UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE MATERIAIS

Marcella Auxiliadora de Melo Lucena

Marcadores Luminescentes para Identificação de Resíduos de Tiro: Síntese, avaliação da toxicidade e aplicação da rede Metal-Orgânica [Ln(BTC)]

Recife
2016

Marcella Auxiliadora de Melo Lucena

Marcadores Luminescentes para Identificação de Resíduos de Tiro: Síntese, avaliação da toxicidade e aplicação da rede Metal-Orgânica [Ln(BTC)]

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Materiais da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutora em Ciência de Materiais.

Aluna: Marcella Auxiliadora de Melo Lucena

Orientadora: Profa. Dra. Ingrid Távora Weber

Co-orientador: Prof. Dr. Severino Alves Júnior

Co-orientadores estrangeiros: Profa. Dra. Carmen García Ruiz e Dra. María López-López

Agências Financiadoras: CAPES/CNPq

Recife

2016

Catalogação na fonte
Bibliotecária Joana D'Arc Leão Salvador CRB 4-572

L935m Lucena, Marcela Auxiliadora de Melo.
Marcadores luminescentes para identificação de resíduos de tiro: síntese, avaliação da toxidade e aplicação da rede metal-orgânica [Ln(BTC)] / Marcela Auxiliadora de Melo Lucena. – 2016.
217 f.: fig., tab.

Orientadora: Ingrid Távora Weber.
Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCEN. Ciência de Materiais. Recife, 2016.
Inclui referências.

1. Química forense. 2. Materiais luminescentes. 3. Toxidade. 4. Redes hibridas de coordenação. I. Weber, Ingrid Távora (Orientadora). II. Titulo.

614.12 CDD (22. ed.) UFPE-FQ 2016-50

MARCELLA AUXILIADORA DE MELO LUCENA

MARCADORES LUMINESCENTES PARA IDENTIFICAÇÃO DE RESÍDUOS DE TIRO: SÍNTESE, AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE E APLICAÇÃO DA REDE METAL-ORGÂNICA [Ln(BTC)]

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Materiais da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutora em Ciência de Materiais.

Aprovada em: 26/07/2016.

BANCA EXAMINADORA

_____
Profª. Drª. Ingrid Távora Weber (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco

_____
Profª. Drª. Maria Fernanda Pimentel Avelar (Examinadora Externa)
Universidade Federal de Pernambuco

_____
Profª. Drª. Maria López-López (Examinadora Externa)
Universidade de Alcalá

_____
Prof°. Dr. Ricardo Saldanha Honorato (Examinador Externo)
Universidade Federal de Pernambuco

_____
Drª. Iane Bezerra Vasconcelos Alves (Examinadora Externa)
Universidade Federal de Pernambuco

Agradecimentos

Nesta tese deixo meu agradecimento especial à Profa. Ingrid Weber, por todo o apoio, confiança, orientação e amizade ao longo dos últimos 10 anos. Absolutamente, esta tese não é fruto apenas de um doutorado (obrigada chefa!). Agradeço igualmente ao meu co-orientador Prof. Severino Alves Júnior por toda a orientação e confiança. As professoras Carmen García Ruiz e Mercedes Roldán e a Dra. María López-López por me acolherem carinhosamente e orientarem na universidade de Alcalá (UAH – Espanha). A professora Fabiana Hiratsuka (UnB) e a Marina (UnB) por todo empenho no estudo de toxicidade. Ao professor Roberto Jose Vieira de Mello por sua contribuição com o exame histopatológico. Ao perito federal Márcio Talhavini por sua amizade, valiosa contribuição, e por estar sempre disponível às minhas inúmeras dúvidas. Ao perito federal Eduardo Sato por disponibilizar nosso acesso ao serviço de balística do INC-DPF. Ao professor Marcelo Rodrigues por seu apoio e orientação. Agradeço também aos meus companheiros dos laboratórios BSTR (UFPE), LIMA (UnB) e INQUIFOR (UAH), em especial a Marcos (Tutu), Aline (baixinha), André (Porkyn), Kaline, Rafa, Marcela (Xará), Adenaule (James), Yago, Ohanna, Valentina, Sofia, Ignácio e Charles. Foi um prazer trabalhar com todos vocês!

Por fim, deixo meu enorme agradecimento a toda a família Bezerra de Melo e a família Lucena, em especial aos meus pais, Valdijane e Dilson pelo amor e apoio incondicional, a minhas avós-guerreiras D. Elzi e D. Lourdes por tudo o que me ensinaram, meus avôs Dilson e Vicente, e aos meus queridos irmãos Dilson Neto e Maryllia. Agradeço aos familiares que acompanharam de perto todo o trabalho e tanto me apoiaram, em especial a Dani (Xuxu), Hercília, Priscila, Cris, tia Délia, tia Lua, tio Gustavo e tia Lenice. Agradeço ao meu companheiro Diego por sua paciência, incentivo e amor inesgotável, e a meus amigos pelo carinho e compreensão pela longa ausência.

“Não importa o quão estreito seja o portão e quão repleta de castigos seja a sentença,
Eu sou o mestre do meu destino, Eu sou o capitão da minha alma.”
William E. Henley

Resumo

Resíduos de tiro (GSR) são evidências físicas de grande valor forense em casos envolvendo o uso de armas de fogo. Mas apesar de sua importância, existe uma carência metodológica para a caracterização do GSR proveniente de munição ambiental (NTA). Adicionalmente, o tamanho micrométrico das partículas geradas torna sua detecção em uma cena de crime ou em um suspeito uma tarefa difícil, podendo originar falsos-negativos. Neste sentido, tem sido proposto o uso de materiais luminescentes para a marcação química e óptica de munições. O presente trabalho aborda o desenvolvimento de marcadores luminescentes baseados na rede metal-orgânica (MOF) [Ln(BTC)] (em que BTC = ácido trimésico), desde a sua síntese, aplicação e avaliação da toxicidade, assim como seu uso na codificação de munição e sua caracterização junto aos resíduos orgânicos de disparo (OGSR). Por isto, este trabalho é dividido em cinco capítulos. No primeiro são discutidos aspectos relativos à síntese da MOF [Eu(BTC)] e à sua influência nas propriedades estruturais, térmicas e espectroscópicas dessa rede. Para tal, os métodos de síntese hidrotermal convencional e hidrotermal assistido por micro-ondas (MW), com diferentes tempos de síntese e proporções metal:ligante, são analisados. Com os métodos adotados, a MOF [Eu(BTC)] foi obtida com elevada cristalinidade, estabilidade térmica e luminescência. Adicionalmente, sínteses mais curtas e proporção metal:ligante 1:1 produziram redes com maior pureza de fase. Neste caso, o método assistido por micro-ondas se destacou devido ao rápido tempo de síntese. No segundo capítulo é apresentada a eficiência dessa MOF como marcador luminescente de munições. Com esta rede, além da detecção visual dos resíduos luminescentes (LGSR), técnicas como espectroscopia de emissão e microscopia eletrônica de varredura acoplada a espectroscopia por dispersão de energia (MEV/EDS) foram usadas para caracterizar e confirmar a presença do LGSR nos resíduos coletados, tanto da arma como das mãos do atirador. No terceiro capítulo são apresentados os dados relativos à avaliação da toxicidade oral aguda e subaguda da MOF [Eu(BTC)] em ratos. Para avaliação da toxicidade aguda, o protocolo 423 da OECD (*Organisation for Economic Co-operation and Development)* foi utilizado. Como resultado, nenhum sinal de

toxicidade foi observado até mesmo para a dosagem mais elevada, e a dose letal média (DL_{50}) foi estimada em 5000 mg/kg. Com isto, a MOF [Eu(BTC)] foi classificada na categoria menos tóxica do GHS (*Globally Harmonized System*). A toxicidade subaguda foi avaliada através da administração por 7 dias consecutivos de 300 mg/kg e, apesar de observados sinais graves de toxicidade, estes foram atribuídos à aspiração do material particulado para o pulmão, e não a toxicidade do marcador. Estes resultados atribuem a MOF [Eu(BTC)] uma elevada margem de segurança para aplicação como marcador de GSR. No quarto capítulo é proposto um método de codificação de munição baseado no uso de marcadores co-dopados [$Y_{1-x}Ln_x$(BTC)] com os íons Eu^{3+}, Sm^{3+}, Tb^{3+} e/ou Yb^{3+}. Após a realização de disparos, o marcador utilizado em cada munição foi identificado por MEV/EDS em função da composição química dos resíduos em 100% dos casos (sem que o analista tivesse conhecimento do marcador presente em cada munição). Além disso, foi possível estabelecer correlações atirador-arma-local do disparo através da composição dos resíduos em 89% dos casos. E no último capítulo é abordada a caracterização simultânea dos resíduos orgânicos e luminescentes por meio da microscopia Raman. Com a metodologia proposta, através de uma única medida foi possível determinar o tipo de marcador e pólvora utilizados, fornecendo um código muito seguro para caracterização e classificação inequívoca dos resíduos como provenientes de disparo de arma de fogo. Além disso, o LGSR atuou como sonda luminescente ajudando a coletar o OGSR em distâncias acima daquelas normalmente abordadas na literatura.

Palavras-chaves: Resíduo de tiro. Marcadores luminescentes. Toxicidade aguda. MOF. [Eu(BTC)]. [$Y_{1-x}Ln_x$(BTC)].

Abstract

Gunshot residue (GSR) are physical evidences of great forensic value in firearms-related crimes. Despite its importance, there is a methodologic need for the characterization of GSR from non-toxic ammunition (NTA). In addition, the micrometric size of the generated particles makes its detection in a crime scene or on a suspect a hard task, which may produce false-negatives. In this sense, the use of luminescent materials has been proposed for chemical and optical marking of ammunition. This work presents the development of luminescent markers based on the metal-organic framework (MOF) [Ln(BTC)], since its synthesis, application and toxicity evaluation, as well as its ability to encode ammunitions and its simultaneous characterization with the organic gunshot residue (OGSR). Hence, this work is divided in five chapters. In the first chapter, aspects related to the synthesis of the MOF [Eu(BTC)] and its influence on the structural, thermal and spectroscopic properties are discussed. To this end, conventional hydrothermal synthesis and microwave(MW)-assisted hydrothermal synthesis, with different reaction times and metal:ligand proportions are analyzed. With the chosen methods, the MOF [Eu(BTC)] was obtained with high crystallinity, thermal stability and luminescence. However, faster synthesis and 1:1 metal:ligand proportion produced frameworks with higher phase purity. In this case, the MW-assisted method stood out due to the faster reaction time. In the second chapter, the efficiency of the MOF [Eu(BTC)] as a luminescent marker for ammunition is presented. With this framework, besides visual detection of the luminescent residues (LGSR), techniques as emission spectroscopy and scanning electron microscopy with energy dispersive X-ray spectroscopy (MEV/EDS) were used to characterize and confirm the presence of LGSR in the residues collected, both on the gun and in the shooter's hand. In the third chapter, data related to the evaluation of acute and subacute oral toxicity of the MOF [Eu(BTC)] in rats is presented. For evaluation of acute oral toxicity, the OECD (*Organisation for Economic Co-operation and Development) 423* guideline was used. As a result, no signs of toxicity was observed even at the highest dose, and the median lethal dose (LD_{50}) estimated was 5000 mg/Kg. There by, the MOF [Eu(BTC)] was classified in the less toxic category of GHS (Globally Harmonized

System). The subacute toxicity was evaluated by consecutive administration of 300 mg/Kg for 7 days and, despite severe toxicity signs were observed, they were attributed to the aspiration of the particulate material into the lungs, but not to the marker's toxicity. These results give a high safety margin for application of this MOF as a GSR marker. In the fourth chapter an ammunition encoding method is proposed based on the use of the co-doped markers [$Y_{1-x}Ln_x$(BTC)] with the ions Eu^{3+}, Sm^{3+}, Tb^{3+} and/or Yb^{3+}. After shots, the markers used in each ammunition was identified by SEM/EDS due the chemical composition of the residues, in 100% of the cases (without the analyst's knowledge of which marker was present in each ammunition). Furthermore, shooter-weapon-location correlations was established by the composition of the residues in 89% of the cases. And in the last chapter the simultaneously characterization of the organic and luminescent residues was performed by Raman microscopy. With the proposed methodology, the type of marker and gunpowder used were identified by a single run, providing a security code for its characterization and the unequivocal classification of the residues as coming from firearm discharge. Furthermore, the LGSR acted as a luminescent probe, helping to collect the OGSR further than those reported in the literature.

Keywords: Gunshot residue. Luminescente markers. Acute toxicity. MOF. [Eu(BTC)]. [$Y_{1-x}Ln_x$(BTC)].

