



Universidade de São Paulo

Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto

Departamento de Química

Programa de Pós-Graduação em Química

**“Estudo de fibroína dopada com terras raras para potenciais
aplicações fotônicas”**

Roberta Silva Pugina

Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia,
Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São
Paulo, como parte das exigências para a obtenção do título de
Mestre em Ciências.

Área: **Química.**

RIBEIRÃO PRETO-SP

2018



Universidade de São Paulo

Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto

Departamento de Química

Programa de Pós-Graduação em Química

Versão Corrigida

(Versão original encontra-se na unidade que aloja o Programa de Pós-graduação)

**“Estudo de fibroína dopada com terras raras para potenciais
aplicações fotônicas”**

Roberta Silva Pugina

Orientador: Prof. Dr. José Maurício Almeida Caiut

Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia,
Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São
Paulo, como parte das exigências para a obtenção do título de
Mestre em Ciências.

Área: **Química.**

RIBEIRÃO PRETO-SP

2018

FICHA CATALOGRÁFICA

Pugina, Roberta Silva.

Estudo de fibroína dopada com terras raras para potenciais aplicações fotônicas.

Ribeirão Preto, 2018.

90 p. : il. ; 30cm

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área: Química.

Orientador: Caiut, José Maurício Almeida.

1. Fibroína 2. Terras raras 3. Luminescência

Nome: Pugina, Roberta Silva

Título: Estudo de fibroína dopada com terras raras para potenciais aplicações fotônicas

Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área: **Química.**

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr.: _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr.: _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr.: _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr.: _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Dedicatória

*Aos meus pais, Helena e Ricardo, por
tornarem meus sonhos possíveis.*

Agradecimentos

A Deus pela serenidade nos momentos difíceis desta caminhada.

Ao meu orientador, Prof. Dr. José Maurício Almeida Caiut, pela oportunidade de ingressar no seu grupo de pesquisa, ainda na Iniciação Científica; por tudo que me ensinou e vem me ensinando desde então, por acreditar em mim e no nosso trabalho e pela amizade construída.

Aos meus pais, pois, por mais clichê que possa parecer, sem eles nada seria possível; ao meu irmão Ricardo, por ser o melhor presente que ganhei na vida e meu melhor amigo.

Aos meus avós, Lydia e Fernando, e a todos meus tios, tias, primos e primas, pelos momentos em família que são mais valiosos que qualquer título.

À Camila por estar ao meu lado desde sempre, tornando a caminhada mais leve; ao Felipe por me socorrer nos momentos difíceis e à Mari pelo companheirismo e ajuda durante este período.

As minhas parceiras de Mestrado, Carol e a Larissa, por tudo que compartilhamos ao longo destes dois anos. Sem vocês com certeza teria sido muito mais difícil e bem menos divertido.

A todos os amigos do “nanolum”: André, João, Douglas, Fernando, Elô, Renata e Euzane, e a todos que já passaram pelo laboratório e que de alguma forma contribuíram para a realização deste projeto.

À Prof^a. Dr^a. Rogéria Rocha Gonçalves por ter mantido as portas de seu laboratório sempre abertas a nós, pelos ensinamentos, contribuições e por ser um exemplo de competência e amor à profissão.

À Prof^a. Dr^a. Sofia Nikolaou e a todos seus alunos pela convivência, amizade e aprendizados diários.

À Prof^a. Dr^a. Ana Paula Ramos pela amizade, disponibilidade e participação na minha formação.

Ao Prof. Dr. Arthur Henrique Cavalcante de Oliveira pela contribuição durante o exame de qualificação.

Ao Prof. Dr. Osvaldo Serra pelo uso dos equipamentos.

Ao Prof. Dr. Sidney José Lima Ribeiro pelas contribuições, disponibilidade e uso de seu laboratório e equipamentos.

Ao Dr. Maurício Cavicchioli pelos auxílios de fundamental importância no início deste projeto.

À Universidade de Franca (UNIFRAN) pelas análises de Raio X e à Faculdade de Medicina da USP-RP pelas Microscopias de Transmissão.

A todos os funcionários e técnicos do Departamento de Química da USP-RP, em especial à Ivana Borin e ao Cláudio Neri, pelas inúmeras colaborações durante este trabalho.

A todos os professores que contribuíram para minha formação.

Ao programa de Pós-Graduação em Química da Faculdade de Filosofia Ciências e Letras da USP-RP.

Ao CNPq pela bolsa concedida.

Pugina, Roberta Silva. **Estudo de fibroína dopada com terras raras para potenciais aplicações fotônicas**. 2018. 90 p. Dissertação de mestrado - Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras/USP-RP.

Resumo

A fibroína da seda (SF) é uma proteína estrutural encontrada nos casulos do *Bombyx mori* e que possui propriedades potencialmente aplicáveis em fotônica. Esta matriz biocompatível é um substrato interessante para diferentes íons ou moléculas; além disso, o seu índice de refração variável permite que fótons sejam guiados neste material, possibilitando seu uso como guias de ondas biocompatíveis e reabsorvíveis, que pode ser utilizado para fornecer energia ótica para diversas aplicações, por exemplo, terapia ou imagem dentro de tecidos vivos. A sua boa adequação em sistemas ópticos deve-se principalmente a propriedades como: ser mecanicamente robusta, apresentar superfícies muito lisas, altamente transparentes (> 95%) em toda a região visível do espectro e ser modelável. Além disto, há uma característica adicional: a viabilidade de funcionalização bioquímica, o que pode conferir uma maior versatilidade a estes dispositivos. Já os íons terras raras (TR) possuem um papel amplamente conhecido no ramo da fotônica; porém, não há nenhum estudo envolvendo a produção de luz em SF dopada com íons TR, e a combinação das propriedades mecânicas e óticas desta matriz com a multifuncionalidade destes íons pode ser uma forma de se produzir dispositivos fotônicos novos e distintos. Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo estudar a estrutura da matriz de SF na presença de diferentes íons TR (Eu^{3+} e Tb^{3+}), bem como a interação existente entre os aminoácidos que constitui a matriz e estes íons. Os resultados apresentados nesta dissertação mostraram as interações TR-SF e suportam os mecanismos de transferência de energia para excitação de diferentes íons TR nesta matriz, sendo importante para futuras aplicações em fotônica.

Pugina, Roberta Silva. **Study of rare earth doped fibroin for potential photonic applications**. 2018. 90 p. Dissertação de mestrado - Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras/USP-RP.

Abstract

Silk fibroin (SF) is a structural protein found in *Bombyx mori* cocoons and has properties that are potentially applicable in photonics. This biocompatible matrix is an interesting substrate for different ions or molecules. Furthermore, its variable refractive index allows for photons to be guided in this material enabling their use as biocompatible and resorbable waveguides, which can be used to provide optical energy for various applications, e. g., therapy or imaging into living tissue. Its suitability in optical systems is mainly due to its properties such as: being mechanically robust, presenting very smooth surfaces, highly transparent (> 95%) throughout the visible region of the spectrum and being moldable. In addition, there is an extra feature: the possibility of biochemical functionalization, which may confer greater versatility to these devices. On the other hand, rare earth ions (RE) play a widely known role in the field of photonics. However, there is no studies involving the production of light in doped SF with RE ions and the combination of the mechanical and optical properties of this matrix with the multifunctionality of these ions can be a way to produce new photonic devices. Thus, the aim of the present work was to study the SF matrix structure in the presence of different RE ions (Eu^{3+} and Tb^{3+}) as well as the interaction between the amino acids from the matrix and these RE ions. The results presented in this manuscript have characterized the RE-SF interactions and supported the mechanisms of energy transfer for excitation of different RE ions in this matrix being important for future applications in photonics.

Lista de Figuras

- Figura 1-** Esquema representativo das regiões que compõem a SF, bem como suas principais propriedades. 18
- Figura 2-** (a) Estrutura dos aminoácidos que constituem a estrutura primária, (b) representação da estrutura primária e das conformações (c) α -hélice e (d) β -folha da SF. 18
- Figura 3-** Mapa representando a rota da seda pelo mundo..... 19
- Figura 4-** Defeitos comuns em casulos do bicho-da-seda: (a) casulo de referência, sem defeito; (b) manchado; (c) riscado; (d) furado; (e) sujo; (f) duplo e (g) irregular..... 20
- Figura 5-** Gráfico mostrando o aumento no número de publicações ao longo dos anos..... 21
- Figura 6-** Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) mostrando as diferenças morfológicas das microesferas de *DOPC*-seda submetidas a diferentes tratamentos, como (A-D) liofilização e após tratamento em (E-H) MeOH e (I-L) NaCl..... 22
- Figura 7-** (a) Imagens de fibras de SF atuando como guias de onda para luz de laser He:Ne e (b) guias de onda de SF conduzindo luz em tecido biológico. 23
- Figura 8-** (a) Representação das espessuras e estruturas que melhoram o contato e (b) série de imagens que ilustram a forma como a espessura do conjunto (eletrodos em uma rede de malha suportados pelo filme de SF) contribui para o contato em um modelo de cérebro. 24
- Figura 9-** Ilustração dos múltiplos espalhamentos de luz em partículas desordenados mantendo a luz aprisionada tempo suficiente, até que a amplificação se torne ampla o suficiente para produzir a luz laser. 25
- Figura 10-** Estrutura dos aminoácidos triptofano, tirosina e fenilalanina. 26
- Figura 11-** Tabela periódica com destaque para as TR. 27
- Figura 12-** Representação da distribuição eletrônica das TR, na forma neutra e no estado fundamental;

e das funções de distribuição radial para os orbitais 4f, 5s e 5p.....	28
Figura 13- Representação esquemática e ordem da magnitude dos efeitos de interações intra-atômica e de campo cristalino agindo sobre uma configuração $4f^n$	30
Figura 14- Espectros de absorção dos complexos (a) $[\text{Ti}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ e (b) $[\text{Eu}(\text{H}_2\text{O})(\text{L})]$	31
Figura 15- Diagrama parcial dos níveis de energia dos Ln^{3+} (Dieke ou Carnall).	32
Figura 16- Diagrama de níveis de energia da configuração $4f^6$ do íon európio.....	33
Figura 17- Espectro luminescente do $[\text{Eu}(\text{TTA})_3(\text{phen})]$ a $T= 77\text{K}$, $\lambda_{\text{ex}}= 396 \text{ nm}$	34
Figura 18- Espectros de luminescência do Eu^{3+} em diferentes ambientes: A) Eu^{3+} em água e B) $[\text{Eu}(\text{DPA})]^+$ em água.	36
Figura 19- Representação do processo de transferência de energia radiativa entre um doador (D) e um aceitador (A).....	38
Figura 20- Representação do processo de transferência de energia não radiativa, onde o doador (D) transfere energia direta para o aceitador (A).	39
Figura 21- Representação dos mecanismos de Dexter (ou troca, à esquerda) e Förster (ou dipolo-dipolo, à direita).	41
Figura 22- Complexo estudado por Weissman (Salicilaldeído de Európio).	42
Figura 23- Representação das principais vias de fluxo de energia durante o processo de transferência ligante-metal.....	43
Figura 24- Representação das etapas do processo de extração da fibroína dos casulos do <i>Bombyx mori</i>	47
Figura 25- Representação do processo de formação dos filmes de SF na presença dos íons TR.	48

Figura 26- Representação do processo de montagem dos filmes <i>LbL</i>	49
Figura 27- Representação do processo de formação dos filmes de SF+Eu ³⁺ na presença do ligante TTA.....	50
Figura 28- Representação do processo de formação dos filmes de SF+Tb ³⁺ na presença do ligante Acac.....	51
Figura 29- Imagem ilustrando a transparência dos filmes dopados (SF_filme + 2,0% Eu ³⁺).....	53
Figura 30- Imagem dos filmes (esquerda) SF_filme + 2,0% Eu ³⁺ e (direita) SF_filme + 2,0% Tb ³⁺ ilustrando a luminescência características dos íons Eu ³⁺ e Tb ³⁺ , respectivamente, quando irradiados com feixe de luz de comprimento de onda compatível à absorção da matriz.	54
Figura 31- Espectros de FTIR dos filmes (esquerda) SF_filme_puro (preto), SF_filme + 0,5% Eu ³⁺ (vermelho), SF_filme + 1,0% Eu ³⁺ (azul), SF_filme + 2,0% Eu ³⁺ (ciano escuro), (direita) SF_filme_puro (preto), SF_filme + 0,5% Tb ³⁺ (rosa), SF_filme + 1,0% Tb ³⁺ (alaranjado) e SF_filme + 2,0% Tb ³⁺ (verde claro).	55
Figura 32- Espectros de CD das amostras SF_LbL_puro (preto), SF_LbL + 0,1% Eu ³⁺ (amarelo), SF_LbL + 0,5% Eu ³⁺ (verde claro), SF_LbL + 1,0% Eu ³⁺ (azul) e SF_LbL + 2,0% Eu ³⁺ (vermelho)..	56
Figura 33- Espectros no UV-Vis dos filmes SF_filme_puro (preto), SF_filme + 2,0% Gd ³⁺ (vermelho), SF_filme + 2,0% Eu ³⁺ (azul) e SF_filme + 2,0% Tb ³⁺ (ciano escuro).....	57
Figura 34- Análises térmicas do filme SF_filme_puro. (vermelho) Curva do termograma (TGA) e (azul) curva de DSC (calorímetro diferencial de varredura), 20°C/min em atmosfera de N ₂	58
Figura 35- Análises térmicas dos filmes SF_filme_puro (linha contínua —), SF_filme + 2,0% Eu ³⁺ (linha tracejada - - -) e SF_filme + 2,0% Tb ³⁺ (linha pontilhada . . .). (vermelho) Curva do termograma (TGA) e (azul) curva de DSC (calorímetro diferencial de varredura), 20°C/min em atmosfera de N ₂	59
Figura 36- Análise térmica dos filmes SF_filme_puro (azul), SF_filme + 2,0% Eu ³⁺ (vermelho) e	

SF_filme + 2,0% Tb³⁺ (verde). Curva de DSC (calorímetro diferencial de varredura), 20°C/min em atmosfera de N₂, com destaque para a região onde ocorre a Tg (quadro pontilhado cinza). 60

Figura 37- Espectros de emissão dos filmes: (a) SF_filme + 2,0% Gd³⁺ (T= 77K, λ_{ex}= 275 nm, linha preta), SF_filme_puro (T= 77K, λ_{ex}= 275 nm, linha azul), SF_filme_puro (T= 77K, λ_{ex}= 295 nm, linha verde), (b) SF_filme + 2,0% Gd³⁺ (T ambiente, λ_{ex}= 275 nm, linha preta), SF_filme_puro (T ambiente, λ_{ex}= 295 nm, linha vermelha) e (c) SF_filme + 2,0% Gd³⁺ deconvoluido (T= 77K). 62

Figura 38- Para o filme SF_filme + 2,0% Eu³⁺: (a) espectro de excitação (λ_{em}=612 nm) e (b) espectros de emissão (linha preta λ_{ex}=285 nm, linha azul λ_{ex}=325 nm e linha vermelha λ_{ex}=394 nm). Para o filme SF_filme + 2,0% Tb³⁺: (c) espectro de excitação (λ_{em}=544 nm) e (d) espectros de emissão (linha azul λ_{ex}=293 nm, linha vermelha λ_{ex}=325 nm e linha preta λ_{ex}=350 nm). Imagens dos filmes (e) SF_filme + 2,0 % Eu³⁺ e (f) SF_filme + 2,0% Tb³⁺, sob excitação em 290 nm, e do filme (g) SF_filme + 0,5% Eu³⁺, sob excitação em 365 nm. 64

Figura 39- Espectros de emissão dos filmes dopados com (a) Eu³⁺ (SF_filme + 0,5% Eu³⁺, linha preta; SF_filme + 1,0% Eu³⁺, linha vermelha; SF_filme + 2,0% Eu³⁺, linha azul) e com (b) Tb³⁺ em diferentes concentrações (SF_filme + 0,5% Tb³⁺, linha preta; SF_filme + 1,0% Tb³⁺, linha vermelha; SF_filme + 2,0% Tb³⁺, linha azul). 66

Figura 40- Diagrama de energia dos níveis singleto e tripleto da fibroína e dos níveis eletrônicos dos íons Tb³⁺ e Eu³⁺. 66

Figura 41- Estrutura dos ligantes (a) TTA e (b) Acac utilizados para intensificação do efeito antena nos filmes de SF e TR³⁺. 68

Figura 42- Imagem mostrando a luminescência apresentada pelos filmes formados de SF na presença de íons Eu³⁺ e o ligante TTA. Da esquerda para a direita estão as amostras: SF_filme + 0,1% Eu³⁺ + TTA, SF_filme + 0,5% Eu³⁺ + TTA, SF_filme + 1,0% Eu³⁺ + TTA e SF_filme + 2,0% Eu³⁺ + TTA. 68

Figura 43- Espectros no UV-Vis dos filmes SF_filme + 0,1% Eu³⁺ + TTA (roxo), SF_filme + 0,5% Eu³⁺ + TTA (verde claro), SF_filme + 1,0% Eu³⁺ + TTA (ciano) e SF_filme + 2,0% Eu³⁺ + TTA (verde escuro). 69

Figura 44- Análises térmicas dos filmes (esquerda) SF_filme_puro (linha contínua —), SF_filme +

2,0% Eu^{3+} (linha tracejada - - -) e SF_filme + 2,0% Eu^{3+} + TTA (linha pontilhada . . .). (direita) SF_filme_puro (linha contínua —), SF_filme + 2,0% Tb^{3+} (linha tracejada - - -) e SF_filme + 2,0% Tb^{3+} + Acac (linha pontilhada . . .). (vermelho) Curva do termograma (TGA) e (azul) curva de DSC (calorímetro diferencial de varredura), 20°C/min em atmosfera de N_2 70

Figura 45- Análise térmica dos filmes (esquerda) SF_filme_puro (azul), SF_filme + 2,0% Eu^{3+} (vermelho) e SF_filme + 2,0% Eu^{3+} + TTA (verde); (direita) SF_filme_puro (azul), SF_filme + 2,0% Tb^{3+} (vermelho) e SF_filme + 2,0% Tb^{3+} + Acac (verde). Curva de DSC (calorímetro diferencial de varredura), 20°C/min em atmosfera de N_2 , com destaque para a região onde ocorre a Tg (quadro pontilhado cinza)..... 71

Figura 46- (esquerda) Espectros de excitação para os filmes SF_filme + 2,0% Eu^{3+} (linha preta, λ_{em} 612nm) e SF_filme + 2,0% Eu^{3+} + TTA (linha azul, λ_{em} 612nm). (direita) Espectros de emissão para os mesmos SF_filme + 2,0% Eu^{3+} (linha preta, λ_{ex} 285nm) e SF_filme + 2,0% Eu^{3+} + TTA (linha azul, λ_{ex} 360nm). 72

Figura 47- (esquerda) Espectros de excitação para os filmes SF_filme + 2,0% Tb^{3+} (linha vermelha, λ_{em} 544nm) e SF_filme + 2,0% Tb^{3+} + Acac (linha verde, λ_{em} 544nm). (direita) Espectros de emissão para os mesmos SF_filme + 2,0% Tb^{3+} (linha vermelha, λ_{ex} 325nm) e SF_filme + 2,0% Tb^{3+} + Acac (linha verde, λ_{ex} 351nm)..... 72

Figura 48- Curvas de tempo de vida de luminescência dos filmes (a) SF_filme + 0,1% Eu^{3+} , (b) SF_filme + 0,5% Eu^{3+} , (c) SF_filme + 1,0% Eu^{3+} e (d) SF_filme + 2,0% Eu^{3+} (linha preta λ_{ex} = 285 nm e linha vermelha λ_{ex} = 394 nm). As curvas correspondentes em azul (ex: (a')) representam o ln da intensidade..... 75

Figura 49- Curvas de tempo de vida de luminescência dos filmes (e) SF_filme + 0,1% Eu^{3+} + TTA, (f) SF_filme + 0,5% Eu^{3+} + TTA, (g) SF_filme + 1,0% Eu^{3+} + TTA e (h) SF_filme + 2,0% Eu^{3+} + TTA (linha preta λ_{ex} = 293,4 nm e linha vermelha λ_{ex} = 360 nm). As curvas correspondentes em azul (ex: (e')) representam o ln da intensidade..... 76

Figura 50- Difratoograma de raios X das partículas de $\text{YVO}_4:\text{Nd}^{3+}$ (item 7.1). 79

Figura 51- Imagem obtida por MET das partículas de $\text{YVO}_4:\text{Nd}^{3+}$ -liofilizadas (item 7.1). 80

Figura 52- (direita) Imagem obtida por MET das partículas de $\text{YVO}_4:\text{Nd}^{3+}$ -liofilizadas (item 7.1) e (esquerda) “zoom” mostrando os agregados formados por estas partículas. 80

Figura 53- Histograma da distribuição de tamanho das partículas de (a) $\text{YVO}_4:\text{Nd}^{3+}$ -liofilizadas (1) e (b) $\text{YVO}_4:\text{Nd}^{3+}$ -liofilizadas (2)..... 81

Figura 54- Espectros de (esquerda) excitação ($\lambda_{\text{em}}= 1064$ nm) e de (direita) emissão (linha preta, $\lambda_{\text{ex}}= 295$ nm e linha vermelha, $\lambda_{\text{ex}}= 594$ nm) para as partículas de $\text{YVO}_4:\text{Nd}^{3+}$ 82

Lista de Tabelas

Tabela 1- Número de subníveis de um termo $2S+1 L_J$ para diferentes classes de simetria.	37
Tabela 2- Parâmetros de intensidade de Judd-Ofelt (Ω_2 e Ω_4), tempos de vida radiativo e experimental (τ_{rad} e $\tau_{\text{experimental}}$) e eficiência quântica do nível 5D_0 (η)	73

SUMÁRIO

1. Introdução.....	16
1.1. Fibroína da seda	17
1.2. Íons terras raras	27
1.2.1. O íon Eu^{3+} como sonda estrutural.....	33
1.3. Transferência de energia	37
2. Objetivos	45
2.1. Objetivo geral.....	45
2.2. Objetivos específicos	45
3. Procedimentos Experimentais.....	46
3.1. Extração da fibroína de casulos do bicho-da-seda (<i>Bombyx mori</i>).....	46
3.2. Incorporação dos íons	47
3.3. Preparação dos filmes de SF+ Eu^{3+} para análises por Dicroísmo Circular (CD).....	48
3.4. Preparação dos filmes de SF+ Eu^{3+} na presença do ligante TTA (2-tenoiltrifluoroacetona).....	49
3.5. Preparação dos filmes de SF+ Tb^{3+} na presença do ligante Acac (Acetilacetona).....	50
4. Técnicas de Análises	52
5. Resultados e Discussão	53
5.1. Caracterização estrutural dos materiais	53
5.2. Estudo das interações entre os aminoácidos e os íons TR.....	61
5.3. Intensificação do “efeito antena” pela adição dos ligantes.....	67
6. Conclusão	77
7. Perspectivas.....	78
7.1. Síntese de nanopartículas de $\text{YVO}_4:\text{Nd}^{3+}$	78
7.2. Resultados prévios	78
8. Referências	83

1. Introdução

A fotônica, que está relacionada à geração, manipulação, transporte e detecção de fótons; surgiu como resultado do desenvolvimento do primeiro laser produzido no início da década de 1960 [1], e desde então, este campo de pesquisa utiliza fótons para desempenhar funções que, tradicionalmente, ficavam dentro do domínio da eletrônica, tais como telecomunicações e processamento de informações [2]. Atualmente, o avanço na área da fotônica está intimamente relacionado à obtenção de novos materiais e sistemas nanoestruturados, bem como ao estudo de efeitos não lineares e ao desenvolvimento de nanobiossensores e novos tipos de lasers (ex: lasers randômicos [3]). Neste campo de pesquisa, matrizes de origem biológica podem ser interessantes, principalmente quando são de fontes renováveis, biocompatíveis e que permitem o controle da estrutura em nível molecular, levando à obtenção de materiais com propriedades importantes, como resistência, índice de refração variável e flexibilidade. Neste sentido, a fibroína da seda (SF), proteína extraída dos casulos do bicho-da-seda [4], é um potencial material para aplicações em fotônica, visto que é uma matriz biocompatível [5] e facilmente dopável com íons ou moléculas de interesse. Além disso, apresenta índice de refração variável permitindo que fótons sejam guiados e possibilitando seu uso como guias de ondas biocompatíveis [6, 7] e reabsorvíveis [8], que podem ser utilizados para fornecer energia ótica para diversas aplicações, como por exemplo, terapia ou imagem dentro de tecido vivo [7]. Diferentes sistemas já foram estudados, como guias de ondas [6], microlentes [9] e laser a partir de corantes orgânicos pelo mecanismo de *distributed feedback grating (DFB)* [10]. Entretanto, esse biopolímero apresenta outras propriedades adequadas à fotônica que ainda não foram totalmente exploradas, como por exemplo, nenhum estudo envolvendo a emissão de fótons em fibroína dopada com íons terras raras (TR) foi publicado. Já o papel dos materiais dopados com estes íons TR em fotônica é amplamente conhecido, incluindo lasers no estado sólido [11], sistemas emissores de luz [12], fibras para amplificação ótica [13] e sistemas de armazenamento de dado [14]. A união das propriedades dos íons TR com a SF pode proporcionar o desenvolvimento de dispositivos fotônicos diferenciados e de um amplo campo para estudo e avanço acadêmico, por exemplo, mecanismos de supressão de luminescência podem ter um papel considerável nessa matriz e devem ser evitados. Por outro lado, a SF apresenta 5263 resíduos de aminoácidos [15], possibilitando diferentes formas de interação com o íon TR, além de possibilitar processos

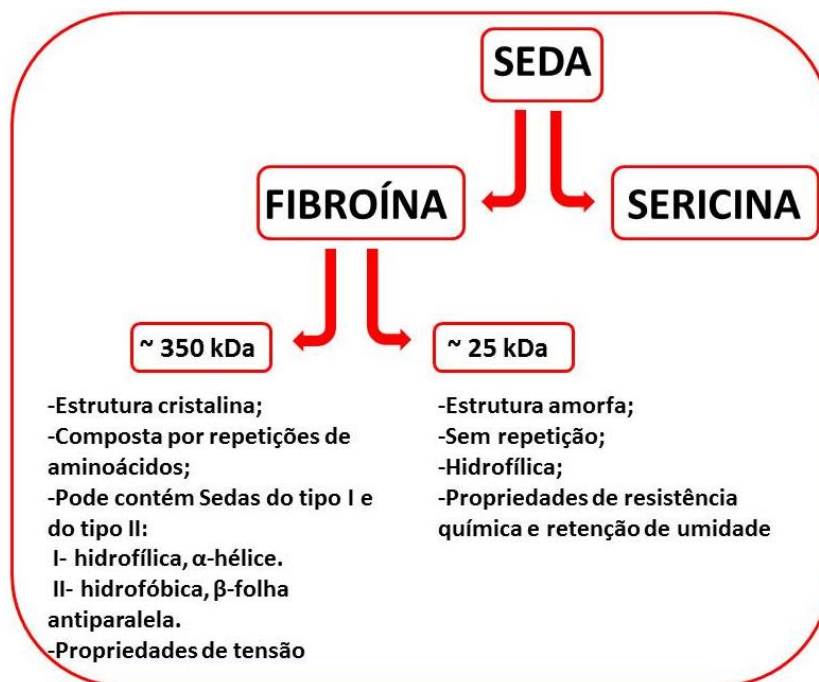
eficientes de transferência de energia. Por exemplo, aminoácidos tipo triptofano (Trp) podem excitar, com eficiência diferente, íons Eu^{3+} e Tb^{3+} [16-18].

1.1. Fibroína da seda

A seda é definida como uma proteína natural [4], fiada na forma de fibras por alguns animais da classe dos Aracnídeos, como as aranhas, e outros da ordem dos Lepidópteros, como ácaros, borboletas e mariposas [19]. Dentre estes, as sedas mais conhecidas e bem caracterizadas são aquelas oriunda do bicho-da-seda (*Bombyx mori*) e das aranhas (*Nephila clavipes*) [19]. Esta proteína é produzida em glândulas específicas e se diferem em composição de acordo com a origem. A seda produzida pelas aranhas não é muito comercializada, devido principalmente à natureza predatória destes animais e da sua relativa baixa produção, quando comparado à seda produzida pelo bicho-da-seda [5]. Quando oriunda do bicho-da-seda, esta seda é produzida e utilizada na fabricação de um casulo, onde as lagartas vivem até que sofram metamorfose e se transformem em mariposas, e é constituída de fibroína (~70%), uma proteína da classe das fibrosas que confere resistência ao casulo, e de sericina (~30%) [20], uma proteína adesiva que une as fibras de fibroína e protege o casulo. Durante os últimos anos, dados indicaram problemas na biocompatibilidade da seda, mas estudos dirigidos atribuiu à sericina a causa dos desvios de biocompatibilidade e confirmou que a fibroína, extraída dos casulos e separada corretamente desta “proteína de colagem” (processo de degomagem, que pode ser realizado por meio de diferentes sistemas [21]), pudesse se tornar alvo de estudos e ser direcionada à diversas aplicações em diferentes áreas, por consequência então da sua biocompatibilidade e também de outras características que serão apresentadas mais a diante [5].

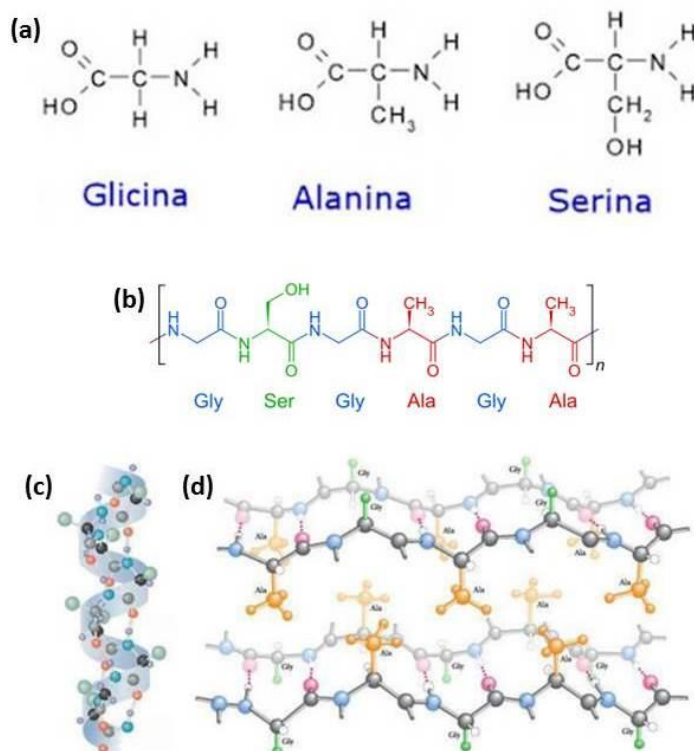
A SF encontrada nos casulos do bicho-da-seda é estruturalmente composta por duas cadeias, uma maior e outra menor, de massas molares de aproximadamente 325 kDa (*(H)-chain*) e 25 kDa (*(L)-chain*), respectivamente [5], ligadas por uma ligação dissulfídica (formada entre dois resíduos de cisteína) [22]. A região de maior massa molar é uma estrutura cristalina, e apresenta uma sequência de repetição dos aminoácidos na ordem Gly – Ala – Gly – Ala – Gly – Ser (Gly: glicina, Ala: alanina, Ser: serina) (figura 2 (b)). Esta é composta por duas regiões, chamadas de seda I e seda II, onde a seda I pode ser formada por α -hélices ou *random coil* (figura 2 (c) e (d)) e a seda II por β -folhas antiparalelas [23], como resumido no esquema a baixo (figura 1).

