

# NANOPARTÍCULAS DE SÍLICA COM MARCADORES LUMINESCENTES DE $\text{Eu}^{3+}$ : INOVAÇÕES PARA IMAGEAMENTO CELULAR

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.531112414103>

Data de aceite: 23/10/2024

### Levy Ribeiro de Souza Bispo

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia UFRB, Centro de formação de Professores CFP Amargosa – Bahia  
INCT-Energia & Meio Ambiente,  
Universidade Federal da Bahia UFBA  
Salvador – Bahia  
INCITE-Nanotecnologia, Universidade Estadual de Feira de Santana UEFS  
Feira de Santana – Bahia  
<http://lattes.cnpq.br/2924568726694736>

### Jorge Fernando Silva de Menezes

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia UFRB, Centro de Formação de Professores CFP Amargosa – Bahia  
INCT-Energia & Meio Ambiente,  
Universidade Federal da Bahia UFBA  
Salvador – Bahia  
INCITE-Nanotecnologia, Universidade Estadual de Feira de Santana UEFS  
Feira de Santana – Bahia  
<http://lattes.cnpq.br/7799441763950977>

**RESUMO:** No presente trabalho foi realizada a síntese e caracterização de nanopartículas de sílica dopadas com um complexo luminescente de európio ( $\text{Eu}^{3+}$ ), visando ser um estudo preliminar para aplicações futuras em imageamento celular. O foco foi o desenvolvimento de um sistema *core/shell*, onde o complexo  $[\text{Eu}(\text{tta})_3(\text{H}_2\text{O})_2]$  foi incorporado ao “*core*” (núcleo). Nos últimos anos, as nanopartículas de

sílica ganharam atenção nesse campo devido a características como tamanho controlável e facilidade de modificação da superfície. Nesse contexto, o európio atua como o centro metálico de um marcador luminescente atraente devido às suas propriedades ópticas, como alto deslocamento Stokes e fotoestabilidade, tornando-o ideal para bioimagem em combinação com as nanopartículas de sílica. A síntese do complexo luminescente foi a primeira etapa, seguida pela incorporação do dopante na matriz de nano sílica por meio de microemulsão W/O (*Water in Oil*), que permite a formação de micelas reversas, atuando como nano reatores. As nanopartículas ( $\text{NPSi@Eutta}$ ) foram caracterizadas usando técnicas como MEV, EDS, MET e fluorescência confocal, que revelaram a morfologia esférica com tamanhos de até 19 nm. A análise EDS confirmou a presença do európio, enquanto a MET validou a morfologia e a estrutura *core/shell*. A fluorescência confocal mostrou emissão vermelha, confirmando as propriedades luminescentes do complexo. Os resultados indicam que o sistema é promissor para futuras aplicações em bioensaios.

**PALAVRAS-CHAVE:** Síntese W/O, Lantanídeos, Európio, Inorgânica, Nanopartículas.

## SILICA NANOPARTICLES WITH LUMINESCENT EU<sup>3+</sup> MARKERS: INNOVATIONS FOR CELL IMAGING

**ABSTRACT:** In the present work, the synthesis and characterization of silica nanoparticles doped with a luminescent europium (Eu<sup>3+</sup>) complex were carried out, aiming to serve as a preliminary study for future applications in cellular imaging. The focus was on developing a core/shell system, where the complex [Eu(tta)<sub>3</sub>·(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>] was incorporated into the “core.” In recent years, silica nanoparticles have gained attention in this field due to characteristics such as controllable size and ease of surface modification. In this context, europium acts as the metal center of an attractive luminescent marker due to its optical properties, such as high Stokes shift and photostability, making it ideal for bioimaging in combination with silica nanoparticles. The synthesis of the luminescent complex was the first step, followed by the incorporation of the dopant into the silica nanoparticle matrix using the W/O (Water in Oil) microemulsion method, which allows for the formation of reverse micelles that act as nano-reactors. The nanoparticles (NPSi@Eutta) were characterized using techniques such as SEM, EDS, TEM, and confocal fluorescence, revealing a spherical morphology with sizes of up to 19 nm. The EDS analysis confirmed the presence of europium, while TEM validated the morphology and core/shell structure. The confocal fluorescence showed red emission, confirming the luminescent properties of the complex. The results indicate that the system is promising for future applications in bioassays.