Lista de Figuras

Capítulo I

Figura 1. 1 – Estrutura da MOF-3 [$Zn_3(BDC)_3 \cdot 6CH_3OH$] mostrando a SBU (poliedro azul).[12] 27
Figura 1. 2 - (a) UiO-66: Zr-MOF que utiliza o BDC (1,4-benzenodicarboxilato) como ligante; (b) UiO-67: Zr-MOF que utiliza o BPDC (4,4'-bifenildicarboxilato) como ligante; (c) UiO-68: Zr-MOF que utiliza o TPDC (terfenildicarboxilato) como ligante. Todas apresentando a mesma SBU; (UiO = University of Oslo).[13] 28
Figura 1. 3 – Classificação dos principais métodos empregados para a síntese das redes metal-orgânicas (Adaptada de Stock e Biswas[15]*).* 31
Figura 1. 4 – Percentual de artigos utilizando MOFs em armazenamento de gás.[i] 32
Figura 1. 5 – Diagrama simplificado dos processos de transferência de energia envolvidos na excitação indireta do íon lantanídeo através do ligante (efeito antena). Na figura, F = Fluorescência, P = fosforescência, S = singleto, T = tripleto, CIS = cruzamento intersistema e TE = transferência de energia intramolecular. As linhas azuis correspondem aos estados fundamentais e a linha vermelha corresponde ao nível emissor do Ln^{3+} *(adaptado de Bunzli e Piguet).*[65] 37
Figura 1. 6 – SBU rígida formada através das ligações M-O-C, onde o metal está aprisionado no centro do cluster pelas carboxilas do ligante BDC, formando estruturas rígidas (na figura: roxo = metal, vermelho = oxigênio, cinza = carbono).[12] 39
Figura 1. 7 – Diferentes modos de coordenação do grupo carboxílico: a) monodentado [η^1*], b) quelato [*η^2*], c) bidentado em ponte syn-syn [*$\mu_2 : \eta^1\text{-}\eta^1$ *Z-Z (O,O')], d)* $\mu_2 : \eta^1\text{-}\eta^1$ *Z-Z (O,O), e) bidentado em ponte syn-anti [*$\mu_2 : \eta^1\text{-}\eta^1$ *Z-E], f) bidentado em ponte anti-anti [*$\mu_2 : \eta^1\text{-}\eta^1$ *E-E], g) tridentado ponte-quelato [*$\mu_2 : \eta^2\text{-}\eta^1$*].*[68] 40
Figura 1. 8 - Ácido trimésico ou BTC.[69] 41
Figura 1. 9 – Diagrama de energia mostrando os estados emissores (linhas vermelhas) e fundamentais (linhas azuis) dos íons Sm^{3+}, Eu^{3+}, Tb^{3+} *e* Dy^{3+}*, e a faixa de energia esperada para o nível tripleto dos ligantes carboxilatos aromáticos (retângulo verde) e para o BTC (retângulo amarelo).*[55,66] 41
Figura 1. 10 – Métodos e parâmetros utilizados para a síntese de redes metal-orgânicas compostas por íons lantanídeos e BTC, e os diferentes modos de coordenação apresentados por cada rede (NC = número de coordenação do Ln^{3+}*;* H_2O *= quantidade de moléculas de água na esfera de coordenação do* Ln^{3+}*; RT = temperatura ambiente).* 44
Figura 1. 11 – Diagrama mostrando a decomposição térmica de redes Ln-BTC, a partir de dados fornecidos na literatura para as redes [Y(BTC)][39]*, [Y,Eu(BTC)]*[77]*, [Nd(BTC)(*H_2O*)]·guest,*[16] *[*$Er(BTC)(DMF)_2]\cdot H_2O$*]*[17] *e [*$La(BTC)(H_2O)_6$*].*[18] 45
Figura 1. 12 – DRX das amostras M01-M07 após maceramento e suavização da linha base e o DRX calculado através do CIF da MIL-78. 51
Figura 1. 13 - Poliedro de coordenação do íon Eu^{3+} *na MOF [Eu(BTC)] elaborado a partir do arquivo CIF da MOF isoestrutural MIL-78.* 54
Figura 1. 14 - Imagem mostrando os dois modos de coordenação do BTC (bidentado em ponte syn,syn e tridentado ponte-quelato) da MOF [Eu(BTC)], elaborada a partir do arquivo CIF da MOF isoestrutural MIL-78. 55
Figura 1. 15 – Celula unitária da MOF [Eu(BTC)] elaborada a partir do arquivo CIF da MOF isoestrutural MIL-78. 55
Figura 1. 16 – Vista, ao longo do eixo b, da MOF [Eu(BTC)] estendida, elaborada a partir do arquivo CIF da MOF isoestrutural MIL-78. 56
Figura 1. 17 – Curvas de TGA e DTA e proporção de ligante livre nas amostras M01 a M07. 58
Figura 1. 18 – Espectros de excitação das amostras sintetizadas via hidrotermal convencional (M01-M06) e hidrotermal assistida por micro-ondas (M07-M09), monitorando o comprimento de onda de emissão em 617 nm. 61

Figura 1. 19 – Espectro de emissão das amostras sintetizadas via hidrotermal convencional (M01-M06) e hidrotermal assistida por micro-ondas (M07-M09), com excitação em 303 nm (amostras M01-M07) e 393 nm (amostras M08 e M09). 62
Figura 1. 20 – Imagem das amostras M01-M09 sob radiação UV (λ = 254 nm). 63
Figura 1. 21 – Curvas de decaimento do estado excitado $^5D_0$ do Eu^{3+} e tempo de vida nas amostras M01-M09, mostrando um decaimento exponencial de primeira ordem. 64
Figura 1. 22 – Micrografias obtidas por detecção simultânea de elétrons secundários e retroespalhados da amostra M06. 72
Figura 1. 23 – Micrografias obtidas por detecção simultânea de elétrons secundários e retroespalhados da amostra M07. 73

Capítulo I (Informações Complementares)

Figura S.1. 1 – Difratograma de Raios-X das amostras sintetizadas via hidrotermal convencional M01 – M06. 81
Figura S.1. 2– Difratograma de Raios-X das amostras sintetizadas via hidrotermal assistida por micro-ondas M07 – M09 (as setas indicam picos relativamente intensos em 6,8°, 10,3°, 13,5° e 17,5° referentes a fases secundárias nas amostras M08 e M09). 82
Figura S.1. 3 – DRX do ligante BTC. 83

Capítulo II

Figura 2. 1 – Incorporação do marcador a munições, com o uso de martelo de inércia e prensa de recarga. 90
Figura 2. 2 – Imagens obtidas por VSC (sob radiação UV em 254 nm) mostrando o LGSR na coloração vermelha na mão do atirador (a) e na arma (b) após disparos com munições contendo o marcador [Eu(BTC)] 93
Figura 2. 3 – Imagens obtidas por VSC (254 nm) mostrando o LGSR coletado das mãos do atirador (a) e da arma (b) quando utilizadas munições marcadas com a MOF [Eu(BTC)]. 95
Figura 2. 4 – Espectros de emissão obtidos por VSC (λ=254nm) do LGSR produzido por munições contendo a MOF [Eu(BTC)]. 97
Figura 2. 5 – EDS do LGSR coletado nas mãos do atirador e na arma após disparos realizados com munições NTA marcadas com a MOF [Eu(BTC)]. 99

Capítulo III

Figura 3. 1 – Ilustração da intoxicação aguda e crônica em função do tempo.[1] 107
Figura 3. 2 – Estrutura dos sais de tetrazólio e do formazan MTT e XTT. 109
Figura 3. 3 – Procedimentos para seleção de dose no teste de toxicidade aguda adotado pela OECD 423, utilizando como dose inicial 300 mg/kg.[9] 112
Figura 3. 4 - Procedimento passo a passo seguido do protocolo 423 da OECD para determinação da DL_{50} e classificação de acordo com o sistema de classificação da GHS. Os números nos círculos verdes indicam o número de animais mortos ou moribundos em cada passo. 124
Figura 3. 5 - a) Evolução do peso corporal dos grupos (média ± desvio padrão); consumo de b) ração e c) água em função do peso do grupo; e d) peso dos órgãos em função do peso corporal em cada grupo (média ± desvio padrão). 125
Figura 3. 6 - Evolução temporal da temperatura corpórea média dos grupos G1, G2, G3, G4 e CG. A tabela mostra a temperatura média (com desvio padrão – SD) dos grupos nas 4 horas

anteriores a administração e nos 14 dias seguintes. A tabela apresenta ainda os valores de temperatura máxima, mínima e a moda após a administração. 127
Figura 3. 7 - Análise bioquímica dos ratos 14 dias após a administração com a MOF [Eu(BTC)]. Os valores foram expressos como média ± erro padrão da média. Nas figuras, dose = 0 mg/kg representa o grupo controle. 129
Figura 3. 8 – Alteração do peso corporal dos quatro ratos do grupo G5 durante os 14 dias de experimento. 131
Figura 3. 9 – Evolução da temperatura dos ratos do grupo controle (CG) e do grupo G5. 131
Figura 3. 10 - a) Evolução do peso corporal dos grupos CG e G5 (média ± desvio padrão); consumo de b) ração e c) água em função do peso do grupo; e d) peso dos órgãos em função do peso corporal em cada grupo (média ± desvio padrão). 132
Figura 3. 11 – Nível de ALT e ureia sérica do grupo G5 comparado ao grupo controle (dose = 0) e aos ratos administrados com 300 e 2000 mg/kg de marcador. 133
Figura 3. 12 – Fotografia dos pulmões do rato R1, R2 e R4 do grupo G5. 134
Figura 3. 13 – Microfotografia do tecido pulmonar de rato pertencente ao grupo controle mostrando a presença de alvéolos (1), canais alveolares (2), septo alveolar (3), bronquíolos (4) e nódulos linfoides (6). 135
Figura 3. 14 – Microfotografia do tecido pulmonar de rato R4 do grupo G5 mostrando a presença de alvéolos (1), canais alveolares (2), septo alveolar (3), corpo estranho (5) e formação inicial de granulomas (8). 136
Figura 3. 15 – Microfotografias do tecido pulmonar de rato administrado com o marcador (G5 – R1) mostrando a presença de alvéolos (1), canais alveolares (2), septo alveolar (3), corpo estranho (5) e granulomas (7). 137

Capítulo IV

Figura 4. 1 – DRX das MOFs [$Y_{1-x}Ln_x$(BTC)] e padrão calculado para a MIL-78 utilizando o CIF fornecido por Serre et al.[16] 155
Figura 4. 2 – Espectros de excitação (linhas pontilhadas) e emissão (linhas sólidas) das MOFs dopadas com Eu^{3+} (a) e co-dopadas com Eu^{3+} e Sm^{3+} (b). Espectros de excitação obtidos monitorando a emissão do Eu^{3+} em 618 nm e espectros de emissão obtidos excitando em 302 nm. 157
Figura 4. 3 – Espectros de excitação (linhas pontilhadas) e emissão (linhas sólidas) das MOFs dopadas com Tb^{3+} ou co-dopadas com Tb^{3+} e Yb^{3+} (a) e co-dopadas com Tb^{3+}, Yb^{3+} e Eu^{3+} (b). Espectros de excitação obtidos monitorando a emissão do Tb^{3+} em 543 nm (a) e do Eu^{3+} em 618 nm (b). Espectros de emissão obtidos excitando em 302 nm. 158
Figura 4. 4 – Diagrama de transferência de energia proposto para os íons Sm^{3+}, Eu^{3+} e Tb^{3+} nas MOFs [$Y_{1-x}Ln_x$(BTC)]. 159
Figura 4. 5 – Espectros de emissão das amostras co-dopadas com 10% de Eu e 10% de Sm (esquerda) e 10% de Yb, 5% de Tb e 5% de Eu (direita), quando excitados, respectivamente, os íons Sm^{3+} ou Tb^{3+}. 159
Figura 4. 6 – Curvas de decaimento dos estados excitados do íons Eu^{3+}, Tb^{3+} e Sm^{3+} nas MOFs [$Y_{1-x}Ln_x$(BTC)] e os respectivos tempos de vida. Na figura, o íon em que foi monitorado o decaimento encontra-se entre parênteses. 161
Figura 4. 7 – Imagem sob radiação UV (254 nm) e diagrama de cromaticidade CIE 1931 das MOFs [$Y_{1-x}Ln_x$(BTC)], obtidas por VSC. 163
Figura 4. 8 – Micrografias das MOFs [$Y_{1-x}Ln_x$(BTC)] com a) 5% Eu, b) 10% Eu, c) 5% Eu + 5% Sm, d) 10% Eu + 10% Sm, e) 5% Tb, f) 10% Tb, g) 10% Yb + 5% Tb, h) 10% Yb + 5% Tb + 5% Eu. 165
Figura 4. 9 – Imagens de resíduos luminescentes sob radiação UV (254 nm) nas mãos dos atiradores, nas armas e no piso do campo de tiro quando utilizadas munições 9mm marcadas com as MOFs [$Y_{1-x}Ln_x$(BTC)]. 169

