

RECOBRIMENTO DE NANO PARTÍCULAS COM SÍLICA FUNCIONALIZADA.

Marlon Larry Laranja¹, Ana Maria Pires¹, Osvaldo Antonio Serra².
Área: Exatas – Química – ¹Depto. Química, Física e Biologia, FCT-UNESP – Presidente Prudente;

² Lab. Terras Raras – Depto. Química – FFCLRP- USP.

Materiais luminescentes, ou luminóforos são na sua maioria sólidos inorgânicos constituídos por uma rede ou matriz hospedeira, usualmente dopada com íons ativadores. Em termos gerais, a principal propriedade destes materiais é a emissão de luz, denominada luminescência, como um resultado de absorção de energia. Os materiais luminescentes são então ótimos conversores de radiação, e a maior parte de suas aplicações está voltada para dispositivos de emissão em geral. Nas últimas décadas, um grande número de materiais luminescentes constituídos por íons terras-raras ou matrizes a base dos elementos terras-raras tem sido desenvolvidos.^{1,2}

Métodos para a detecção de espécies macromoleculares específicas, tais como proteínas, drogas, e polinucleotídeos, tem provado serem bastante valiosos como técnicas analíticas em biologia e medicina, particularmente para a caracterização de composições moleculares de amostras de tecidos normais ou anormais e material genético. Diferentes métodos de detecção deste tipo são largamente utilizados em pesquisas biomédicas e medicina de laboratório clínica.^{3,4}

Os materiais luminescentes, devido às suas características, podem ser utilizados então como marcadores em imunoensaios; no entanto, para o sucesso do sistema deve haver uma funcionalização das partículas, ou seja, a presença de um grupo funcional capaz de se ligar a reagentes específicos que viabilizarão o prosseguimento do ensaio. Assim, o marcador luminescente pode ser acoplado quimicamente a um anticorpo, o qual liga-se de uma forma específica a uma dada biomolécula ou organismo³. O recobrimento desses materiais luminescentes com sílica gel para posterior utilização em imunoensaios tem sido o principal meio utilizado para esse fim.

A sílica gel é um polímero inorgânico, constituído de grupos siloxanos (Si-O-Si) em seu interior e silanóis (Si-OH) em sua superfície. Pode-se preparar sílica pura, dopada, ou funcionalizada, através do método sol gel, podendo-se controlar o diâmetro das esferas e área superficial da sílica obtida⁵. A utilização de sílica gel como suporte para imobilizar grupos organofuncionais apresenta algumas vantagens quando comparada com os suportes orgânicos: a) a sílica funcionalizada pode ser modificada por uma variedade de agentes sililantes; b) os grupos organofuncionais ancorados na sílica reagem mais rapidamente do que quando ancorados em suportes orgânicos, c) a sílica tem pequena tendência ao inchamento quando comparado aos suportes orgânicos poliméricos, d) a sílica organofuncionalizada possui uma elevada estabilidade térmica, mecânica e resistência a radiação⁵. As modificações da superfície da sílica gel através de ligação química envolvem uma reação entre este material, através da reatividade química dos grupos silanóis e agente modificador adequado. Essas reações com agentes modificadores envolvem em geral, moléculas de organossilanos (alcoxissilanos e clorossilanos). Esta reação de silanização da superfície possibilita a introdução de moléculas orgânicas, que possuem grupos funcionais coordenantes. Dentre as várias rotas para a organofuncionalização (modificação) da superfície da sílica tem-se o processo sol gel, onde é feito primeiramente a hidrólise do alcóxido que se liga aos grupos hidroxila, seguido de policondensação desses grupos com alcóxidos remanescente, podendo estas reações ocorrer tanto em meio ácido como básico.

O objetivo deste trabalho então, é a investigação de rotas alternativas de recobrimento com sílica funcionalizada de nano partículas previamente preparadas para posteriores testes como marcadores em imunoensaios.