**KEYWORDS:** W/O synthesis, Lanthanides, Europium, Inorganic, Nanoparticles

### INTRODUÇÃO

Nas últimas duas décadas houve um grande crescimento no campo da nanotecnologia, em especial na química, com a síntese e desenvolvimento de sistemas que empregam nanopartículas. Essa procura tem sua justificativa atrelada a ampla possibilidade de aplicações químicas e bioquímicas desses sistemas, como *drug delivery*, imageamento celular, biomarcação dentre outras. Nesse contexto, as nanopartículas de sílica tiveram um destaque devido a parâmetros controláveis como o tamanho em escala nanométrica, o formato esférico, morfologia e a facilidade de modificação de sua superfície, o que gera novas possibilidades de aplicação em bioensaios (LOURENÇO, et al. 2013). Graças a isso esses sistemas tem se mostrado como plataformas úteis para marcadores luminescentes a base de terras raras – em especial európio, (Eu) e térbio (Tb) – que combinam essa característica com as propriedades ópticas únicas de alguns complexos desses materiais como um alto deslocamento Stokes, fotoestabilidade e transições hipersensíveis facilmente detectadas oriundas da natureza química desses elementos em que a blindagem dos orbitais de valência (4f) por dois orbitais mais externos (5s e 5p) permitem a relaxação das regras de seleção acarretando na ocorrência de transições intraconfiguracionais 4f-4f (BINNEMANS, 2015). Esses fatores levaram o método de obtenção dessas nanopartículas de sílica inicialmente proposto por *Stober* (1968, pg. 62-69) a ser modificado para se adequar de forma ideal ao ambiente químico que os novos materiais incorporados necessitam, o que acarreta novas abordagens para a síntese de nanopartículas de sílica, uma dessas, é a síntese W/O (*water in oil*) que possui vantagens descritas por Auger et al. (2011 pg.

1-12) para o desenvolvimento de sistemas envolvendo terras raras. No presente estudo buscou-se avaliar a obtenção de nanopartículas luminescentes *core/shell* de sílica dopadas com complexo de  $[\text{Eu}(\text{tta})_3 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2]$  a partir da síntese W/O e caracterizar as mesmas por MEV (microscopia eletrônica de varredura), EDS (espectroscopia de energia dispersiva), MET (microscopia eletrônica de transmissão) e microscopia de fluorescência confocal para o emprego futuro do método com complexos do tipo  $[\text{Eu}(\beta\text{-dicetonato})_3 \cdot \text{xL}]$  em que  $\beta$ -dicetonato: hta e bta (respectivamente tenoiltrifluoroacetona e benzoiltrifluoroacetona) e xL: Amoxicilina, Carbonato de Iodenafila e nitazoxianida para imageamento celular e atividade biológica..