Figura 4. 10 – Espectros de emissão obtidos por VSC (254 nm) dos resíduos luminescentes coletados em diferentes locais após cada sequência de disparo. 174
Figura 4. 11 – Sobreposição dos espectros de emissão dos resíduos contendo apenas Eu^{3+} (disparo 3) e dos resíduos contendo Eu^{3+} e Sm^{3+} (disparo 5), mostrando que as transições do Sm^{3+} podem ser observadas nos resíduos, inclusive nas análises por VSC (254 nm). 175
Figura 4. 12 – Teor médio dos íons lantanídeos presentes nos resíduos coletados em diferentes locais, quando utilizados os marcadores $[Y_{1-x}Ln_x(BTC)]$. 178

Capítulo V

Figura 5. 1 – Disposição do stand de tiro para a realização de disparos com munições marcadas. 195
Figura 5. 2 – Espectro Raman dos marcadores $[Y_{0,95}Eu_{0,05}(BTC)]$ e $[Y_{0,95}Tb_{0,05}(BTC)]$ quando utilizado o laser de 532 nm como fonte de excitação. 198
Figura 5. 3 – Níveis emissores dos íons Tb^{3+} e Eu^{3+}, e as transições eletrônicas deste último após excitação com um laser com comprimento de onda de 532 nm. 199
Figura 5. 4 – Diagrama de energia para o espalhamento Raman ressonante e para a fluorescência. As setas onduladas representam os relaxamentos não-radiativos.[23] 201
Figura 5. 5 – Espectro de emissão obtido no espectrofluorímetro e espectro Raman (em comprimento de onda absoluto) do marcador $[Y_{0,95}Eu_{0,05}(BTC)]$. 202
Figura 5. 6 – Espectro Raman dos marcadores $[Y_{0,95}Eu_{0,05}(BTC)]$ e $[Y_{0,95}Tb_{0,05}(BTC)]$ quando utilizado o laser de 780 nm como fonte de excitação. 203
Figura 5. 7 – Espectro Raman dos marcadores $[Y_{0,95}Eu_{0,05}(BTC)]$ e $[Y_{0,95}Tb_{0,05}(BTC)]$ quando utilizado o laser de 532 nm como fonte de excitação. Na figura, as setas azuis indicam transições vibracionais observadas no marcador com Eu^{3+}, e os retângulos indicam as transições eletrônicas do Eu^{3+} observadas no marcador com Tb^{3+}. (Os espectros da figura 5.2 foram repetidos nesta figura para facilitar a discussão dos resultados). 204
Figura 5. 8 – Espectros Raman do marcador $[Y_{0,95}Eu_{0,05}(BTC)]$ puro (linha vermelha), do OGSR de munição convencional sem o marcador (linha azul) e dos resíduos coletados a diferentes distâncias após disparos com munições marcadas (M = marcador, NC = nitrocelulose, DPA = difenilamina). 207
Figura 5. 9 – Espectros Raman do marcador $[Y_{0,95}Tb_{0,05}(BTC)]$ puro (linha verde), do OGSR de munição convencional sem o marcador (linha azul) e dos resíduos coletados a diferentes distâncias após disparos com munições marcadas (M = marcador, NC = nitrocelulose, DPA = difenilamina). 208

Lista de Tabelas

Capítulo I

Tabela 1. I – Condições de síntese das MOFs [Eu(BTC)]. *48*
Tabela 1. II - Proporção de água, do BTC na sua forma livre e da MOF [Eu(BTC)] nas amostras M01-M07. E quantidade estimada do BTC na MOFs [Eu(BTC)] em cada amostra. *59*
Tabela 1. III – Razão de assimetria (R), parâmetros de intensidade Ω_2 e Ω_4, taxas de decaimentos radiativos (A_{rad}) e não radiativos (A_{nrad}), e eficiência quântica (η) das amostras M01-M09. ..... *65*

Capítulo IV

Tabela 4. I – Quantidade teórica dos íons lantanídeos nas redes [$Y_{1-x}Ln_x$(BTC)]. *150*
Tabela 4. II – Razão de assimetria (R), parâmetros de intensidade de Judd-Ofelt Ω_2 e Ω_4, taxas de decaimentos radiativos (A_{rad}) e não radiativos (A_{nrad}) e eficiência quântica (η) das MOFs [$Y_{1-x}Ln_x$(BTC)]. *162*
Tabela 4. III – Proporção média ± SD dos íons terras-raras presentes nas MOFs [$Y_{1-x}Ln_x$(BTC)] obtidas por MEV/EDS. *166*
Tabela 4. IV – Custo de marcador por munição (em $) utilizando 5 ou 10% dos marcadores [Eu(BTC)] ou [$Y_{0,95}Eu_{0,05}$(BTC)] e o correspondente aumento no preço da munição *170*
Tabela 4. V – Identificação realizada pelo analista dos marcadores presentes em cada stub e identificação da origem da munição com base no conjunto de resultados de cada disparo. *179*

Capítulo V

Tabela 5. I - Potência do laser (mW) e tempo de exposição (s) utilizados para cada marcador, com os lasers de 532 e 780 nm. *193*

Lista de Siglas e Abreviações

1D – Unidimensional

2D – Bidimensional

3D – Tridimensional

AAN – Análise por Ativação com Nêutrons

AAS – Espectrometria de Absorção Atômica

ANOVA – Análise de variância

A_{nrad} – Taxas de decaimentos não radiativos

A_{rad} – Taxas de decaimentos radiativos

ASTM – *American Society for Testing and Materials*

ALT – Alamina aminotransferase

AST – Aspartato aminotransferase

BTC – Ácido trimésico

DL_{50} – Dose letal média

CBC – Companhia Brasileira de Cartuchos

CEUA – Comissão de Ética no Uso de Animais

CIE – *Commission Internationale de l'Eclairage (International Commission on Illumination*)

CONCEA – Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal

Cyp-450 – Citocromo P450

DE – Dipolo elétrico

DM – Dipolo magnético

DMCL – Dispositivos Moleculares Conversores de Luz

DMF – N,N-dimetilformamida

DOE – *United States Department of Energy*

DPA – Difenilamina

DPF – Departamento da Polícia Federal

DRX – Difração de Raios X

DTA – Análise térmica diferencial

EC – Etil centralite

EDS – *Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy* (Espectroscopia por Dispersão de Energia)

FAL – Fosfatase alcalina

FEG – Fonte de emissão eletrostática

FMJ – *Full metal jacket*

FTIR – Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier

GGT – Gama glutamiltransferase

GHS – *Globally Harmonized System*

GSR – *Gunshot residue* (Resíduo de tiro)

HC – Hidrotermal Convencional

IC_{50} – Concentração em que ocorre inibição do crescimento de 50% das células

ICP-OES – Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado

ICP-MS – Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado

ICPS – *International Program of Chemical Safety*

IGSR – *Inorganic gunshot residue* (resíduo inorgânico de tiro)

IL-6 – Interleucina 6

INC – Instituto Nacional de Criminalística

ISO – *International Standard Organization*

LD_{LO} – Dose letal mais baixa

LGSR – *Luminescent gunshot residue* (Resíduo luminescente de tiro)

Ln – Íon lantanídeo

MC – Metil centralite

MCM – *Mobil Crystalline Material*

MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura

MIL – *Materials of Institut Lavoisier*

MOF – *Metal-organic framework* (rede metal-orgânica)

MW – *Microwave* (micro-ondas)

MTT e XTT – Métodos colorimétricos baseados na redução do sal de tetrazólio a um corante formazan

NTA – *Non-toxic ammunition* (munição não tóxica)

NC – Número de coordenação

NC – Nitrocelulose

NG – Nitroglicerina

NIH – *National Institutes of Health*

NIOSH - *National Institute for Occupational Safety and Health*

NQ – Nitroguanidina

OECD – *Organisation for Economic Co-operation and Development*

OLED – Diodos Orgânicos Emissores de Luz

OGSR – *Organic gunshot residue* (resíduo orgânico de tiro)

R – Razão de assimetria

RR – Raman ressonante

RT – *Room temperature* (temperatura ambiente)

S_0 – Estado fundamental

S_1 – Estado singleto excitado (1)

SBU – *Secondary Building Units*

SEM – *Scanning Electron Microscopy*

SIH – Hipotermia Induzida pelo Estresse

Stub – Suporte metálico onde a amostra é fixada para a análise por MEV/EDS

T_1 – Estado tripleto excitado (1)

TAC – Toxicidade Aguda de Classe

TDF – Teste de Dose Fixa

TGA – Análise termogravimétrica

TUD – Teste "*Up and Down*"

UV – Ultravioleta

VSC – *Video Spectral Comparator*

ZIF - *Zeolite Imidazolate Framework*

η – Eficiência quântica

Ω_2 e Ω_4 – Parâmetros de intensidade de Judd-Ofelt

$ – Dólar americano

SUMÁRIO

Apresentação 21
Referências 24
CAPÍTULO I - Avaliação estrutural e espectroscópica da MOF [Eu(BTC)] 25
1.1 Introdução 26
1.1.1 Redes metal-orgânicas 26
1.1.2 Métodos de Síntese 28
1.1.3 Aplicações das MOFs no campo dos materiais porosos 31
1.1.3.1 Armazenamento de Gás 31
1.1.3.2 Aplicações Biomédicas 33
1.1.4 Ln-MOFs 34
1.1.4.1 Luminóforos 35
1.1.4.2 Ligantes carboxilatos aromáticos 38
1.1.4.3 Ln-BTCs 42
1.2 Objetivos 45
1.3 Procedimentos Experimentais 47
1.3.1 Síntese da MOF [Eu(BTC)] 47
1.3.2 Caracterização das MOFs Eu:BTC 48
1.4 Resultados e Discussão 50
1.4.1 Análise Estrutural das MOFs [Eu(BTC)] 50
1.4.2 Análise Termogravimétrica 56
1.4.3 Análise da Fotoluminescência 59
1.4.4 Análise Microestrutural 69
1.5 Conclusões 74
1.6 Referências 76
1.7 Informações Complementares 81
CAPÍTULO II - Avaliação da MOF [Eu(BTC)] como Marcador Luminescente para Detecção de Resíduos de Tiro 84
2.1 Introdução 85
2.2 Objetivo 89
2.3 Procedimentos Experimentais 90
2.4 Resultados e Discussão 92
2.5 Conclusões 100
2.6 Referências 102

CAPÍTULO III - Avaliação da Toxicidade Oral da MOF [Eu(BTC)] em Ratos 105
3.1 Introdução 106
3.1.1 Toxicidade 106
3.1.2 Métodos recomendados pela ISO para avaliação *in vitro* da citotoxicidade 108
3.1.3 Métodos recomendados pela *Organisation for Economic Co-operation and Development* (OECD) para avaliação *in vivo* da toxicidade aguda 110
3.1.4 Estabilidade, citotoxicidade e toxicidade de MOFs 113
3.2 Objetivos 119
3.3 Procedimentos Experimentais 120
3.4 Resultados e Discussão 123
3.4.1 Testes de toxicidade aguda oral em roedores (OECD 423) 123
3.4.2 Testes de toxicidade oral em doses repetidas por 7 dias 130
3.5 Conclusões 139
3.6 Referências 141
CAPÍTULO IV - Processo de Codificação de Munições através do uso de marcadores co-dopados 144
4.1 Introdução 145
4.2 Objetivos 148
4.3 Procedimentos Experimentais 149
4.3.1 Síntese e caracterização da MOF $[Y_{1-x}Ln_x(BTC)]$ 149
4.3.2 Teste das MOFs $[Y_{1-X}Ln_X(BTC)]$ como marcadores luminescentes de GSR 151
4.3.3 Testes de codificação de munições (teste cego) 151
4.4 Resultados e Discussão 154
4.4.1 Caracterização dos marcadores 154
4.4.2 Teste como marcador de GSR 166
4.4.3 Teste cego 171
4.5 Conclusões 181
4.6 Referências 183
CAPÍTULO V - Uso da Espectroscopia Raman para Caracterização Simultânea dos Resíduos de Tiro Orgânicos (OGSR) e Luminescentes (LGSR) 185
5.1 Introdução 186
5.2 Objetivos 192
5.3 Procedimentos Experimentais 193
5.4 Resultados e Discussão 197
5.4.1 Caracterização dos marcadores puros e avaliação do efeito Raman Ressonante 197

5.4.2 Caracterização simultânea do OGSR e do LGSR 205
5.5 Conclusões 211
5.6 Referências Bibliográfica 213
Conclusões gerais 215
Perspectivas Futuras 217

Apresentação

Sabe-se que, do ponto de vista forense, a caracterização dos resíduos produzidos por disparos de armas de fogo, ou GSR (do inglês *gunshot residue*), é de fundamental importância. Isto porque a análise do GSR pode, por exemplo, relacionar um suspeito a um evento em que uma arma de fogo foi disparada. E no Brasil, onde mais de 70% dos homicídios são cometidos com armas de fogo,[1,2] a demanda por este tipo de análise é ainda maior

Estima-se que no Brasil apenas 5 a 8% dos homicídios são elucidados.[3] A carência no quadro pessoal e falta de instalações adequadas à investigação, com equipamentos e tecnologias apropriadas, são apontados como os principais agravantes para o alto índice de inquéritos policiais não resolvidos.[3] Estes índices geram na sociedade um sentimento de impunidade que agrava ainda mais a situação da segurança pública no Brasil, pois terminam por aumentar a violência armada.[3,4] Tudo isso deixa o país em uma situação de violência endêmica, com índices de homicídios mais elevados do que muitos países em guerra.[5]

Aliado a esse cenário perturbador, o desenvolvimento de um novo tipo de munição, chamada de munição ambiental, livre de chumbo ou ainda NTA (*non-toxic ammunition*) – a qual visa reduzir a exposição de atiradores frequentes (policiais, instrutores de tiro, etc.) ao chumbo presente na munição convencional – deixou uma lacuna para a caracterização do GSR desse novo tipo de munição,[6] tornando a situação ainda mais preocupante. Neste contexto, se mostra indispensável o desenvolvimento de novos métodos que permitam a

caracterização do GSR (tanto de munição convencional como ambiental) de forma rápida e precisa, e que facilitem as investigações policiais.