Figura 1- Esquema representativo das regiões que compõem a SF, bem como suas principais propriedades.



Fonte: Autora.

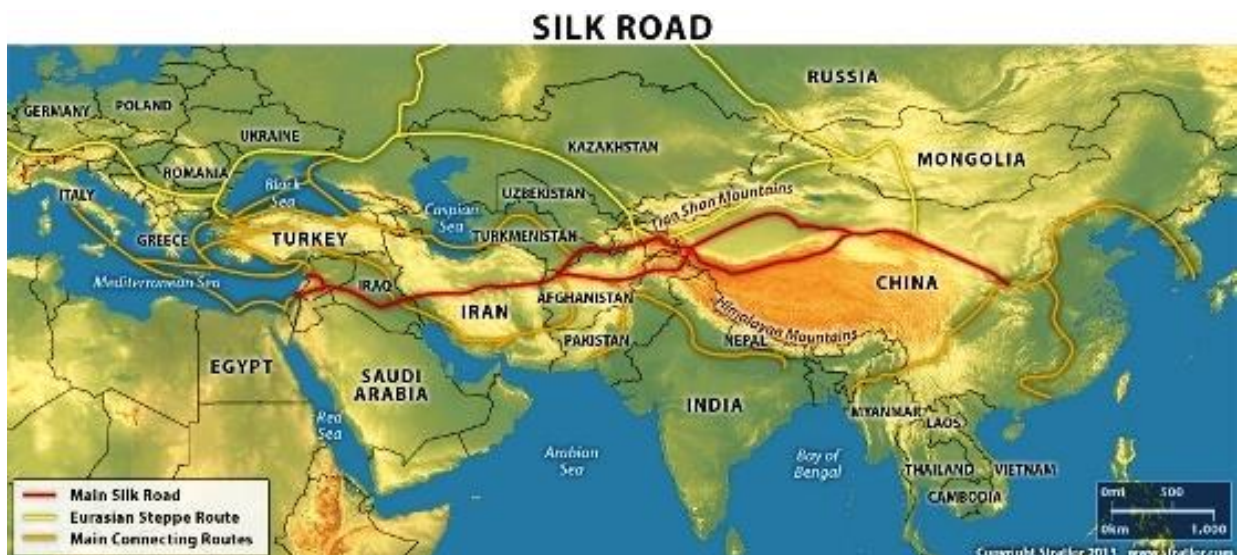
Figura 2- (a) Estrutura dos aminoácidos que constituem a estrutura primária, (b) representação da estrutura primária e das conformações (c) α -hélice e (d) β -folha da SF.



Fonte: (a) Retirada de [24], (b) retirada de [25], (c) retirada de [26] e (d) retirada de [27].

A princípio, esta seda produzida pelo *Bombyx mori* era utilizada apenas para a produção de tecidos. Diz a lenda que, em meados de 4500 a.C., na China, um casulo caiu na xícara de chá da Imperatriz Hsi Ling Shi e, quando em contato com a água quente, se desfez e revelou o tecido feito pelo lagarta. A partir de então, a família imperial chinesa passou a produzir e utilizar este tecido, que séculos mais tarde começou a ser produzido também no Japão e na Europa. No Brasil, os registros de inauguração da primeira indústria têxtil datam de 1850, no Estado de São Paulo. Este produto e sua rota comercial, a chamada “rota da seda” (figura 3), foram tão importante para a economia mundial, que a fundação de grandes civilizações é atribuída a eles [28].

Figura 3- Mapa representando a rota da seda pelo mundo.



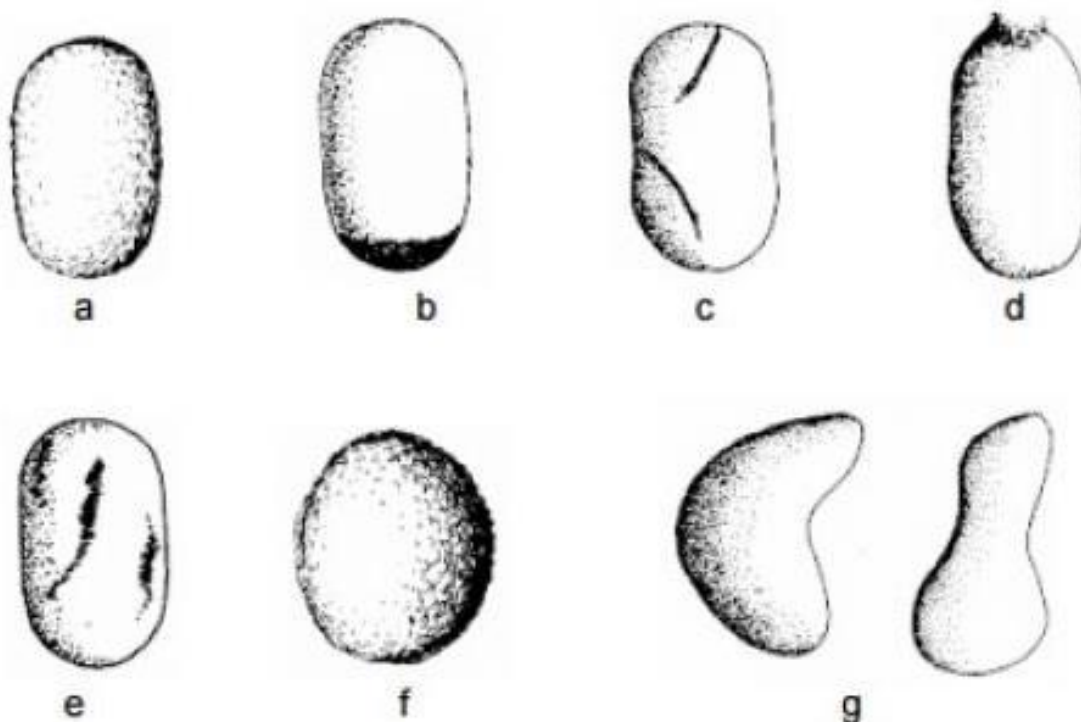
Fonte: Retirada de [29].

Atualmente, o Brasil é o terceiro maior produtor de seda do mundo, ficando atrás apenas da China e da Índia. A criação do bicho-da-seda, chamada de sericultura, se dá principalmente no Vale da Seda paranaense e é uma importante fonte de renda para trabalhadores rurais, que criam as lagartas em esteiras dentro de barracões e plantam amoreiras em suas propriedades, já que os animais apenas se alimentam das folhas destas árvores, que são ricas em proteínas [28].

Apesar de ocupar o terceiro lugar na produção de seda, o Brasil se destaca pela qualidade dos tecidos produzidos por nossas indústrias têxteis [28], que ao buscar a excelência na qualidade do fio de seda nacional, seleciona somente casulos com elevada qualidade

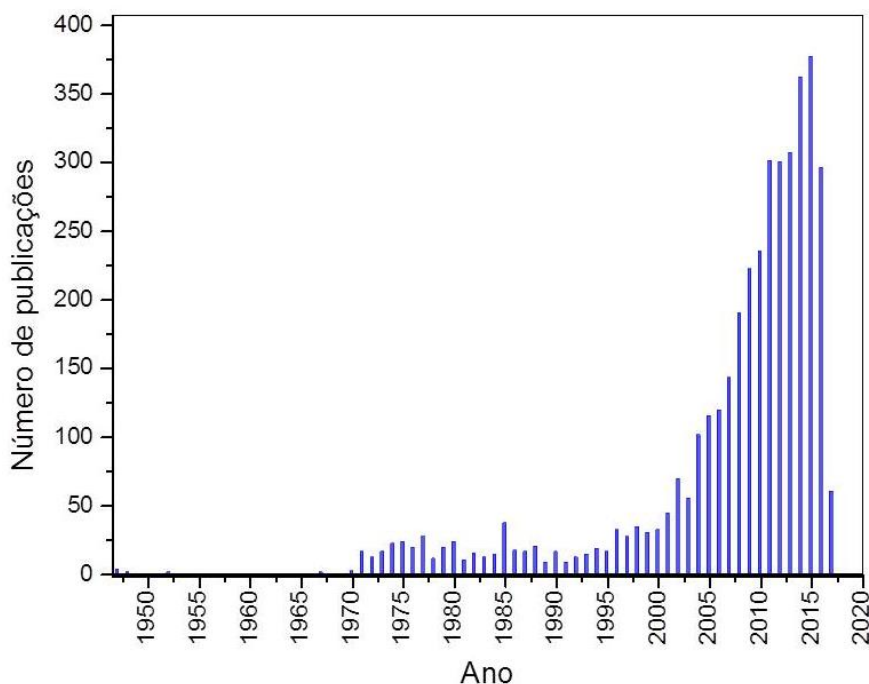
(figura 4 (a)), gerando uma quantidade considerável de descarte [30]. Este “descarte” (relativamente de baixo custo, renováveis e biodegradáveis) pode então ser recuperado e utilizado no desenvolvimento de novos materiais [20].

Figura 4- Defeitos comuns em casulos do bicho-da-seda: (a) casulo de referência, sem defeito; (b) manchado; (c) riscado; (d) furado; (e) sujo; (f) duplo e (g) irregular.



Fonte: Retirada de [28].

Em meados dos anos 40, a fibroína oriunda destes casulos passa a ter interesse científico, e em 1947 o primeiro artigo acadêmico [31] relatando seu uso fora da indústria têxtil foi publicado, e a partir de então a sua utilização neste meio só vem crescendo, como podemos observar no gráfico ilustrado na figura 5. Vale ressaltar que, em 1955 Linus Pauling esteve envolvido em estudos sobre a investigação da estrutura desta proteína, onde foi realizada uma descrição cristalográfica da SF, por meio de imagens de raio X; além da determinação de propriedades físicas e orientações das ligações de hidrogênio, composição química e sequenciamento dos resíduos de aminoácidos [32].

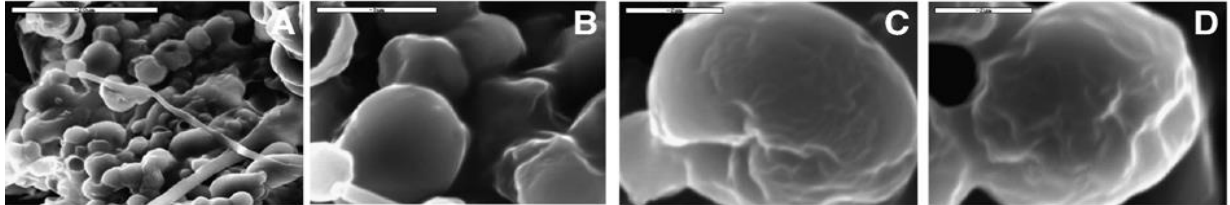
Figura 5- Gráfico mostrando o aumento no número de publicações ao longo dos anos.

Fonte: Scopus.

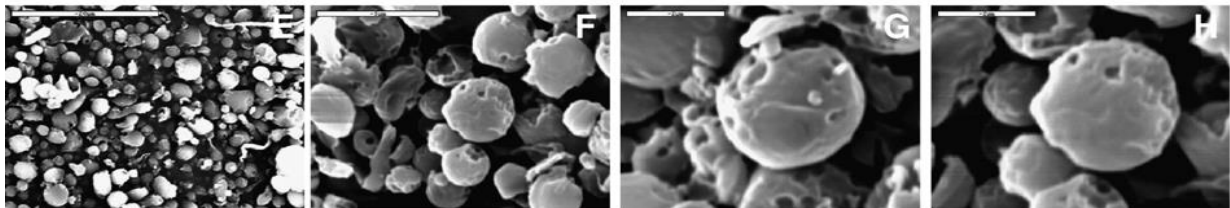
A SF é uma das fibras naturais mais fortes e resistentes conhecidas. As aplicações na área da saúde para este polímero, como por exemplo, na indução de crescimento de tecidos ósseos [33] e em encapsulamento de drogas e *drug delivery* [6], já é conhecido de longa data, e atualmente, no campo da bioengenharia, esta proteína vem sendo moldada como filmes, matrizes porosas, fibras, géis e esferas [34], e de acordo com o tratamento ao qual são submetidas podem apresentar diferentes morfologias e aumentar ainda mais a gama de aplicação deste composto. No exemplo mostrado na figura 6, microesferas foram preparadas na presença de lipídeos (*DOPC: 1,2-Dioleoyl-sn-glicerol-3-phosphocholine* - usados como *templates* para conferir forma a elas) que posteriormente foram retirados com Metanol (MeOH) ou Cloreto de Sódio (NaCl), induzindo as esferas a se organizarem na forma cristalina (β -folha) para promover o melhor aprisionamento da droga. Além disto, fez-se uso de etapas de congelamento-descongelamento a fim de se obter esferas pequenas com distribuição de tamanho homogêneo. A razão SF/lipídeo e o tempo de processamento foram validados para aperfeiçoar a produção das microesferas [34].

Figura 6- Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) mostrando as diferenças morfológicas das microesferas de *DOPC*-seda submetidas a diferentes tratamentos, como (A-D) liofilização e após tratamento em (E-H) MeOH e (I-L) NaCl.

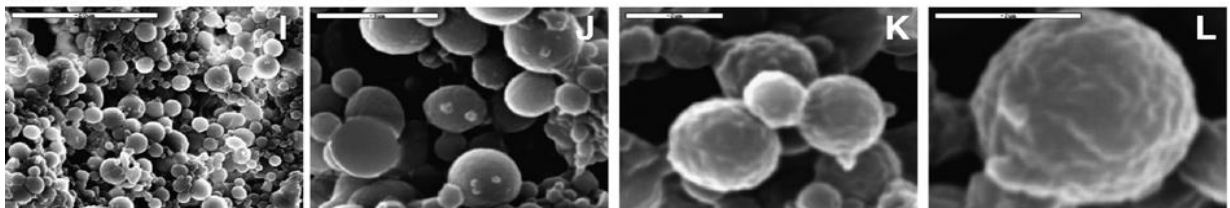
Freeze-thawed and lyophilized DOPC-silk



MeOH-based silk microspheres



NaCl-based silk microspheres



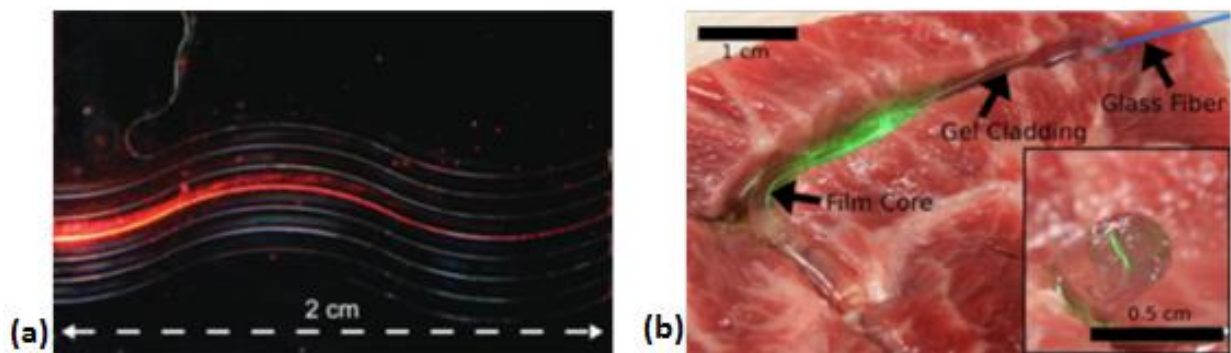
Fonte: WANG, 2007.

Além disso, a SF é um material com grande potencial para dispositivos fotônicos, pois apresenta elevada transparência em regiões espectrais de interesse, biocompatibilidade e a facilidade com que pode ser modificada quimicamente. Especialmente na área da saúde, a SF tem desenvolvido um papel central na integração de funções óticas e biológicas em dispositivos únicos que foram obtidos em meio aquoso. Os grupos de pesquisas coordenados pelos Professores Omenetto e Kaplan já têm apresentado uma grande variedade de componentes óticos, como microlentes [7], guias de ondas (figura 7 [35]) e redes de difração [36].

Um guia de onda, por exemplo, pode ser definido como um material dielétrico que possui uma espessura (l) e um índice de refração (n_1) capazes de suportarem a propagação de ondas. Este índice de refração necessariamente deve ser diferente daquele do material (n_2) onde o guia está suportado [37]. Em um recente trabalho, publicado em 2015, Omenetto obteve guias de ondas biocompatíveis a partir de fibra de SF com índice de refração (n_1) igual

a 1,54 encapsulados com SF hidrogel com $n_2 = 1,34$ [38], e demonstrou que é possível guiar luz em tecidos biológicos (figura 7 (b)) com um sistema robusto, diferente de outros biopolímeros, assim permitindo grandes avanços no uso de luz em terapias ou aquisição de imagens.

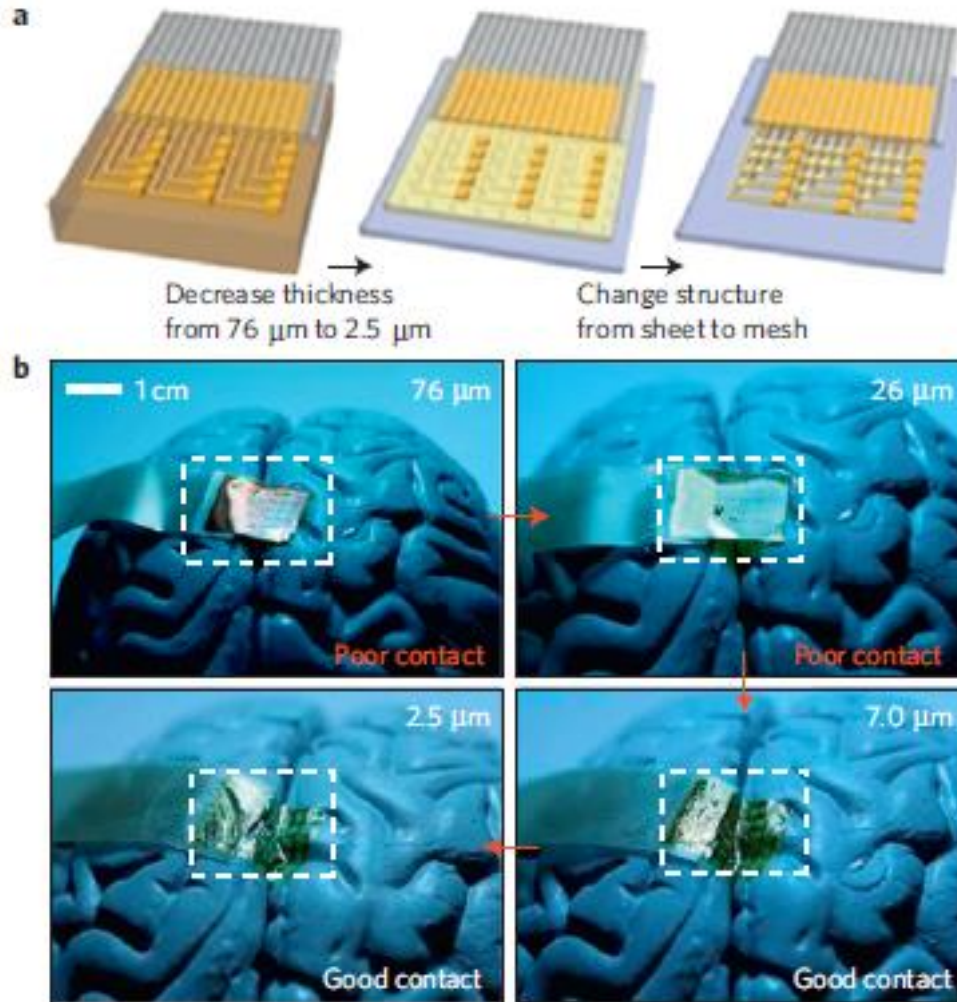
Figura 7- (a) Imagens de fibras de SF atuando como guias de onda para luz de laser He:Ne e (b) guias de onda de SF conduzindo luz em tecido biológico.



Fonte: (a) IMSOMBUT, 2010; (b) LAWRENCE, 2008.

Em adição, a possibilidade de degradação controlada, ou seja capacidade de se “dissolver” em um tempo programado (que dependente de fatores moldáveis, como a temperatura, espessura do filme formado e tratamentos aos qual a SF foi submetida) e a não agressão a tecidos biológicos, fazem com que a SF, na forma de filme, seja usada como suportes para dispositivos implantáveis até mesmo em superfícies curvilíneas e sensíveis, como o tecido cerebral (figura 8) [8].

Figura 8- (a) Representação das espessuras e estruturas que melhoram o contato e (b) série de imagens que ilustram a forma como a espessura do conjunto (eletrodos em uma rede de malha suportados pelo filme de SF) contribui para o contato em um modelo de cérebro.



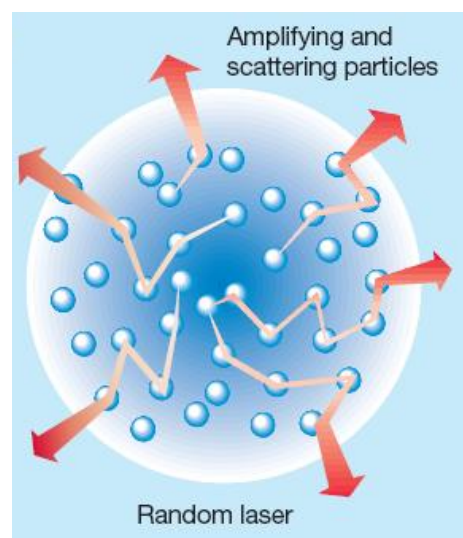
Fonte: KIM, 2010.

A SF possui considerável transparência à luz no espectro visível ou infravermelho próximo, então pode também ser utilizada em sistemas para emissão de luz, por exemplo, um laser. Entretanto, para produzir um sistema com emissão laser seria necessária a dopagem com íons ou moléculas de interesse. Um laser orgânico a partir de corante azul dopando filmes de SF já foi obtido através do mecanismo de *distributed feedback grating (DFB)* [10], e o limiar de emissão observado ocorreu em menor energia de bombeio quando comparado a outros lasers com o mesmo corante e baseado neste mesmo mecanismo. Também através deste mecanismo (*DFB*), já foi demonstrado a operação de um laser baseado em SF dopada com Rodamina 6G pelo grupo do Professor Ribeiro, onde, diferentemente do exemplo

anterior, ao sistema sub-micro estruturado (com distâncias ordenadas entre as estruturas de 750 nm e altura das estruturas de 75 nm) foram adicionadas nanopartículas de sílica e de prata para se observar a intensificação da emissão laser e reduzir a largura da linha [39].

Frente a estas aplicações, outra forma de geração de emissão laser seria a partir de um meio desordenado. Neste caso, da emissão laser em material desordenado (que é comumente chamada de emissão laser randômica, pois os espalhamentos são completamente aleatórios), a cavidade seria substituída por múltiplos espalhamentos (figura 9). Entretanto, espalhamentos não produzem um mecanismo de alinhamento, mas podem permitir que a luz permaneça dentro do material tempo suficiente para que a amplificação se torne eficiente [40]. A emissão característica de um laser randômico é similar àquela do laser normal: o espectro de emissão pode ser extremamente fino, de tal forma que a emissão é bem definida e o *output* pode ser pulsado. Entretanto, diferente de um laser regular, um laser randômico emite para todas as direções. Um exemplo clássico é o sistema randômico a partir de Óxido de Zinco (ZnO) desenvolvido por Cao et al. [41]. A nanopartículas de ZnO proporcionam tanto amplificação como espalhamento randômico necessário para a emissão laser, como consequência da geometrias dos *clusters*, a emissão pode ser sintonizável, pois cada *cluster* (diferentes formas e tamanhos) poderá operar num comprimento de onda específico.

Figura 9- Ilustração dos múltiplos espalhamentos de luz em partículas desordenados mantendo a luz aprisionada tempo suficiente, até que a amplificação se torne ampla o suficiente para produzir a luz laser.



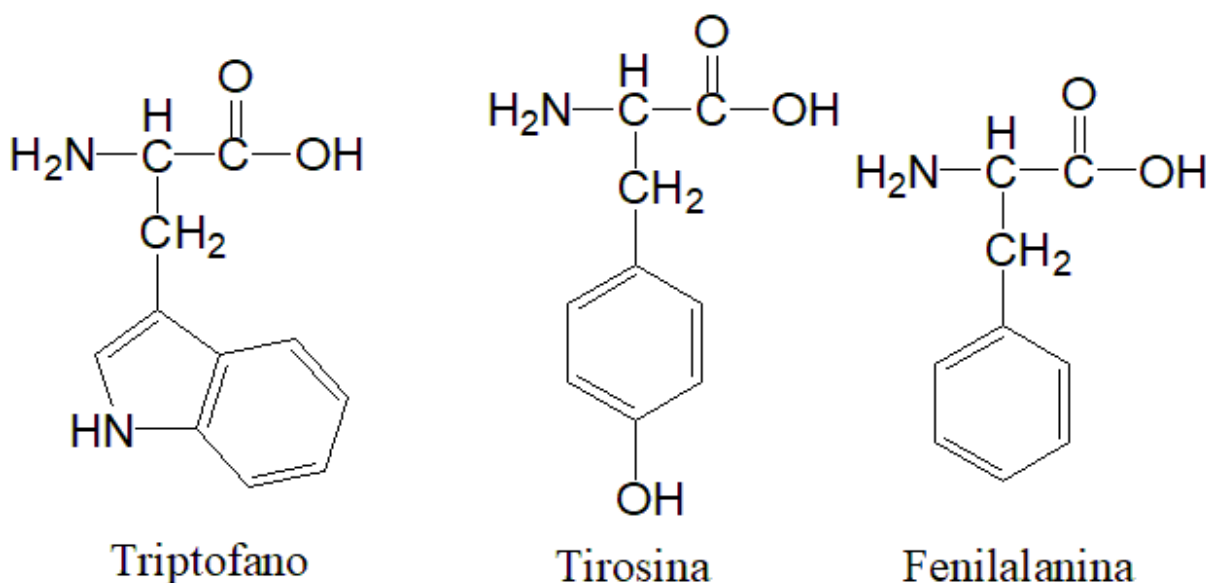
Fonte: WIERSMA, 2000.

Existem duas classes diferentes de lasers randômicos: (I) um tipo no qual as próprias partículas responsáveis pelo espalhamento também constituem o meio ativo [42] e (II) um outro no qual as partículas espalhadoras são incorporadas ao meio ativo [43].

Assim, nanopartículas dopadas com íons TR (responsável pela emissão e espalhamento) poderiam ser incorporadas em matriz de SF, criando um sistema difuso ideal para aprisionar a luz por múltiplos espalhamentos e permitir a amplificação de sinal e consequentemente, a emissão laser.

Além disso, a SF apresenta 5263 resíduos de aminoácidos (em maiores proporções: 45,9% Gly; 30,3% Ala; 12,1% Ser; 5,3% Tyr; 1,8% Val e 0,25% Trp) que podem agir como ambiente de coordenação para íons TR, e as propriedades resultantes dessa interação podem permitir o desenvolvimento de novos sistemas fotônicos biocompatíveis. Por exemplo, aminoácidos aromáticos como triptofano (Trp), tirosina (Tyr) e fenilalanina (Phe) (figura 10) são comumente utilizados como sondas fluorescentes para interpretação da estrutura de proteínas (conformação, dinâmica e interação molecular). No caso da SF, destaca-se o Trp que possui fluorescência sensível ao ambiente vizinho [15]; desta forma, este resíduo de aminoácido com banda larga de emissão entre 300 e 400 nm poderá sensibilizar íons TR por transferência de energia, populando mais eficientemente os níveis emissores e aumentando a intensidade de emissão destes íons, semelhante ao já mostrado por Horrocks e colaboradores com a inserção de íons Eu^{3+} e Tb^{3+} em parvalbumina [16-18].

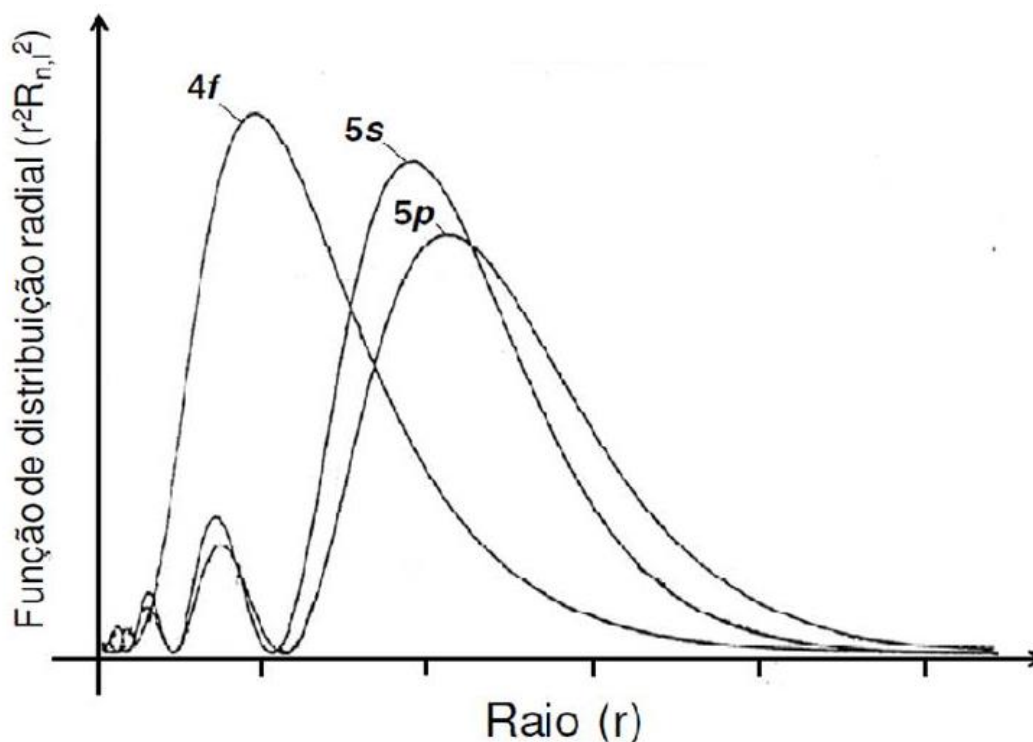
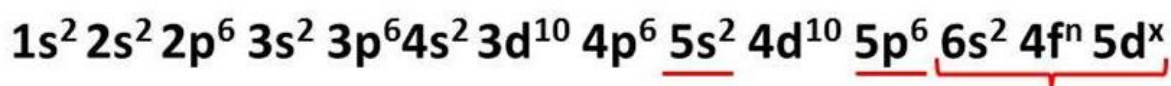
Figura 10- Estrutura dos aminoácidos triptofano, tirosina e fenilalanina.



Fonte: Autora.

As propriedades espectroscópicas das TR são resultado da configuração eletrônica característica dos seus íons, com estado de oxidação principal 3+, entretanto podendo variar de 2+ a 4+. Observando a distribuição eletrônica para os metais neutros, no estado fundamental: $[\text{Xe}] 6s^2 4f^n 5d^x$, com n variando entre 0 e 14 e x sendo igual a 1 para La, Ce, Gd e Lu e igual a 0 para os demais, fica claro o porque do estado trivalente ser o mais comum nos casos em que $x=1$; já nos demais casos, a perda de 3 elétrons resulta em uma configuração do tipo: $[\text{Xe}] 4f^{n-1}$ [44]. A perda de 1 elétron pertencente ao orbital 4f, ao invés de elétrons pertencentes aos orbitais mais externos 5s ou 5p (figura 12), é explicada pelo fato de que os orbitais s e p, apesar de serem mais externos, possuem maior penetrabilidade, em relação ao orbital f, como podemos observar por meio das funções de distribuições radial para estes orbitais (figura 12) [45].