## MATERIAIS E MÉTODOS

Óxido de Európio (Sigma-Aldrich, 99,999%), 2- tenoiltrifluoroacetona (Sigma-Aldrich, 99%), ácido clorídrico (HCl, Merck, 37%), acetona (Sigma-Aldrich, 99,5%), pentano (Sigma-Aldrich, 98%), Hidróxido de amônio (Sigma-Aldrich, 28-30%), TEOS (Sigma-Aldrich), etanol (Sigma-Aldrich, 99,5%) e álcool n-butílico (Labsynth, PA) foram utilizados sem purificação prévia. O complexo de  $[\text{Eu}(\text{tta})_3 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2]$  preparado seguindo a metodologia descrita por Charles e Ohlmann (1965), foi dissolvido (0,013g) em etanol (2mL) e adicionado a uma microemulsão W/O<sup>a</sup> contendo Triton-X (2mL), Álcool N-Butílico (5mL), Ciclohexano (10mL) e TEOS (350 $\mu$ l) sob agitação, após isso outra microemulsão W/O<sup>b</sup> contendo Triton-X (2mL), Álcool N-Butílico (5mL), Ciclohexano (10mL) e Hidróxido de amônio (200 $\mu$ L) foi preparada e colocada sob agitação, após 10 minutos de agitação adicionou-se a solução W/O<sup>b</sup> a solução W/O<sup>a</sup> e deixou-se o sistema sob agitação por 24hrs, em sequência, adicionou-se acetona a solução para romper as micelas e precipitar as nanopartículas. O precipitado foi posteriormente centrifugado, lavado 4 vezes com água e etanol e seco sob vácuo, o material foi denominado de NPSi@Eutta (NP = Nanopartículas), figura 1.

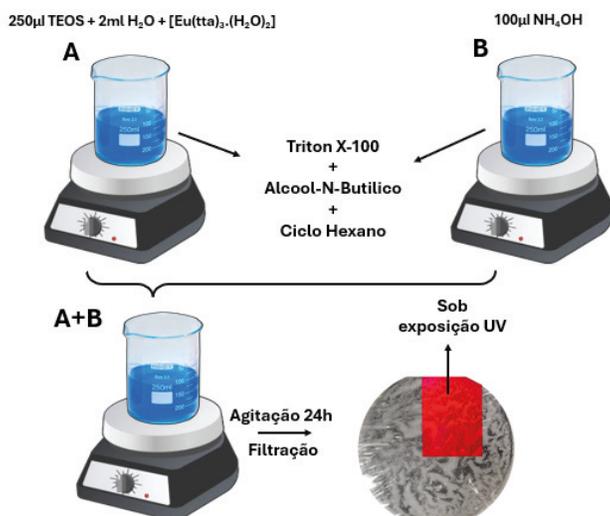


Figura 1: Metodologia de obtenção NPSi@Eutta

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As imagens de MEV/MET foram adquiridas em diferentes escalas de tamanho com a finalidade de avaliar de forma mais abrangente a morfologia e o tamanho das NPSi@Eutta juntamente com a distribuição dos elementos presentes na amostra. Na figura 2a encontra-se a imagem na escala de  $100\mu\text{m}$ , sendo as figuras 2b, 2c e 2d respectivamente aproximações da figura 1a nas escalas de  $20\mu\text{m}$ ,  $10\mu\text{m}$  e  $5\mu\text{m}$ , nessas imagens é possível ver aglomerados do sólido em tamanhos variados sendo a principal morfologia esférica, que pode ser constatada na figura 2d.