Desde 2006 nosso grupo de pesquisa vem desenvolvendo marcadores luminescentes para identificação de GSR, visando fornecer aos profissionais forenses alternativas viáveis para a caracterização de resíduos desta natureza. Os marcadores luminescentes aparecem como uma importante ferramenta, pois permitem a identificação dos resíduos formados tanto por munições convencionais, quanto por munições livres de chumbo, diretamente no local, utilizando apenas uma lâmpada ultravioleta. Além disso, facilitam a coleta do GSR, permitem a análise rápida e confiável do atirador, da arma, da vítima e da cena do crime e permitem a realização de diversas análises de contraprova não destrutivas.[7–9]

Os primeiros materiais a apresentarem resultados promissores na marcação de munições foram as redes metal-orgânicas (MOFs) isoestruturais [Ln(DPA)(HDPA)] (em que H_2DPA = ácido dipicolínico; Ln = Eu^{3+}, Tb^{3+}, ou Yb^{3+}/Tb^{3+}).[7,8] Estes marcadores utilizam as emissões características de íons lantanídeos para visualização do GSR *in loco*. Medidas de emissão e análise composicional também permitem caracterizar o GSR. Desta forma, os íons lantanídeos atuam não somente como marcadores ópticos, mas também como marcadores químicos.[8] Além disso, mecanismos de *down* e *up-conversion*, associados a microanálise de MOFs co-dopadas deram início ao processo de codificação de munições.[7]

Além das MOFs, outros materiais luminescentes contendo íons lantanídeos, como o complexo $[Eu(PIC)_3(NMK)_3]$[10] (em que PIC = ácido pícrico; NMK = N-metilcaprolactama) e o óxido semicondutor $ZnAl_2O_4$:Ln^{3+} (em que Ln =

Tb e Eu),[11,12] mostraram promissoras aplicações como marcadores luminescentes para GSR. Neste contexto, a síntese de marcadores luminescentes que possuam diferentes íons lantanídeos e diferentes ligantes abre novas perspectivas para o processo de codificação de munição.

Apesar dos grandes avanços alcançados ao longo dos anos, muitos desafios permanecem. A otimização de marcadores e a ampliação do projeto de codificação e rastreabilidade de munição requerem o desenvolvimento de novos marcadores eficientes, co-dopados e com diferentes ligantes. Além disso, um dos pontos de maior importância para a viabilidade dos marcadores diz respeito a sua toxicidade. Como uma das principais aplicações dos marcadores é em munições ambientais, sua aplicação só é justificável se os marcadores, por si só, não representem um risco a saúde de atiradores.

Desta forma, este trabalho aborda diversos temas relacionados ao desenvolvimento de marcadores luminescentes baseados no ácido trimésico (BTC) e sua aplicação, sendo dividido em cinco capítulos. No primeiro capítulo são apresentados os dados relativos à síntese, caracterização estrutural e espectroscópica da MOF [Eu(BTC)]. No segundo é apresentada a avaliação dessa MOF na marcação de munição ambiental e detecção de resíduos de tiro. E no terceiro é avaliada a toxicidade oral dessa MOF em ratos. No quarto capítulo é apresentada uma proposta de codificação de munições baseada no uso de MOFs co-dopadas [$Y_{1-x}Ln_x$(BTC)]. No quinto é apresentado o uso da espectroscopia Raman para identificação simultânea dos resíduos orgânicos e luminescentes após disparos com munições marcadas.

Referências

(1) CNM. *Estudo Técnico - Homicídios por Armas de Fogo no Brasil*; 2010.

(2) Waiselfisz, J. J. *Mapa da Violência 2013 - Mortes Matadas por Armas de Fogo*; 2013.

(3) Conselho Nacional do Ministério Público - CNMP. *Meta 2: A Impunidade como Alvo*; Brasília-DF, 2012.

(4) Geneva Declaration. *Global Burden of Armed Violence 2011*; 2011.

(5) Waiselfisz, J. *Mapa da Violência 2012 - Os Novos Padrões da Violência Homicida no Brasil*; São Paulo, 2011.

(6) Martiny, A.; Campos, A. P. C.; Sader, M. S.; Pinto, A. L.; Pinto, M. A. L. *Forensic Sci. Int.* **2008**, *177*, e9–e17.

(7) Weber, I. T.; Terra, I. A. A.; Melo, A. J. G.; Lucena, M. A. M.; Wanderley, K. A.; Paiva-Santos, C. O.; Antônio, S. G.; Nunes, L. A. O.; Paz, F. A. A.; de Sá, G. F.; Alves Júnior, S.; Rodrigues, M. O. *RSC Adv.* **2012**, *2*, 3083.

(8) Weber, I. T.; Melo, A. J. G.; Lucena, M. A. M.; Rodrigues, M. O.; Alves Junior, S. *Anal. Chem.* **2011**, *83*, 4720–4723.

(9) Weber, I. T.; Melo, A. J. G.; Lucena, M. A. M.; Rodrigues, M. O.; Alves Júnior, S. Processo de Obtenção de Munição Luminescente e Processo de Detecção de Resíduos de Tiro - BR Patent WO/2010/105326, 2010.

(10) Destefani, C. A.; Motta, L. C.; Vanini, G.; Souza, L. M.; Filho, J. F. A.; Macrino, C. J.; Silva, E. M.; Greco, S. J.; Endringer, D. C.; Romão, W. *Microchem. J.* **2014**.

(11) Lucena, M. A. M.; de Sá, G. F.; Rodrigues, M. O.; Alves Júnior, S.; Talhavini, M.; Weber, I. T. *Anal. Methods* **2013**, *5*, 705.

(12) Lucena, M. A. de M. Síntese, Caracterização e Avaliação do Sistema ZnAl2O4:TR3+ como Marcador Luminescente para Resíduo de Tiro, Universidade Federal de Pernambuco, 2012.

CAPÍTULO I

Avaliação estrutural e espectroscópica da MOF [Eu(BTC)]

1.1 Introdução

1.1.1 Redes metal-orgânicas

As redes metal-orgânicas, ou MOFs (do inglês *Metal Organic Framework*), representam uma classe de materiais híbridos cristalinos e nanoporosos, que se destaca como uma das classes de compostos químicos mais estudadas nos últimos anos.[1–9] Na construção das MOFs, o centro metálico ou cluster inorgânico se mantém fortemente conectado a um ligante orgânico multidentado, formando estruturas com duas ou três dimensões.

Nestas redes, enquanto que o centro metálico pode ser responsável por propriedades ópticas, elétricas ou magnéticas do material, o ligante é o principal responsável pela estrutura.[10] O tamanho do ligante, sua forma, rigidez, quantidade e posição dos átomos doadores (por exemplo O- e N-), e as possíveis interações metal-ligante, são critérios decisivos para a formação da rede.[7] Desta forma, a compreensão das regras de auto-organização molecular pode ser a chave para a construção de sistemas com estruturas sofisticadas e funções específicas.[11]

Sabe-se, entretanto, que devido aos diversos modos de coordenação que podem ser adotados pelos ligantes multidentados, a baixa previsibilidade estrutural se tornou um desafio na modelagem destas redes de coordenação.[9] Com o intuito de diminuir o problema associado a previsibilidade, diversos pesquisadores adotaram como estratégia a construção de SBU (*Secondary Building Units*) (figura 1.1).

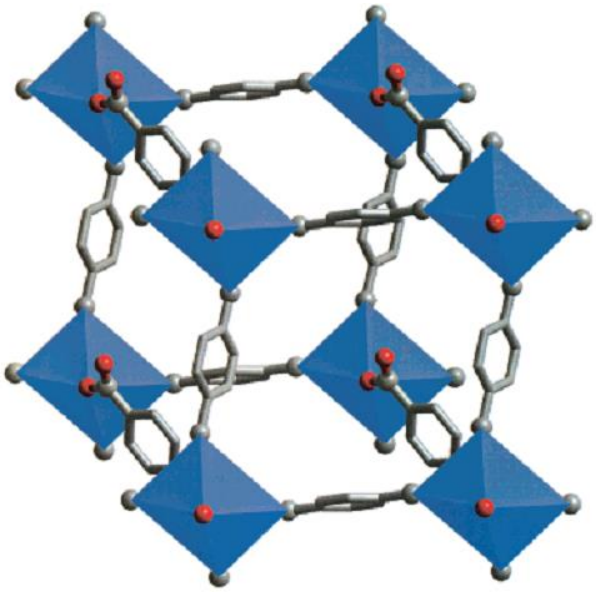


Figura 1. 1 – Estrutura da MOF-3 [$Zn_3(BDC)_3 \cdot 6CH_3OH$] mostrando a SBU (poliedro azul).[12]

O termo SBU, introduzido e popularizado por Yaghi e colaboradores,[12] se refere as subunidades formadas pelo ambiente químico do metal, associado ao modo de coordenação do ligante. O conceito sugere que, em condições de sínteses bem estabelecidas, a rede se auto organiza em função desta subunidade, definida pelo modo de coordenação metal-ligante. Assim, o conceito de SBU leva à formação de protocolos reacionais voltados a predição topológica da rede,[7,9,12] sendo também utilizado para classificar as MOFs segundo sua topologia.[6]

Uma vez estabelecidas tais condições é possível reproduzir as subunidades utilizando, até mesmo, uma combinação com outros ligantes (figura 1.2),[13] em que a estabilidade destas estruturas irá depender principalmente da SBU formada e da força de ligação entre o ligante orgânico e a SBU.[13]

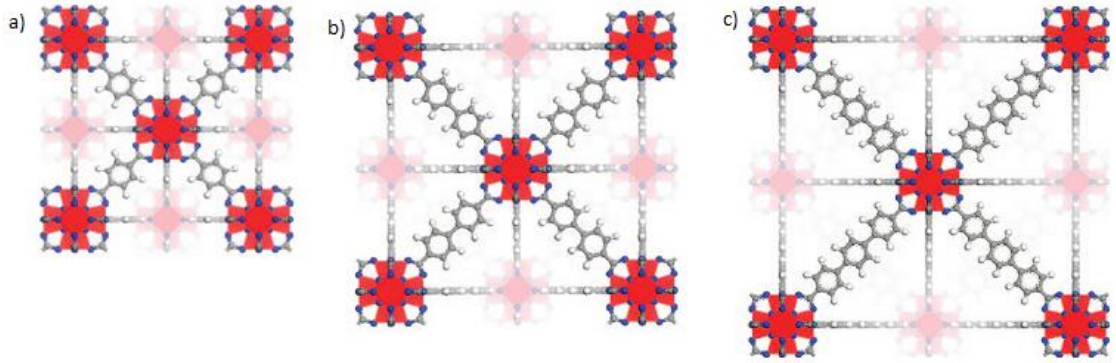


Figura 1. 2 - (a) UiO-66: Zr-MOF que utiliza o BDC (1,4-benzenodicarboxilato) como ligante; (b) UiO-67: Zr-MOF que utiliza o BPDC (4,4′-bifenildicarboxilato) como ligante; (c) UiO-68: Zr-MOF que utiliza o TPDC (terfenildicarboxilato) como ligante. Todas apresentando a mesma SBU; (UiO = University of Oslo).[13]

1.1.2 Métodos de Síntese

Diversos métodos de síntese têm sido empregados na obtenção das redes metal-orgânicas.[14] De acordo com Stock e Biswas,[15] estes métodos podem ser classificados como convencionais, os quais empregam aquecedores elétricos convencionais como fornos e placas aquecedoras, ou métodos não-convencionais, adotados mais recentemente com o intuito de reduzir o tempo de síntese e produzir cristais menores e mais uniformes,[14] como apresentado na figura 1.3.

Os métodos convencionais podem ser divididos em solvotermais e não-solvotermais. Enquanto os solvotermais utilizam sistemas hermeticamente fechados, com pressão autogerada e temperatura acima do ponto de ebulição do solvente, as sínteses não-solvotermais ocorrem em sistemas abertos (a pressão atmosférica) e em temperatura igual ou inferior ao ponto de ebulição do solvente, como as sínteses de cristalização aberta[16,17] e precipitação direta[18,19].