Figura 12- Representação da distribuição eletrônica das TR, na forma neutra e no estado fundamental; e das funções de distribuição radial para os orbitais 4f, 5s e 5p.



Fonte: Adaptada de [45].

Também por meio das distribuições eletrônicas e das funções de distribuição radial podemos entender o fenômeno chamado de “contratação lantanídica”, que nada mais é do que uma diminuição progressiva observada nos raios atômicos e iônicos dos Ln à medida que o número atômico aumenta. Este aumento é acompanhado pelo preenchimento dos orbitais 4f, um orbital difuso que tem menor efeito de blindagem à carga nuclear. Desta maneira, sobre os elétrons mais externos aos elétrons 4f a carga nuclear efetiva é elevada, resultando numa maior atração sobre estes elétrons (5s e 5p) e conseqüente diminuição dos raios [44].

Assim, os cátions possuem uma alta razão carga/raio, então as TR são classificadas como ácidos duros, segundo Person [46], e possuem preferência por ligantes duros (bases duras) na formação de compostos.

Ainda pelo fato de os orbitais 4f nos íons Ln serem interno, estes são blindados de interações com os ligantes pelos orbitais mais externos 5s e 5p (e pelos orbitais 6s e 5d na forma atômica), conseqüentemente, as transições intraconfiguracionais 4fⁿ originaram bandas finas no espectro eletrônico, comparável a transições atômicas [47], além de amplo deslocamento Stokes, longo tempo de vida para o estado excitado e estabilidade química e fotoquímica [48].

Os níveis de energia destes íons, quando livres, são descritos por um Hamiltoniano que leva em conta a interação resultante do campo central (H_0) a repulsão intereletrônica (H_{RE}) e a interação *spin*-órbita (H_{SO}) dando origem aos níveis rotulados na notação de momento angular como $^{2S+1}L_J$ onde S e L são os momentos angulares totais de *spin* e orbital e J o momento angular total que leva em conta o acoplamento de S e L [49]:

$$\mathbf{H}_{\text{íon livre}} = \mathbf{H}_0 + \mathbf{H}_{RE} + \mathbf{H}_{SO} \quad \text{eq. 1.2.1}$$

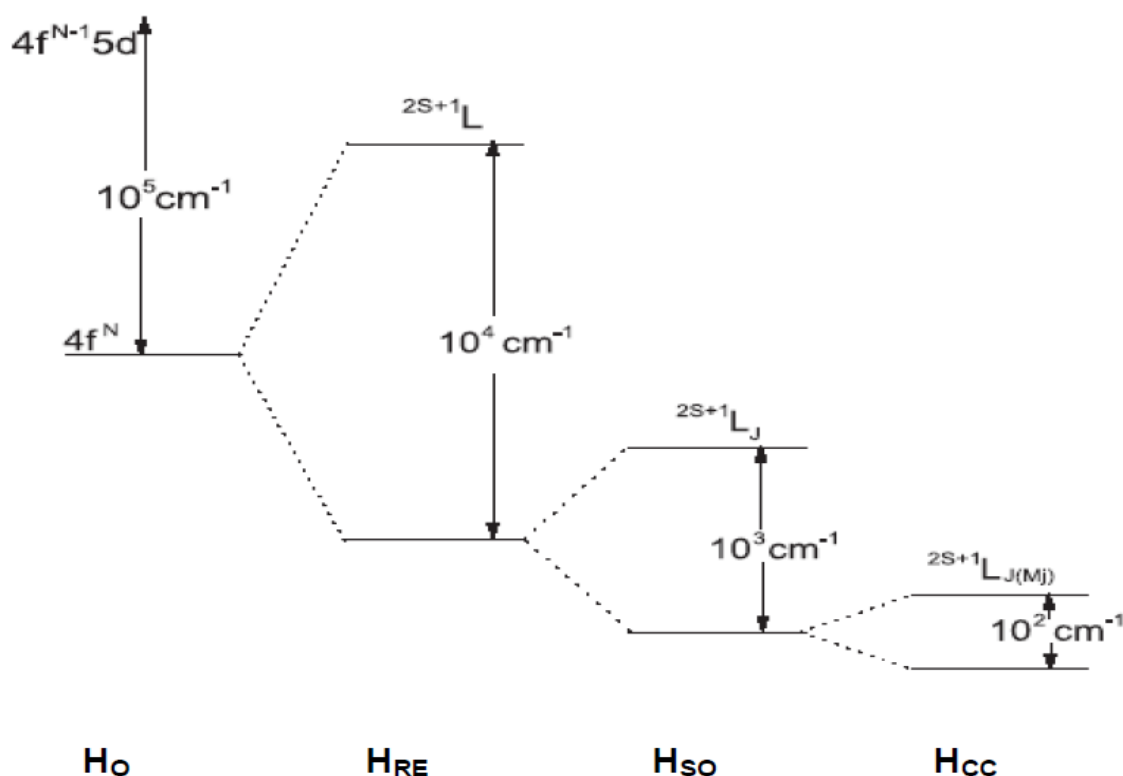
A perturbação causada pelo ambiente químico quebra a degenerescência em $2J+1$ destes níveis dando origem aos níveis *Stark* cujo número e rótulo depende da simetria do campo ligante. Essa perturbação provocada pelo ambiente químico ao redor do íon TR é descrita pelo Hamiltoniano de campo cristalino (H_{CC}). O Hamiltoniano total será dado por [49]:

$$\mathbf{H} = \mathbf{H}_{\text{íon livre}} + \mathbf{H}_{CC} \quad \text{eq. 1.2.2}$$

A interação do campo cristalino é também de fundamental importância para o caso da

intensidade das transições $4f - 4f$. Estas transições ocorrem em sua grande maioria pelo mecanismo de dipolo elétrico e são, portanto, proibidas pela regra de Laporte. Entretanto, uma vez que o sítio ocupado pelo íon TR não apresente centro de inversão, a regra de Laporte é relaxada devido aos termos com paridade ímpar no hamiltoniano de campo cristalino que misturam estados de configurações diferentes. A figura 13 mostra uma representação da ordem de grandeza de cada um dos componentes do Hamiltoniano total [49].

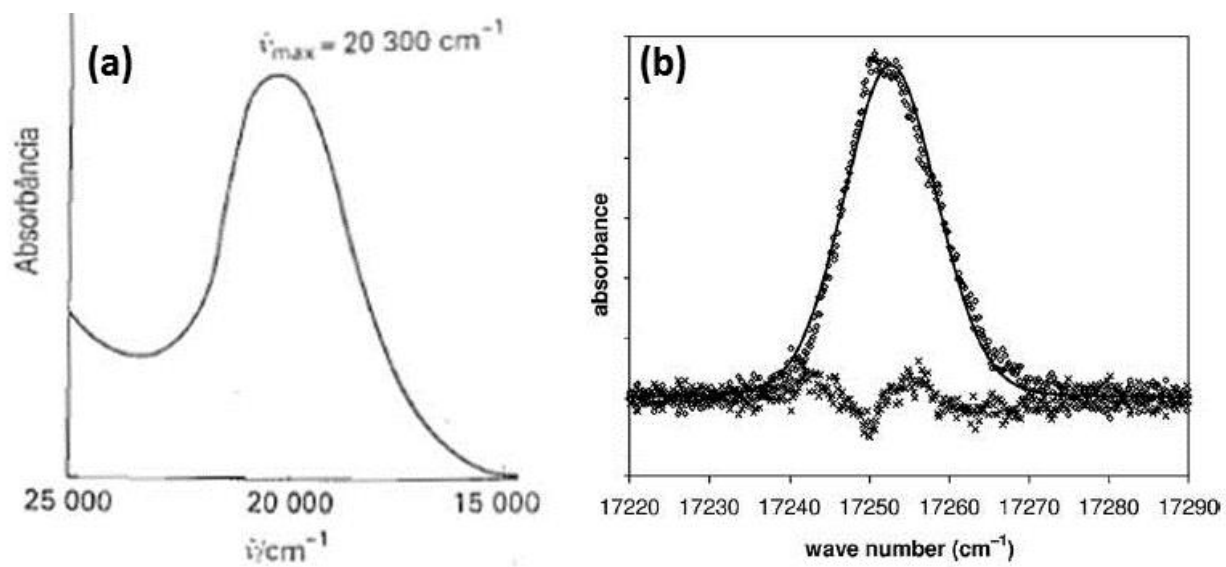
Figura 13- Representação esquemática e ordem da magnitude dos efeitos de interações intra-atômica e de campo cristalino agindo sobre uma configuração $4f^n$.



Fonte: MALTA, 2003.

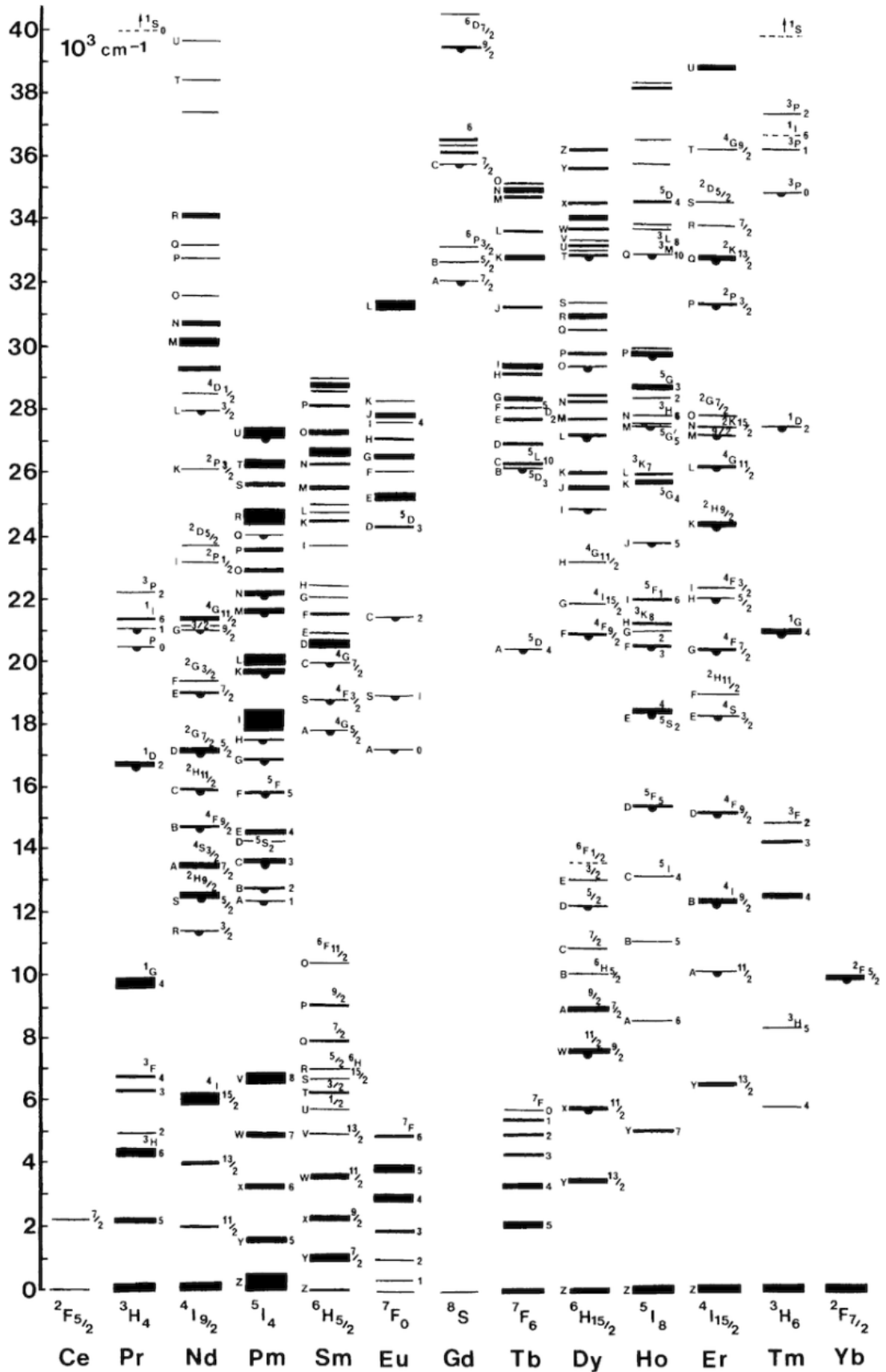
Diferentemente do que ocorre com os metais do bloco d, onde a influência dos ligantes é bem pronunciada levando ao surgimento de bandas largas (figura 14) [50], a posição dos níveis eletrônicos dos metais do bloco f é pouco alterada pelo campo ligante (H_{cc} , ordem de 10^2 cm^{-1}), e então, pode ser representada de uma maneira que se aplica a qualquer ambiente químico por meio do diagrama parcial dos níveis de energia (Dieke ou Carnall), mostrado na figura 15.

Figura 14- Espectros de absorção dos complexos (a) $[\text{Ti}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ e (b) $[\text{Eu}(\text{H}_2\text{O})(\text{L})]$.



Fonte: (a) Retirada de [50] e (b) adaptada de [51].

Figura 15- Diagrama parcial dos níveis de energia dos Ln³⁺ (Dieke ou Carnall).

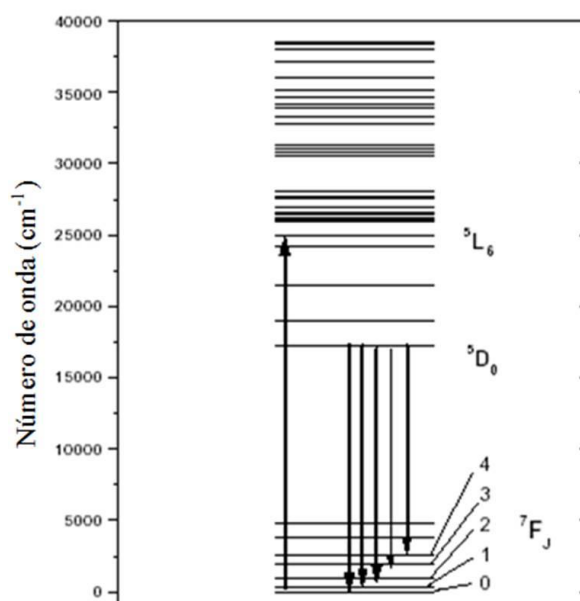


Fonte: VAN DER ENDE, 2009.

1.2.1. O íon Eu^{3+} como sonda estrutural

Para o íon Eu^{3+} , o diagrama de níveis de energia representados na figura 16 é uma consequência da interação de campo central (H_0), da repulsão intereletrônica (H_{RE}), da interação *spin-orbita* (H_{SO}) e hamiltoniano de campo cristalino (H_{CC}). As transições comumente observadas nos espectros de emissão estão representadas por setas apontadas para baixo.

Figura 16- Diagrama de níveis de energia da configuração $4f^6$ do íon európio.



Fonte: Retirada de [53].

Estas transições são facilmente exemplificadas no conjunto de linhas enumeradas de 1 a 5, na figura 17, relativo aos decaimentos do nível excitado 5D_0 aos níveis 7F_0 , 7F_1 , 7F_2 , 7F_3 , 7F_4 , respectivamente. Neste íon, a banda relativa à transição $^5D_0 \rightarrow ^7F_1$ ocorre por mecanismo de dipolo magnético e, portanto, sua intensidade não depende do campo cristalino. As demais bandas ocorrem por mecanismos de dipolo elétrico e dependem, portanto, do campo cristalino. Este fato (exclusivo ao Eu^{3+}) permite obter parâmetros de emissão para os sistemas estudados, como por exemplo, coeficiente de emissão espontânea e tempo de vida radiativo, a partir do espectro de emissão, tomando a transição $^5D_0 \rightarrow ^7F_1$ como referência [51]; além de possibilitar a determinação do sítio de simetria dos íons, tornando o íon Eu^{3+} uma sonda estrutural.

Dentre as transições possíveis para o íon Eu^{3+} ($^5D_0 \rightarrow ^7F_0, ^7F_1, ^7F_2, ^7F_3, ^7F_4, ^7F_5, ^7F_6$),

atenção especial é destinada às transições descritas na sequência [51]:

$^5D_0 \rightarrow ^7F_0$: É uma transição estritamente proibida pelas regras de Laporte, pouco intensa, que ocorre apenas para alguns grupos de ponto de baixa simetria devido à sobreposição orbital e consequente ‘mistura’ de J. Como por exemplo: C_{nv} , C_n , C_s . Contudo, para beta-dicetonas, como no exemplo da figura 18 (DPA em simetria C_3), apresenta intensidade não usual.

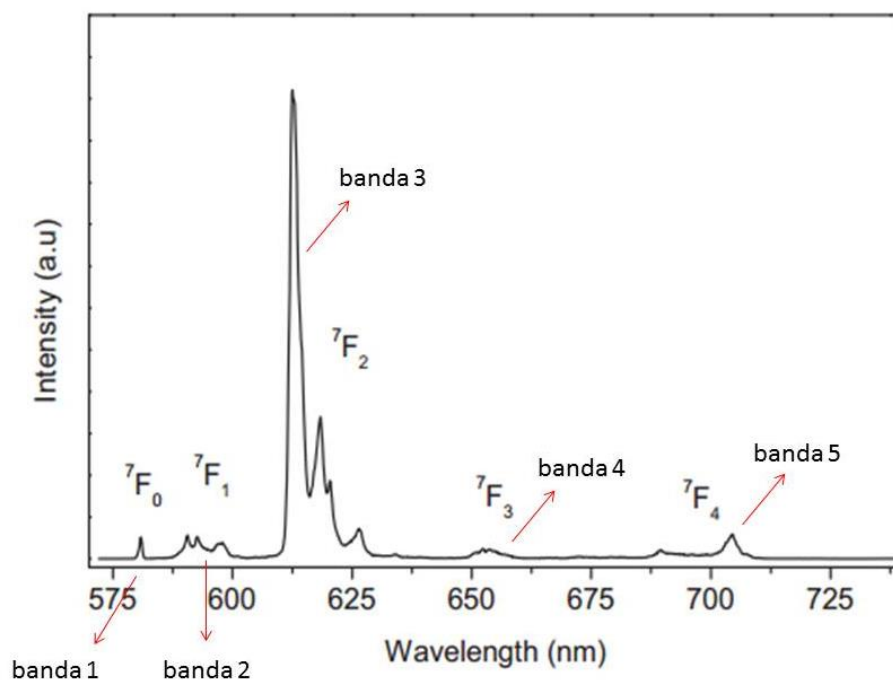
$^5D_0 \rightarrow ^7F_1$: Transição puramente de dipolo magnético que pode ser desdobrada pelo campo cristalino, porém, não sofre mudança de intensidade e é utilizada como padrão. Na figura 18 as bandas relativas a esta transição têm áreas idênticas para facilitar a comparação.

$^5D_0 \rightarrow ^7F_2$: Transição chamada de “hipersensível”. Não ocorre em ambientes centrossimétricos e sua intensidade esta diretamente relacionada à simetria local (menor simetria, maior intensidade).

$^5D_0 \rightarrow ^7F_3$: Transição em geral muito fraca, pois é proibida pelas regras de Judd-Ofelt. Quando apresenta um sinal forte indica que houve perturbação no campo cristalino. Não é levada em consideração quando o íon Eu^{3+} está sendo utilizado como uma sonda estrutural.

$^5D_0 \rightarrow ^7F_4$: A intensidade desta transição é dependente do ambiente de coordenação, entretanto não é hipersensível.

Figura 17- Espectro luminescente do $[Eu(TTA)_3(phen)]$ a $T= 77K$, $\lambda_{ex}= 396$ nm.



Fonte: Adaptada de [51].

Desta forma, a banda 2 (relativa a transição $^5D_0 \rightarrow ^7F_1$) torna-se a referência à

intensidade de emissão nesse estudo. A intensidade de cada banda (dada pela área S sob a banda) num espectro de emissão é descrita como:

$$I_{0-J} = h\nu A_{0-J} \approx S_{0-J} \quad \text{eq. 1.2.1.1}$$

onde, I é a intensidade da banda, A_{0-J} é o coeficiente de emissão espontânea e S é a área da banda.

Assim, os coeficientes de emissão espontânea podem ser obtidos da relação entre as áreas das bandas num espectro de emissão, tomando a transição ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_1$ como referência. Por exemplo, para A_{02} teremos,

$$\frac{S_{02}}{S_{01}} = \frac{h\nu_{02}A_{02}}{h\nu_{01}A_{01}} \quad A_{02} = \frac{S_{02} h\nu_{01} A_{01}}{S_{01} h\nu_{02}} \quad \text{eq. 1.2.1.2}$$

onde A_{02} é o coeficiente de emissão espontânea para a banda 3, S são as áreas, ν é o baricentro da banda desejada em (cm^{-1}) e $A_{01} \approx 15.n^3$ ($n =$ índice de refração do ambiente em que está inserido o íon Eu^{3+}).

Como resultado, o coeficiente de emissão espontânea total (A_T) para o nível 5D_0 é obtido pela soma de todos os coeficientes previamente determinados e o tempo de vida radiativo será o inverso de A_T :

$$A_T = \sum A_{0J} = A_{00} + A_{01} + A_{02} + A_{03} + A_{04} \quad \text{eq. 1.2.1.3}$$

$$\tau_{RAD} = \frac{1}{A_{total}} \quad \text{eq. 1.2.1.4}$$

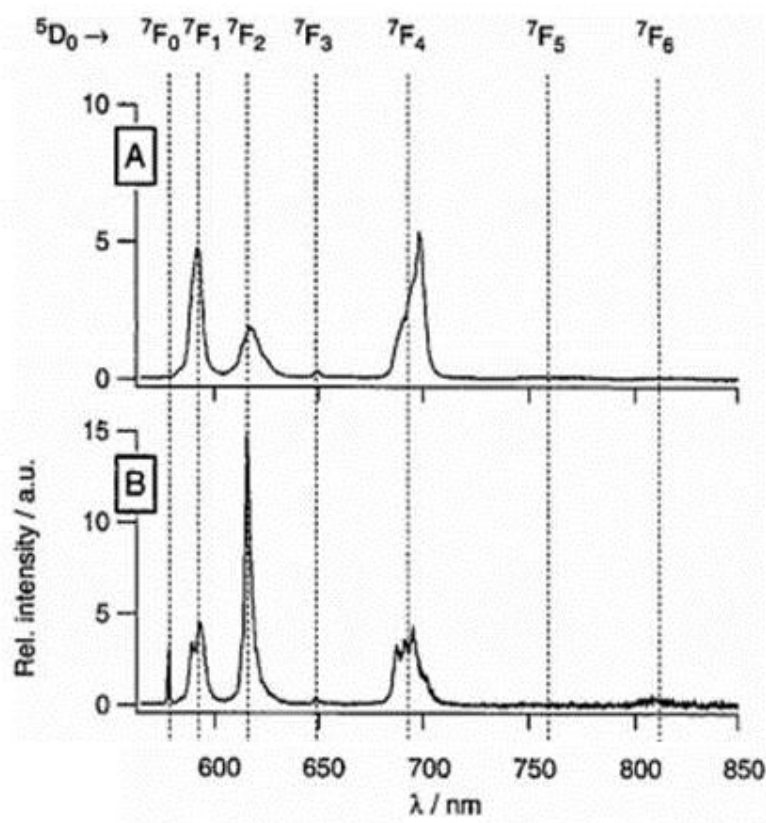
Finalmente, de posse desses dados e também dos valores de tempo de vida experimental para o sistema, é possível determinar a eficiência quântica da emissão relativa ao nível 5D_0 .

$$\eta = \frac{\tau_{exp}}{\tau_{rad}} \quad \text{eq. 1.2.1.5}$$

Cabe ressaltar que é possível também obter os parâmetros de intensidade de Judd-Ofelt (Ω_2 , ou Ω_4 ou Ω_6) [54], os quais avaliam nos estudos sobre o ambiente de coordenação do íon, sendo Ω_2 relacionado à simetria local do Eu^{3+} , e Ω_4 e Ω_6 à fatores de covalência [55,56].

O exemplo exposto por Binnemans [51], figura 18, ilustra as diferenças observadas nos espectros de luminescência do íon Eu^{3+} quando este está inserido em diferentes ambientes químicos: A) Eu^{3+} em água e B) $[\text{Eu}(\text{DPA})]^+$ em água. Através do espectro A (Eu^{3+} em água, grupo de ponto D_{3h}), pode-se observar que a transição $^5D_0 \rightarrow ^7F_0$ é inexistente, o que informa que o ambiente é de alta simetria, em concordância a baixa intensidade da transição $^5D_0 \rightarrow ^7F_2$. No espectro B ($[\text{Eu}(\text{DPA})]^+$ em água, grupo de ponto C_4), a transição $^5D_0 \rightarrow ^7F_0$ está presente e apresenta apenas uma banda; em adição, a transição $^5D_0 \rightarrow ^7F_2$ é de alta intensidade, informando que o íon Eu^{3+} está em ambiente de baixa simetria [51].

Figura 18- Espectros de luminescência do Eu^{3+} em diferentes ambientes: A) Eu^{3+} em água e B) $[\text{Eu}(\text{DPA})]^+$ em água.



Fonte: Adaptada de [51].

Mesmo sendo pequena a interação do campo cristalino sobre os orbitais 4f, essa

interação é responsável por desdobrar os níveis 7F_J , tornando os espectros de emissão ricos em informações sobre a simetria local.

Assim, a associação dos dados experimentais (espectros) com os dados teóricos sobre o número de níveis *Stark* possíveis (tabela 1) pode ser uma ferramenta para determinar a simetria do ambiente de coordenação no qual está inserido o íon TR.

Tabela 1- Número de subníveis de um termo $2S+1 L_J$ para diferentes classes de simetria.

Symmetry class	Point groups	$J-0$	$J-1$	$J-2$	$J-3$	$J-4$
Icosahedral	I_h, I	1	1	1	2	2
Cubic	O_h, O, T_d, T_h, T	1	1	2	3	4
Octagonal	D_8, C_{8v}, S_8, D_{4d}	1	2	3	4	6
Hexagonal	$D_{6h}, D_6, C_{6v}, C_{6h}, C_6, D_{3h}, C_{3h}$	1	2	3	5	6
Pentagonal	$D_{5h}, D_5, C_{5v}, C_{5h}, C_5$	1	2	3	4	5
Tetragonal	$D_{4h}, D_4, C_{4v}, C_{4h}, C_4, S_4, D_{2d}$	1	2	4	5	7
Trigonal	$D_{3d}, D_3, C_{3v}, C_{3i} (-S_6), C_3$	1	2	3	5	6
Orthorhombic	D_{2h}, D_2, C_{2v}	1	3	5	7	9
Monoclinic	C_{2h}, C_2, C_s	1	3	5	7	9
Triclinic	C_1, C_i	1	3	5	7	9

Fonte: Adaptada de [51].

Pela tabela 1, podemos observar que para cada determinado conjunto de grupos de ponto qual será o número máximo possível de desdobramentos para cada valor de J .

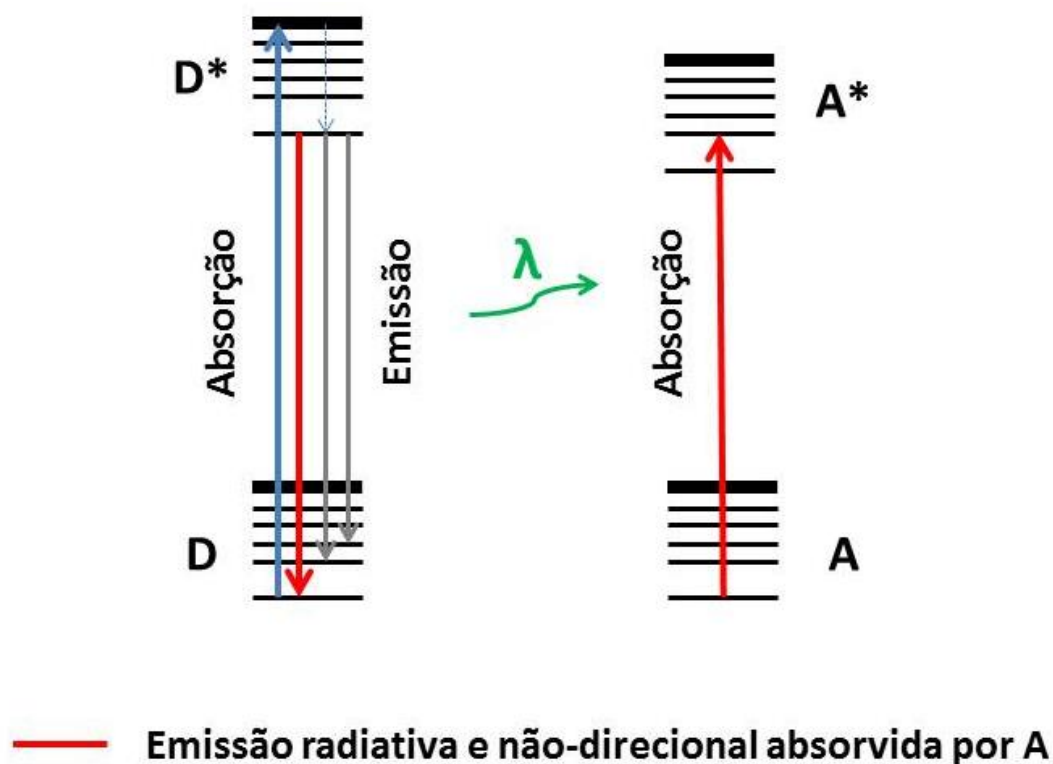
1.3. Transferência de energia

Transferência de energia é o processo que descreve a interação de uma espécie química doadora (D), que absorve energia e transfere para uma segunda espécie, a aceitadora (A), podendo ser elas iguais ou diferentes, ou ainda estar entre grupos distintos de uma mesma molécula. Como exemplo de transferência de energia tem-se a transferência íon-íon, descoberta por Auzel em 1966 [57] e descrita nos mecanismos de conversão ascendente de energia, onde um íon no estado excitado (D) transfere energia para outro íon (A), levando este a um nível excitado. Além deste processo de transferência entre íons, há também os processos de transferências ligante-metal, onde o ligante atua como doador (D) e o metal como aceitador (A), como ocorre em complexos do tipo $\text{Eu}(\text{TTA})_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ [56,58], por exemplo. Há dois processos distintos pelo qual a transferência de energia pode ocorrer: radiativos e não radiativos.

O processo de transferência de energia radiativa consiste em duas etapas, onde na

primeira, há a emissão de radiação por parte do doador (D), seguida de posterior absorção desta radiação por parte do aceitador (A), como mostra a figura 19 [59].