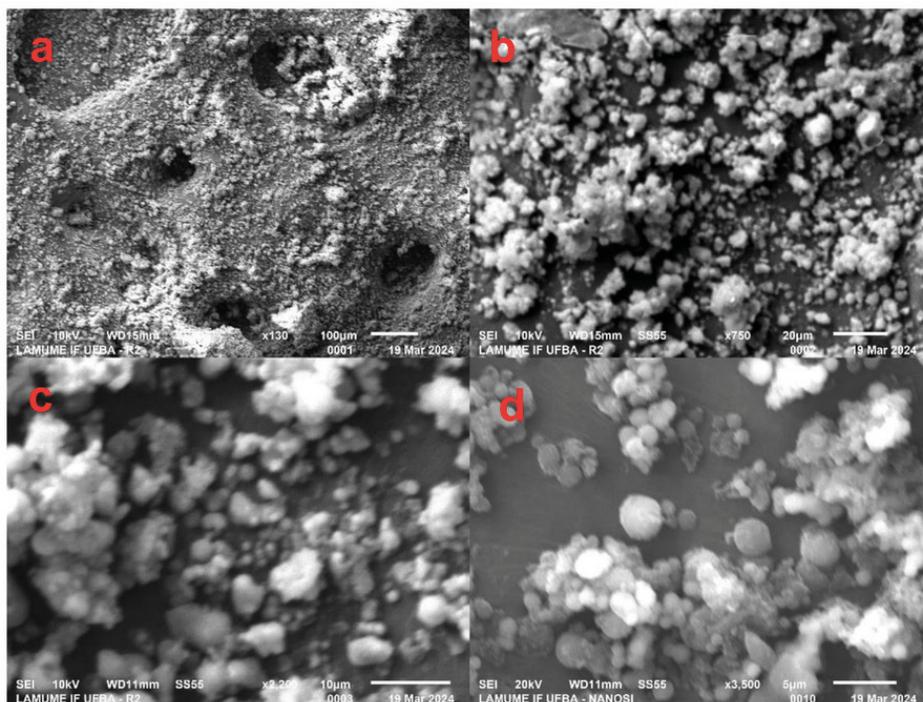


Figura 2: Imagens de MEV das NPSi@EuTTA

A análise de EDS é um fator relevante por conseguir determinar a composição principal das NPSi@Eutta, realizando um transecto elementar EDS sobre a micrografia MEV da figura 2d é possível não somente determinar a composição como avaliar a distribuição elementar, conforme pode ser visualizado na figura 3.

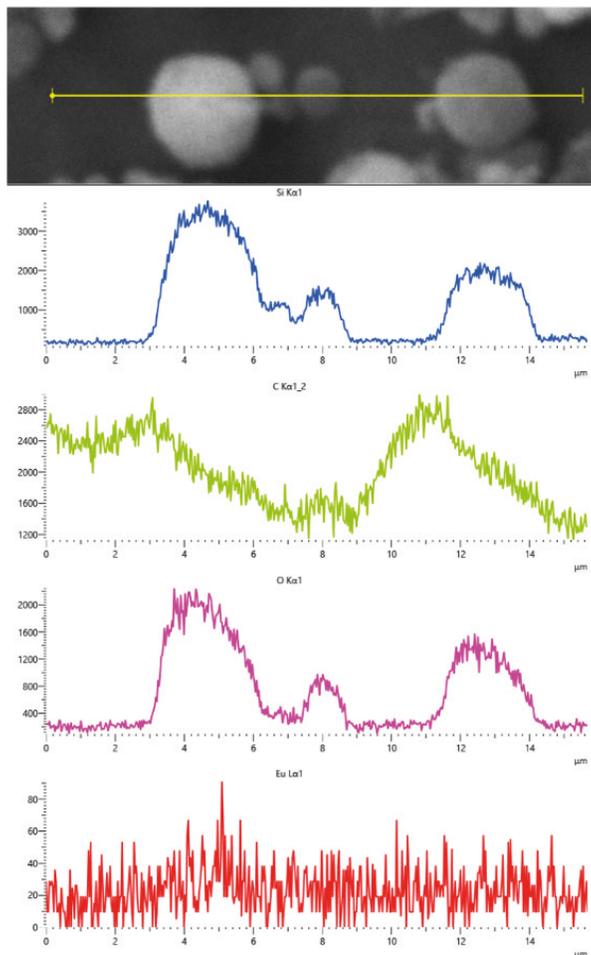


Figura 3: Transecto Elemental EDS das NPSi@EuTTA

No transecto, a presença dos picos está associada a presença do elemento no respectivo limite delimitado pela linha amarela, através dessa informação, é possível constatar nos gráficos de transecto elemental da figura 3 os principais elementos que compõem as nanopartículas, sendo eles o silício (Si) e o oxigênio (O). A forma como os outros elementos estão situados ao longo da amostra também são dados relevantes pois permitem constatar de modo qualitativo se houve a inserção do complexo luminescente nos sistemas, isso ocorre porque todo o carbono e európio presentes na amostra são provenientes do complexo, uma vez que as nano partículas de sílica são compostas apenas por silício e oxigênio. Nos gráficos de distribuição elemental do carbono percebe-se que ele se encontra disposto nos picos referentes as nanopartículas, embora apareçam linhas que atestam a presença do elemento no entorno. Já nos gráficos do európio, apesar de haver um aumento nas linhas dos gráficos próximos aos picos referentes as nanopartículas, a presença do elemento é atestada nos gráficos de EDS nas análises de MET da figura 4.