Os métodos solvotermais, por sua vez, são comumente classificados em função do tipo de solvente utilizado. Assim, os métodos que empregam água como solvente são chamados hidrotermais,[20–24] os que utilizam líquido iônico são conhecidos como ionotermais,[25,26] e o termo solvotermal é tradicionalmente utilizado para a síntese com solventes orgânicos.[27–29]

Os métodos solvotermais utilizam temperaturas relativamente baixas, entre 100°C e 200°C,[2,4,8,9,30] e o sistema é mantido em um recipiente hermeticamente fechado, como um reator de teflon revestido com camisa de aço inox. A pressão pode ser controlada através do volume do solvente e da temperatura da síntese. O tempo de síntese desempenha um papel importante pois está relacionado à cinética de nucleação e crescimento dos cristais.[2–4,7,9,31] Enquanto que a termodinâmica do processo está relacionada a temperatura da síntese. Parâmetros como concentração e pH do meio também são fundamentais na definição da estrutura gerada e topologia da rede.

Em condições solvotermais, a solubilidade de partículas amorfas aumenta, favorecendo processos de dissolução e reprecipitação. Além disso, o crescimento dos cristais também é favorecido. Cristais menores se dissolvem para formar cristais maiores, com menor energia de superfície e maior qualidade, adequados para a análise estrutural.[32,33] Estas características, aliada a facilidade de síntese, colocam os métodos solvotermais entre os mais empregados na síntese das MOFs.

Nos últimos anos, entretanto, métodos não convencionais como os assistidos por micro-ondas,[34–37] eletroquímico,[38] mecanoquímico[39] e sonoquímico[37,40] têm apresentado resultados promissores por reduzirem consideravelmente o tempo de síntese das MOFs. Enquanto que reações

convencionais podem durar dias, as sínteses não-convencionais podem levar a obtenção da mesma rede em minutos. Estas técnicas destacam-se ainda por fornecerem partículas uniformes, com estreita distribuição de tamanho, e pelo fácil controle da morfologia e dos parâmetros de síntese.[7] Entretanto, não são adequadas para a obtenção de monocristais, pois uma alta taxa de nucleação é privilegiada e o crescimento dos cristais não é favorecido.[36]

É importante ressaltar que, partindo dos mesmos precursores, mudanças no método de síntese podem levar a formação de estruturas totalmente diferentes. Desta forma, diferentes métodos são empregados visando maior controle do produto final, seja através de sua fase, morfologia, tamanho de partícula, rendimento da síntese, para a obtenção de MOFs com finalidades específicas, como filmes, membranas, compósitos, assim como a implementação de produção em larga escala.[14,15]

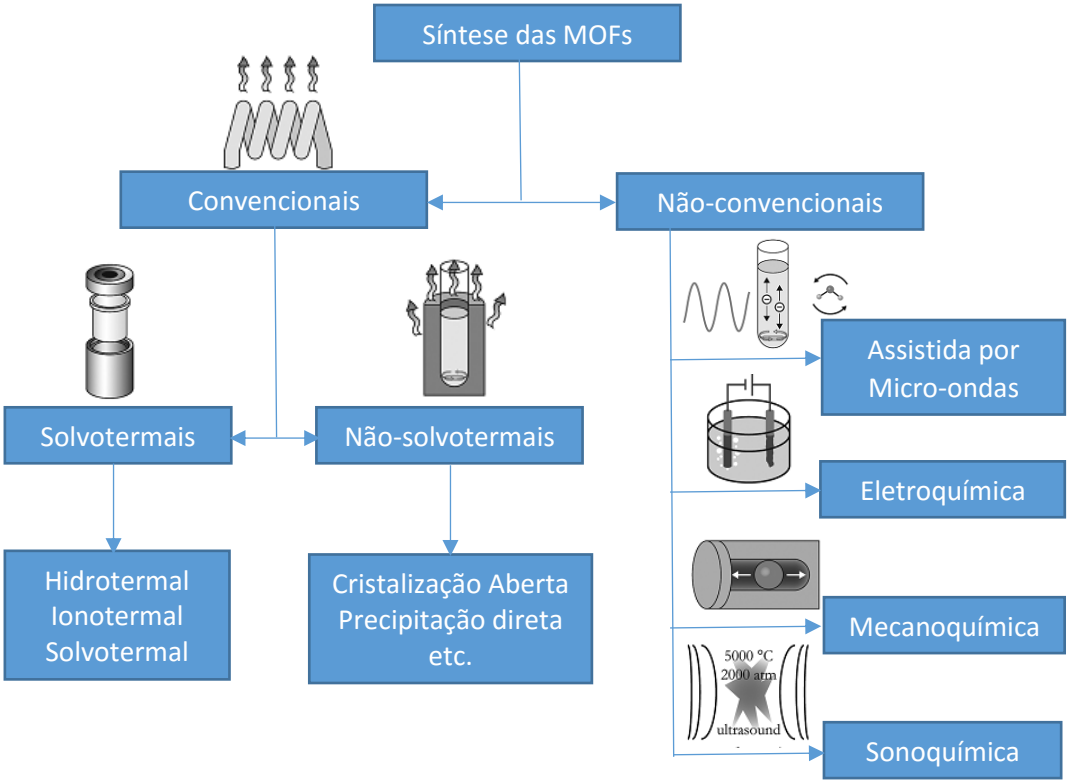


Figura 1. 3 – Classificação dos principais métodos empregados para a síntese das redes metal-orgânicas (Adaptada de *Stock e Biswas*[15]).

1.1.3 Aplicações das MOFs no campo dos materiais porosos

1.1.3.1 Armazenamento de Gás

O grande interesse nas redes metal-orgânicas é resultado principalmente de sua elevada área superficial e do tamanho de poro ajustável, aliados à sua estabilidade térmica e química. Com base nestas características, as MOFs vêm promovendo grandes avanços no campo dos materiais porosos, como em armazenamento de gás,[7,35,41–43] catalisadores,[16,35,44] agentes de separação e de purificação,[45,46] carreamento e liberação controlada de fármacos,[7,47,48] etc.

Durante muitos anos este campo foi dominado pelos compostos

inorgânicos, como as zeólitas ou o carvão ativado, entretanto, o tamanho de poro limitado destes materiais abriram espaço para uma incessante busca por outros mais eficientes. Prova da popularidade das MOFs no armazenamento de gás é que no ano de 2008, para os 387 artigos publicados na área, apenas 1 citava o uso de MOF, enquanto que em 2016, para cada 34 artigos publicados, 1 relata as MOFs. Um aumento de mais de 1000% em 8 anos, como mostra a figura 1.4.[1]

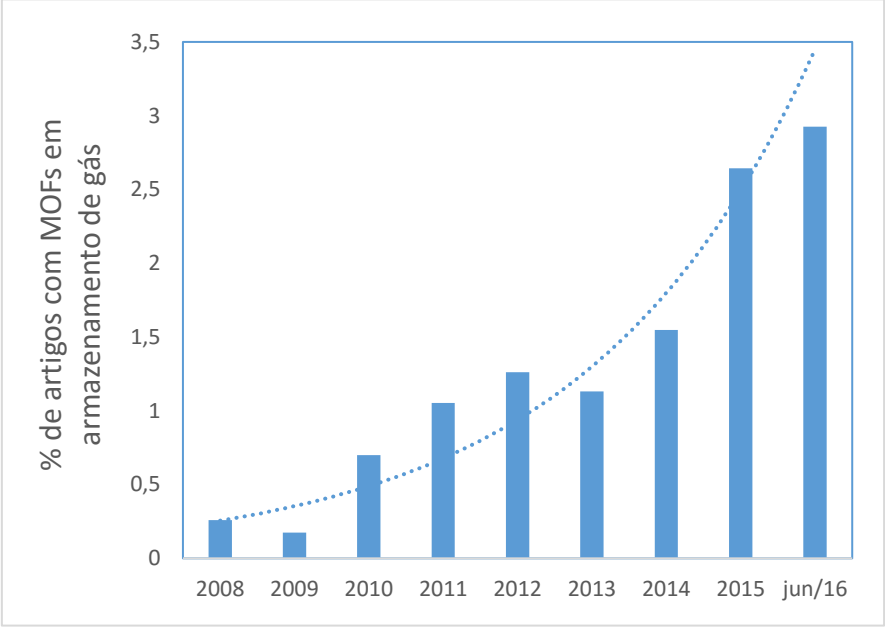


Figura 1. 4 – Percentual de artigos utilizando MOFs em armazenamento de gás.[i]

Um exemplo do uso de MOFs como materiais porosos é no armazenamento de hidrogênio, que é um dos principais desafios da sociedade atual para o uso de energia alternativa. O Departamento de Energia Americana

[1] Pesquisa realizada utilizando a opção de busca avançada no *ScienceDirect.com* com as palavras ‘gas storage’ e ‘gas storage & MOF’ contidas no título, abstract ou palavras-chave.

(DOE) estabeleceu como limite mínimo para esta aplicação, que o material apresentasse um armazenamento de 6,5% de H_2 por peso da matriz. A MIL-101 (área superficial = 5900 m^2/g; tamanho de poro = 29 x 34 Å) (em que MIL = *Materials of Institut Lavoisier*) e MOF-177 (área superficial = 4500 m^2/g; tamanho de poro = 11×17 Å) apresentam armazenamento de 6,1% e 7% em peso, respectivamente, comparado a 1,8% apresentado pelas zeólitas.[7] Estes dois materiais se destacam ainda por apresentarem uma das maiores áreas superficiais específicas já reportadas.[7]

1.1.3.2 Aplicações Biomédicas

Aplicações de MOF na biomedicina e nas ciências farmacêuticas também vêm recebendo bastante atenção, com destaque para o carreamento e liberação controlada de fármacos (*drug delivery*), e para o uso como agente de contraste em ressonância magnética por imagem. As MOFs têm mostrado resultados superiores aos materiais utilizados atualmente, tanto na capacidade de aprisionamento como na liberação controlada do fármaco, evitando o indesejável *efeito burst* (liberação inicial muito rápida do fármaco) apresentado por carreadores convencionais. A título de comparação, a MOF MIL-101 apresentou capacidade de armazenamento de Ibuprofeno quatro vezes superior a nanopartícula de sílica mesoporosa MCM-41 (*Mobil Crystalline Material*).[7]

O sucesso das MOFs em *drug delivey* é resultado principalmente de sua porosidade elevada, que permite aprisionamento de uma grande quantidade de fármaco, da possibilidade de se ajustar o tamanho de poro através da escolha do ligante, permitindo o aprisionamento de drogas com dimensões específicas,

e da existência simultânea de componentes hidrofílicos e hidrofóbicos,[7] que possibilita a interação com fármacos com diferentes propriedades físico-químicas. Além disso, a superfície dessas redes pode ser funcionalizada para garantir uma melhor interação com um local específico.[47,48]

1.1.4 Ln-MOFs

MOFs luminescentes baseadas em íons lantanídeos (Ln-MOFs, Lanthanide Organic Framework) também têm atraído bastante atenção por agregar as características típicas das MOFs às propriedades ópticas desses íons.[4,18,29,39,49–52] Assim, aplicações não convencionais, como sensores para íons e pequenas moléculas,[5] nanotermometros,[53] Diodos Orgânicos Emissores de Luz (OLED)[49], Dispositivos Moleculares Conversores de Luz (DLMC),[54,55] assim como marcadores luminescentes para detecção de resíduos de tiro,[56] têm sido propostas.

Para compreensão das características que fazem as Ln-MOFs tão promissoras, serão abordados a seguir alguns conceitos sobre estes materiais luminescentes, como luminóforos, íons lantanídeos, as regras de seleção dos íons lantanídeos, efeito antena, além dos espectros de emissão típicos destes íons. Além disso, serão abordados os ligantes carboxilatos utilizados nas sínteses das Ln-MOFs.