No teste para recobrimento das partículas de luminóforos já preparadas, adaptou-se procedimento descrito na literatura⁶, no qual nano partículas de óxido de európio foram recobertas com sílica funcionalizada partindo-se de APTMS (3-aminopropiltrimetoxisilano). No procedimento efetuado, escolheu-se duas amostras para os experimentos iniciais. Uma das amostras foi a de óxido

de ítrio dopado com itérbio e érbio, $\text{Y}_2\text{O}_3:\text{Er},\text{Yb}$ ⁷, obtida pelo método Pechini, e a outra foi de oxissulfeto de ítrio dopado com itérbio e érbio, $\text{Y}_2\text{O}_2\text{S}:\text{Er},\text{Yb}$, preparada a partir da reação de hidroxicarbonato e enxofre ⁸. Neste teste, teve-se como objetivo avaliar como as partículas a partir dos dois precursores se comportam após o recobrimento e se a matriz de oxissulfeto não sofre decomposição em função do método empregado. Uma quantidade pré determinada das amostras foi dispersa em etanol sob agitação em ultrassom, e separou-se o corpo de fundo. As partículas suspensas foram secas, estimou-se a massa e adicionou-se TEOS (tetraortosilano) na proporção de 1:10 (mL por g de amostra). Após a adição de TEOS as misturas foram homogeneizadas sob agitação mecânica (agitador magnético) e posteriormente deixadas sob ação de ultrassom por 15 minutos. Na sequência, foram levadas em forno de microondas e deixadas sob aquecimento na potência máxima no prato giratório por 2 minutos. Em seguida, foram sonicadas por cinco minutos e este procedimento foi repetido até que houvesse a formação de uma pasta praticamente seca. Esta pasta foi deixada em repouso durante a noite. No dia seguinte, as amostras foram aquecidas em estufa a 140°C por uma hora e meia, resuspensas em água e centrifugadas por 10 minutos a 2000 rpm. Descartou-se o sobrenadante e o procedimento foi repetido 3 vezes para lavagem das partículas. Para retirada das partículas do tubo de centrífuga utilizou-se etanol, transferiu-se para béqueres e deixou-se secar em estufa a ~ 100°C. As amostras foram caracterizadas por microscopia eletrônica de transmissão (MET), microscópio de transmissão Philips CM200, e por espectroscopia de luminescência, excitando-se com laser portátil InColaser, 980-1000 nm, no equipamento espectrofluorímetro Fluorolog3 ISA/Jobin-Yvon, fotomultiplicadora Hamamatsu R928P, não refrigerada, operando em 950 volts, adequada para a região de 240 a 820 nm.

Na Figura 1 tem-se as imagens de MET obtidas para as amostras recobertas com sílica.

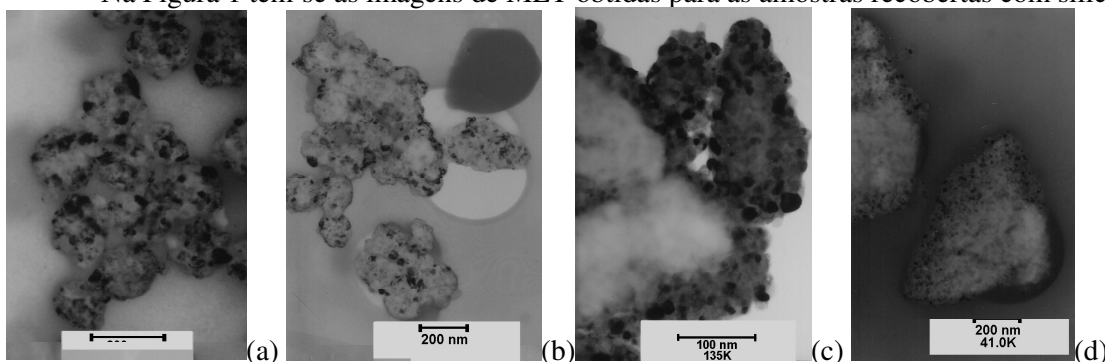


Figura 1 – Imagens de microscopia eletrônica de transmissão de (a) $\text{Y}_2\text{O}_2\text{S}:\text{Er}^{3+}\text{Yb}^{3+}$ preparada via precursor hidroxicarbonato antes do recobrimento e (b) após o recobrimento com sílica, e (c) $\text{Y}_2\text{O}_3:\text{Er}^{3+}\text{Yb}^{3+}$ preparado pelo método Pechini antes do recobrimento e (d) após o recobrimento com sílica.

Verifica-se que o método empregado de recobrimento não modifica a forma das partículas, no entanto é de difícil observação a camada de sílica que deve ter se formado sobre as partículas. A presença de silício foi comprovada mediante medidas de EDX (Energia dispersiva de raios X) realizadas durante a aquisição das imagens de MET.