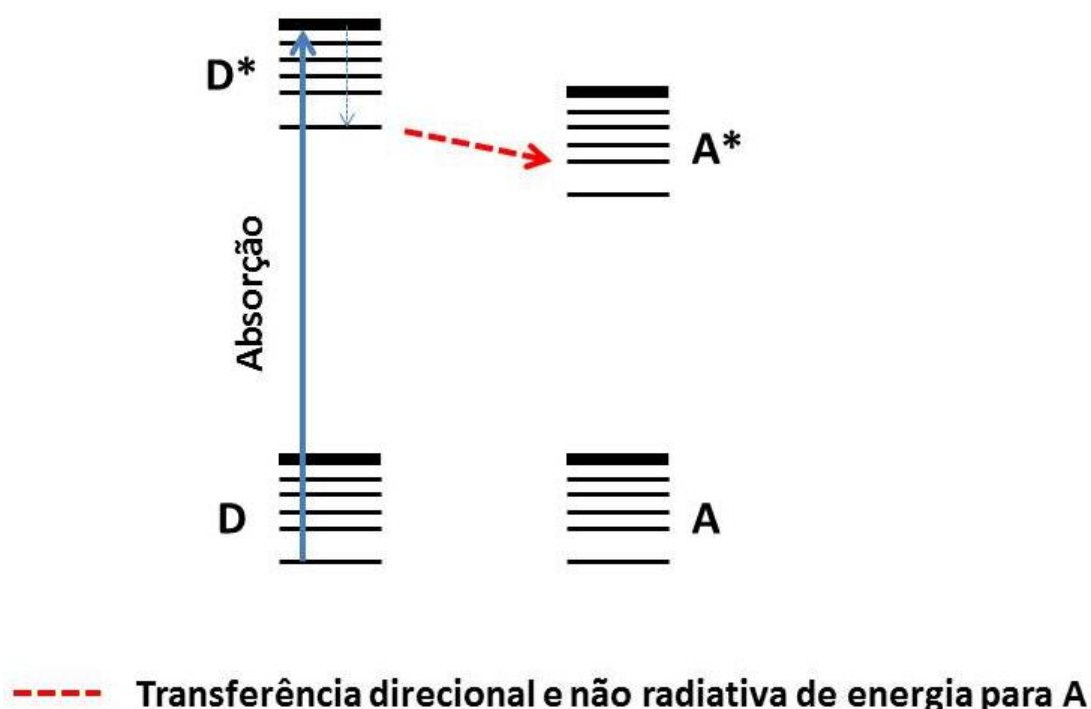
Figura 19- Representação do processo de transferência de energia radiativa entre um doador (D) e um aceitador (A).



Fonte: Adaptada de [59].

Já no processo não radiativo, a energia é transferida em uma única etapa, que envolve simultaneamente o decaimento do doador (D) e a excitação do aceitador (A), não havendo emissão e absorção de fótons, mas sim, transferência de energia do D para o A via interação entre as nuvens eletrônicas dessas duas espécies (figura 20). Assim, a transferência de energia é dependente da distância entre D e A, via interação dipolo-dipolo não radiativa e consequente sobreposição espectral de ambos [60,61].

Figura 20- Representação do processo de transferência de energia não radiativa, onde o doador (D) transfere energia direta para o aceitador (A).



Fonte: Adaptada de [59].

A transferência de energia não radiativa estará relacionada a diferença de energia entre os estados fundamental e excitado do doador (D e D*) e do aceitador (A e A*), que deveria ser igual, tendo em vista a necessidade da conservação de energia. Entretanto isso não ocorre e a diferença energética é absorvida por processos vibracionais no meio em que se encontram. Assim, quanto mais próximo, energeticamente, (D* - D) for em relação à (A* - A), maior será a ressonância. Além da condição de ressonância, a transferência depende da interação entre as camadas de valência do D e do A, criando um frutífero campo de estudos [60], por exemplo, relação dos ligantes próximos aos íons Ln^{3+} , o efeito de blindagem sobre os orbitais 4f e a distância entre D e A.

A primeira observação de transferência de energia foi feita por Cario e Franck (1922) em seus experimentos clássicos sobre fluorescência sensibilizada de átomos em fase vapor, onde uma mistura de vapores (mercúrio e tálio), quando irradiados em comprimento de onda em ressonância aos níveis energéticos do mercúrio, apresentou os espectros de emissão de ambos os átomos. Como os átomos de tálio não absorvem a luz de excitação, o tálio deve ser

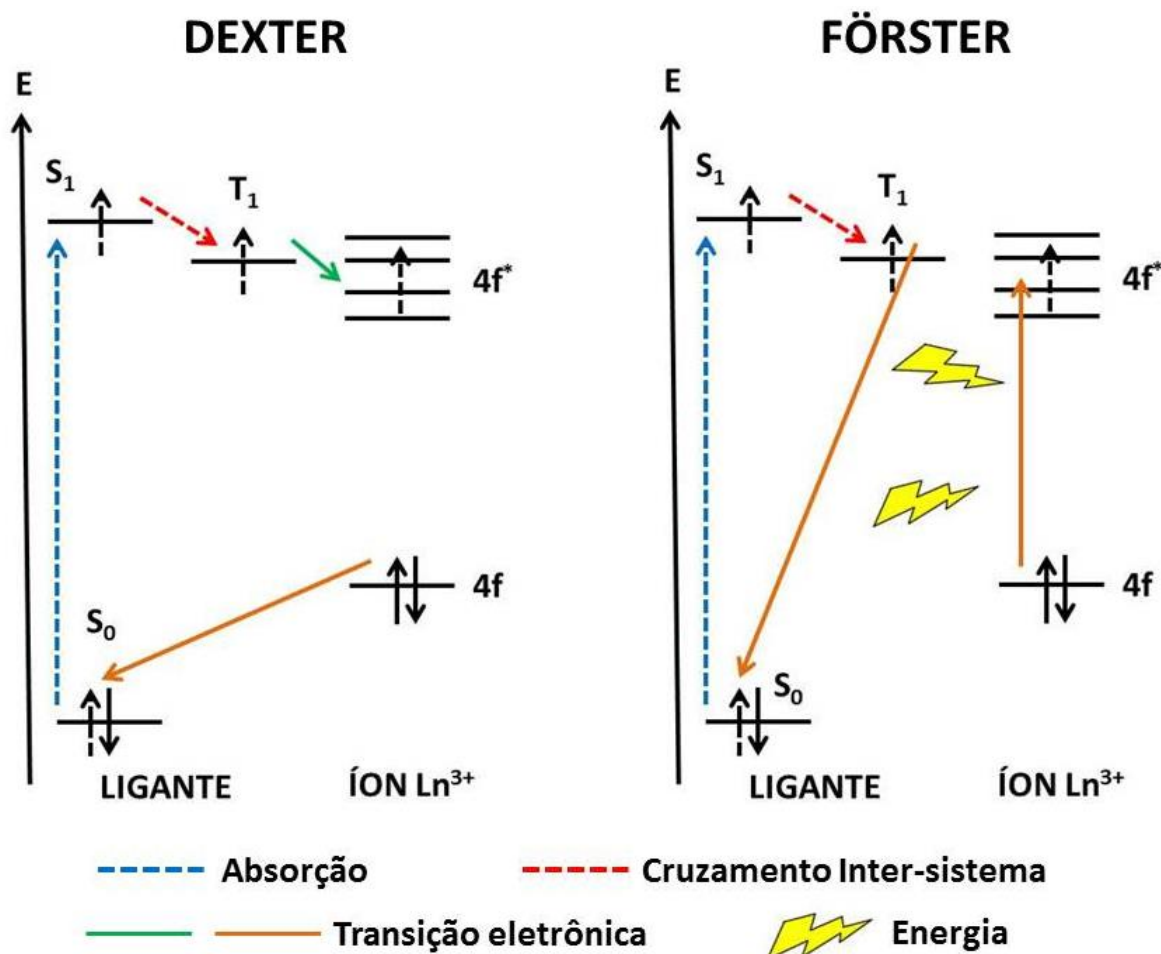
excitado indiretamente através de uma transferência de energia dos átomos de mercúrio excitados. Neste caso, trata-se de uma transferência não-radiativa, tendo o átomo de mercúrio como o doador (D) e o átomo de tálio como o aceitador (A) [62].

Na literatura, é possível encontrar diversas teorias desenvolvidas a respeito da transferência de energia, como por exemplo, as teorias de Förster e de Dexter.

O princípio da teoria proposta por Förster (ou dipolo-dipolo) consiste na transferência não radiativa de energia, partindo de um doador (D) para um aceitador (A), através de interações do tipo dipolo-dipolo de longo alcance entre estas espécies [59]. Além da condição de ressonância, entre as diferenças energéticas de ($D^* - D$) e ($A - A^*$), para que a transferência seja efetiva é preciso que o campo elétrico do nível excitado (D^*) e do nível fundamental da espécie A também esteja ressonante [59,62].

Por outro lado, o modelo de Dexter (ou troca) inclui interações de troca e de multipolos, como dipolo-quadrupolo e quadrupolo-quadrupolo [59]. Este mecanismo envolve a transferência de pares de elétrons e requer uma boa sobreposição entre os orbitais do ligante (D) e do metal (A), enquanto que no mecanismo de Förster (ou dipolo-dipolo), o momento de dipolo associado ao estado T_1 está acoplado ao momento de dipolo do orbital 4f (figura 21). Devido à dependência da distância entre D - A, os mecanismos multipolares de Dexter operam em distâncias mais curtas, menores que 0,4 nm [59], enquanto que os mecanismos de dipolo-dipolo, proposto por Förster [63], em seus casos típicos, apresentam valores entre 5 e 10 nm [62].

Figura 21- Representação dos mecanismos de Dexter (ou troca, à esquerda) e Förster (ou dipolo-dipolo, à direita).



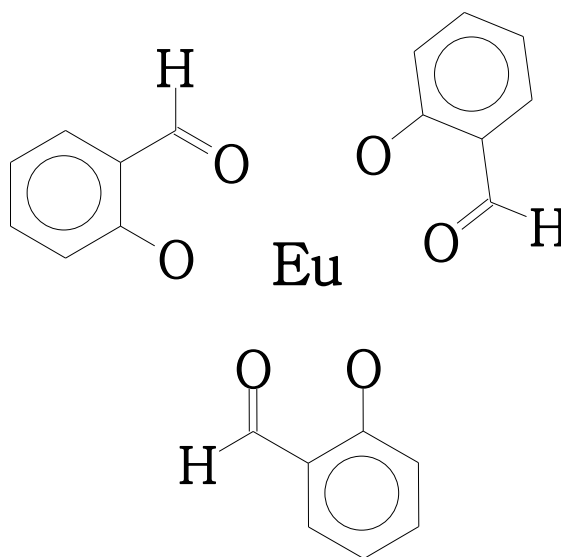
Fonte: Adaptada de [63].

Enquanto que ambos os mecanismos, de Dexter e de Förster, são bem conhecidos e documentados na literatura, a contribuição dos mecanismos multipolares é muitas vezes ignorada, apesar de serem responsáveis por uma grande parcela da energia transferida ao entorno dos íons Ln [63].

Como já dito, estes processos de transferência de energia podem ocorrer de forma intermolecular, ou seja, quando as espécies doadoras (D) e aceitadoras (A) não estão na mesma molécula; ou quando estas fazem parte do mesmo sistema. Em se tratando deste último caso, os complexos metálicos são de extrema importância devido à sua grande variedade. Entre estes complexos estão os formados por íons TR (Ln^{3+}), que têm sua luminescência intensificada devida á transferência de energia a partir de um ligante (D). Weissman realizou experimentos onde comparou a luminescência do complexo Salicilaldeído

de Európio (figura 22) com a do Cloreto de Európio Hexahidratado ($\text{EuCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), e observou que o íon Eu^{3+} , na forma complexada, apresenta uma emissão mais intensa quando o sistema é excitado na região de absorção do ligante orgânico ao invés da região de excitação do metal. Resumidamente, quando se irradiava os cristais de $\text{EuCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ com uma luz de comprimento de onda na faixa de 300-400 nm (em 392 e 320 nm), o Eu^{3+} somente emitia a característica luminescência vermelho – alaranjada, diferente do complexo Salicilaldeído de Európio, que quando irradiado na mesma faixa (300-400 nm), mostrava a intensa emissão do Eu^{3+} [64]. A intensificação da emissão tem como consequência o relaxamento das regras de transição devido ao aumento do acoplamento dinâmico; e ao fato de os níveis emissores $^5\text{D}_1$ do íon Eu^{3+} serem eficientemente populados por transferência de energia uma vez que a absorção da banda do ligante é muito forte quando comparada à transição do TR [67].

Figura 22- Complexo estudado por Weissman (Salicilaldeído de Európio).

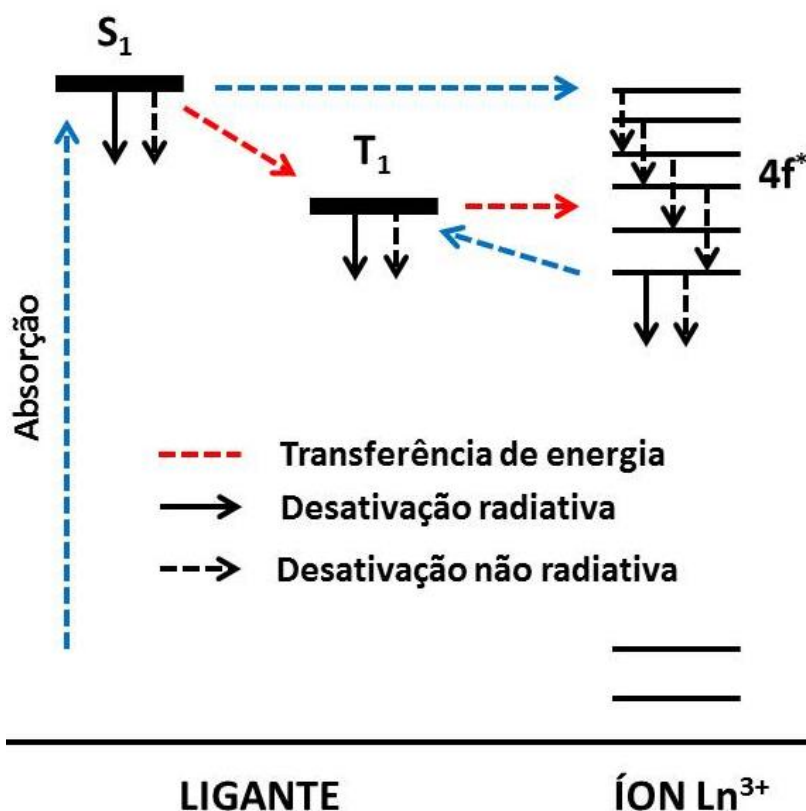


Fonte: Autora.

A intensificação de emissão do íon Ln^{3+} , via transferência de energia ligante-metal, depende da luz ser absorvida pelo ambiente de coordenação do metal através dos ligantes orgânicos (cromóforos) ou da matriz inorgânica, em caso de compostos sólidos; da energia ser transferida para um ou mais estados excitados do íon metálico e ocorrer os processos de emissão [59]. Ambos os estados, singleto e tripleto, do ligante podem transferir a energia para o íon metálico, como mostra a figura 23, onde pode ser observado que a energia absorvida pelo ligante terá transição do estado fundamental ^0S ao estado excitado S_1 . O nível S_1 do

ligante pode sofrer decaimento não radiativo via cruzamento inter sistemas e popular o nível de menor energia T_1 e posteriormente este nível pode transferir energia ao nível excitado do íon metálico, o que ocorre com maior frequência; ou então, a transferência de energia pode ocorrer diretamente do estado S_1 do ligante para os níveis excitados do íon metálico. Quando os níveis excitados do íon metálico e o estado T_1 do ligante encontram-se em ressonância, podem ocorrer retro transferências entre eles, e conseqüentemente influenciar o tempo de vida do nível excitado emissor do íon metálico. Ainda na figura 23, também observar-se que há possíveis perdas de energia dos estados S_1 e T_1 via processos radiativos ou não radiativos.

Figura 23- Representação das principais vias de fluxo de energia durante o processo de transferência ligante-metal.



Fonte: Adaptada de [65].

Em um trabalho publicado em 2007 [66], Lima e colaboradores estudaram processos de transferência de energia em híbridos orgânico-inorgânicos dopados com íons Eu^{3+} , onde concluíram que o mecanismo de troca (Dexter) é dominante frente ao mecanismo de Förster [59].

Uma vez que a natureza da ligação ligante – TR^{3+} tem grande importância na

luminescência, e que o mecanismo de luminescência envolve a sobreposição orbital, mantendo-se a multiplicidade de *spin* total, ou seja, favorecendo o fenômeno ao mecanismo de Dexter [67].

Neste sentido, este trabalho tem como um de seus objetivos estudar a transferência de energia entre os aminoácidos aromáticos (Trp, Tyr e Phe), que constitui a matriz utilizada (SF), e os íons TR nela inseridos. Observando a estrutura destes aminoácidos (figura 10) e analisando trabalhos já publicados na literatura, como exemplo os já citados trabalhos de Horrocks e seus colaboradores [16-18], podemos aferir que este processo é possível e eficiente. Especialmente no caso do Trp com íons Eu^{3+} e Tb^{3+} , foi relatado que, em ambos os casos, esta transferência foi regida por um mecanismo do tipo Förster [16], na parvalbumina. Este trabalho procura compreender melhor como este mecanismo se dá de fato para as diferentes TR, e a partir disto desenvolver sistemas compósitos de SF+TR com emissões mais eficientes.

2. Objetivos

2.1. Objetivo geral

Este projeto propôs o estudo estrutural e espectroscópico de novos materiais luminescentes desenvolvidos à base de íons TR e/ou outros luminóforos em matriz compósita derivada de SF, visando uma futura aplicação em sistemas eficientes na emissão de luz.

2.2. Objetivos específicos

- Extração da fibroína dos casulos do bicho-da-seda (*Bombyx mori*);
- Preparação de sistemas luminescentes compostos de SF/íons TR (ou seus complexos);
- Estudo estrutural dos materiais;
- Análise espectroscópica das interações entre aminoácidos e íons TR;
- Adição de ligantes para intensificação do efeito antena;
- Caracterização e estudo espectroscópicos dos materiais em todas as etapas do projeto.

3. Procedimentos Experimentais

3.1. Extração da fibroína de casulos do bicho-da-seda (*Bombyx mori*)

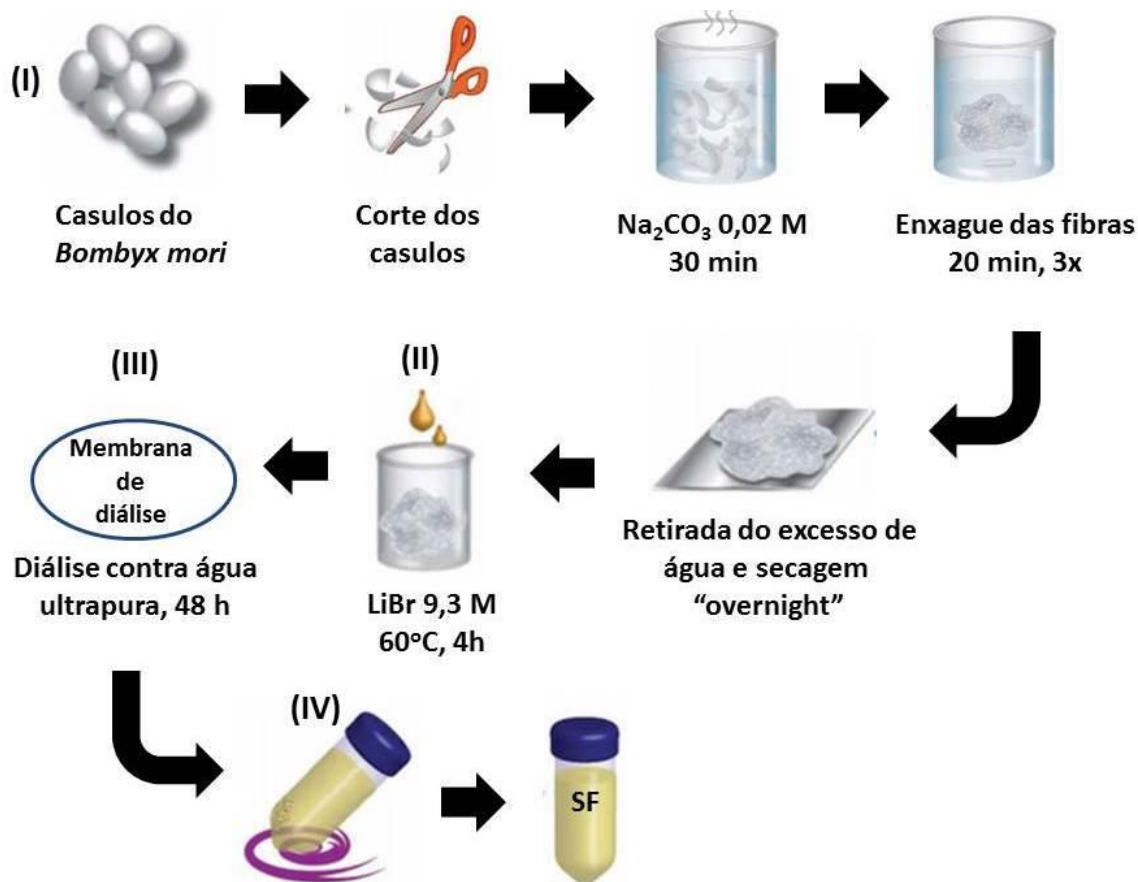
A extração da fibroína dos casulos foi realizada seguindo-se o procedimento disponível na literatura [20], e representado pela figura 24, que consistiu de quatro etapas principais: (I) extração da fibroína (retirada da sericina também presente nos casulos); (II) dissolução em Brometo de Lítio (LiBr); (III) diálise e (IV) centrifugação. Na primeira etapa, 5 g de casulos* foram dispersos em 2 L de solução aquosa de Carbonato de Sódio (Na_2CO_3 , 0,02 M) à 100°C, mantendo-se a temperatura e agitação por 30 minutos. Então, a fibra, já separada da sericina, foi retirada da solução e resfriada a temperatura ambiente, seguida da lavagem com água Milli-Q (3 vezes) e seca. Após 12 horas do processo de secagem, a fibroína foi dissolvida em 15 mL de uma solução de LiBr (9M) à 60°C (4 mL de solução para cada 1 g de fibra), resultando em uma solução amarela viscosa. Esta foi então dialisada por 48 horas (contra 2 L de água Milli-Q com 4 trocas durante o período), a fim de se retirar o excesso de sais, e como resultado, obteve-se aproximadamente 50 mL de uma suspensão aquosa de SF. Finalmente, esta suspensão foi centrifugada a 3500 rpm por 20 minutos, 2 vezes, e resíduos (algumas impurezas particuladas que ainda podiam estar presente na suspensão) foram retirados. A suspensão resultante apresentou concentração aproximada de 3% (m/m), e manteve-se estável por aproximadamente 30 dias à 4°C.

→ **Produto:** SF suspensão pura

Para a obtenção do filme puro (autosuportado) de SF, adicionou-se 2 mL desta suspensão sobre uma placa de petri plástica (diâmetro de aproximadamente 6 cm) e deixou-se secar por aproximadamente 4 horas à T= 45°C.

→ **Produto:** SF filme puro

Figura 24- Representação das etapas do processo de extração da fibroína dos casulos do *Bombyx mori*.



Fonte: Adaptada de [20].

*Os casulos, matéria prima principal desta pesquisa, foram obtidos já abertos e sem a lagarta, através de doação realizada pela empresa de Fiação de Seda BRATAC-s.a, localizada na cidade de Londrina-PR.

3.2. Incorporação dos íons

A incorporação dos íons TR na suspensão de SF, obtida no item anterior (item 3.1), foi realizada em fase aquosa por mistura desta suspensão com Cloretos de TR (Gd^{3+} , Eu^{3+} e Tb^{3+}) em diferentes proporções (0,1%, 0,5%, 1,0% e 2,0% m/m). As misturas foram mantidas num misturador (Rocker Platform – Model RP-50) durante 10 minutos.

→ **Produtos:** SF solução + X% TR³⁺

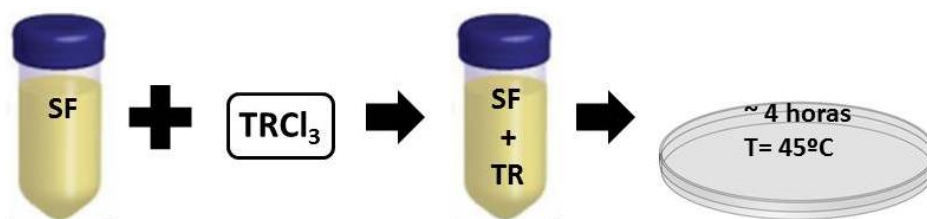
(sendo X=0,1, 0,5, 1,0 e 2,0 e TR=Eu, Tb e Gd. Total de 12 soluções).

Para o preparo dos filmes, deixou-se secar 2 mL das solução formadas acima (suspensão de SF + cloreto de TR), uma em cada placa de petri plástica (diâmetro de aproximadamente 6 cm), por aproximadamente 4 horas à $T = 45^{\circ}\text{C}$. Após este período, os filmes formados foram retirados da placa.

→ **Produtos:** SF filme + X% TR³⁺

(sendo $X=0,1, 0,5, 1,0$ e $2,0$ e $\text{TR}=\text{Eu}, \text{Tb}$ e Gd . Total de 12 filmes).

Figura 25- Representação do processo de formação dos filmes de SF na presença dos íons TR.



Fonte: Autora.

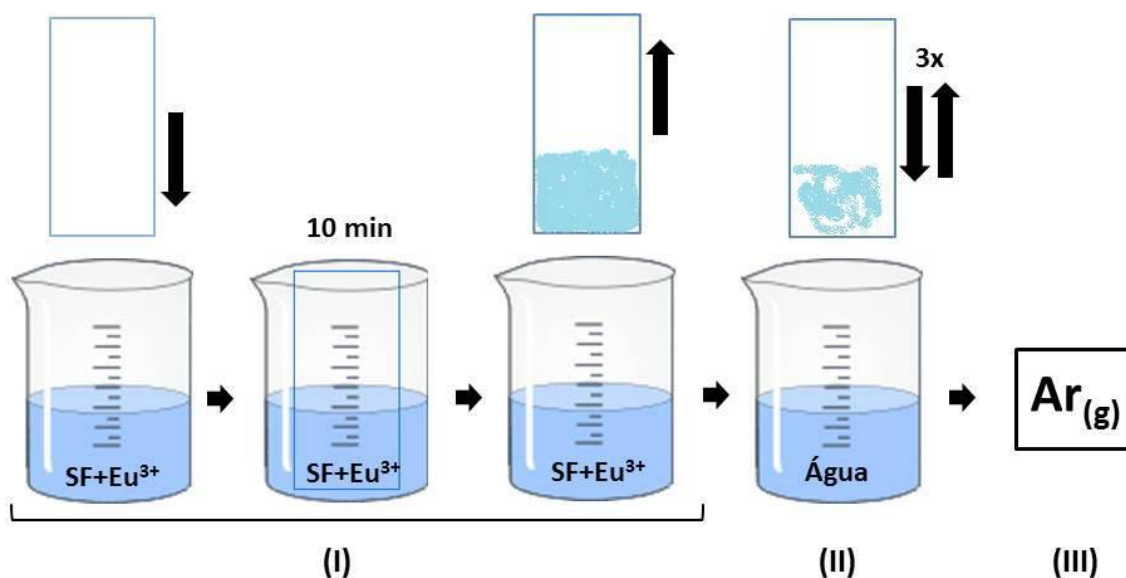
**Devido ao fato de o íon Gadolínio (Gd^{3+}) não possuir emissão na região do visível, este foi utilizado na preparação dos filmes para que fosse possível, na análise destes materiais, a observação de emissões a partir da matriz de SF, juntamente com a constatação de alguma possível influência que poderia ser causada na presença dos íons TR.

3.3. Preparação dos filmes de SF+Eu³⁺ para análises por Dicroísmo Circular (CD)

Para a realização das análises por CD, os filmes formados no item 3.2 encontravam-se em altas concentrações, o que impossibilitou a análise. Visto isto, optou-se pela preparação de filmes pelo método *layer by layer (LbL)*, a fim de se obter um material com características semelhantes aos filmes de interesse e que fossem possíveis de serem analisados. Para isto, primeiramente, a suspensão de SF pura (item 3.1) e as soluções compostas por SF+Eu³⁺ (item 3.2) foram diluídas 10 vezes com o volume adequado de água para obtenção de uma concentração de fibroína de aproximadamente 0,3% (m/m). Na sequência, cada solução foi depositada, separadamente, em uma placa de quartzo (1 cm x 2 cm), previamente tratadas em uma solução de Hidróxido de Potássio (KOH) em Etanol (3% m/m), através do seguinte procedimento, adaptado da literatura [68] e representado pela figura 26:

- (I) Imersão do substrato (placa de quartzo) na solução de interesse por 10 minutos;
 (II) Três lavagens rápidas do substrato em água Milli-Q;
 (III) Secagem do substrato em fluxo de gás Argônio.
 -Repetiu-se as etapas de I a III por 3 vezes.

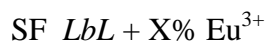
Figura 26- Representação do processo de montagem dos filmes *LbL*.



Fonte: Autora.

A montagem dos filmes de SF sobre o substrato se dá principalmente por interações hidrofóbicas, porém, também há a contribuição de algumas interações eletrostáticas. A principal diferença deste procedimento com a técnica *LbL* tradicional é a utilização dos passos de secagem, que controlam a estrutura e estabilizam a SF automontada [69].

→ **Produtos:** SF *LbL* puro



(sendo X=0,1, 0,5, 1,0 e 2,0. Total de 5 amostras).

3.4. Preparação dos filmes de SF+Eu³⁺ na presença do ligante TTA (2-tenoiltrifluoroacetona)

Primeiramente, pesou-se 0,086 g de TTA e adicionou-se em 5 mL de água Milli-Q, a mistura foi mantida no ultrassom por aproximadamente 40 minutos. Ao fim deste período, obteve-se uma solução de TTA em água de concentração igual a 0,0172 g/mL, devida a baixa

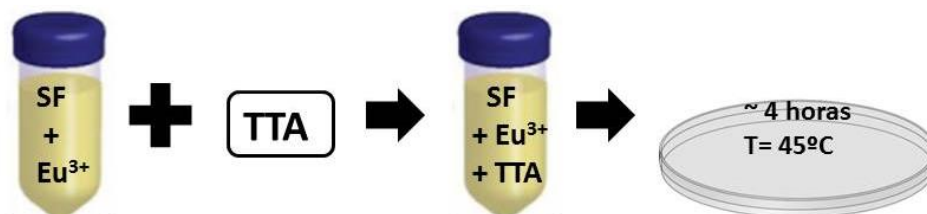
solubilidade desse ligante em água.

Esta solução foi então adicionada a cada uma das soluções preparadas conforme o item 3.2 (SF solução + 0,1% Eu^{3+} , SF solução + 0,5% Eu^{3+} , SF solução + 1,0% Eu^{3+} e SF solução + 2,0% Eu^{3+}), na proporção de 1 mol:1 mol (Eu:TTA), e as misturas foram mantidas num misturador (Rocker Platform – Model RP-50) durante 10 minutos e secas em uma placa de petri plástica (separadamente) por aproximadamente 4 horas a $T= 45^{\circ}\text{C}$. Após este período, os filmes formados foram retirados das placas.

➔ **Produtos:** SF filme + X% Eu^{3+} + TTA

(sendo $X=0,1, 0,5, 1,0$ e $2,0$. Total de 4 filmes).

Figura 27- Representação do processo de formação dos filmes de SF+ Eu^{3+} na presença do ligante TTA.



Fonte: Autora.