1.1.4.1 Luminóforos

Materiais que apresentam a capacidade de converter determinados tipos de energia em radiação eletromagnética, são chamados de luminóforos.[57,58] Os luminóforos podem ser inorgânicos, orgânicos, ou, como no caso das MOFs, híbridos. Os inorgânicos são conhecidos por sua alta estabilidade, os orgânicos por apresentar alto brilho e eficiência, já os híbridos têm a capacidade de apresentar o melhor das duas espécies.[59]

Basicamente, os luminóforos são formados por uma matriz inerte e por um centro luminescente (podendo conter também um sensibilizador), e a excitação pela matriz normalmente é preferível.[57,58,60] Como centro luminescente, os íons lantanídeos se destacam por apresentarem linhas de emissão bem definidas e que são largamente independentes do ambiente químico ao seu redor, o que resulta em uma elevada pureza da cor emitida.[61]

Os lantanídeos são os elementos da tabela periódica que vão do lantânio ao lutécio, possuem configuração eletrônica $4f^n\ 5s^2\ 5p^6\ 5d^1\ 6s^2$ ($1 \leq n \leq 14$), e são caracterizados pelo preenchimento ao longo da série do orbital $4f^n$. Nestes íons, os elétrons do orbital 4f são altamente blindados e, portanto, sofrem pouca influência do ambiente químico.[57,60,62] Isto faz com que os íons lantanídeos sejam muito semelhantes quimicamente. Entretanto, estes diferem principalmente quanto as suas propriedades ópticas.[63] Íons como Eu^{3+}, Sm^{3+}, Tb^{3+}, Dy^{3+} e Tm^{3+}, por exemplo, emitem respectivamente na região do vermelho, laranja, verde, amarelo e azul, enquanto outros íons como Yb^{3+}, Nd^{3+} e Er^{3+} são conhecidos por emitirem no infravermelho próximo.[61]

Sabe-se que nos lantanídeos, as transições responsáveis pela luminescência são as transições f-f desses íons. Sabe-se também que as regras

de seleção proíbem essas transições por não serem acompanhadas por mudança de paridade. Assim, íons lantanídeos puros não apresentam transições f-f. Entretanto, quando coordenado, a influência do campo ligante, ainda que fraca, é suficiente para provocar mudança de paridade e relaxar a regra de seleção, fazendo com que as transições f-f ocorram.[57,58,63,64] Essas transições costumam apresentar tempos de vida longos (na ordem de microssegundos a milissegundos) e linhas de emissão finas e que apresentam energias praticamente independentes da matriz utilizada.[57,58,61,63,64] Portanto, são essas transições que tornam os íons lantanídeos tão interessantes opticamente.

Apesar das notáveis propriedades luminescentes, todos os íons lantanídeos apresentam absortividade molar baixa, ou seja, são ineficientes em absorver energia. Isto significa que excitar diretamente o íon lantanídeo pode resultar em uma fraca luminescência.[61] Entretanto, este inconveniente pode ser contornado com o uso e a excitação de matrizes que favoreçam o efeito antena (matrizes que absorvem e transferem a energia para o lantanídeo). Um diagrama simplificado mostrando as transferências de energia envolvidas na excitação do íon lantanídeo através do efeito antena é apresentado na figura 1.5.[65]

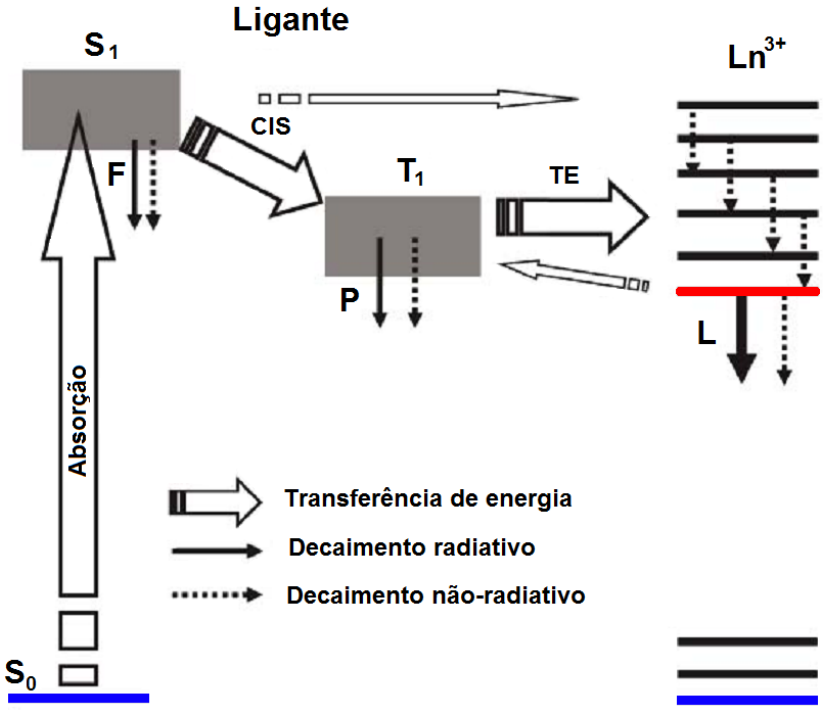


Figura 1. 5 – Diagrama simplificado dos processos de transferência de energia envolvidos na excitação indireta do íon lantanídeo através do ligante (efeito antena). Na figura, F = Fluorescência, P = fosforescência, S = singleto, T = tripleto, CIS = cruzamento intersistema e TE = transferência de energia intramolecular. As linhas azuis correspondem aos estados fundamentais e a linha vermelha corresponde ao nível emissor do Ln^{3+} (adaptado de Bunzli e Piguet).[65]

No efeito antena, o ligante é excitado até um nível vibracional do estado singleto S_1, passando rapidamente para o nível vibracional mais baixo desse mesmo estado através de decaimentos não-radiativos.[57,61] A partir deste ponto, o estado singleto pode ser desativado através de decaimentos radiativos para o estado fundamental S_0 (fluorescência molecular) ou não-radiativos para o estado tripleto T_1 (cruzamento intersistema). De maneira similar, o estado tripleto pode ser desativado por decaimentos radiativos para o estado fundamental S_0 (fosforescência molecular) ou pode transferir energia para um estado excitado do íon lantanídeo (transferência de energia intramolecular).[57,61] Apesar de possível a transferência de energia diretamente do estado singleto S_1 para o

estado excitado do lantanídeo, este processo não é comum devido ao curto tempo de vida do estado singleto.[61,65]

Uma vez povoado o estado excitado do lantanídeo, decaimentos não-radiativos devem ocorrer para que o nível vibracional mais baixo do estado excitado seja atingido. E uma vez neste nível (chamado nível emissor), tanto decaimentos não-radiativos quanto radiativos devem ocorrer para que o íon lantanídeo retorne ao estado fundamental. Neste último caso, os decaimentos radiativos (ou emissão) ocorrem através das transições f-f dos lantanídeos, e dependendo do íon utilizado, pode ser observado na forma de luz visível. Entretanto, para que o efeito antena ocorra, o nível tripleto do ligante deve estar acima do nível emissor do lantanídeo.[9,57,58,60]

Neste sentido, os ligantes carboxilatos aromáticos apresentam-se como fortes candidatos para a síntese de luminóferos que favoreçam o efeito antena. Isto porque enquanto íons emissores fortes como o Eu^{3+}, Sm^{3+}, Tb^{3+} e Dy^{3+} possuem estados emissores com energia variando entre 17250 e 20960 cm^{-1},[61] a maioria dos ligantes carboxilatos aromáticos possuem o nível tripleto com energia entre 18500 e 27000 cm^{-1}.[66] Assim, as chances de favorecer o efeito antena são grandes quando ligantes carboxilatos aromáticos adequados são utilizados.

1.1.4.2 Ligantes carboxilatos aromáticos

Além de favorecer o efeito antena, os ligantes carboxilatos aromáticos se destacam por permitir a formação de estruturas rígidas, onde o metal, por estar conectado a ligações do tipo M-O-C, fica aprisionado pelas carboxilas e formam

SBUs bastante rígidas.[12] A figura 1.6 mostra o metal aprisionado no centro do cluster pelas carboxilas do ligante BDC, formando uma SBU rígida que, por sua vez, dá origem a redes metal-orgânicas rígidas.

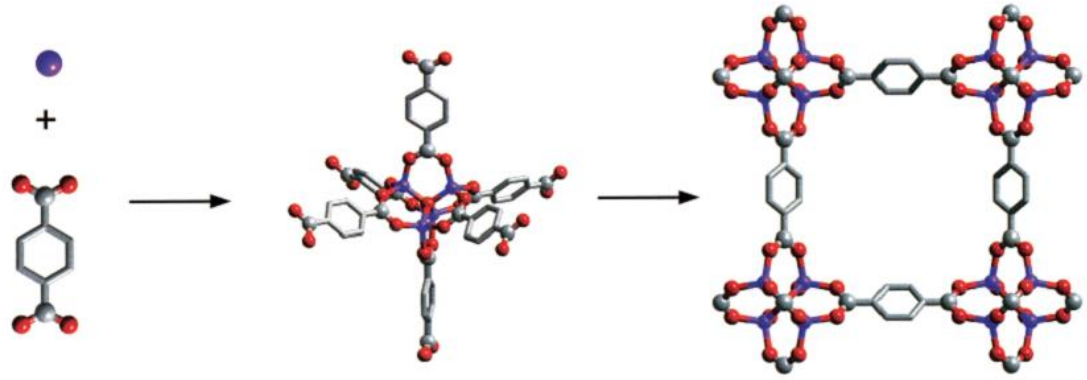


Figura 1. 6 – SBU rígida formada através das ligações M-O-C, onde o metal está aprisionado no centro do cluster pelas carboxilas do ligante BDC, formando estruturas rígidas (na figura: roxo = metal, vermelho = oxigênio, cinza = carbono).[12]

Além da robustez, os ligantes carboxilatos têm a capacidade de formar estruturas diversificadas, uma vez que podem sofrer desprotonação total ou parcial em cada das carboxilas presentes, e adotar diferentes modos de coordenação, como monodentado, quelato, bidentado em ponte (*syn-syn, syn-anti e anti-anti*) e tridentado, como mostra a figura 1.7.[67,68] Além disso, estes ligantes formam estruturas com porosidade bem definida.[13,24,49]

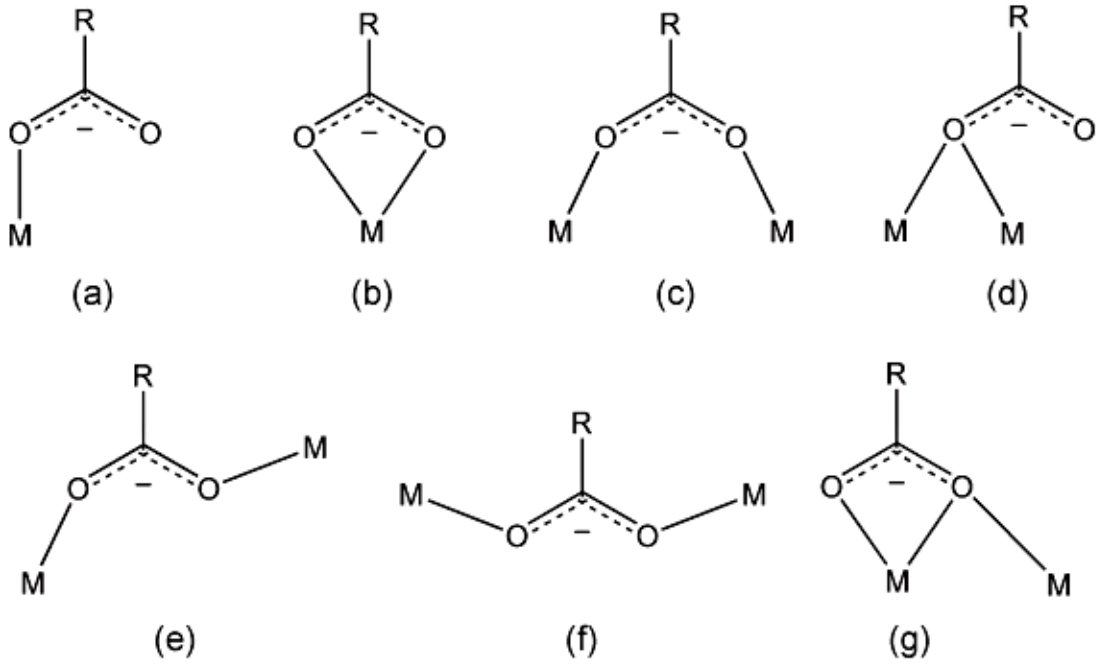


Figura 1. 7 – Diferentes modos de coordenação do grupo carboxílico: a) monodentado [η^1], b) quelato [η^2], c) bidentado em ponte syn-syn [μ_2 : η^1-η^1 Z-Z (O,O')], d) μ_2 : η^1-η^1 Z-Z (O,O), e) bidentado em ponte syn-anti [μ_2 : η^1-η^1 Z-E], f) bidentado em ponte anti-anti [μ_2 : η^1-η^1 E-E], g) tridentado ponte-quelato [μ_2 : η^2-η^1].[68]

O ligante utilizado neste trabalho foi o ácido trimésico, ou ácido 1,3,5-benzeno-tricarboxílico (BTC). Como pode ser visualizado na figura 1.8, o BTC possui três carboxilas que podem ser desprotonadas total ou parcialmente, possibilitando diversos modos de coordenação. Entretanto, a principal característica que o torna propício à formação de MOFs luminescentes é que, além de formar estruturas rígidas, ele favorece fortemente o efeito antena.[55,66]

A energia do estado tripleto do BTC foi determinada em uma série de compostos Ln-BTC, e em todos os casos mostrou ser superior a 25000 cm^{-1},[55] o que é consideravelmente superior ao estado excitado dos íons lantanídeos emissores fortes, como Eu^{3+}, Tb^{3+}, Sm^{3+} e Dy^{3+}, como mostra a figura 1.9. Assim, o BTC é um ligante muito promissor para a síntese de materiais luminescentes

de elevada eficiência.