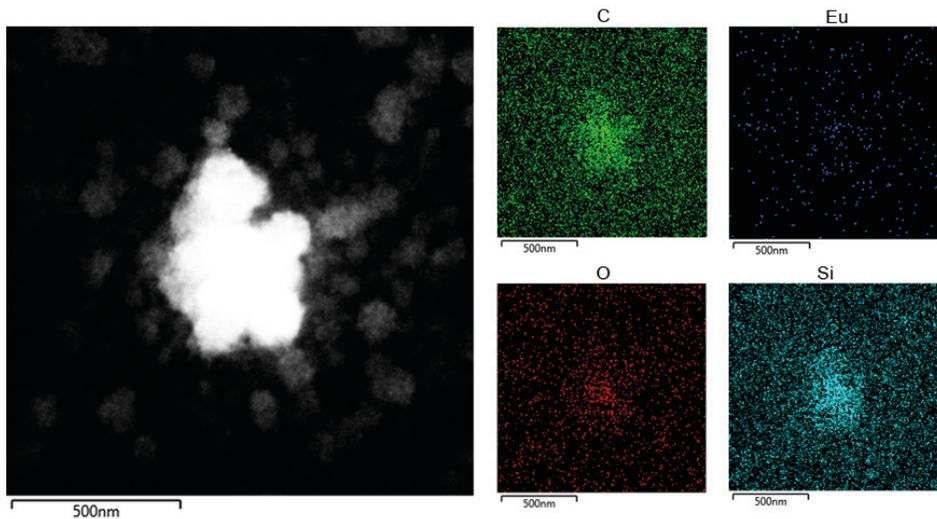


Figura 4: MET e análise EDS das NPSi@Eutta

Com a composição das NPSi@Eutta evidenciada, partiu-se para a análise da morfologia das imagens em escalas menores, tendo como objetivo constatar a estrutura *core/shell*, na figura 5a encontra-se a menor escala de partícula presente na amostra, (sendo a maior parte da amostra composta por aglomerados dessas partículas), enquanto na figura 5b é possível visualizar em uma ampliação, uma das nanopartículas que tem o diâmetro de aproximadamente 19nm.

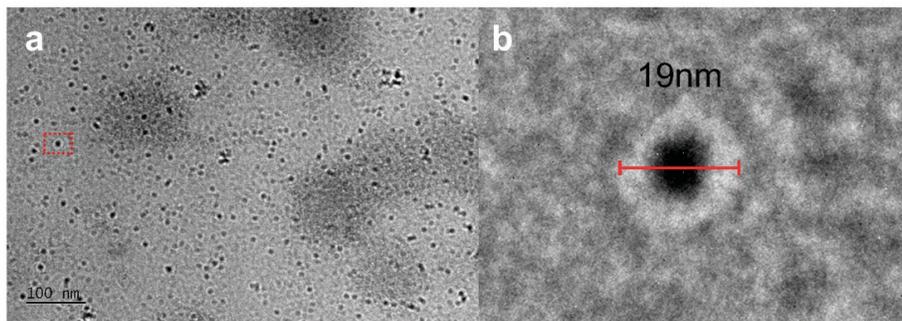


Figura 5: Imagem de MET das NPSi@Eutta (a), ampliação de uma das nanopartículas presentes na imagem.