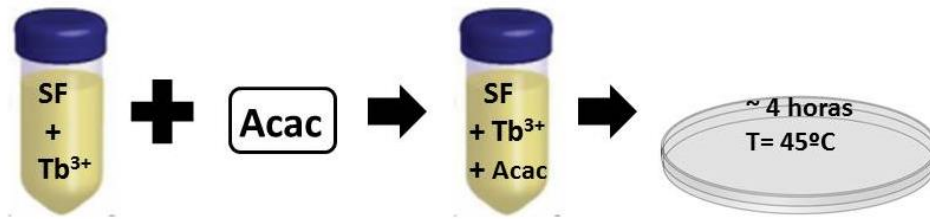
3.5. Preparação dos filmes de SF+ Tb^{3+} na presença do ligante Acac (Acetilacetona)

Primeiramente, adicionou-se $10\mu\text{L}$ de Acac em 10 mL de água Milli-Q e agitou-se, obtendo-se uma solução de concentração igual a $9,74 \times 10^3$ M. Esta solução formada foi então adicionada a cada uma das soluções formadas no item 3.2 (SF solução + 0,1% Tb^{3+} , SF solução + 0,5% Tb^{3+} , SF solução + 1,0% Tb^{3+} e SF solução + 2,0% Tb^{3+}) na proporção de 1 mol:1 mol (Tb:Acac). Por fim, as misturas foram mantidas num misturador (Rocker Platform – Model RP-50) durante 10 minutos e secas em uma placa de petri plástica (separadamente) por aproximadamente 4 horas a $T= 45^{\circ}\text{C}$. Após este período, os filmes formados foram retirados das placas.

➔ **Produtos:** SF filme + X% Tb^{3+} + Acac

(sendo $X=0,1, 0,5, 1,0$ e $2,0$. Total de 4 filmes).

Figura 28- Representação do processo de formação dos filmes de SF+Tb³⁺ na presença do ligante Acac.



Fonte: Autora.

4. Técnicas de Análises

As análises por Espectroscopia na Região do Infravermelho-FTIR foram realizadas no modo *ATR* (*attenuated total reflectance*), a temperatura ambiente, em um equipamento de modelo IRPrestige-21 fabricado pela Shimadzu. Já os espectros de Dicroísmo Circular-CD foram obtidos por um espectrômetro de dicroísmo circular, modelo J-815, fabricado pela Jasco e localizado no Instituto de Química de Araraquara – IQ-UNESP. As Análises Térmicas foram realizadas em um equipamento Q600-SDT da *TA instruments*, sob fluxo de nitrogênio (100 mL/min) em uma faixa de 0-700°C com rampa de 20°C/min. As análises por Espectroscopia Eletrônica na Região do UV-Vis foram realizadas na forma de filme em um equipamento de modelo UV-3101PC fabricado pela Shimadzu. Para as análises de Fotoluminescência, utilizou-se um fluorímetro Fluorog (Jobin-Yvon) Spex F2121 acoplado ao Triax 550, utilizando lâmpada de Xe (*Ozone free*), fotomultiplicadora Hamamatsu R928 e monocromadores duplos para excitação e emissão. As curvas de decaimento de Fotoluminescência foram realizadas no mesmo equipamento, utilizando um Fosforímetro 1934 D e uma lâmpada pulsada de xenônio; as amostras foram todas analisadas na forma de filme. A análise por Difração de Raios X foi realizada, com as amostras na forma de pó, em um equipamento Miniflex Rigaku II, localizado na Universidade de Franca (UNIFRAN). Já as análises por Microscopia Eletrônica de Transmissão foram realizadas, em pó disperso em etanol, em um JEOL JEM-100CX II 100 kV, localizado na Faculdade de Medicina da USP/RP. Para as análises por Espalhamento Dinâmico da Luz, utilizou-se um equipamento ZetaSizer3000HSa da marca MalvernInstruments e as amostras em pó foram dispersas em água pura.

5. Resultados e Discussão

5.1. Caracterização estrutural dos materiais

As interessantes propriedades da SF são resultados da estrutura proteica, e a inserção de íons TR nessa matriz deve agregar novas propriedades sem depreciar as existentes. Desta forma, este estudo teve início pela caracterização estrutural dos materiais obtidos, a fim de se observar as possíveis influências causadas pela presença dos íons TR na matriz de SF. Para tal, utilizou-se de Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho (FTIR), Dicroísmo Circular (CD), Espectroscopia Eletrônica na Região do UV-Vis e Análises Térmicas.

Figura 29- Imagem ilustrando a transparência dos filmes dopados (SF_filme + 2,0% Eu^{3+}).



Fonte: Autora.

Os filmes preparados puros ou na presença dos íons TR eram transparentes à luz visível (figura 29), e apresentaram luminescência característica dos íons utilizados na dopagem (Eu^{3+} e Tb^{3+}) (figura 30) quando irradiados na região espectral do ultravioleta, entretanto com diferentes eficiências.

Figura 30- Imagem dos filmes (esquerda) SF filme + 2,0% Eu^{3+} e (direita) SF filme + 2,0% Tb^{3+} ilustrando a luminescência características dos íons Eu^{3+} e Tb^{3+} , respectivamente, quando irradiados com feixe de luz de comprimento de onda compatível à absorção da matriz.



Fonte: Autora.

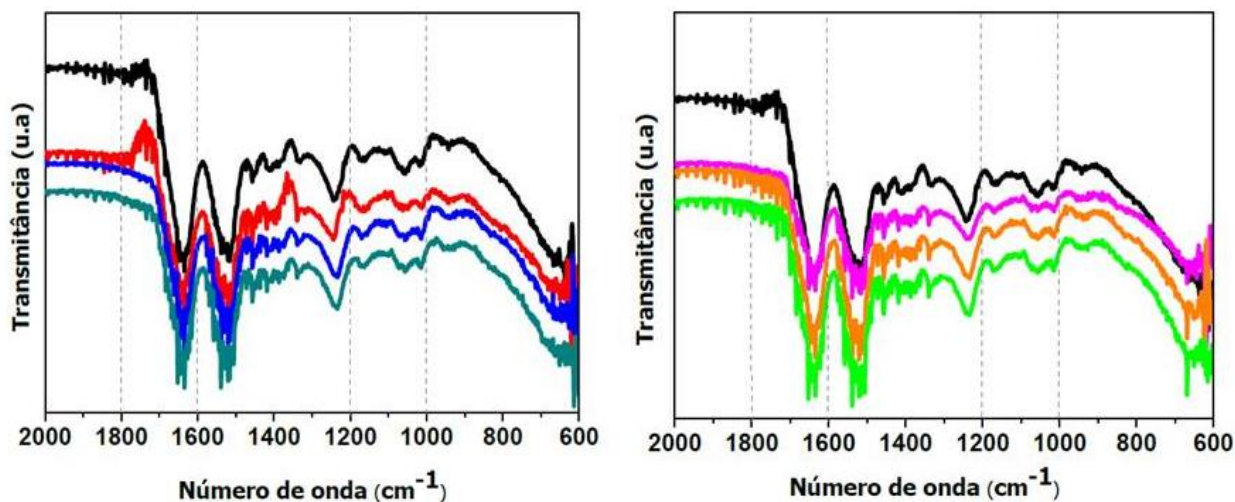
Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho

As amostras analisadas por FTIR no modo *ATR* (à temperatura ambiente) foram: SF filme puro (obtida no item 3.1), SF filme + 0,5% Eu^{3+} , SF filme + 1,0% Eu^{3+} , SF filme + 2,0% Eu^{3+} , SF filme + 0,5% Tb^{3+} , SF filme + 1,0% Tb^{3+} e SF filme + 2,0% Tb^{3+} (obtidas no item 3.2).

Duas estruturas principais são relatadas para a proteína fibroína, estas são nomeadas de “seda I” e “seda II”. A estrutura do tipo seda I é predominantemente constituída por α -hélices ou *random coil*, enquanto que a seda II possui estrutura terciária com a predominância de folha- β antiparalela, e é responsável por 55% da conformação total [23]. Esta diferença se reflete no espectro de Infravermelho, mais especificamente nas bandas de grupamentos amidas.

De acordo com Taddei e Monti (2005), a SF com estrutura do tipo seda I apresenta bandas referentes às amidas do tipo I, II e III em torno de 1654 cm^{-1} , 1540 cm^{-1} e 1240 cm^{-1} , respectivamente; já a seda II, apresenta estas bandas em $1700\text{-}1626\text{ cm}^{-1}$, 1534 cm^{-1} e $1264\text{-}1234\text{ cm}^{-1}$ [70].

Figura 31- Espectros de FTIR dos filmes (esquerda) SF filme puro (preto), SF filme + 0,5% Eu^{3+} (vermelho), SF filme + 1,0% Eu^{3+} (azul), SF filme + 2,0% Eu^{3+} (ciano escuro), (direita) SF filme puro (preto), SF filme + 0,5% Tb^{3+} (rosa), SF filme + 1,0% Tb^{3+} (alaranjado) e SF filme + 2,0% Tb^{3+} (verde claro).



Fonte: Autora.

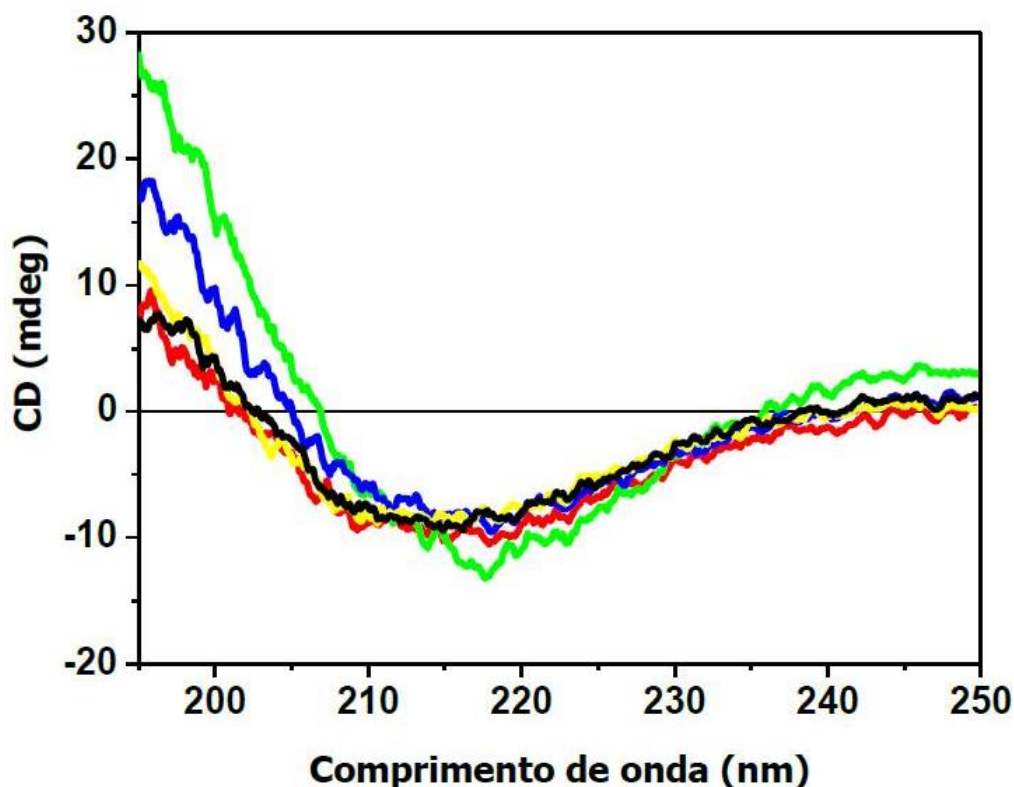
Analisando-se os espectros acima, observou-se bandas características a grupos vibracionais presentes na SF nas regiões de 1652, 1634, 1626 e 1239 cm^{-1} . Ainda de acordo com os autores já citados [70], a banda na região de 1652 cm^{-1} é referente a um componente da amida I (C=O), presente na estrutura $(\text{AlaGly})_{12}\text{TyrGly}(\text{AlaGly})_2$. Já a banda na região de 1634 cm^{-1} bem como a na região de 1626 cm^{-1} , são referentes à amida I característica da SF em conformação folha- β antiparalela (seda II). A banda na região de 1239 cm^{-1} refere-se a uma amida II, também característica à seda do tipo II. Por fim, as bandas situadas em torno de 942 e 1100 cm^{-1} são características da proteína na conformação α -hélice [71].

O polimorfismo característico da SF foi mantido após a inserção dos íons TR (Eu^{3+} ou Tb^{3+} , independentemente das proporções estudadas), ou seja, tantos grupamentos hidrofílicos (Seda I) como hidrofóbicos (Seda II) foram observados. Conseqüentemente suas propriedades mecânicas, como flexibilidade e resistência, não foram alteradas. Contudo, a proporção de Seda I e II poderá ser artificialmente alterada, por exemplo, via tratamento do filme com metanol [72].

Dicroísmo Circular

As amostras analisadas por CD foram: SF LbL puro, SF LbL + 0,1% Eu^{3+} , SF LbL + 0,5% Eu^{3+} , SF LbL + 1,0% Eu^{3+} e SF LbL + 2,0% Eu^{3+} (obtidas no item 3.3).

Figura 32- Espectros de CD das amostras SF LbL puro (preto), SF LbL + 0,1% Eu³⁺ (amarelo), SF LbL + 0,5% Eu³⁺ (verde claro), SF LbL + 1,0% Eu³⁺ (azul) e SF LbL + 2,0% Eu³⁺ (vermelho).



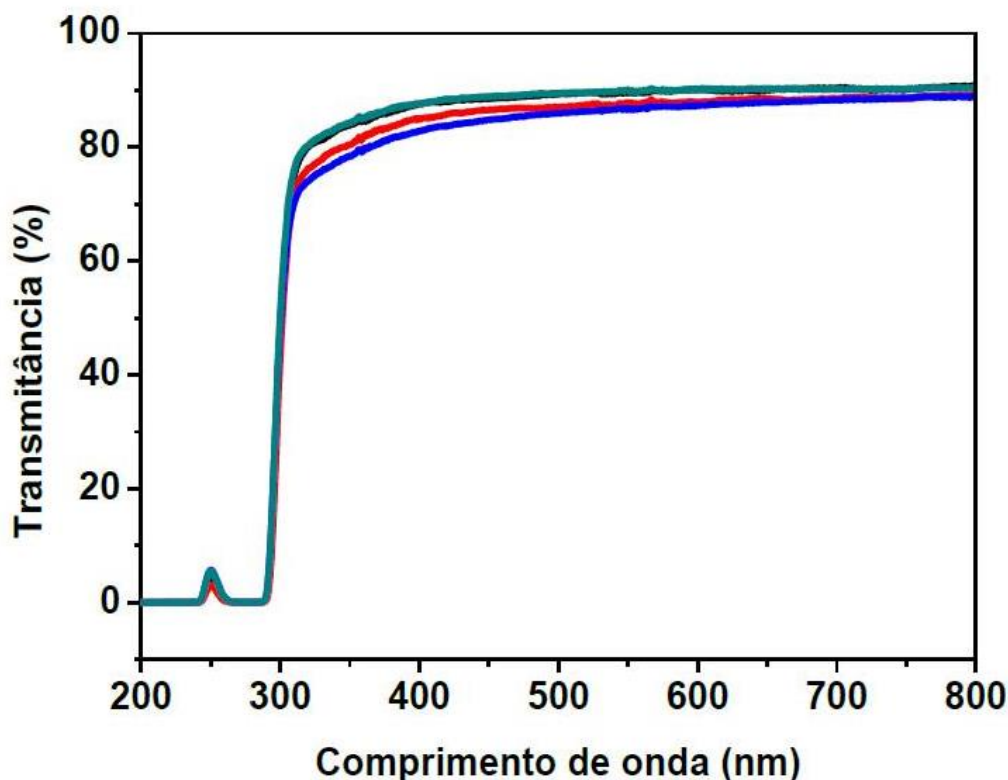
Fonte: Autora.

Analisando os espectros obtidos pode-se observar que, para todos os casos, há um mínimo em torno de 217 nm. De acordo com Moraes et. al. (2013), isto mostra claramente que a conformação β -folha foi formada na superfície das lâminas [69], pois de uma forma geral, nas estruturas β -folhas, há transições do tipo $n \rightarrow \pi^*$, situadas em aproximadamente 215 nm, além de possíveis transições $\pi \rightarrow \pi^*$ que se situam em torno de 195 nm. Porém, estes comprimentos de onda e as formas dos espectros podem variar consideravelmente para diferentes tipos de estruturas β -folha, devido principalmente a diferentes geometrias de ligação peptídicas associadas a folhas paralelas e antiparalelas, e folhas com diferentes torções [73]. Com isto, conclui-se que o método de deposição é eficaz para este processo e, além disto, a presença das soluções de $\text{EuCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, independente da proporção, não influenciou na conformação proteica.

Espectroscopia Eletrônica na Região do UV-Vis

As amostras analisadas por UV-Vis foram: SF filme puro (obtida no item 3.1), SF filme + 2,0% Gd³⁺, SF filme + 2,0% Eu³⁺ e SF filme + 2,0 Tb³⁺ (obtidas no item 3.2).

Figura 33- Espectros no UV-Vis dos filmes SF filme puro (preto), SF filme + 2,0% Gd³⁺ (vermelho), SF filme + 2,0% Eu³⁺ (azul) e SF filme + 2,0 Tb³⁺ (ciano escuro).



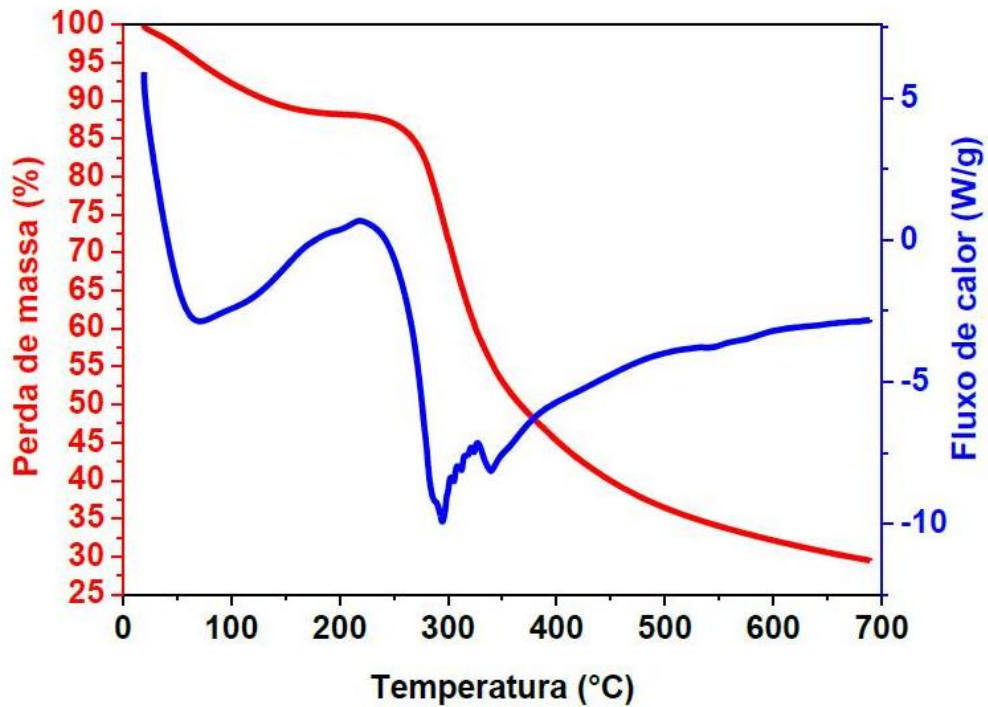
Fonte: Autora.

Por meio dos espectros de UV-Vis apresentados na figura 33, pode-se observar que a presença dos íons TR (Gd³⁺, Eu³⁺ ou Tb³⁺) não influencia na absorbância da matriz, que apresenta máximo de absorção em torno de 250 nm, referentes à absorção dos aminoácidos que a constitui. Não foi possível observar as transições referentes aos íons Eu³⁺ e Tb³⁺, que naturalmente apresenta baixo valor de absorvidade molar [51].

Análises Térmicas

As análises térmicas foram realizadas com aproximadamente 5 mg de material, na forma de filme. As amostras analisadas foram: SF filme puro (obtida no item 3.1), SF filme + 2,0% Eu³⁺ e SF filme + 2,0% Tb³⁺ (obtidas no item 3.2).

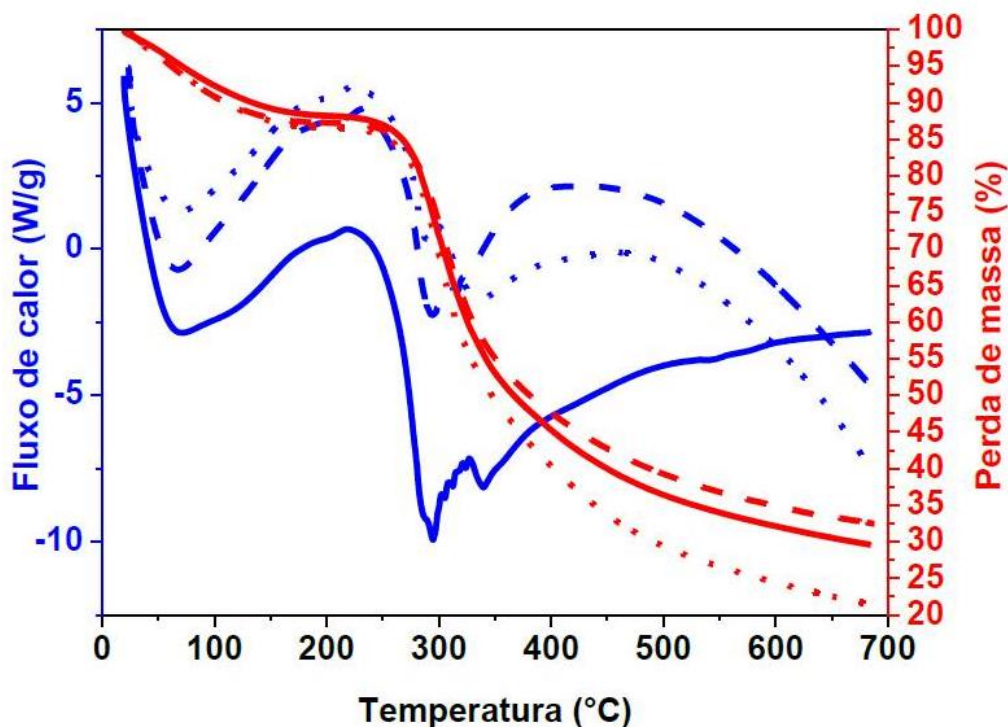
Figura 34- Análises térmicas do filme SF filme puro. (vermelho) Curva do termograma (TGA) e (azul) curva de DSC (calorímetro diferencial de varredura), 20°C/min em atmosfera de N₂.



Fonte: Autora.

Por meio do termograma acima pode-se observar que o filme SF filme puro apresenta degradação térmica em aproximadamente 300°C, o que é característico da matriz e já relatado na literatura [74]. O evento observado na curva de DSC difere do perfil apresentado na literatura, provavelmente pela diferença na taxa de aquecimento.

Figura 35- Análises térmicas dos filmes SF filme puro (linha contínua —), SF filme + 2,0% Eu³⁺ (linha tracejada - - -) e SF filme + 2,0% Tb³⁺ (linha pontilhada . . .). (vermelho) Curva do termograma (TGA) e (azul) curva de DSC (calorímetro diferencial de varredura), 20°C/min em atmosfera de N₂.



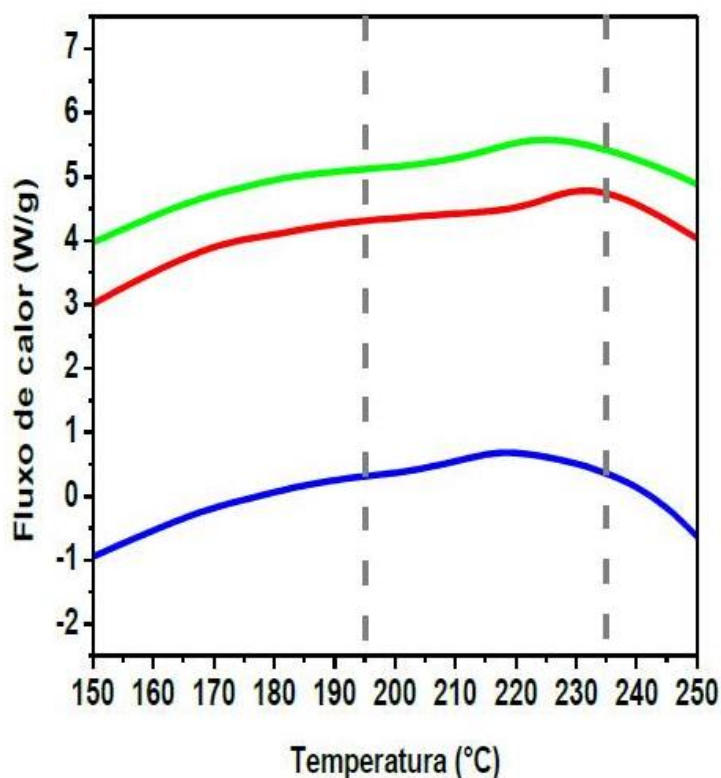
Fonte: Autora.

Quando compara-se o filme SF filme puro com os filmes SF filme + 2,0% Eu³⁺ e SF filme + 2,0% Tb³⁺, observamos que o padrão de degradação térmica em 300°C se mantém para todos eles, inclusive, a taxa de perda de massa é muito próxima para todas amostras, com exceção do filme dopado com Tb³⁺ que tem uma perda 10% mais acentuada até 700°C. Porém, o perfil da curva de DSC é alterado, possivelmente, devido a um evento exotérmico que ocorre em temperatura superior a 700°C, e que deforma o perfil da curva de DSC acima de 500°C nas amostras dopadas com os íons TR (Eu³⁺ e Tb³⁺).

O processo de transição vítrea (T_g) na matriz de SF é resultado da cristalização, passando da mistura aleatória α -hélices ou β -folhas para conformação cristalina β -folhas antiparalelas, segundo Magoshi et. al. [74]. A temperatura de T_g observada na literatura pode ocorrer próxima a 178°C [23], entretanto este valor pode variar em relação ao processo de formação do filme, bem como com a umidade existente na amostra, amostras expostas a maior umidade podem apresentar T_g em menor temperatura [75]. Nos filmes obtidos nesse

trabalho, a T_g foi observada em torno de 210°C , para o filme puro, e em torno de 225°C para os filmes dopados com os íons TR (figura 36). Esta diferença pode ser resultante da interação dos íons com a matriz de SF, o que pode dificultar a transição de fase.

Figura 36- Análise térmica dos filmes SF filme puro (azul), SF filme + 2,0% Eu^{3+} (vermelho) e SF filme + 2,0% Tb^{3+} (verde). Curva de DSC (calorímetro diferencial de varredura), $20^\circ\text{C}/\text{min}$ em atmosfera de N_2 , com destaque para a região onde ocorre a T_g (quadro pontilhado cinza).



Fonte: Autora.

Apesar do pequeno desvio observado nos valores de T_g , a perturbação causada pelos íons na estrutura da SF foi diminuta, preservando as características e propriedades estruturais da matriz. Contudo, essa interação foi melhor constatada a partir dos espectros de espectroscopia de luminescência obtidos para os filmes dopados (item 5.2).

5.2. Estudo das interações entre os aminoácidos e os íons TR

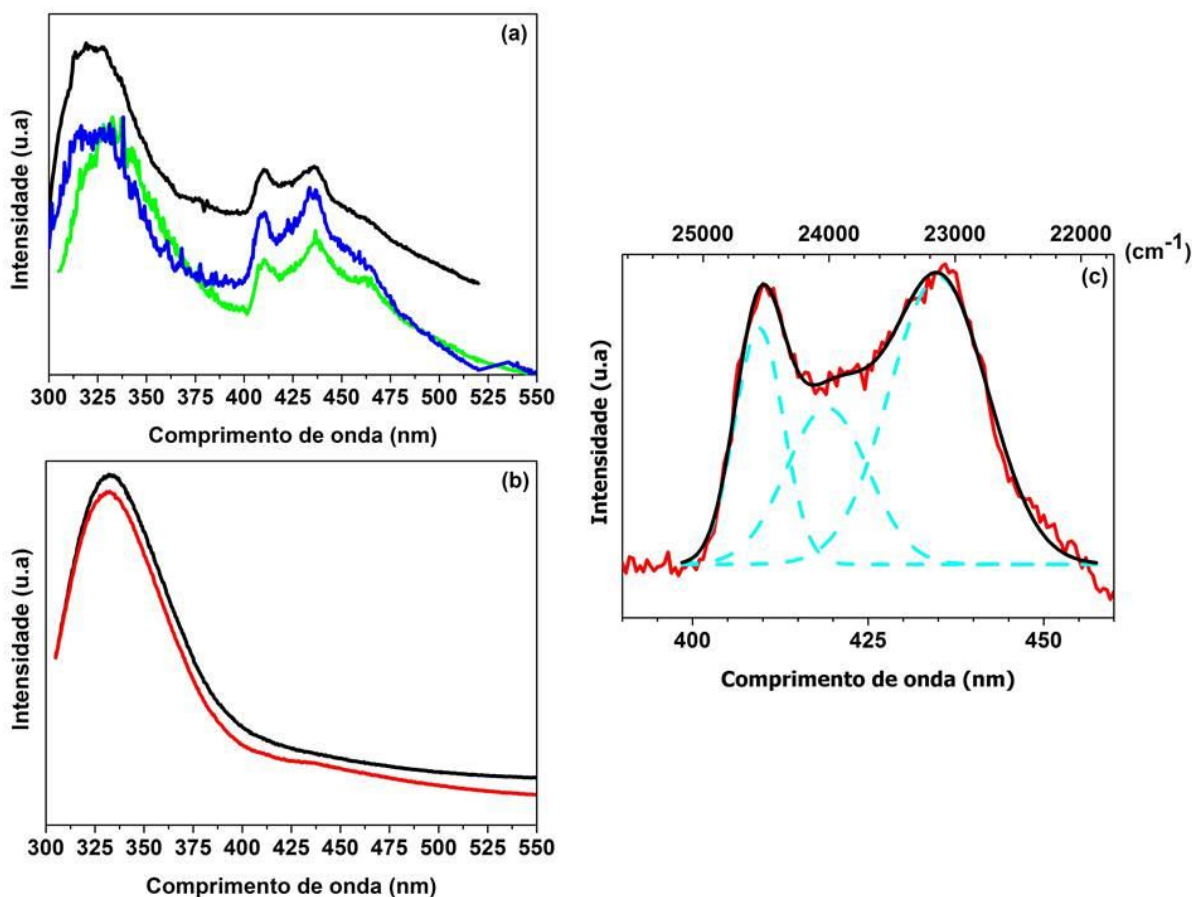
Espectroscopia de Fotoluminescência

Para um melhor entendimento da participação da matriz e os possíveis mecanismos de transferência de energia (aminoácidos – TR), uma análise detalhada foi realizada em filmes de SF puro ou dopado com íons Gd^{3+} , visando obter informações sobre o nível eletrônico dos aminoácidos Trp e Tyr, responsáveis pelo perfil de emissão da matriz quando excitada na região espectral do UV, e como estes níveis podem estar envolvidos nos processos de transferência de energia para os íons TR. A figura 37 (a)-linha preta ilustra o espectro de emissão do filme SF filme + 2,0% Gd^{3+} a 77K, onde uma banda larga centrada em 325 nm foi atribuída a emissão a partir dos níveis singleto (1L_a e 1L_b), observados para o aminoácido Trp [15,76]. Entretanto, nesta região pode ocorrer uma contribuição da emissão do Gd^{3+} (transição $^6P_j \rightarrow ^8S_{7/2}$), porém, ao observar o espectro do filme de SF pura (SF filme puro), figura 37 (a)-linha azul, obtido nas mesmas condições, ainda nota-se esse mesmo perfil de emissão, a partir dos níveis excitados 1L_a e 1L_b . Já em 425 nm, a banda larga resulta da emissão a partir do nível tripleto do aminoácido, o qual está em concordância, em valor energético, com o estado tripleto excitado (24050 cm^{-1} a 77K, [77]). O espectro do filme de SF pura (SF filme puro), obtido a temperatura ambiente não apresenta essa banda próxima a 425 nm, figura 37 (b)-linha vermelha. Esta banda, referente ao nível tripleto, foi matematicamente analisada e a figura 37 (c) ilustra o resultado obtido, bem como a energia dos níveis tripleto.