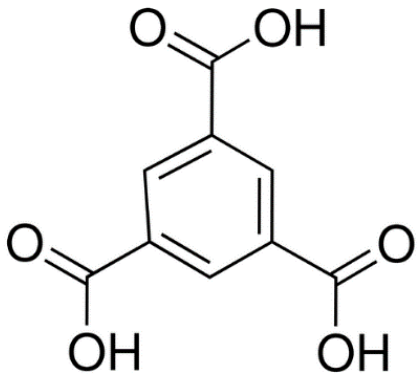


Figura 1. 8 - Ácido trimésico ou BTC.[69]

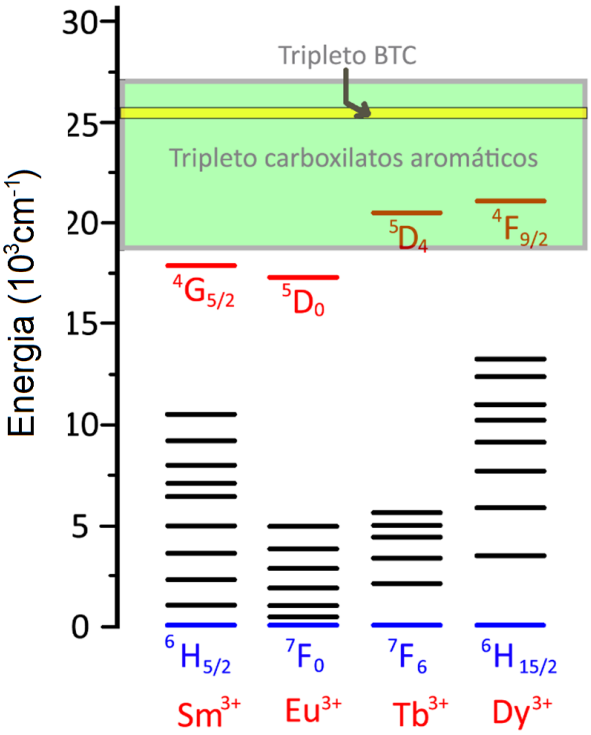


Figura 1. 9 – Diagrama de energia mostrando os estados emissores (linhas vermelhas) e fundamentais (linhas azuis) dos íons Sm^{3+}, Eu^{3+}, Tb^{3+} e Dy^{3+}, e a faixa de energia esperada para o nível tripleto dos ligantes carboxilatos aromáticos (retângulo verde) e para o BTC (retângulo amarelo).[55,66]

1.1.4.3 Ln-BTCs

Para a síntese de materiais luminescentes eficientes, além do uso de ligantes robustos e que favoreçam o efeito antena, canais de decaimentos não-radiativos devem ser evitados. Nos lantanídeos, sabe-se que o principal canal supressor da luminescência é a presença de moléculas de água em sua esfera de coordenação.[9,49] Neste caso, a presença de moléculas pode ainda reduzir a estabilidade térmica da rede, uma vez que a estrutura inicia sua degradação a temperaturas inferiores.

Como elevada luminescência e elevada estabilidade térmica são pré-requisitos básicos para a aplicação de qualquer material como marcador luminescente de resíduos de tiro, a presença dessas moléculas coordenadas é indesejável. Entretanto, a diversidade estrutural proporcionada pelo ligante BTC aliada à possibilidade do controle estrutural através das condições de síntese, torna possível a construção de MOFs adequadas à esta aplicação.

A literatura relata diversas condições de síntese que levam a formação de diferentes estruturas da MOF Ln-BTC. Yang *et al.*,[70] por exemplo, em condições solvotermais, sintetizaram a rede 3D [Eu(BTC)(H_2O)] tetragonal pertencente ao grupo especial $P4_322$. Nesta rede, o Eu^{3+} apresentou número de coordenação (NC) igual a 7, estando ligado a seis oxigênios de seis diferentes moléculas de BTC e a um oxigênio de uma molécula de água. Enquanto isso, através da cristalização aberta em condições brandas, Gustafsson *et al.*[16] sintetizaram a família tridimensional isoestrutural da MOF [Ln(BTC)(H_2O)]·*guest* (em que Ln = Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Ho, Er e Yb; e *guest* = DMF ou H_2O; com DMF = N,N-dimetilformamida).

Liu *et al.*,[18,19,71–74] sintetizaram redes 1D [Ln(BTC)(H_2O)$_6$] (em que Ln = La, Eu, Tb, Ce, La/Eu/Tb), com estruturas monoclínicas pertencentes ao grupo espacial *Cc* através da precipitação direta e em condições bastante brandas. Essas redes são isoestruturais a MOF previamente reportada por Wen *et al.*[75] O número de coordenação do Ln^{3+} foi igual a 9, estando coordenado a três átomos de oxigênio de três diferentes moléculas de BTC, e seis átomos de oxigênio de moléculas de água.

Daiguebonne *et al.*[76] obtiveram monocristais das MOFs 1D [Sm(BTC)(H_2O)$_6$] (isoestrutural a MOF [La(BTC)(H_2O)$_6$]), 1D [Sm(BTC)(H_2O)$_5$]·(H_2O), triclínica, pertencente ao grupo espacial *P-1*, e 2D [Sm(BTC)(H_2O)$_3$]·1,5(H_2O), monoclínica, pertencente ao grupo espacial *C2/c*, através da difusão em gel. As diferenças na estrutura foram obtidas alterando a força do meio gel. Nas três redes, ligações de hidrogênio mantiveram as camadas monodimensionais ou bidimensionais unidas, formando sólidos 3D.

Em todos os casos reportados acima, foi observada a presença indesejável de moléculas de água na esfera de coordenação do íon lantanídeo. Entretanto, outros métodos de síntese reportam a obtenção de redes Ln-BTC sem água coordenada. Li *et al.*,[17] por exemplo, sintetizaram as MOFs isoestruturais 3D [Ln(BTC)(DMF)$_2$]·H_2O (em que Ln = Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb), monoclínicas com grupo espacial *C2/c*, através da cristalização aberta em condições relativamente brandas. Nestas redes, o Ln^{3+} apresentou NC = 8, encontrando-se coordenado a seis átomos de oxigênios de quatro moléculas de BTC, e dois oxigênios de duas moléculas de DMF.

Serre *et al.*,[77] utilizando condições hidrotermais, sintetizaram a MOF 3D MIL-78 (ou [Ln(BTC)], em que Ln = Y^{3+} e Eu^{3+}], com estrutura monoclínica,

pertencente ao grupo espacial *C2/m*. Nesta rede, o Ln^{3+} encontrou-se coordenado a oito átomos de oxigênio, todos pertencentes a ligantes BTC. Esta mesma rede foi obtida via mecanoquímica por Singh *et al.*[39] a temperatura ambiente, sem adição de solventes e em um intervalo de tempo menor (7 horas).

Os principais métodos e parâmetros de síntese utilizados para a obtenção das redes descritas neste item são apresentados na figura 1.10, assim como os diferentes modos de coordenação apresentado pelo BTC em cada uma das estruturas. Como podemos observar, mudanças nos métodos e parâmetros de síntese levaram a formação de estruturas totalmente diferentes.

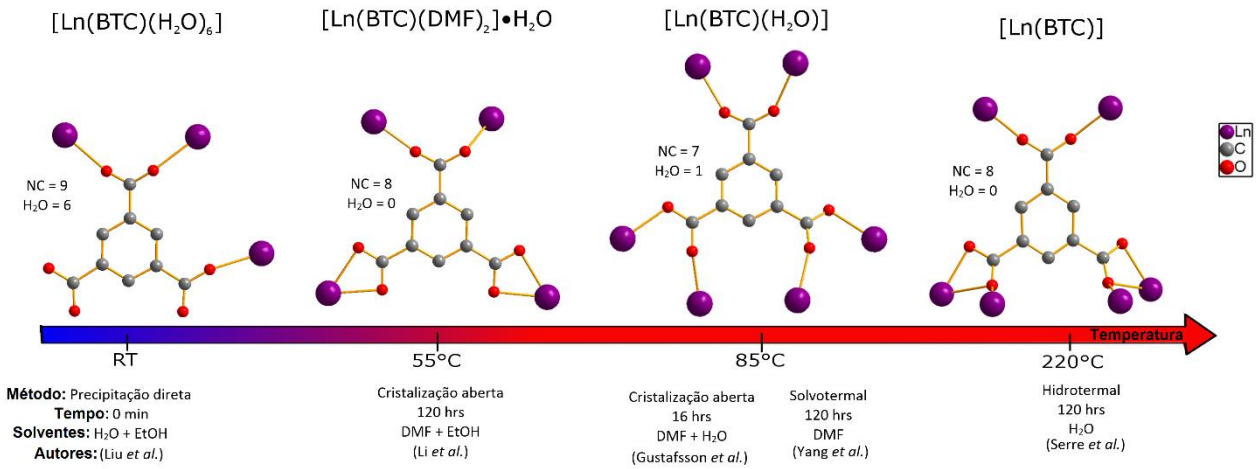


Figura 1. 10 – Métodos e parâmetros utilizados para a síntese de redes metal-orgânicas compostas por íons lantanídeos e BTC, e os diferentes modos de coordenação apresentados por cada rede (NC = número de coordenação do Ln^{3+}; H_2O = quantidade de moléculas de água na esfera de coordenação do Ln^{3+}; RT = temperatura ambiente).

A partir dos dados de decomposição térmica fornecidos para algumas dessas MOFs, o diagrama da figura 1.11 foi construído. Neste diagrama, as barras verdes e vermelhas indicam respectivamente as faixas de temperatura da liberação de moléculas

de água (e/ou DMF) e a degradação do ligante.[2] Já os valores nas barras indicam a porcentagem de massa perdida em cada intervalo. Como esperado, as amostras com água ou DMF coordenados iniciaram sua decomposição em temperaturas inferiores (iniciando até mesmo a temperatura ambiente). Já a degradação do ligante em todas as redes só ocorreu em temperaturas superiores a 350 °C. Entretanto, as MOFs [Y(BTC)] e [Y,Eu(BTC)] (ou MIL-78) se destacaram, apresentando estabilidade térmica superior a todas as outras redes. Esta característica torna a MOF MIL-78 promissora para aplicação como marcador de GSR.

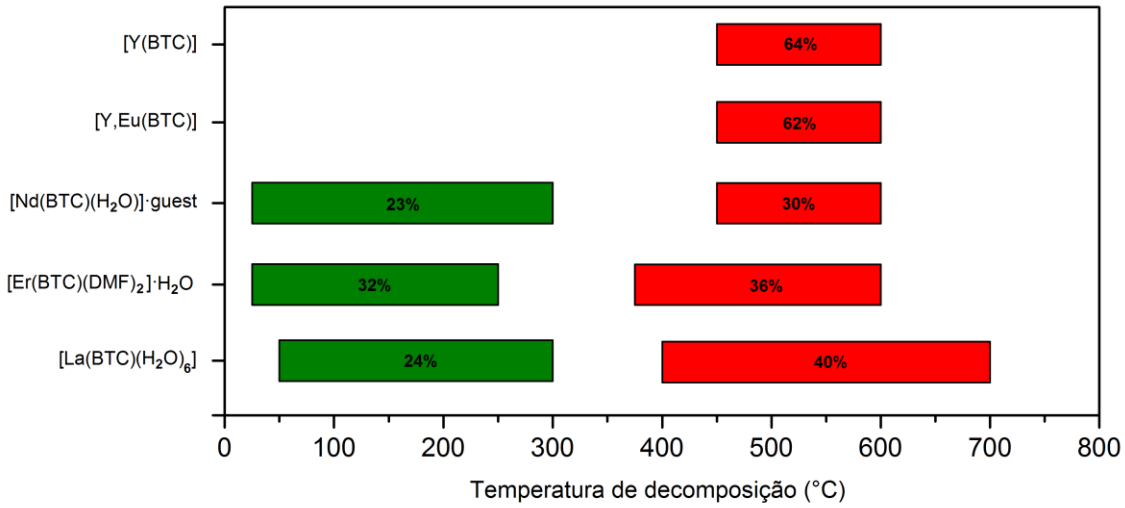


Figura 1. 11 – Diagrama mostrando a decomposição térmica de redes Ln-BTC, a partir de dados fornecidos na literatura para as redes [Y(BTC)][39], [Y,Eu(BTC)][77], [Nd(BTC)(H_2O)]·guest,[16] [Er(BTC)$(DMF)_2$]·H_2O[17] e [La(BTC)$(H_2O)_6$].[18]

1.2 Objetivos

[2] No caso da amostra [Er(BTC)$(DMF)_2$]·H_2O, a decomposição de uma molécula de DMF ocorreu na faixa de temperatura da barra verde, e outra na vermelha.