A maioria das NPSi@Eutta presentes na figura 5a apresentam a mesma estrutura da figura 5b com variação de  $\pm 1\text{nm}$  em seu diâmetro, na ampliação da figura 5b pode-se constatar a estrutura *core/shell*. Como a formação das imagens de MET está associada a passagem de um feixe de elétrons pela amostra, que posteriormente atinge uma tela fluorescente e gera diferentes tonalidades de acordo com a densidade, espessura e

difração do material, é possível afirmar, juntamente com os dados de distribuição elementar, que a diferença de tonalidade da casca e do núcleo é uma evidência de que o complexo luminescente foi inserido de acordo com a estrutura proposta. Outro dado que corrobora com isso são as imagens de microscopia de fluorescência confocal da figura 6, que atestam a luminescência do material.

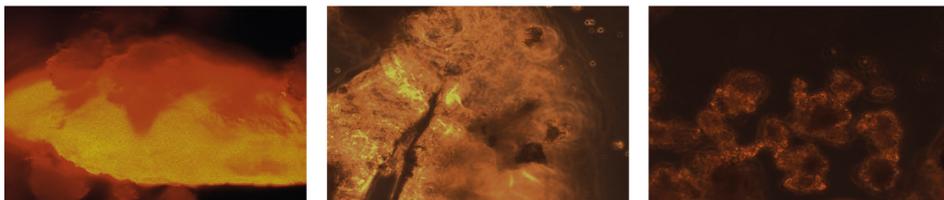


Figura 6: Imagem de microscopia de fluorescência confocal

As imagens da figura 6 permitem avaliar de forma qualitativa o perfil de emissão das NPSi@Eutta que apresentam um resultado esperado para o dopante utilizado, pois o complexo de  $[\text{Eu}(\text{tta})_3 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2]$  possui emissão no espectro visível da cor vermelha descrito na literatura por Binnemans (2015).

## CONCLUSÃO

A partir dos dados expostos foi possível inferir a eficiência da síntese W/O para a produção de partículas de sílica *core/shell* em escala nanométrica evidenciadas na figura 5, sendo também possível constatar a presença do dopante na amostra. Os dados de fluorescência confocal atestam a luminescência das NPSi@Eutta mesmo após suscetíveis lavagens do sólido em etanol (que é um solvente do dopante) o que é um bom indicativo, visto que a sua luminescência e presença no sistema sugere a possibilidade de o dopante compor a parte do “*core*” do sistema *core/shell*. O planejamento futuro desse estudo tem como objetivo realizar a caracterização fotoluminescente do material e utilizar os complexos com fármacos para empregar os novos sistemas em testes de reações enzima-substrato avaliando a atividade biológica desses materiais tal como a sua eficácia como biomarcadores de agentes específicos.

## AGRADECIMENTOS

Às agências de fomento: CAPES, CNPq e FAPESB; aos institutos: INCT-Energia & Ambiente e INCITE-FAPESB Nanotecnologia (PIE0003/2022).

## REFERÊNCIAS

AUGER, Aurélien et al. **A comparative study of non-covalent encapsulation methods for organic dyes into silica nanoparticles.** *Nanoscale research letters*, v. 6, p. 1-12, 2011.

BINNEMANS, Koen. **Interpretation of europium (III) spectra.** *Coordination Chemistry Reviews*, v. 295, p. 1-45, 2015.

CHARLES, R. G.; OHLMANN, R. C. **Europium thenoyltrifluoroacetate, preparation and fluorescence properties.** *Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry*, v. 27, n. 1, p. 255-259, 1965.

LOURENÇO, Ana Valéria S. et al. **Luminescent material based on the [Eu(TTA)<sub>3</sub>·(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>] complex incorporated into modified silica particles for biological applications.** *Journal of Inorganic Biochemistry*, v. 123, p. 11-17, 2013.

STÖBER, Werner; FINK, Arthur; BOHN, Ernst. **Controlled growth of monodisperse silica spheres in the micron size range.** *Journal of colloid and interface science*, v. 26, n. 1, p. 62-69, 1968