Segundo Yang et. al. (2004) [15], a espectroscopia de luminescência auxilia na interpretação de proteínas, e nesta específica matriz de SF os aminoácidos aromáticos ácidos Trp, Tyr e Phe, se apresentam como sondas luminescentes intrínsecas capazes de dar informação sobre conformação, dinâmica e interações intermoleculares. O mecanismo de emissão do Trp ocorre via decaimento do nível 1L_a , entretanto, a fluorescência do Trp é fortemente afetada pela polaridade do meio, assim a emissão pode ocorrer a partir de ambos os estados excitados singletos [76]. Por exemplo, em ambientes hidrofóbicos ocorre a inversão de energia entre os estados singletos e a emissão ocorrerá a partir do nível excitado de menor energia 1L_b . Ao analisar os espectros obtidos (figura 37), bem como a energia dos níveis singleto e tripleto dos aminoácidos (Trp - 304 nm e 416 nm; Tyr - 287 nm e 347 nm; Phe - 269 nm e 341 nm [77] para bandas de emissões observadas a partir dos níveis singletos e tripletos, respectivamente), foi possível concluir que o mecanismo de emissão dos filmes de

SF envolve principalmente os aminoácidos do tipo Trp. Mesmo a excitação em $\lambda = 275$ nm podendo excitar tanto aminoácidos Trp como Tyr, a banda de emissão centrada em 325 nm foi atribuída à emissão a partir do estado tripleto apenas dos aminoácidos Trp. A contribuição de emissão a partir da Tyr poderia ser observada em 304 nm, porém, não foi evidenciada nos espectros. Sob excitação em $\lambda = 295$ nm, a absorção da Tyr é insignificante e o perfil dos espectros pode ser observado na figura 37 (b)-linha vermelha.

Figura 37- Espectros de emissão dos filmes: (a) SF filme + 2,0% Gd³⁺ (T= 77K, $\lambda_{ex} = 275$ nm, linha preta), SF filme puro (T= 77K, $\lambda_{ex} = 275$ nm, linha azul), SF filme puro (T= 77K, $\lambda_{ex} = 295$ nm, linha verde), (b) SF filme + 2,0% Gd³⁺ (T ambiente, $\lambda_{ex} = 275$ nm, linha preta), SF filme puro (T ambiente, $\lambda_{ex} = 295$ nm, linha vermelha) e (c) SF filme + 2,0% Gd³⁺ deconvoluido (T= 77K).



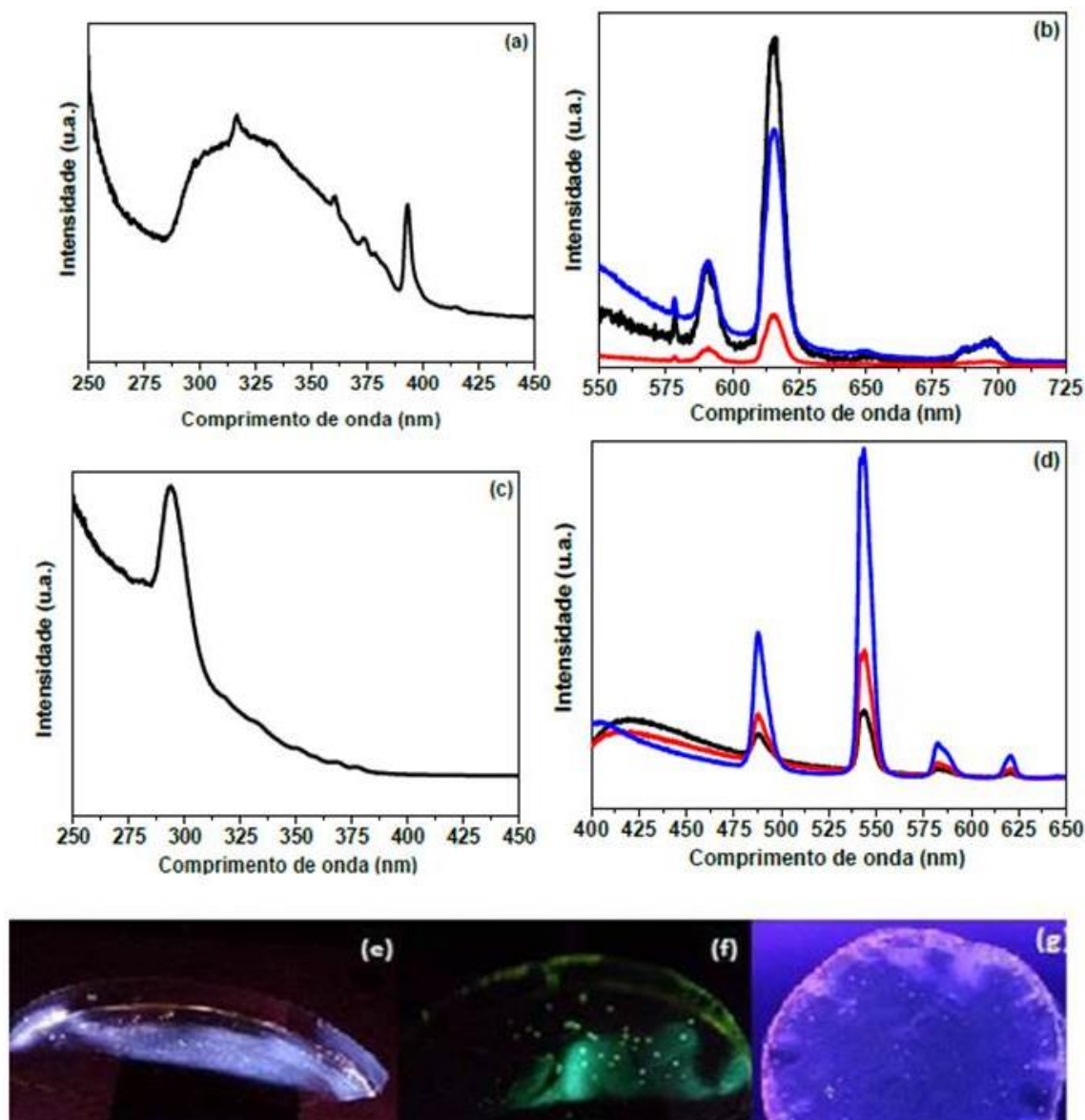
Fonte: Autora.

As amostras SF filme + 2,0 % Eu³⁺ e SF filme + 2,0% Tb³⁺, obtidas no item 3.2, foram analisadas a temperatura ambiente, na forma de filme (figura 38). As bandas largas

observadas entre 274 a 350 nm podem ser resultado da absorção dos aminoácidos Trp. Entretanto, mesmo a olho nu (figura 38 (e-g)), podemos observar que a possível transferência de energia (aminoácidos – TR) não ocorre pelos mesmos mecanismos, quando comparamos os filmes dopados com íons Eu^{3+} e íons Tb^{3+} . No caso do filme de SF dopado com íons Tb^{3+} (figura 38 (c)), existe uma banda intensa em torno de 300 nm, que pode ser atribuída à matriz (excitação aos níveis singletos $^1\text{L}_a$ e $^1\text{L}_b$). Já para o filme dopado com íons Eu^{3+} (figura 38 (a)), além da excitação via Trp, observa-se as excitações $^7\text{F}_0 \rightarrow ^5\text{D}_3$ e $^5\text{L}_6$ (320 e 394 nm, respectivamente) com intensidades relativas à mesma ordem de grandeza à banda de excitação via Trp. Isto pode indicar, previamente, que a transferência de energia (aminoácidos – TR) não é tão eficiente para a amostra de Eu^{3+} , quando comparada ao sistema dopado com Tb^{3+} .

Uma característica conhecida da matriz de SF, e que pode ser observada na figura 38 (g), é a sua capacidade de confinar a luz emitida dentro do material formado. Como podemos observar, a emissão dos íons TR foram intensificadas na borda do filme, o que não é resultado de uma concentração de íons neste local, mas sim de um efeito de confinamento, semelhante a um sistema de guia de onda. Omenetto et. al. (2010) [35] descreveram esse efeito e produziram guias de ondas ópticos biocompatíveis através de SF. As imagens obtidas dos filmes produzidos neste trabalho (matriz de SF dopada com íons TR) dão indicativos da possibilidade de utilização destes sistemas como um concentrador solar.

Figura 38- Para o filme SF filme + 2,0% Eu³⁺: (a) espectro de excitação ($\lambda_{em}=612$ nm) e (b) espectros de emissão (linha preta $\lambda_{ex}=285$ nm, linha azul $\lambda_{ex}=325$ nm e linha vermelha $\lambda_{ex}=394$ nm). Para o filme SF filme + 2,0% Tb³⁺: (c) espectro de excitação ($\lambda_{em}=544$ nm) e (d) espectros de emissão (linha azul $\lambda_{ex}=293$ nm, linha vermelha $\lambda_{ex}=325$ nm e linha preta $\lambda_{ex}=350$ nm). Imagens dos filmes (e) SF filme + 2,0 % Eu³⁺ e (f) SF filme + 2,0% Tb³⁺, sob excitação em 290 nm, e do filme (g) SF filme + 0,5% Eu³⁺, sob excitação em 365 nm.



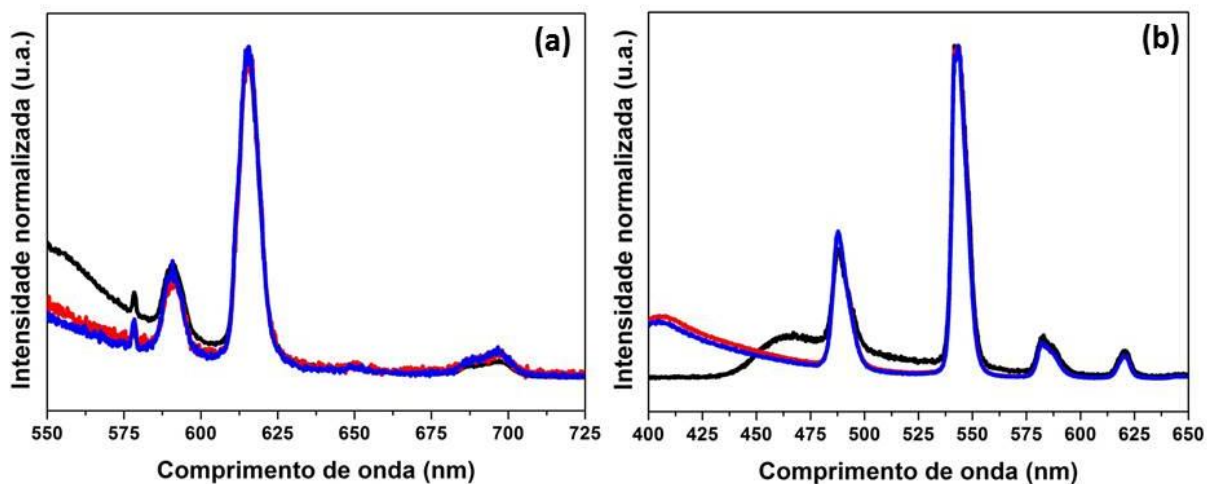
Fonte: Autora.

Os espectros de emissão para o filme SF filme + 2,0% Eu³⁺ (figura 38 (b)) apresentaram as transições características a partir do nível ⁵D₀ para os íons Eu³⁺ em 578, 590, 615, 650 e 695 nm (⁵D₀ → ⁷F₀; ⁷F₁; ⁷F₂; ⁷F₃ e ⁷F₄, respectivamente) [51]; e a alta intensidade da

transição ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_2$, associada à presença da transição ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_0$, estão de acordo com o fato de o íon Eu^{3+} estar inserido em um local de baixa simetria. Já nos espectros de emissão do filme SF filme + 2,0% Tb^{3+} (figura 38 (d)), observa-se as transições características do íon Tb^{3+} em 487, 543, 582 e 620 nm (${}^5D_4 \rightarrow {}^7F_6; {}^7F_5; {}^7F_4; {}^7F_3$) [78]. Ao analisar o tempo de vida para os estados excitados 5D_0 e 5D_4 , para os filmes SF filme + 2,0% Eu^{3+} e SF filme + 2,0% Tb^{3+} , respectivamente, também observamos comportamentos diferentes. No filme dopado com Eu^{3+} , o tempo de vida para o estado excitado 5D_0 foi de 0,35 ms ($\lambda_{\text{ex}} = 394 \text{ nm} - {}^7F_0 \rightarrow {}^5L_6$; $\lambda_{\text{ex}} = 615 \text{ nm} - {}^5D_0 \rightarrow {}^7F_2$), esse valor é coerente para o caso de o íon Eu^{3+} estar dentro de um ambiente hidrofóbico na matriz de SF [20], considerando que a presença de osciladores OH na esfera de coordenação do Eu^{3+} resulta em processos de decaimento não-radiativos induzidos por vibrações, como por exemplo, para o caso do $\text{EuCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (10^{-3} M em H_2O), onde o tempo de vida observado para o 5D_0 é de 0,11 ms [79]. Quando excitado diretamente no Trp ($\lambda_{\text{ex}} = 285 \text{ nm}$), o filme contendo Eu^{3+} apresentou um tempo de vida de 0,45 ms, o que representa um aumento de 29%, comparado à excitação diretamente no íon. Por outro lado, o filme dopado com íons Tb^{3+} (SF filme + 2,0% Tb^{3+}) apresentou tempo de vida de 0,45 ms, quando excitado diretamente na transição do íon ($\lambda_{\text{ex}} = 351 \text{ nm} - {}^7F_6 \rightarrow {}^5L_9 + {}^5D_2$), e de 0,78 ms quando excitado no Trp ($\lambda_{\text{ex}} = 292 \text{ nm}$), um aumento então de 73%.

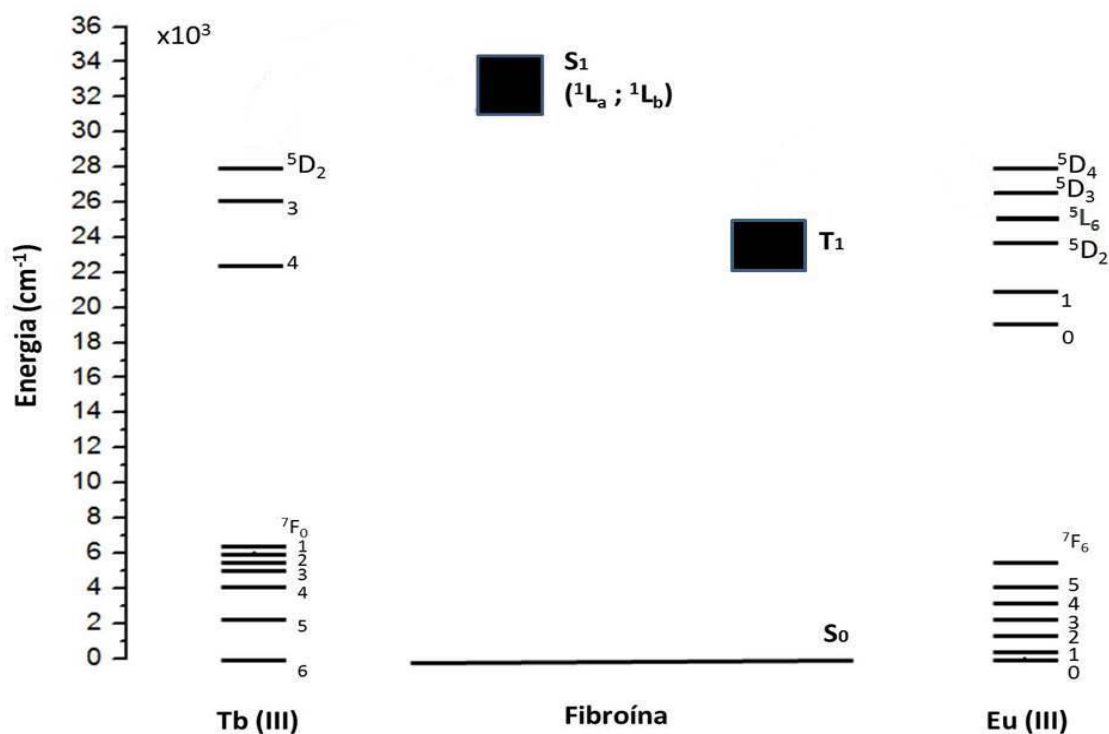
Na figura 39, têm-se os espectros de emissão dos filmes de Eu^{3+} e Tb^{3+} em diferentes concentrações, onde se pode observar que, basicamente, o perfil espectral manteve-se inalterado; e, apenas nos filmes com menor concentração de TR foi possível observar uma linha base mais elevada, devido à contribuição da luminescência da matriz, já que a intensidade de emissão dos íons TR nestes filmes foi menor.

Figura 39- Espectros de emissão dos filmes dopados com (a) Eu^{3+} (SF filme + 0,5% Eu^{3+} , linha preta; SF filme + 1,0% Eu^{3+} , linha vermelha; SF filme + 2,0% Eu^{3+} , linha azul) e com (b) Tb^{3+} em diferentes concentrações (SF filme + 0,5% Tb^{3+} , linha preta; SF filme + 1,0% Tb^{3+} , linha vermelha; SF filme + 2,0% Tb^{3+} , linha azul).



Fonte: Autora.

Figura 40- Diagrama de energia dos níveis singleto e tripleto da fibroína e dos níveis eletrônicos dos íons Tb^{3+} e Eu^{3+} .



Fonte: Autora.

Ao analisar a energia dos níveis singlete e tripleto para o Trp (figura 40), dois mecanismos de transferência de energia são possíveis: o primeiro a partir dos estados singletos (1L_a e 1L_b) deste aminoácido para os níveis de maior energia dos íons TR; e o segundo, a partir do seu estado tripleto para os níveis emissores do Eu^{3+} e do Tb^{3+} .

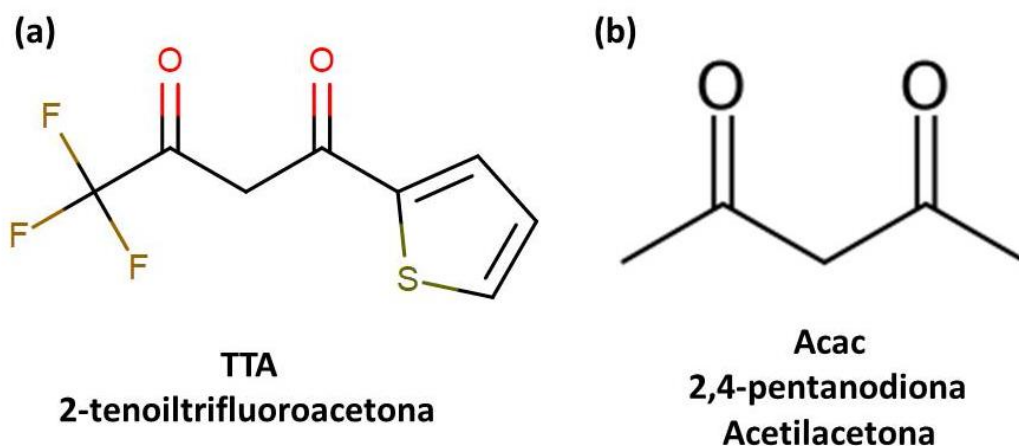
O nível emissor 5D_4 do íon Tb^{3+} possui energia muito próxima ao nível tripleto do aminoácido (Trp), o que pode gerar uma sobreposição quase ressonante destes níveis, e devido a mecanismos de retro-transferência causar a elevação do tempo de vida para o estado excitado 5D_4 do íon Tb^{3+} [80]. A mesma sobreposição energética não foi observada entre o nível tripleto da SF e o nível emissor 5D_0 do íon Eu^{3+} e como discutido na introdução desta dissertação, essa diferença energética tende a diminuir a eficiência da transferência de energia. Então, optou-se pela adição de um ligante que possua um nível tripleto com energia próxima ao nível 5D_0 do Eu^{3+} , para assim, aumentar a intensidade de emissão desse íon. Como será descrito a seguir (item 5.3), na preparação dos filmes foi adicionado o composto 2-tenoiltrifluoroacetona (TTA, energia do nível tripleto: 19364 cm^{-1} [73]), que apresenta um nível tripleto com energia muito próxima ao nível 5D_0 do Eu^{3+} . De forma similar, para entender o mecanismo de excitação do íon Tb^{3+} , o ligante acetilacetona (Acac, energia do nível tripleto: 25310 cm^{-1} [81]) foi utilizado na preparação dos filmes dopados com este íon.

5.3. Intensificação do “efeito antena” pela adição dos ligantes

Como já discutido na introdução (item 1.3), na forma complexada os íons TR (Ln^{3+}) têm sua luminescência intensificada devido à transferência de energia a partir de um ligante.

Visto isto, a adição de ligantes (representados na figura 41) aos filmes formados por SF e íons TR (itens 3.4 e 3.5) foi uma alternativa para intensificar a emissão destes íons. Análises por espectroscopia eletrônica na região do UV-Vis, térmica e de fotoluminescência foram utilizadas para caracterizar estes sistemas formados, e determinar se a presença desse ligante perturbou a estrutura da proteína.

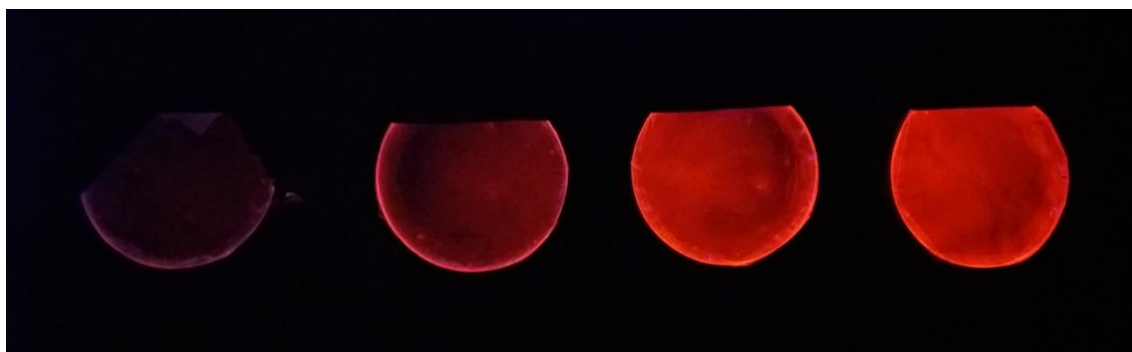
Figura 41- Estrutura dos ligantes (a) TTA e (b) Acac utilizados para intensificação do efeito antena nos filmes de SF e TR³⁺.



Fonte: (a) Retirado de [82] e (b) retirado de [83].

As amostra dopadas com íons Eu³⁺ na presença do ligante TTA (SF filme + 0,1% Eu³⁺ + TTA, SF filme + 0,5% Eu³⁺ + TTA, SF filme + 1,0% Eu³⁺ + TTA e SF filme + 2,0% Eu³⁺ + TTA, obtidas no item 3.4) foram observadas na presença de luz UV e a figura 42 ilustra a intensificação da luminescência apresentada por estes materiais, com a presença do ligante TTA e com o aumento progressivo da concentração dos íons TR. Visualmente, a presença do ligante proporcionou uma intensificação da emissão quando comparado, qualitativamente, com a figura 30.

Figura 42- Imagem mostrando a luminescência apresentada pelos filmes formados de SF na presença de íons Eu³⁺ e o ligante TTA. Da esquerda para a direita estão as amostras: SF filme + 0,1% Eu³⁺ + TTA, SF filme + 0,5% Eu³⁺ + TTA, SF filme + 1,0% Eu³⁺ + TTA e SF filme + 2,0% Eu³⁺ + TTA.

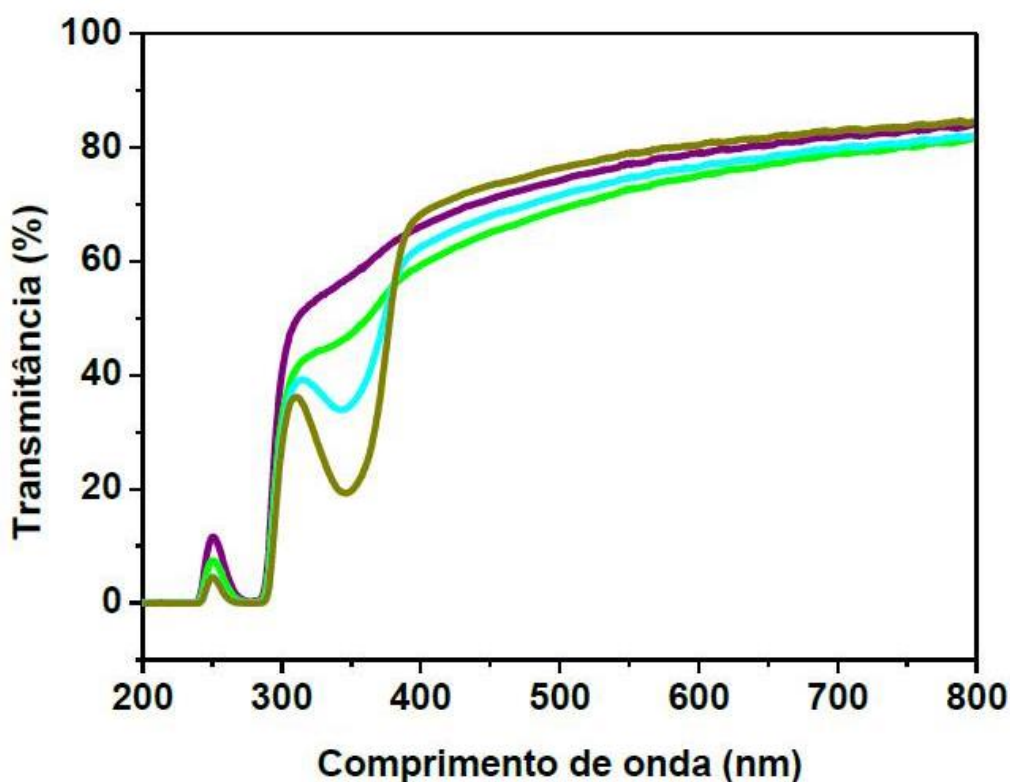


Fonte: Autora.

Espectroscopia Eletrônica na Região do UV-Vis

As amostras analisadas por UV-Vis foram: SF filme + 0,1% Eu^{3+} + TTA, SF filme + 0,5% Eu^{3+} + TTA, SF filme + 1,0% Eu^{3+} + TTA e SF filme + 2,0% Eu^{3+} + TTA (obtidas no item 3.4).

Figura 43- Espectros no UV-Vis dos filmes SF filme + 0,1% Eu^{3+} + TTA (roxo), SF filme + 0,5% Eu^{3+} + TTA (verde claro), SF filme + 1,0% Eu^{3+} + TTA (ciano) e SF filme + 2,0% Eu^{3+} + TTA (verde escuro).



Fonte: Autora.

Os espectros de UV-Vis, no modo transmitância, (figura 43), confirmam que os filmes ainda apresentam elevada transparência no visível, entretanto, a banda relativa à absorção característica do ligante TTA foi observada em aproximadamente 350 nm. Novamente, as transições referentes aos íons Eu^{3+} não foram observadas.

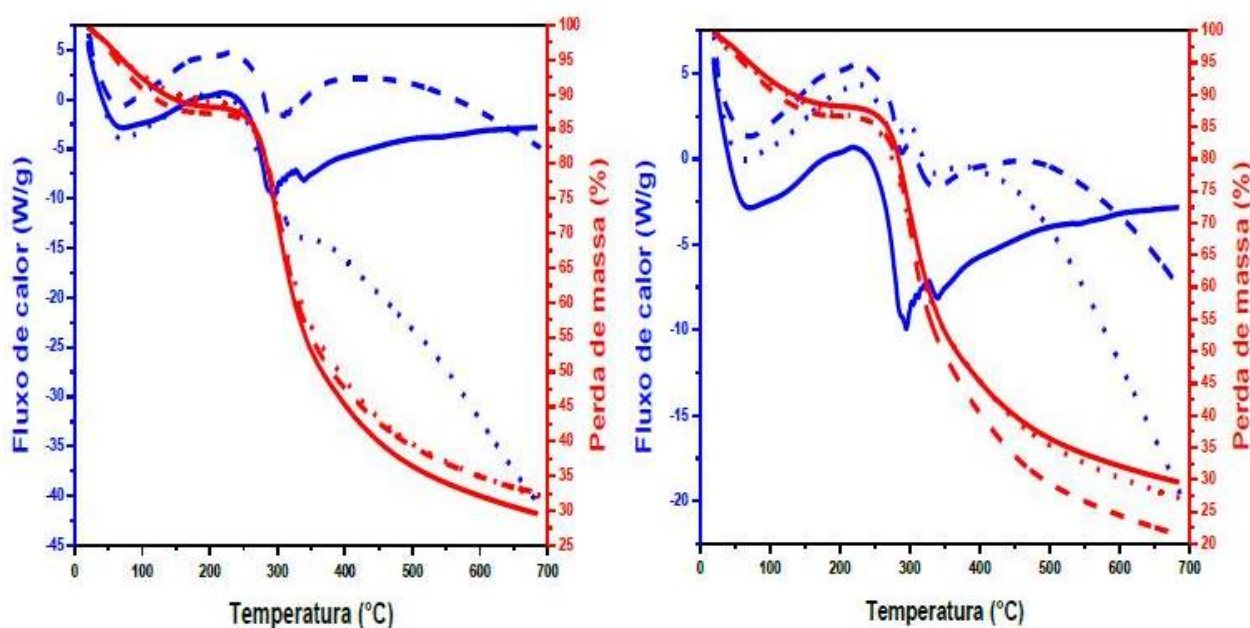
Análises Térmicas

As análises térmicas foram realizadas com aproximadamente 5 mg de material, na forma de filme. As amostras analisadas foram: SF filme puro (obtida no item 3.1), SF filme

+ 2,0% Eu^{3+} , SF filme + 2,0% Tb^{3+} (obtidas no item 3.2), SF filme + 2,0% Eu^{3+} + TTA (obtida no item 3.4) e SF filme + 2,0% Tb^{3+} + Acac (obtida no item 3.5)

A análise dos termogramas (Figura 44) indicou que a estabilidade térmica da SF na presença dos ligantes não sofreu grandes variações, mais evidente alteração foi observada na presença do ligante TTA, quando analisada a curva DSC. Na presença desse ligante, o evento exotérmico é deslocado para maiores temperaturas.

Figura 44- Análises térmicas dos filmes (esquerda) SF filme puro (linha contínua —), SF filme + 2,0% Eu^{3+} (linha tracejada - - -) e SF filme + 2,0% Eu^{3+} + TTA (linha pontilhada . . .). (direita) SF filme puro (linha contínua —), SF filme + 2,0% Tb^{3+} (linha tracejada - - -) e SF filme + 2,0% Tb^{3+} + Acac (linha pontilhada . . .). (vermelho) Curva do termograma (TGA) e (azul) curva de DSC (calorímetro diferencial de varredura), 20°C/min em atmosfera de N_2 .

