, 8, p. 14-18, 2006.

ZHANG, Y.; STANGLE, Y, G. C. **Preparation of fine multicomponent oxide ceramic powder by a combustion synthesis process**. Journal Materials, 9, p. 1997- 2004, 1994.

APÊNDICE A

As Figuras A1 e A2 correspondem aos espectros de emissão para os cálculos das emissões e reflectividades extraídos dos espectros. Na Figura A1, encontra-se o espectro de emissão para o comprimento de onda na faixa de 370 a 720 nm para o cálculo da emissão e, no espectro da Figura A2, a emissão para o comprimento de onda na faixa de 250 a 350 nm para o cálculo das reflectividades.

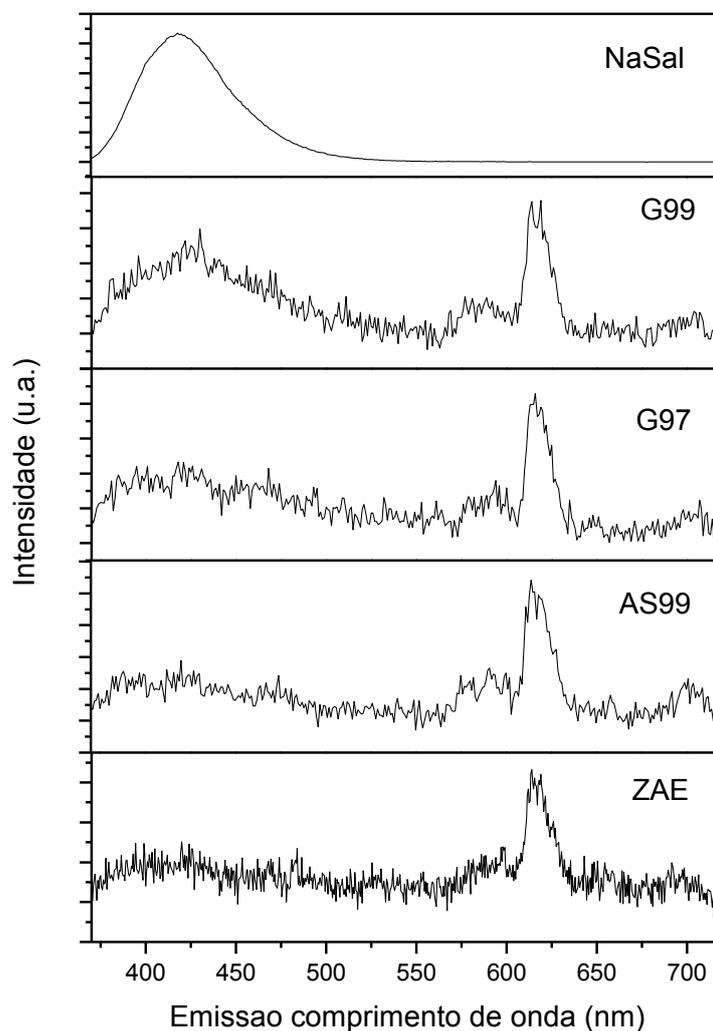


Figura A1 - Espectro de emissão para ZAE, AS99, G97, G99 e NaSal.

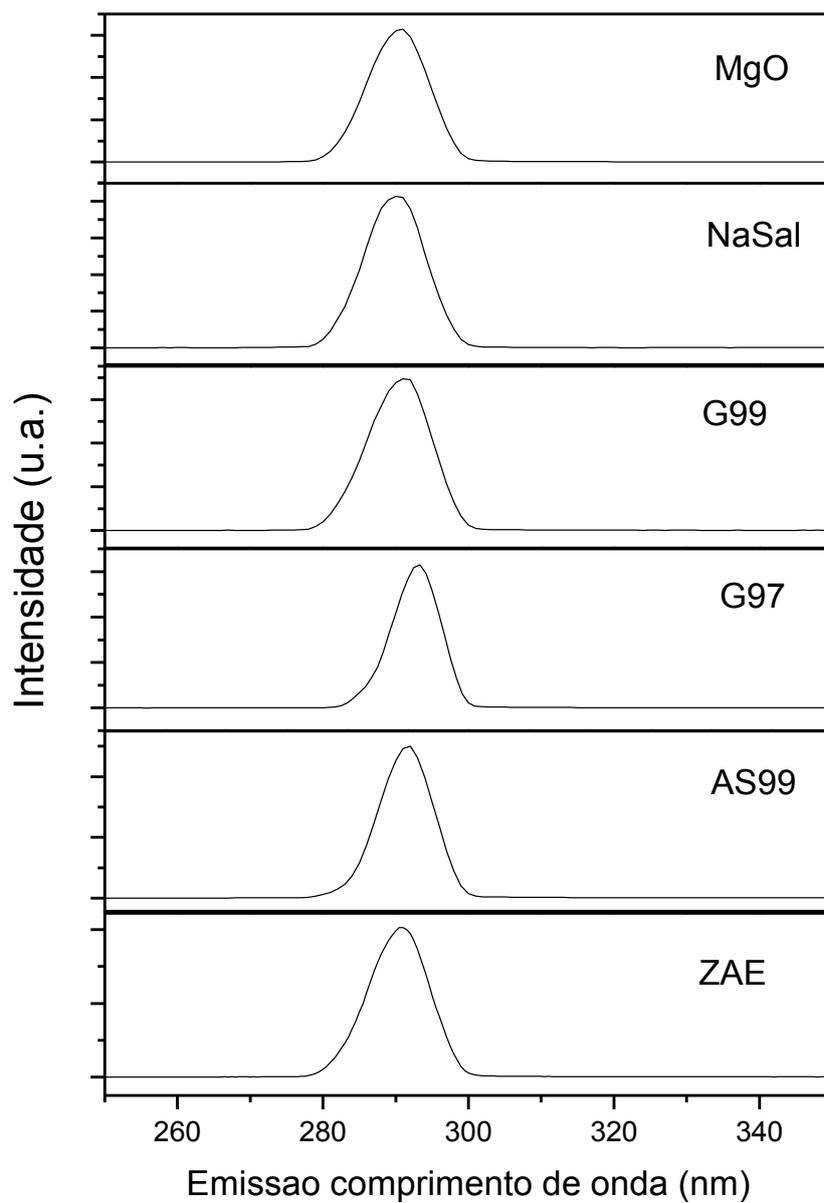


Figura A2 - Espectro de emissão para ZAE, AS99, G97, G99, NaSal e MgO.