Por espectroscopia de luminescência, Figura 2, são comparados os espectros de uma das amostras antes e depois do recobrimento, indicando que a presença da sílica, e o tratamento efetuado durante o recobrimento, não altera as propriedades espectroscópicas do sistema ativador presente no nano-marcador, ou seja, o íon Er^{3+} (no caso) continua apresentando as mesmas transições sem variação em posição energética.

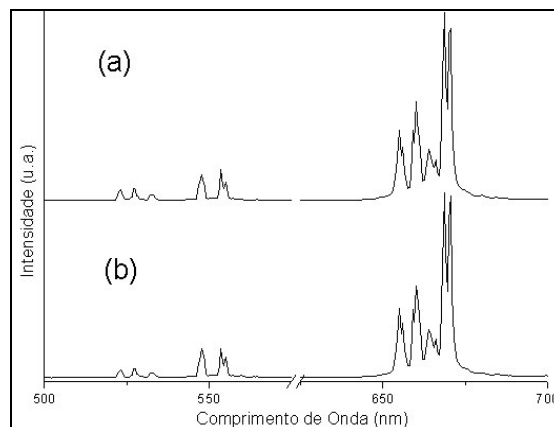


Figura 2 – Espectros de luminescência sob excitação com laser de diodo em 980 nm, 70 mW, da amostra $\text{Y}_2\text{O}_3\text{S:Er}^{3+}\text{Yb}^{3+}$ preparada via precursor hidroxicarbonato (a) antes e (b) depois do recobrimento com sílica.

De acordo com os resultados, portanto, o uso da sílica gel no recobrimento de nanomarcadores para aplicação em imunoenaios torna-se viável, pois não houve modificações das propriedades do marcador antes e após o recobrimento via polimerização da sílica em forno de microondas. No entanto, métodos ou rota alternativas de recobrimento envolvendo processo sol-gel a partir da dispersão das partículas em meio etanólico e posterior adição do silano de interesse em solução deverão ser testados para controle maior da espessura da camada e homogeneidade do recobrimento das partículas com sílica.

Referências

- ¹ ISSLER, S.L., TORARDI, C.C., Solid state chemistry and luminescence of X-ray phosphors. **Journal of Alloys Compounds**, v. 229, p. 54, 1995.
- ² C.R. Ronda, T. Jüstel, J. Nikol, Rare earth phosphors: fundamentals and applications. **Journal of Alloys Compounds**, v.669, p. 275-277, 1998.
- ³ D. A. Zarling, M.J. Rossi, N.A. Peppers, J. Kane, G.W. Faris, M.J. Dyer, S.Y. Ng, L.V. Schneider, (1997) Up-Converting Reporters for Biological and Other Assays Using Laser Excitation Techniques, US Patent 5,674,698.
- ⁴ WARSINKE, A., BENKERT, A., SCHELLER, F.W., Electrochemical immunoassays. **Fresenius J. Anal.Chem.**, v.366, n.6-7, p.622, 2000.
- ⁵ SOUSA, K:S. **Síntese, caracterização e termoquímica de materiais híbridos inorgânico-orgânicos de sílica gel e ácido tioglicólico**. 2005. 66f. Dissertação (Mestrado em Química Inorgânica) Universidade Federal da Paraíba, Paraíba.
- R. K. Iler, *The Chemistry of Sílica*, John Wiley & Son, New York, 1979.
- ⁶ FENG, J. et al. *Analytical Chemistry*, v. 75, p. 5282, 2003.
- ⁷ PIRES, A. M., HEER, Stephan, GÜDEL, Hans U., SERRA, Osvaldo Antonio. Low temperature upconversion spectroscopy of the nanosized $\text{Y}_2\text{O}_3\text{:Er,Yb}$ phosphor. *Journal of Applied Physics*, v.98, p.1 - 7, 2005.
- ⁸ PIRES, A. M., SERRA, O.A., DAVOLOS, M.R. Yttrium oxysulfide nanosized spherical particles doped with Yb Yttrium oxysulfide nanosized spherical particles doped with Yb and Er or Yb and Tm: efficient materials for Up-converting Phosphor Technology field. *Journal of Alloys and Compounds*, v.374, p.181 - 184, 2004.