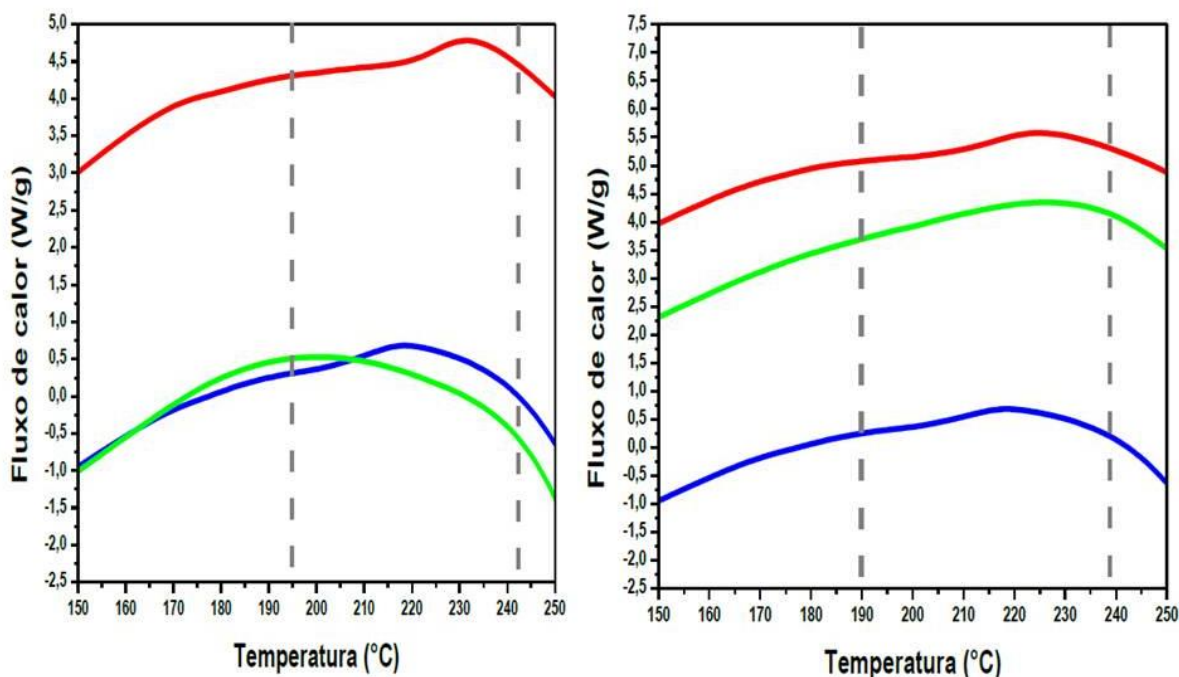


Fonte: Autora.

Esta mudança no comportamento térmico do filme na presença do ligante TTA é mais evidente na região do processo de transição vítrea (T_g) para a matriz de SF, figura 45. Inicialmente, na presença dos íons Eu^{3+} a T_g foi observada em temperatura superior e nos filmes preparados na presença do ligante TTA, a T_g não foi mais observada, o que pode sugerir uma interação do ligante e os aminoácidos da SF, gerando um efeito plastificante [84]. No caso do filme preparado na presença do ligante Acac, o perfil da curva não permite

afirmar que a Tg foi completamente suprimida ou simplesmente atenuada.

Figura 45- Análise térmica dos filmes (esquerda) SF filme puro (azul), SF filme + 2,0% Eu³⁺ (vermelho) e SF filme + 2,0% Eu³⁺ + TTA (verde); (direita) SF filme puro (azul), SF filme + 2,0% Tb³⁺ (vermelho) e SF filme + 2,0% Tb³⁺ + Acac (verde). Curva de DSC (calorímetro diferencial de varredura), 20°C/min em atmosfera de N₂, com destaque para a região onde ocorre a Tg (quadro pontilhado cinza).



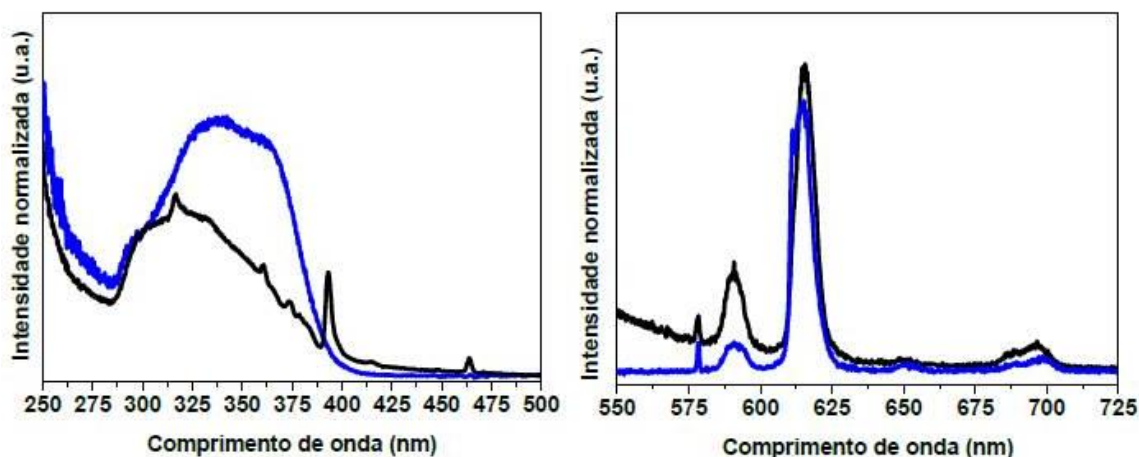
Fonte: Autora.

Espectroscopia de Fotoluminescência

A inserção do ligante TTA alterou o perfil de excitação do íon Eu³⁺, não sendo mais evidentes as transições intra f-f para o íon TR e sim uma banda intensa característica da beta-dicetona, este comportamento era esperado uma vez que o nível tripleto (19364 cm⁻¹ [56]) para o TTA está energeticamente próximo do nível ⁵D₀ para o íon Eu³⁺ (figura 40). Mesmo o ligante sendo pouquíssimo solúvel em água, a metodologia descrita no item 3.4 permitiu a inclusão deste na matriz de SF. Contudo, o perfil das bandas de emissão para o íon Eu³⁺ foi pouco alterado, quando comparado ao filme SF filme + 2,0% Eu³⁺, o que inicialmente poderia indicar a não formação do composto de coordenação Eu(TTA)₃(H₂O)₂. Entretanto, a razão entre a intensidade das transições ⁵D₀ → ⁷F₂ / ⁵D₀ → ⁷F₁ passou de 3,35 à 17,10, entre os filmes SF filme + 2,0% Eu³⁺ e SF filme + 2,0% Eu³⁺ + TTA, respectivamente, sugerindo

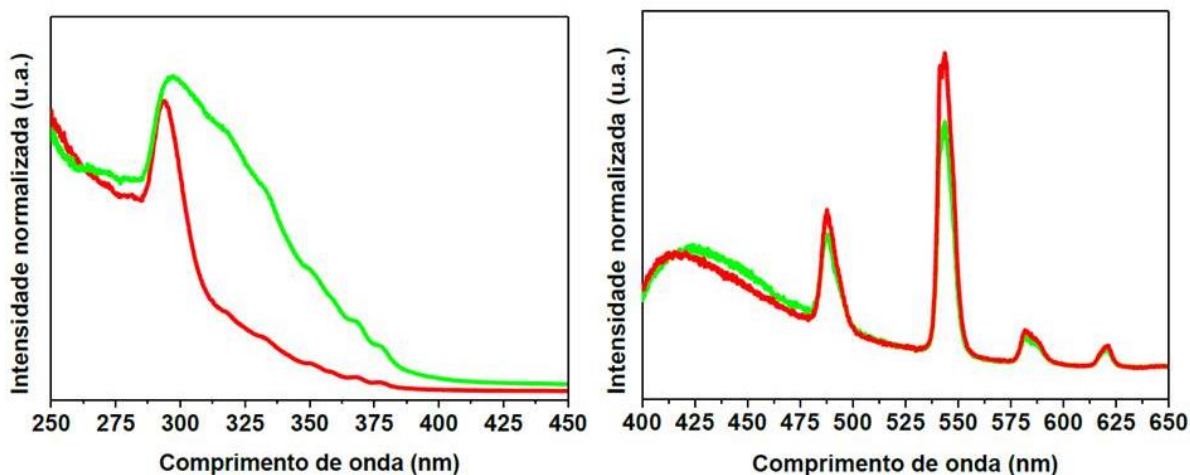
um aumento na assimetria do ambiente de coordenação do íon Eu^{3+} . Contudo o tempo de vida para o estado excitado $^5\text{D}_0$ foi determinado em 0,45 ms para ambos os filmes.

Figura 46- (esquerda) Espectros de excitação para os filmes SF filme + 2,0% Eu^{3+} (linha preta, λ_{em} 612nm) e SF filme + 2,0% Eu^{3+} +TTA (linha azul, λ_{em} 612nm). (direita) Espectros de emissão para os mesmos SF filme + 2,0% Eu^{3+} (linha preta, λ_{ex} 285nm) e SF filme + 2,0% Eu^{3+} +TTA (linha azul, λ_{ex} 360nm).



Fonte: Autora.

Figura 47- (esquerda) Espectros de excitação para os filmes SF filme + 2,0% Tb^{3+} (linha vermelha, λ_{em} 544nm) e SF filme + 2,0% Tb^{3+} +Acac (linha verde, λ_{em} 544nm). (direita) Espectros de emissão para os mesmos SF filme + 2,0% Tb^{3+} (linha vermelha, λ_{ex} 325nm) e SF filme + 2,0% Tb^{3+} +Acac (linha verde, λ_{ex} 351nm).



Fonte: Autora.

Para os filmes SF filme + 2,0% Tb³⁺ e SF filme + 2,0% Tb³⁺ + Acac, ocorreu um alargamento da banda de excitação, com máximo em 292 nm e aparecimento de um ombro em 325 nm, referente a excitação no ligante Acac [81]. Contrário ao observado com o TTA, a presença do Acac não gerou uma efeito antena mais pronunciado, isso porque o nível tripleto desta beta-dicetona (25310 cm⁻¹) está em energia mais alta que o nível tripleto do Trp de mais baixa energia (aproximadamente 23000 cm⁻¹). O tempo de vida para o estado excitado ⁵D₄ para o íon Tb³⁺ permaneceu em 0,79 ms (quando excitado no Trp, λ_{ex} 292 nm), já quando excitado na banda resultante da adição do ligante Acac, em 325nm, o tempo de vida obtido foi de 0,54 ms, superior ao observado quando excitado diretamente no TR.

Na tabela 2, tem-se os valores dos parâmetros de intensidade de Judd-Ofelt (Ω_2 e Ω_4), tempos de vida radiativo e experimental (τ_{rad} e $\tau_{\text{experimental}}$) e eficiência quântica do nível ⁵D₀ (η) calculados para as amostras SF filme + 0,1% Eu³⁺, SF filme + 0,5% Eu³⁺, SF filme + 1,0% Eu³⁺, SF filme + 2,0% Eu³⁺ (obtidas no item 5.2, λ_{ex}= 285 nm), SF filme + 0,1% Eu³⁺ + TTA, SF filme + 0,5% Eu³⁺ + TTA, SF filme + 1,0% Eu³⁺ + TTA e SF filme + 2,0% Eu³⁺ + TTA (obtidas no item 3.4, λ_{ex}= 360 nm).

Tabela 2- Parâmetros de intensidade de Judd-Ofelt (Ω_2 e Ω_4), tempos de vida radiativo e experimental (τ_{rad} e $\tau_{\text{experimental}}$) e eficiência quântica do nível ⁵D₀ (η)

AMOSTRAS	Ω_2 (x10 ⁻²⁰ cm ²)	Ω_4 (x10 ⁻²¹ cm ²)	τ_{rad} (ms)	$\tau_{\text{experimental}}$ (ms)	η (%)
SF_filme + 0,1% Eu ³⁺	9,147	8,956	2,56	0,55	21
SF_filme + 0,5% Eu ³⁺	8,804	8,520	2,66	0,50	19
SF_filme + 1,0% Eu ³⁺	8,403	11,780	2,69	0,50	18
SF_filme + 2,0% Eu ³⁺	7,334	11,130	2,99	0,45	15
SF_filme + 0,1% Eu ³⁺ + TTA	16,567	10,902	1,55	0,50	32
SF_filme + 0,5% Eu ³⁺ + TTA	19,438	11,079	1,34	0,55	41
SF_filme + 1,0% Eu ³⁺ + TTA	17,790	12,936	1,42	0,45	32
SF_filme + 2,0% Eu ³⁺ + TTA	19,443	14,682	1,32	0,45	34

Fonte: Autora.

De acordo com os dados de Malta et. al. [65], os valores dos parâmetros Ω_2 e Ω_4 para um complexo $[\text{Eu}(\text{TTA})_3(\text{H}_2\text{O})_2]$ são: $\Omega_2 = 33,0 \times 10^{-20} \text{ cm}^2$ e $\Omega_4 = 4,6 \times 10^{-21} \text{ cm}^2$. As diferenças encontradas nos valores de Ω_2 para as amostras SF filme + X% Eu^{3+} + TTA, em relação as amostras sem o ligante TTA, leva a conclusão de que o ligante influencia na simetria de coordenação do íon Eu^{3+} . Contudo, seja pela proporção $\text{TR}/\text{TTA} = 1$ para todas as amostras, ou pela possível interação do TR com a SF, a formação de complexo $\text{Eu}(\text{TTA})_3$ não deve estar ocorrendo. Entretanto, o aumento nos valores de Ω_4 para as amostras SF filme + X% Eu^{3+} + TTA foi um indicativo da variação da covalência entre os átomos de ligação com o Eu^{3+} [55], além do fato da banda relativa a transição ${}^5\text{D}_0 \rightarrow {}^7\text{F}_0$ (relativamente de baixa intensidade) apresentar intensidade da mesma ordem que a transição ${}^5\text{D}_0 \rightarrow {}^7\text{F}_1$ (figura 46), como relatado por Binnemans [51] esta banda (${}^5\text{D}_0 \rightarrow {}^7\text{F}_0$) é excepcionalmente intensa em complexos frente a ligantes beta-dicetonas.

Os diferentes tempos de vida observados para as amostras é devido ao fato de os íons Eu^{3+} estarem ocupando diferentes sítios de coordenação dentro da matriz de SF. Para calcular estes tempo de vida, utilizou-se da razão I/e , e as curvas de tempo de vida obtidas para as amostras estão mostradas na figura 48 (SF_filme + X% Eu^{3+}) e figura 49 (SF_filme + X% Eu^{3+} + TTA).

Figura 48- Curvas de tempo de vida de luminescência dos filmes (a) SF filme + 0,1% Eu^{3+} , (b) SF filme + 0,5% Eu^{3+} , (c) SF filme + 1,0% Eu^{3+} e (d) SF filme + 2,0% Eu^{3+} (linha preta $\lambda_{\text{ex}}= 285 \text{ nm}$ e linha vermelha $\lambda_{\text{ex}}= 394 \text{ nm}$). As curvas correspondentes em azul (ex: (a')) representam o \ln da intensidade.

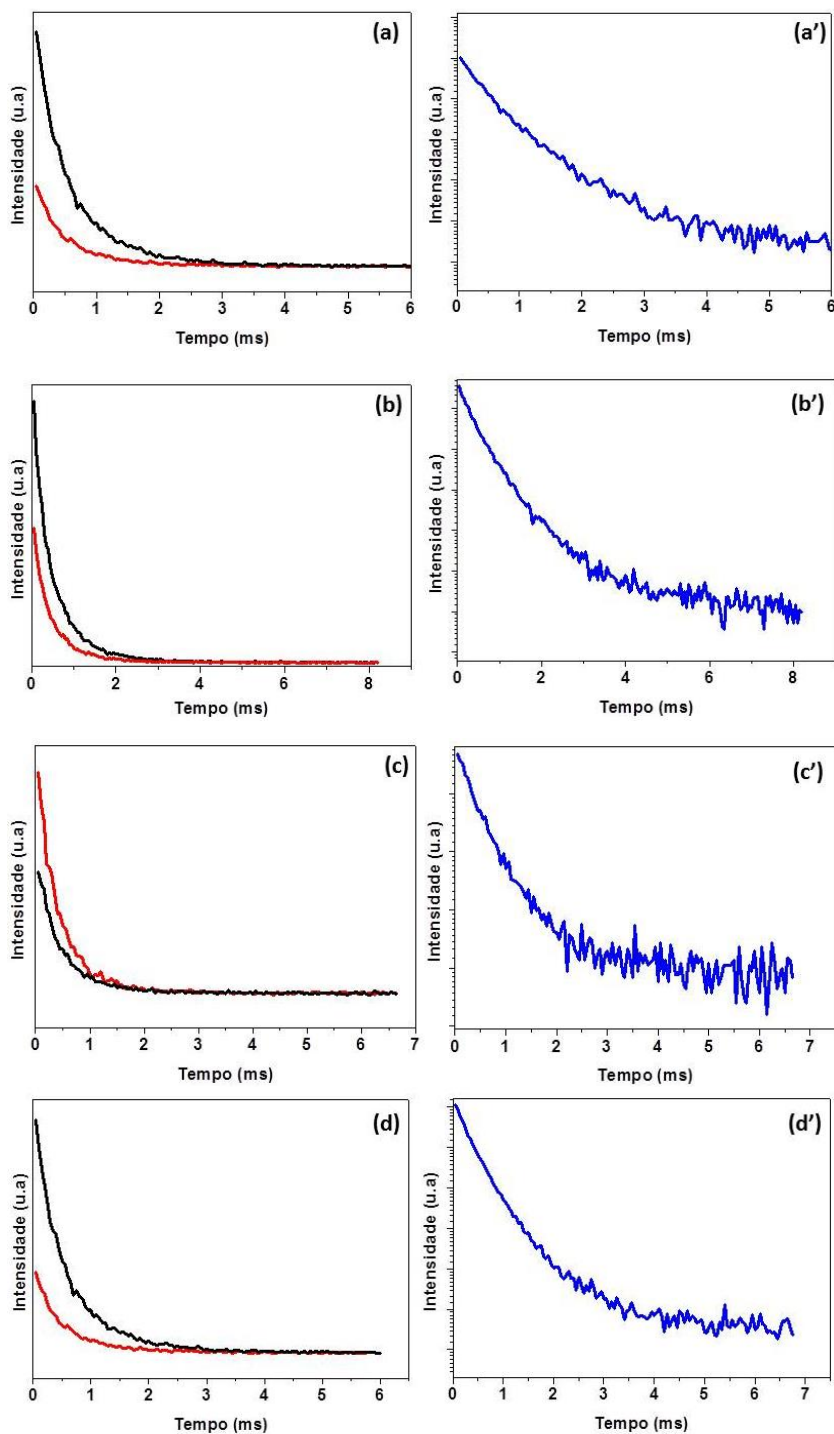
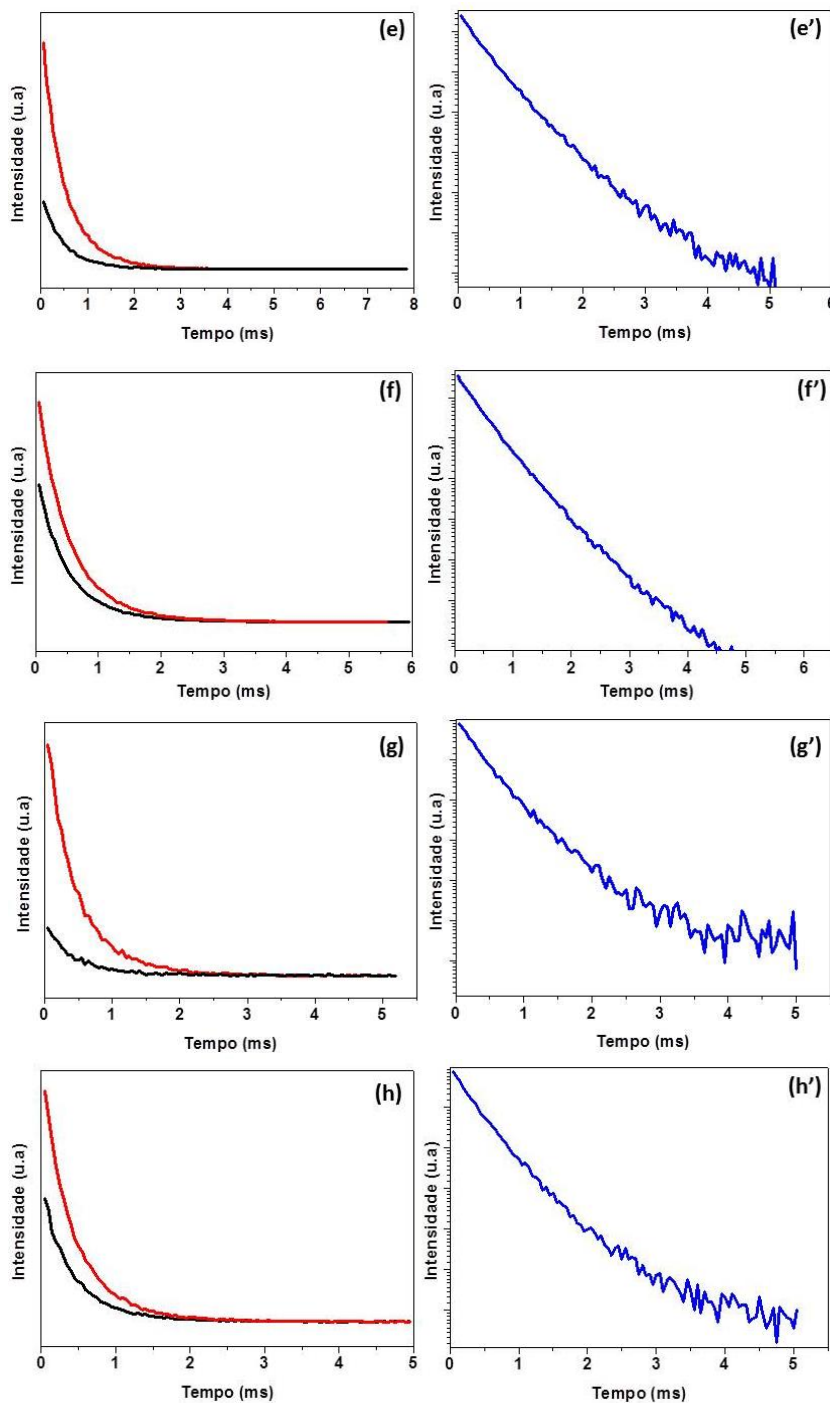


Figura 49- Curvas de tempo de vida de luminescência dos filmes (e) SF filme + 0,1% Eu^{3+} + TTA, (f) SF filme + 0,5% Eu^{3+} + TTA, (g) SF filme + 1,0% Eu^{3+} + TTA e (h) SF filme + 2,0% Eu^{3+} + TTA (linha preta $\lambda_{\text{ex}}= 293,4$ nm e linha vermelha $\lambda_{\text{ex}}= 360$ nm). As curvas correspondentes em azul (ex: e') representam o \ln da intensidade.



6. Conclusão

A proposta inicial deste trabalho, estudo das propriedades de SF dopadas com íons TR e também, estudo espectroscópico dos íons TR imersos nesta matriz, foi realizada conforme o previsto. Inicialmente, os resultados obtidos mostraram que a presença dos íons TR não influenciou na estrutura da matriz, independentemente da proporção inserida. Assim, estes sistemas obtidos apresentam potencial para aplicação no desenvolvimento de dispositivos fotônicos baseados em SF, pois, apesar de não haver influência nas propriedades da matriz na presença dos íons, há sim uma interação entre eles e os aminoácidos que constitui a matriz. Através de dados experimentais, foi possível a determinação do valor energético do estado tripleto do Trp, que nos auxiliou na determinação do mecanismo de transferência de energia, resultante da interação aminoácido – TR, e na melhora dos parâmetros de emissão dos íons TR dentro da matriz. A princípio, era esperado que o íon Eu^{3+} fosse melhor excitado por transferência de energia através dos resíduos de Trp; porém, o valor energético para o estado tripleto do Trp não apresentou condição ressonante com o nível emissor $^5\text{D}_0$ do íon Eu^{3+} . Embora tenha sido possível uma sensibilização destes íons e melhora no tempo de vida, esta foi limitada. Já no caso das amostras dopadas com íons Tb^{3+} , a transferência de energia via estado tripleto do Trp ocorreu de forma mais satisfatória, devido ao fato de este nível estar próximo em energia ao nível emissor $^5\text{D}_4$ do íon TR, levando a concluir que, a sensibilização dos íons (Eu^{3+} e Tb^{3+}) apresentou eficiência distinta, quando realizadas via Trp.

No que diz respeito à adição de ligantes beta-dicetonas (TTA e Acac), comportamentos distintos também foram observados. A maior eficiência do ligante TTA, e a melhor sobreposição energética deste ligante ao nível emissor $^5\text{D}_0$ do íon Eu^{3+} , permitiu um aumento significativo na intensidade de luminescência do íon TR. Por outro lado, o conhecido ligante Acac, que excita eficientemente o íon Tb^{3+} , neste estudo, não levou a melhoras nos parâmetros de emissão deste íon. Uma possível explicação deve-se ao fato que o nível tripleto do Acac está em energia superior ao nível tripleto do Trp e também ao nível $^5\text{D}_4$ do íon TR, permitindo que excitação ocorre preferencialmente via excitação na matriz de SF. De uma forma geral, podemos dizer que os compostos de SF dopados com íons TR apresentaram luminescência importante, e as propriedades de emissão puderam ser intensificadas na presença do ligante TTA, para as amostras dopadas com Eu^{3+} , o que permite concluir que este trabalho indicou um caminho para futuros estudos com outros ligantes de interesse, para intensificar a emissão de TR nessa matriz, bem como inserir funcionalidades distintas.

7. Perspectivas

Como já apresentado na introdução (item 1.1), um conjunto de múltiplos espalhamentos aleatórios pode resultar em emissão laser randômico. Neste sentido, nanopartículas podem ser utilizadas na criação deste ambiente randômico, tendo estas à função de meio espalhador e/ou meio emissor.

Visto isto, nanopartículas de $\text{YVO}_4:\text{Nd}^{3+}$ (responsáveis pela emissão e espalhamento) foram sintetizadas e é prevista a incorporadas em matriz de SF, criando um sistema difuso com potencial para aprisionar a luz por múltiplos espalhamentos e permitir a amplificação de sinal e conseqüentemente, a emissão laser.

7.1. Síntese de nanopartículas de $\text{YVO}_4:\text{Nd}^{3+}$

Para a síntese das nanopartículas de Vanadato de Ítrio dopadas com Neodímio ($\text{YVO}_4:\text{Nd}^{3+}$) [85] adicionou-se 1 mL de solução 0,1 M de Nitrato de Neodímio ($\text{Nd}(\text{NO}_3)_3$) a um balão reacional de fundo redondo, seguido da adição de 9 mL de solução 0,1 M de Nitrato de Ítrio ($\text{Y}(\text{NO}_3)_3$). O meio foi levado à agitação e 7,5 mL de Citrato de Sódio (Na_3Cit) foram adicionados gota a gota. Observou-se que o meio ficou turvo. Em seguida, adicionou-se, também gota a gota, 10 mL de solução 0,1 M de Vanadato de Sódio (Na_3VO_4), e o meio tornou-se novamente límpido. A reação foi então mantida sob agitação e aquecimento ($T=60^\circ\text{C}$) por 1 hora, e a suspensão resultante foi transferida para uma membrana de diálise e dialisada contra 1 L de água Milli-Q por 72 horas (com 4 trocas de água durante o período). Após este período, retirou-se uma alíquota de 1 mL da solução formada e o volume restante foi levado para liofilização, que ocorreu em dois momentos distintos.

→ **Produtos:** Nanopartículas de $\text{YVO}_4:\text{Nd}^{3+}$ (solução)

Nanopartículas de $\text{YVO}_4:\text{Nd}^{3+}$ (liofilizado) (1)

Nanopartículas de $\text{YVO}_4:\text{Nd}^{3+}$ (liofilizado) (2)

7.2. Resultados prévios

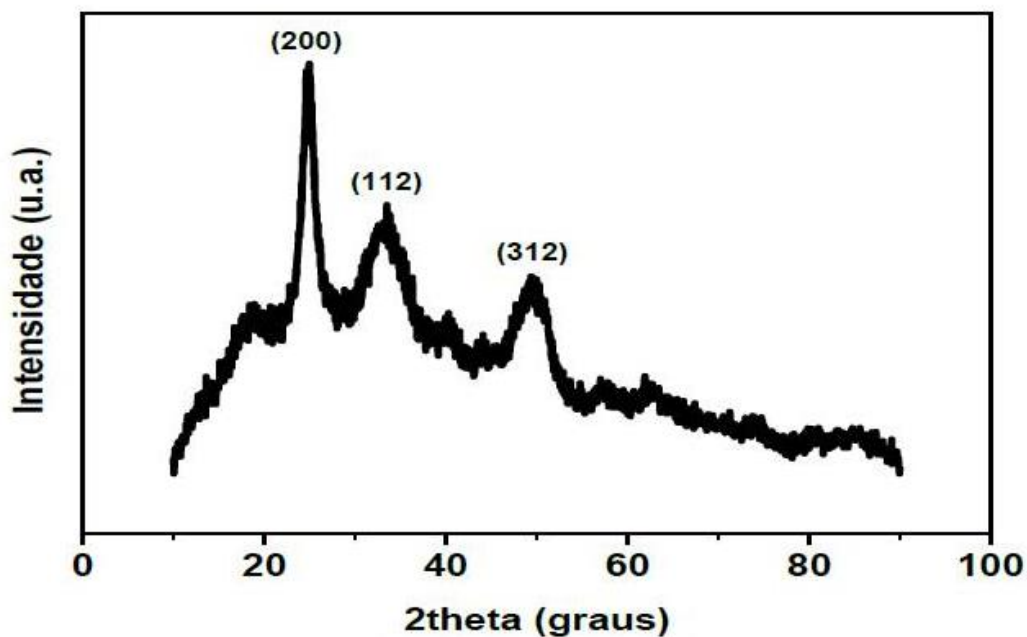
Como relatado na literatura [86], o uso do íon Nd^{3+} tem apresentado resultados promissores no que diz respeito a emissões laser randômica. Neste sentido, iniciou-se os primeiros testes neste trabalho com as nanopartículas de $\text{YVO}_4:\text{Nd}^{3+}$.

Estas nanopartículas de $\text{YVO}_4:\text{Nd}^{3+}$ -liofilizadas obtidas pelo método de co-

precipitação [85] (item 7.1) foram analisadas, na forma de pó, através de Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET), Espalhamento Dinâmico da Luz (DLS), Espectroscopia de Fotoluminescência e Difração de Raio X (DRX).

Difração de Raio X (DRX)

Figura 50- Difratoograma de raios X das partículas de $\text{YVO}_4:\text{Nd}^{3+}$ (item 7.1).



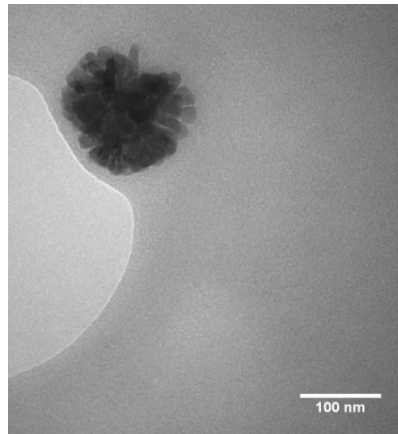
Fonte: Autora.

O difratograma de raios X (figura 50) ilustra a ocorrência de picos relativos aos planos (200), (112) e (312) nas posições 2θ iguais a 25, 33 e 50°, respectivamente, o que confirma a estrutura para o YVO_4 (JCPDS 17-0341). Os picos alargados indicam baixa cristalinidade e apresenta cristalito de tamanhos pequenos [87]. Estes cristalitos foram calculados por meio da equação de Scherrer e apresentaram valor médio de 3,8 nm.

Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

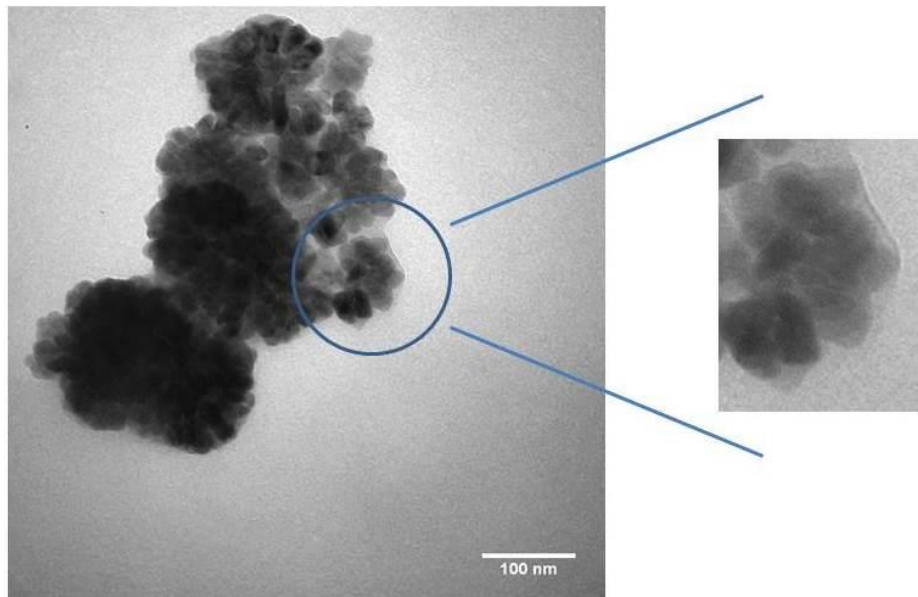
Apesar do tamanho de cristalito ser reduzido, as imagens de MET (figuras 51 e 52) indicam que as partículas são muito maiores, desde aproximadamente 100 nm a 1 μm . Em adição, foi possível observar que as partículas são formadas por agregados de partículas menores (entre 10 e 25 nm).

Figura 51-Imagem obtida por MET das partículas de $\text{YVO}_4:\text{Nd}^{3+}$ -liofilizadas (item 7.1).



Fonte: Autora

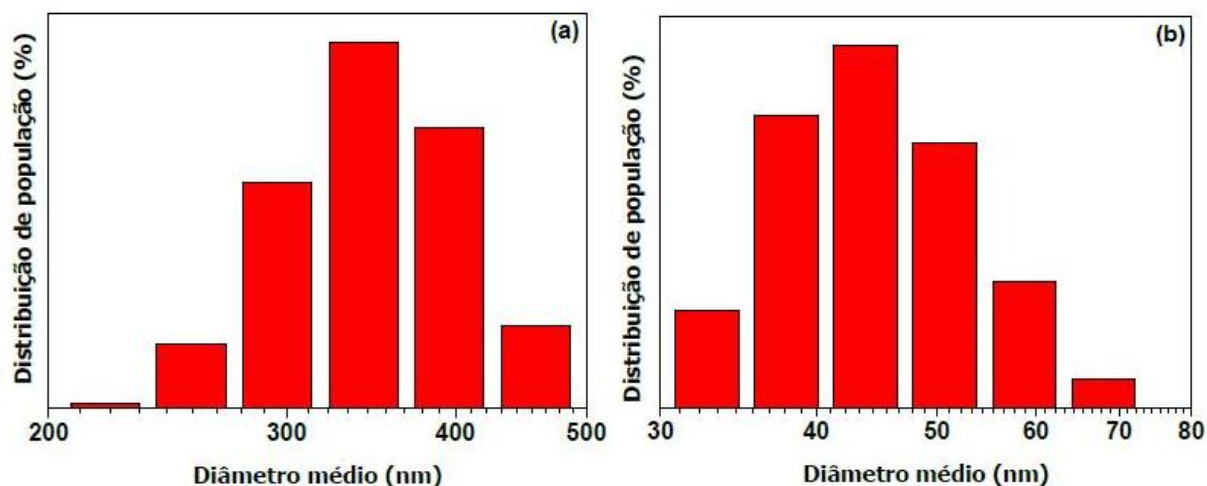
Figura 52- (direita) Imagem obtida por MET das partículas de $\text{YVO}_4:\text{Nd}^{3+}$ -liofilizadas (item 7.1) e (esquerda) “zoom” mostrando os agregados formados por estas partículas.



Fonte: Autora.

Espalhamento Dinâmico da Luz (DLS)

Figura 53- Histograma da distribuição de tamanho das partículas de (a) $\text{YVO}_4:\text{Nd}^{3+}$ -liofilizadas (1) e (b) $\text{YVO}_4:\text{Nd}^{3+}$ -liofilizadas (2).

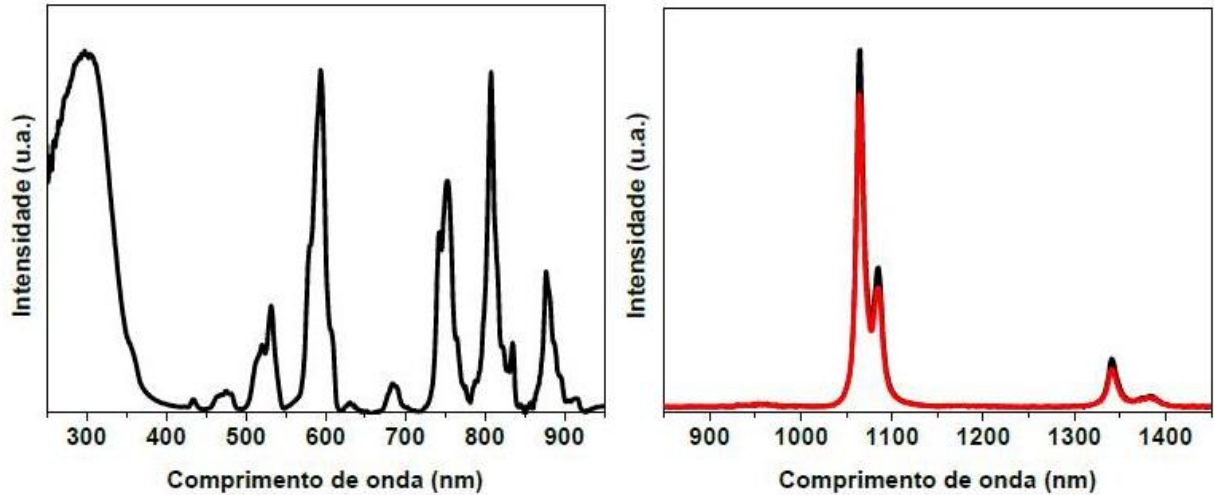


Fonte: Autora.

As análises de DLS ilustram resultados para as partículas liofilizadas em momentos diferentes, por exemplo, as partículas denominadas liofilizadas (1), após a diálise, foram congeladas em N_2 líquido e liofilizadas. As partículas liofilizadas (2), por problemas técnicos, foram inicialmente congeladas em N_2 líquido, mas depois foram descongeladas e congeladas em freezer ($T = -80^\circ\text{C}$). Possivelmente estes diferentes processos de congelamento ocasionaram diferentes agregações nas partículas. Como observado por MET e comparando ao histograma via DLS (figura 53) pode-se observar que as partículas obtidas em um primeiro momento ($\text{YVO}_4:\text{Nd}^{3+}$ -liofilizadas (1)) apresentam-se aglomeradas. Por outro lado, o sistema intitulado $\text{YVO}_4:\text{Nd}^{3+}$ -liofilizadas (2) apresenta-se mais dispersos, com diâmetro hidrodinâmico mais próximo em dimensão ao tamanho das partículas menores observadas por MET. Cabe ressaltar que o valor calculado através da equação de Scherrer está relacionado ao tamanho do cristalito e não da partícula, pois essa pode ser formada por diversos cristalitos.

Espectroscopia de Fotoluminescência

Figura 54- Espectros de (esquerda) excitação ($\lambda_{em}= 1064$ nm) e de (direita) emissão (linha preta, $\lambda_{ex}= 295$ nm e linha vermelha, $\lambda_{ex}= 594$ nm) para as partículas de $YVO_4:Nd^{3+}$.



Fonte: Autora.

As partículas de $YVO_4:Nd^{3+}$ deverão atuar como meios espalhador e emissor e portanto, também foi necessário estudos sobre suas propriedades luminescências (figura 54). No espectro de excitação ($\lambda_{em}= 1064$ nm) o que observou-se foi uma banda larga em torno de 300 nm, referente à transferência de carga dos oxigênios para o metal (O-V) no grupo vanadato, além de bandas referentes às transições do Nd^{3+} , situadas em 358, 453, 477, 532, 594, 684, 753, 808 e 880 nm ($^4I_{9/2} \rightarrow ^4D_{3/2}$, $^4D_{1/2}$; $^5D_{5/2}$; $^4G_{9/2}$, $^4G_{11/2}$, $^2K_{15/2}$; $^4G_{7/2}$, $^4G_{9/2}$, $^2K_{13/2}$; $^4G_{5/2}$, $^4G_{7/2}$, $^2H_{11/2}$; $^4F_{9/2}$; $^4F_{7/2}$, $^4S_{3/2}$; $^4F_{5/2}$, $^2H_{9/2}$ e $^4F_{3/2}$, respectivamente). Nos espectros de emissão ($\lambda_{ex}= 295$ e 594 nm) há uma banda em 1050 nm, de maior intensidade, e uma em 1350 nm ($^4F_{3/2} \rightarrow ^4I_{11/2}$ e $^4I_{13/2}$, respectivamente), também características do íon Nd^{3+} [87-91].

Os resultados até aqui compilados indicam que as partículas de $YVO_4:Nd^{3+}$ estão aptas para serem inseridas na matriz de SF para futuros testes de emissão laser em ambiente randômico.

8. Referências

- [1] Yariv, A. *Quantum electronics*; Editora John Wiley & Sons: Toronto, Canadá, **1989**.
- [2] Chai, Y. *Applied Photonics*; Editora Elsevier: San Diego, Califórnia, **2012**.
- [3] Wiersma, D. S. The smallest random laser. *Nat.* **2000**, 406, 132–133.
- [4] Nelson, D. L.; Cox, M. *Lehninger – Princípios de Bioquímica*; Editora Sarvier: São Paulo, Brasil, **2006**.
- [5] Altman, G. H.; Diaz F.; Jakuba, C.; Calabro, T.; Horan, R. L.; Chen, J.; Lu, H.; Richmond, J.; Kaplan, D. L. Silk-based biomaterials. *Biomater.* **2003**, 24, 401-416.
- [6] Imsombut, T.; Srisuruan, Y.; Srihanam, P.; Baimark, Y. Gripin-cross-linked silk fibroin microspheres prepared by the simple water-in-oil emulsion solvent diffusion method. *Power Technol.* **2010**, 203, 603-608.
- [7] Lawrence, B. D.; Cronin-Golomb, M.; Georgakoudi, I.; Kaplan, D. L.; Omenetto, F. G. Bioactive silk protein biomaterial systems for optical devices. *Biomacromol.* **2008**, 9, 1214-1220.
- [8] Kim, D.; Viventi, J. Dissolvable films of silk fibroin for ultrathin conformal bio-integrated electronics. *Nat. Mater.* **2010**, 464, 1-7.
- [9] Harkin, D. G.; George, K. A.; Madden, P. W.; Schwab, I. R.; Hutmacher, D. W.; Chirila, T. V. Silk fibroin in ocular tissue reconstruction. *Biomater.* **2011**, 32, 2445-2458.
- [10] Toffanin, S.; Kim, S.; Cavallini, S.; Natali, M.; Benfenati, V.; Amsten, J. J.; Kaplan, D. L.; Zamboni, R.; Muccini, M.; Omenetto, F. G. Low-threshold blue lasing from silk fibroin thin films. *Appl. Phys. Lett.* **2012**, 101, 091110.
- [11] Eichhorn, M. Quasi-three-level solid-state lasers in the near and mid infrared based on trivalent rare earth ions. *Appl. Phys.* **2008**, 93, 269-316.
- [12] de Souza Filho, P. C.; Serra, O. A. Terras Raras no Brasil: Histórico, produção e perspectivas. *Quim. Nova.* **2014**, 37, n. 4, 753-760.
- [13] Slooff, L. H.; Blaaderen, A.; Polman, A. Rare-earth doped polymers for planar optical amplifiers. *J. Appl. Phys.* **2002**, 91, 3955-3980.
- [14] Maniloff, E. S.; Johnson, A. E.; Mossberg, T. W. Spectral data storage using Rare-Earth-doped Crystals. *MRS Bulletin.* **1999**, 24, 46-50.
- [15] Yang, Y.; Shao, Z.; Chen, X.; Zhou, P. Optical Spectroscopy To Investigate the Structure of Regenerated *Bombyx mori* Silk Fibroin in Solution. *Biomacromol.* **2004**, 5, 773-779.
- analysis and experimental. *Opt. Exp.* **2008**, 16, n. 21, 16680-16690.

- [16] Breen, P. J.; Hild, E. K.; Harrocks Jr., W.D. Spectroscopic Studies of Metal Ion Binding to a Tryptophan-Containing Parvalbumin. *Biochem.* **1985**, 24, 4991-4997.
- [17] Harrocks, Jr., W. D.; Collier, W. E. Lanthanide Ion Luminescence Probes. Measurement of Distance between Intrinsic Protein Fluorophores and Bound Metal Ions: Quantitation of Energy Transfer between Tryptophan and Terbium (III) or Europium (III) in the Calcium-Binding Protein Palvalbumin. *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, 103, 2856-2862.
- [18] Supkowski, R. M.; Bolender, J. P.; Smith, W. D.; Reynolds, L. E. L.; Harrocks Jr., W. D. Lanthanide ions as redox probes of long-range electron transfer in proteins. *Coord. Chem. Rev.* **1999**, 185, 307-319.
- [19] Zaharia, C.; Tudora, M. R.; Stanescu, P. O.; Vasile, E.; Cincu, C. Silk fibroin films for tissue bioengineering applications. *J. Optoelectron. Adv. M.* **2012**, 14, n. 12, 163-168.
- [20] Rockwood, D. N.; Preda, R. C.; Yucel, T.; Wang, X.; Lovett, M. L.; Kaplan, D. L. Materials fabrication from *Bombyx mori* silk fibroin. *Nat. protocols.* **2011**, 6, 1612-1631.
- [21] Chen, X.; Knight, D. P.; Shao, Z.; Vollrath, F. Regenerated *Bombyx mori* solutions studied with rheometry and FTIR. *Polyme.* **2001**, 42, 9969-9974.
- [22] Tanaka, K.; Kajiyama, N.; Ishikura, K.; Waga, S.; Kikuchi, A.; Ohtomo, K.; Takagi, T.; Mizuno, S. Determination of the site of disulfide linkage between heavy and light chains of silk fibroin produced by *Bombyx mori*. *Biochim. Biophys. Acta.* **1999**, 1432, 92-103.
- [23] Motta, A.; Fambri, L.; Migliaresi, C. Regenerated Silk Fibroin Films: Thermal and Dynamic Mechanical Analysis. *Macromol. Chem. Phys.* **2002**, 203, 1658-1665.
- [24] Retirado de <<http://www.dremerson.com.br/sem-categoria/o-que-sao-proteinas-e-aminoacidos/>>. Acesso em 25/08/2017 às 17h30min.
- [25] Retirado de <<https://es.wikipedia.org/wiki/Fibroína>>. Acesso em 06/03/2017 às 09h05min.
- [26] Retirado de <https://pt.wikipedia.org/wiki/Linus_Pauling>. Acesso em 06/03/2017 às 10h24min.
- [27] Retirado de <<https://pt.slideshare.net/krirocha/protenas-estrutura-e-funes-gerais>>. Acesso em 06/03/2017 às 11h00min.
- [28] Retirado de <<http://www.usp.br/aun/exibir?id=7780>>. Acesso em 07/03/2017 às 09h34min.
- [29] Retirado de <<http://oscarbrisolara.blogspot.com.br/2016/08/a-china-e-nova-rota-da-seda.html>>. Acesso em 25/08/2017 às 18h15min.
- [30] Sabbag, O. J.; Nicodemo, D.; Oliveira, J. E. M. Custos e viabilidade econômica da

- produção de casulos do bicho-da-seda. *Pesq. Agropec. Trop.* **2013**, 43, 187-194.
- [31] Coleman, D.; Howitt, F. O. Studies on silk protein; the properties and constitution of fibroin; the conversion of fibroin into a water-soluble form and its bearing on the phenomenon of denaturation. *J. R. Soc. Med.* **1947**, 134, 544.
- [32] Marsh, R. E.; Corey, R. B.; Pauling, L. An investigation on the structure of silk fibroin. *Biochim. Biophys. Acta.* **1955**, 16, 1-34.
- [33] Fini, M.; Motta, A.; Torricelli, P.; Giavaresi, G.; Nicoli Aldini, N.; Tschon, M.; Giardino, R.; Migliaresi, C. The healing of confined critical size cancellous defects in the presence of silk fibroin hydrogel. *Biomater.* **2005**, 26, 3527-3536.
- [34] Wang, X.; Wenk, E.; Matsumoto, A.; Meinel, L.; Li, C.; Kaplan, D. L. Silk microspheres for encapsulation and controlled release. *J. Control. Release.* **2007**, 117, 360-370.
- [35] Parker, S. T.; Domachuk, P.; Amsden, J.; Brussner, J.; Lewis, J. A.; Kaplan, D. L.; Omenetto, F. G. Biocompatible silk Printed Optical Waveguides. *Adv. Mat.* **2015**, 295, 2411-2415.
- [36] Perry, H.; Gopinath, A.; Kaplan, D. L.; Negro, L. D.; Omenetto, F. G. Nano- and micropatterning of optically transparent mechanically robust, biocompatible silk fibroin films. *Adv. Mater.* **2008**, 20, 3070-3072.
- [37] Okamoto, K. *Fundamentals of Optical Waveguides*. Academic Press: Cambridge, USA, **2005**.
- [38] Applegate, M. B.; Perotto, G.; Kaplan, D. L.; Omenetto, F. G. Biocompatible silk step-index optical waveguides. *Biomed. Opt. Express.* **2015**, 6, n. 11, 4221-4227.
- [39] da Silva, R. R.; Dominguez, C. T.; dos Santos, M. V.; Barbosa-Silva, R.; Cavicchioli, M.; Christovan, L. M.; de Melo, L. S. A.; Gomes, A. S. L.; de Araújo, C. B.; Ribeiro, S. J. L. Silk fibroin biopolymer films as efficient hosts for DFB laser operation. *J. Mater. Chem. C.* **2013**, 1, 7181-7190.
- [40] Brito-Silva, A. M.; Galembeck, A.; Gomes, A. S. L.; Jesus-Silva, A. J.; Araújo, C. B. Random laser action in dye solutions containing Stöber silica nanoparticles. *J. Appl. Phys.* **2010**, 108, 033508 - 033508-5.
- [41] Cao, H.; Xu, J. Y.; Seelig, E. W.; Chang, R. P. Microlaser made of disordered media. *App. Phys. Lett.* **2000**, 76, 2997-2999.
- [42] Thareja, R. K.; Mitra, A. Random laser action in ZnO. *Appl. Phys. B.* **2000**, 71, 181-184.
- [43] Sha, W. L.; Lui, C. H.; Alfano, R. R. Spectral and temporal measurements of laser action of Rhodamine 640 dye in strongly scattering media. *Opt. Lett.* **1994**, 19, 1922-1924.

- [44] Abrão, A. *Química e Tecnologia das Terras Raras*; Editora CETEM/CNPq: Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, **1994**.
- [45] De Souza Filho, P. C. Estudo sobre síntese, propriedades estruturais e espectroscópicas de oxossais de terras raras para aplicações como luminóforos de ultravioleta de vácuo. **2013**. Tese de Doutorado em Ciências. Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2013.
- [46] Martins, T. S.; Isolani, P. C. Terras Raras: aplicações industriais e biológicas. *Quim. Nov. na Escola*. **2005**, 28, n. 1, 111-117.
- [47] Binnemans, K. Lanthanide-Based Luminescent Hybrid Materials. *Chem. Rev.* **2009**, 109, 4283–4374.
- [48] Gai, S.; Li, C.; Yang, P.; Lin, J. Recent Progress in Rare Earth Micro/Nanocrystals: Soft Chemical Synthesis, Luminescent Properties, and Biomedical Applications. *Chem. Rev.* **2014**, 114, 2343-2389.
- [49] Malta, O. L.; Carlos, L. D. Intensities of 4f-4f transitions in glass materials. *Quim. Nov.* **2003**, 26, n. 6, 889-895.
- [50] Shiver, D. F.; Atkins, P. W. *Química Inorgânica*. Bookman: São Paulo, Brasil, **2003**.
- [51] Binnemans, K. Interpretation of europium(III) spectra. *Coord. Chem. Rev.* **2015**, 295, 1-45.
- [52] Van der Ende, B.; Aarts, L.; Meijerink, A. Lanthanide ions as spectral converters for solar cells. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2009**, 11, 11081-11095.
- [53] Caiut, J. M. A. Estudo de aluminóxanos dopados com íons Eu^{3+} e preparação de híbridos orgânicos - inorgânicos. **2006**. Tese de Doutorado em Química. Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2006.
- [54] Carlos, L. D.; Ferreira, R. A. S.; Bermudez, V. de Z.; Ribeiro, S. J. L. Lanthanide-Containing Light-Emitting Organic–Inorganic Hybrids: A Bet on the Future. *Adv. Mat.* **2009**, 21, 509-534.
- [55] Moura, R. T.; Carneiro Neto, A. N.; Longo, R. L.; Malta, O. L. On the calculation and interpretation of covalency in the intensity parameters of 4f-4f transitions in Eu^{3+} complexes based on the chemical bond overlap polarizability. *J. Lumin.* **2016**, 170, parte 2, 420-430.
- [56] Malta, O. L.; Brito, H. F.; Menezes, J. F. S.; Gonçalves e Silva, F. R.; Alves Jr., S.; Farias, F. S.; de Andrade, A. V. M. Spectroscopic properties of a new light-converting device $\text{Eu}(\text{thenoyltrifluoroacetate})_3 \cdot 2(\text{dibenzyl sulfoxide})$. A theoretical analysis based on structural data obtained from a sparkle model. *J. Lumin.* **1997**, 75, 255-268.

- [57] Auzel, F. Quantique par transfert d'énergie entre deux ions de terres rares dans un tungstate mixte et dans un verre. *C.R. Acad. Sci. Paris*. **1966**, 262, 1016.
- [58] Malta, O. L.; Brito, H. F.; Menezes, J. F. S.; Gonçalves e Silva, F. R.; de Mello Donega, C.; Alves Jr., S. Experimental and theoretical emission quantum yield in the compound $\text{Eu}(\text{thenoyltrifluoroacetate})_3 \cdot 2(\text{dibenzyl sulfoxide})$. *Chem. Phys. Lett.* **1998**, 282, 233-238.
- [59] Souza, E.; Sigoli, F. Princípios fundamentais e modelos de transferência de energia inter e intramolecular. *Quím. Nov. Escola*. **2012**, 35, n. 9, 1-7.
- [60] Malta, O. L. Mechanisms of non-radiative energy transfer involving lanthanide ions revisited. *J. Non-Cryst. Solids*. **2008**, 354, 4770-4776.
- [61] Casanova, D.; Giaume, D.; Moreau, M.; Martin, J-L.; Gacoin, T.; Boilot, J-P.; Alexandrou, A. Counting the Number of Proteins Coupled to Single Nanoparticles. *JACS*. **2007**, 129, n. 2, 12592-12593.
- [62] Forster, T. 10Th Spiers memorial lecture transfer mechanism of Electronic Excitation. *Discussion of the Faraday Society*. **1959**, 27, 7-17.
- [63] Comby, S.; Bunzli, J. *Handbook on the Physics and Chemistry of Rare Earth*. Editora Elsevier Science: Lausanne, Switzerland, **2007**.
- [64] Weissman, S. I. Intramolecular Energy Transfer the fluorescence of complexes of europium. *J. Chem. Phys.* **1942**, 10, 214-217.
- [65] Bunzli, J-C. G.; Piguet, C. Taking advantage of luminescent lanthanide ions. *Chem. Soc. Rev.* **2005**, 34, 1048-1077.
- [66] Lima, P. P.; Malta, O. L.; Alves Jr., S. Estudo espectroscópico de complexos de Eu^{3+} , Tb^{3+} e Gd^{3+} com ligantes derivados de ácidos dicarboxílicos. *Quim. Nova*. **2005**, 28, 805.
- [67] Crosby, G. A.; Whan, R. E.; Alire, R. M. Intramolecular Energy Transfer in Rare Earth Chelates. Role of the Triplet State. *J. Chem. Phys.* **1961**, 34, 743-748.
- [68] Moraes, M. L.; Lima, L. R.; Silva, R. R.; Cavicchioli, M.; Ribeiro, S. J. L. Immunosensor Based on Immobilization of Antigenic Peptide NS5A-1 from HCV and Silk Fibroin in Nanostructured Films. *Langmuir*. **2013**, 29, 3829-3834.
- [69] Wang, X.; Kim, H. J.; Xu, P.; Matsumoto, A.; Kaplan, D. L. Biomaterial Coatings by Stepwise Deposition of Silk Fibroin. *Langmuir*. **2005**, 21, 11335-11341.
- [70] Taddei, P.; Monti, P. Vibrational infrared conformational studies of model peptides representing the semicrystalline domains of Bombyx mori silk fibroin. *Biopoly*. **2005**, 78, 249-258.
- [71] Zheng, S.; Li, G.; Yao, W.; Yu, T. Raman Spectroscopic Investigation of the

- Denaturation Process of Silk Fibroin. *Appl. Spectros.* **1989**, 43, 1269-1272.
- [72] Jin, H. L.; Park, J.; Karageorgiou, V.; Kim, U. J.; Valluzzi, R.; Cebe, P.; Kaplan, D. L. Water-Stable Silk Films with Reduced beta-Sheet Content. *Adv. Func. Mat.* **2005**, 15, 1241-1247.
- [73] Wallace, B. A.; James, R. W. *Modern Techniques for Circular Dichroism and Synchrotron Radiation Circular Dichroism Spectroscopy*; IOS Press BV: Amsterdã, Netherlands, 2009.
- [74] Magoshi, J.; Magoshi, Y. Physical Properties and Structure of Silk. V. Thermal Behavior of Silk Fibroin in the Random-Coil Conformation. *J. Polym. Sci.* **1977**, 15, 1675-1683.
- [75] Agarwal, N.; Hoagland, D. A.; Farris, R. J. Effect of moisture absorption on the thermal properties of Bomby mori silk fibroin film. *J. Polym. Sci.* **1997**, 63, 401-410.
- [76] Ghisaidoobe, A. B. T.; Chung, S. J. Intrinsic Tryptophan Fluorescence in the Detection and Analysis of Proteins: A focus on Forster Resonance Energy Transfer Techniques. *Inten. J. Mol. Sci.* **2014**, 15, 22518-22538.
- [77] Yashchuk, V. M.; Kudrya, V. Y.; Levchenko, S. M.; Tkachuk, Z. Y.; Hovorun, D. M.; Mel'nik, V. I.; Vorob'yov, V. P.; Klishevich, G. V. Optical Response of the Polynucleotides-Proteins Interaction. *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* 2011, 535, 93-110.
- [78] Kodaira, C. A.; Brito, H. F.; Teotonio, E. E. S.; Felinto, M. C. F. C.; Malta, O. L.; Brito, G. E. S. Photoluminescence Behavior of the Sm³⁺ and Tb³⁺ Ions Doped Into the Gd₂(WO₄)₃ Matrix Prepared by the Pechini and Ceramic Methods. *J. Braz. Chem. Soc.* **2004**, 15, n. 6, 890-896.
- [79] Caiut, J. M. A.; Ribeiro, S. J. L.; Messaddeq, Y.; Dexpert-Ghys, J.; Verelst, M.; Dexpert, H. Synthesis and luminescence properties of water dispersible Eu³⁺-doped boehmite nanoparticles. *Nanotec.* **2007**, 18, 1-8.
- [80] Ferreira, R. A. S.; Nolasco, M. Roma, A. C.; Longo, R. L.; Malta, O. L.; Carlos, L. D. Dependence of the Lifetime upon the Excitation Energy and Intramolecular Energy Transfer Rates: The ⁵D₀ Eu^{III} Emission Case. *Chem. Euro. J.* **2012**, 18, 12130-12139.
- [81] Zheng, Y.; Lin, J.; Liang, Y.; Lin, Q.; Yu, Y.; Meng, Q.; Zhou, Y.; Wang, S.; Wang, H.; Zhang, H. A comparative study on the electroluminescence properties of some terbium beta-diketonate complexes. *J. Mat. Chem.* **2001**, 11, 2615-2619.
- [82] Huang, W.; Xu, J.; Wu, D.; Huang, X.; Jiang, J. Rhodamine-based field-induced single molecule magnets in Yb(III) and Dy(III) series. *N. J. Chem.* **2015**, 39, 8650-8657.
- [83] Retirado de < <https://www.quora.com/Is-Acetyl-acetone-acac-a-symmetrical-bidentate->

[ligand](#)>. Acesso em 16/10/2017 às 08h32min.

- [84] Agarwal, N. ; Hoagland, D. A. ; Farris, R. J. Effect of moisture absorption on the thermal properties of Bombyx mori Silk Fibroin Films. *J. Polo. Sci.* **1997**, 63, 401-410.
- [85] Giaume, D.; Buissette, V.; Lahlil, K.; Gacoin, T.; Boilot, J-P.; Casanova, D.; Beaurepaire, E.; Sauviat, M-P.; Alexandrou, A. Emission properties and applications of nanostructured luminescent oxide nanoparticles. *Prog. Sol. Sta. Chem.* **2005**, 33, 99-106.
- [86] Urquijo, A. A performance study of Nd-based stoichiometric random lasers. *SPIE.* **2017**, 10100, 1-8.
- [87] Huignard, A.; Gacoin, T.; Boilot, J-P. Synthesis and Luminescence Properties of Colloidal YVO₄:Eu Phosphos. *Chem. Mat.* **2000**, 12, 1090-1094.
- [88] Kaminskii, A. *Crystalline Lasers: Physical Processes and Operating Schemes*. Ediora CRC Press: Estados Unidos, **1996**.
- [89] Kolesnikov, I. E.; Tolstikova, D. V.; Kurochkin, A. V.; Platonova, N. V.; Pulkin, S. A.; Manshina, A. A.; Mikhailov, M. D. *Mat. Res. Bull.* **2015**, 70, 799-803.
- [90] Azkargota, J.; Iparraguirre, I.; Barredo-Zuriarran, M.; García-Revilla, S.; Balda, R.; Fernández, J. Random Laser Action in Nd:YAG Crystal Powder. *Mat.* **2016**, 9, n. 369, 1-8.
- [91] Kumar, G. A.; Lu, J. ; Kaminskii, A. A. ; Ueda, K-I. ; Yagi, H. ; Yanagitani, T. Spectroscopic and Stimulated Emission Characterisets of Nd³⁺ in Transparent Y₃O₃ Ceramic. *J. Quan. Elec.* **2006**, 42, n. 7, 643-650.