Este trabalho teve por objetivo a obtenção de uma rede metal-orgânica rígida, que apresentasse elevada luminescência, elevada estabilidade térmica e que não apresentasse água de coordenação. Tudo isso, sem que solventes orgânicos fossem utilizados na síntese. Desta forma, foram utilizados os métodos de síntese hidrotermal convencional e hidrotermal assistido por micro-ondas para obtenção de redes Eu-BTC. Foi avaliada ainda a influência de parâmetros como tempo de síntese e proporção metal-ligante sobre as propriedades estruturais, térmicas e espectroscópicas dessas redes.

1.3 Procedimentos Experimentais

1.3.1 Síntese da MOF [Eu(BTC)]

Para a síntese das MOFs contendo európio e BTC, duas metodologias foram adotadas. Na primeira, utilizando o método hidrotermal convencional, 0,175 mmol de Eu_2O_3 (Sigma Aldrich, 99,5%), 0,35, 0,7 ou 1,05 mmol de ácido trimésico (Sigma Aldrich, 95%) e 5 mL de água deionizada foram adicionados a um reator de teflon revestido com aço inoxidável com capacidade de 10 mL. As concentrações foram estabelecidas de modo a se manter proporções metal:ligante de 1:1, 1:2 e 1:3, respectivamente. O reator foi mantido na temperatura de 150 °C por 72 ou 120 horas. Ao fim da reação, o precipitado obtido foi lavado com água deionizada e acetona, e seco a aproximadamente 60 °C. As seis amostras foram nomeadas de M01 – M06.

No segundo método, utilizando as mesmas concentrações mencionadas acima, três amostras foram preparadas através do método hidrotermal assistido por micro-ondas (amostras M07 – M09). Foram utilizados reatores de quartzo com capacidade de 10 mL e um micro-ondas da *CEM Corporation* modelo *Discover Proteomics*®, com potência de 100 W. Ao final de 20 minutos foi obtido um precipitado branco, que foi lavado e seco como descrito no item anterior. Os parâmetros de síntese utilizados são apresentados na tabela 1.I.

Tabela 1. I – Condições de síntese das MOFs [Eu(BTC)].

	Reação	Eu	BTC	Tempo
M01	HC	1	1	72h
M02	HC	1	2	72h
M03	HC	1	3	72h
M04	HC	1	1	120h
M05	HC	1	2	120h
M06	HC	1	3	120h
M07	MW	1	1	20 min
M08	MW	1	2	20 min
M09	MW	1	3	20 min

* HC = Hidrotermal Convencional; MW = Micro-ondas;

1.3.2 Caracterização das MOFs Eu:BTC

As MOFs sintetizadas foram caracterizadas por:

- Difratômetro Bruker D8 Advanced com Davinci design com ânodo de cobre ($\lambda_{k\alpha1}$ = 1,5406 Å, $\lambda_{k\alpha2}$ = 1,5444 Å, $I_{\alpha2}/I_{\alpha1}$ = 0,5). As análises por difração de raios X de pó foram realizadas à temperatura ambiente. As intensidades foram coletadas através do método passo a passo num intervalo de 2θ entre 5 e 50º, com Δ2θ de 0,01°.
- Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV, FEI Quanta 200 FEG) acoplado a espectroscopia por dispersão de energia, operando com fonte de emissão eletrostática (FEG, Field Emission Gun), em baixo vácuo, voltagem de 20 keV, distância de trabalho de aproximadamente 15 mm e detector de elétrons retroespalhados;
- Espectrofluorímetro (Espectrofotômetro, Horiba Jobin Yvon FL3-22), com lâmpada de xenônio de 450 W.

- Analisador Termogravimétrico modelo TGA/DTG-60 da Shimadzu, em atmosfera de nitrogênio, com taxa de aquecimento de 10°C/min, até 900 °C.

Programas como o Diamond 3.0 (da Crystal Impact) e Mercury 3.3 (Cambridge Crystallographic Data Centre – CCDC) foram utilizados para simulação das estruturas obtidas utilizando o arquivo CIF fornecido da isoestrutura.

1.4 Resultados e Discussão

1.4.1 Análise Estrutural das MOFs [Eu(BTC)]

Os DRXs das amostras sintetizadas via hidrotermal convencional e hidrotermal assistida por micro-ondas apresentaram a fase majoritária da MOF MIL-78, com picos estreitos típicos de materiais cristalinos, entretanto, com elevada orientação preferencial. Este efeito é relativamente comum e ocorre quando os cristais se orientam preferencialmente de acordo com um plano cristalográfico específico, não aleatório, alterando as intensidades relativas dos picos de difração, como aconteceu com o pico em 11° em todas as amostras. Estes difratogramas podem ser visualizados em anexo, nas informações complementares (figura S.1 e S.2).

Para reduzir o efeito da orientação preferencial, procedimentos de preparação de amostra, como moagem e maceração, podem ser utilizados. Assim, as amostras M01-M07 foram moídas em almofariz de porcelana e novos difratogramas foram obtidos (figura 1.12), os quais tiveram suas linhas bases suavizadas.[3] Já as amostras M08 e M09, sintetizadas por micro-ondas, não foram submetidas ao procedimento de maceração e a nova coleta de dados porque, já no DRX inicial, estas apresentaram grande quantidade de impurezas quando comparadas as demais, como pode ser observado na figura S.1.2 do material complementar. Além disso, as amostras M08 e M09 apresentaram baixa intensidade de luminescência, como será mostrado posteriormente. Estes

[3] A correção da linha base se mostrou necessária provavelmente devido a pequena quantidade de amostra disponível, que permitiu que sinais oriundos do porta amostra fossem observados.

resultados sugerem que a proporção metal:ligante é um fator determinante para a obtenção da fase da MIL-78, em que o excesso de ligante colabora para a formação de fases indesejadas, seja pela formação de estruturas não identificadas ou pela presença de ligante livre junto à rede.

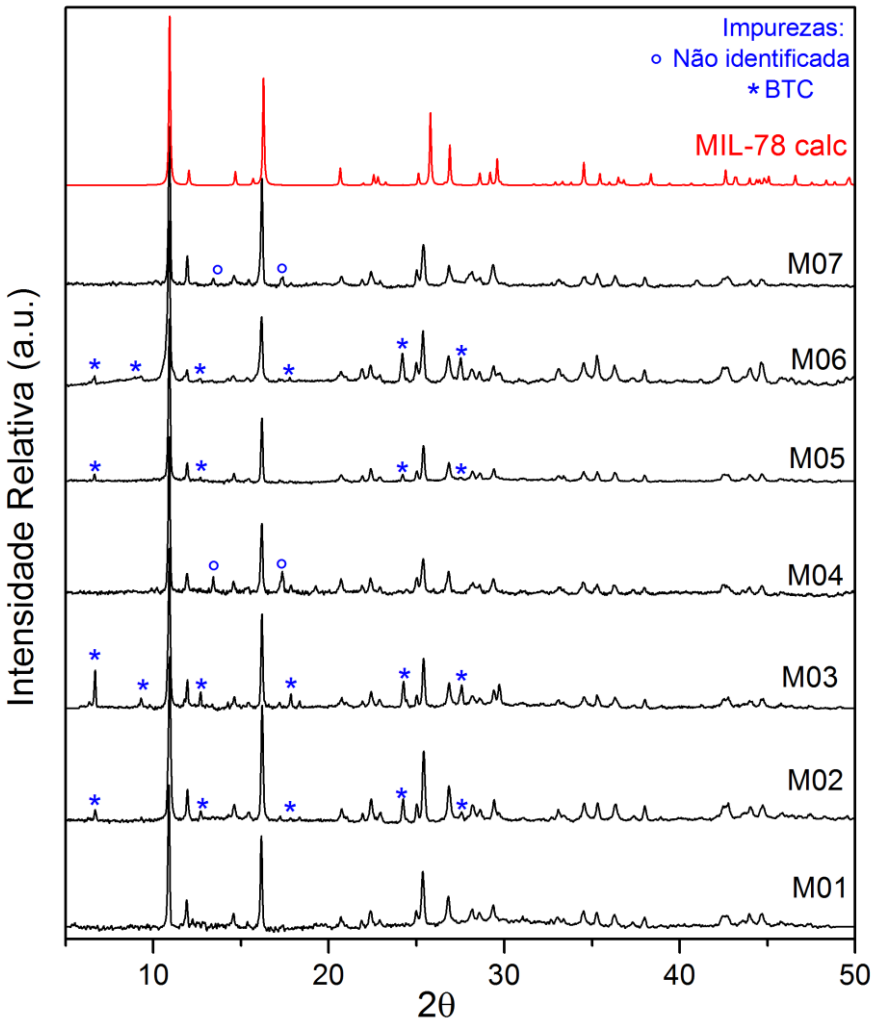


Figura 1. 12 – DRX das amostras M01-M07 após maceramento e suavização da linha base e o DRX calculado através do CIF da MIL-78.

Como se pode observar na figura 1.12, os procedimentos adotados para diminuição da orientação preferencial nas amostras M01-M07 foram

satisfatórios. Nos novos difratogramas é possível observar a fase da MOF MIL-78, além de picos de baixa intensidade referentes a fases secundárias, identificados em sua maioria como pertencentes ao ligante BTC na sua forma livre. O DRX do BTC encontra-se no material suplementar (figura S.1.3). Observou-se ainda um aumento na intensidade dos picos relativos ao BTC com o aumento da quantidade de ligante utilizada na síntese. Desta forma, a proporção metal:ligante 1:1 mostrou ser a mais adequada para a obtenção da MOF [Eu(BTC)].

Nos difratogramas da figura 1.12 é possível observar ainda um pequeno deslocamento para a esquerda em relação ao DRX calculado para a MIL-78. A MIL-78 utiliza o Y^{3+} como centro metálico, que possui raio iônico ligeiramente menor do que o Eu^{3+}, $R(_{Y}^{3+})$= 1,019Å e $R(_{Eu}^{3+})$= 1,066Å para NC = 8.[78] Desta forma é razoável esperar que os parâmetros de rede, e consequentemente a distância interplanar (*d*) das MOFs que utilizam o Eu^{3+}, sejam ligeiramente maiores. De acordo com a Lei de Bragg ($2d \cdot sen\theta = n\lambda$), quanto maior o valor de *d*, menor será o valor de θ, provocando um deslocamento dos picos de difração para a esquerda.

Em relação ao tempo de síntese, dentro da série hidrotermal, o tempo de 72 horas mostrou ser suficiente para a obtenção da MOF [Eu(BTC)] com elevada pureza e cristalinidade. Entretanto, quando um excesso de ligante é utilizado, a síntese mais longa permite um maior consumo dos reagentes durante a cristalização, reduzindo a quantidade de ligante livre restante na amostra, como pode ser observado no DRX. Entretanto, pode-se dizer que a síntese nas condições da amostra M01 foi a mais adequada para a obtenção de uma rede mais pura. No entanto, é importante destacar que o tempo de síntese pôde ser

consideravelmente reduzido com o uso da síntese assistida por micro-ondas. Neste caso, foi possível reduzir o tempo de síntese em mais de 200 vezes, e produzir a MOF [Eu(BTC)] com relativa pureza e cristalinidade em apenas 20 minutos.

A elevada redução no tempo de reação ocorre porque, na síntese assistida por micro-ondas, a radiação eletromagnética interage diretamente com o momento de dipolo das moléculas polares.[15,37] A irradiação por micro-ondas faz com que, ao tentarem se alinhar ao campo elétrico oscilante, as moléculas polares passam a girar e colidir entre si, resultando em um rápido aumento da energia cinética e, consequentemente, da temperatura do sistema, reduzindo o tempo da síntese.[14,15,37] São reportados, por exemplo, casos em que a redução de tempo de síntese pode chegar a 1000 vezes quando comparado a síntese convencional.[37]

A partir do CIF fornecido por Serre *et al.*[77] para a MIL-78, também foi possível descrever a estrutura da MOF [Eu(BTC)], como apresentado nas figuras 1.13 – 1.16. Nesta rede, o Eu^{3+} está coordenado a oito átomos de oxigênio de seis diferentes moléculas do ligante BTC, e seu poliedro de coordenação é um dodecaedro *D2d* (figura 1.13), geometria frequente para estruturas com NC = 8. Nesta geometria o ligante adota dois diferentes modos de coordenação, bidentado em ponte syn,syn [μ_2:η^1-η^1 Z-Z (O,O')][68,79] e tridentado ponte-quelato [μ_2:η^2-η^1][68,79], no qual cada molécula de BTC está ligada a seis íons Eu^{3+} (figura 1.14). Já a célula unitária desta rede (figura 1.15), apresenta estrutura monoclínica pertencente ao grupo espacial *C2/m*. Podemos destacar a ausência de moléculas de água na esfera de coordenação do Eu^{3+}.

A vista, ao longo do eixo b, da rede propagada pode ser visualizada na figura 1.16. Nesta imagem podemos observar que a rede se propaga em 3D devido aos modos de coordenação adotados pelo BTC. As imagens das figuras 13 - 16 foram geradas com o programa Diamond 3.0, a partir do CIF da MIL-78 fornecido por Serre *et. al.*[77]

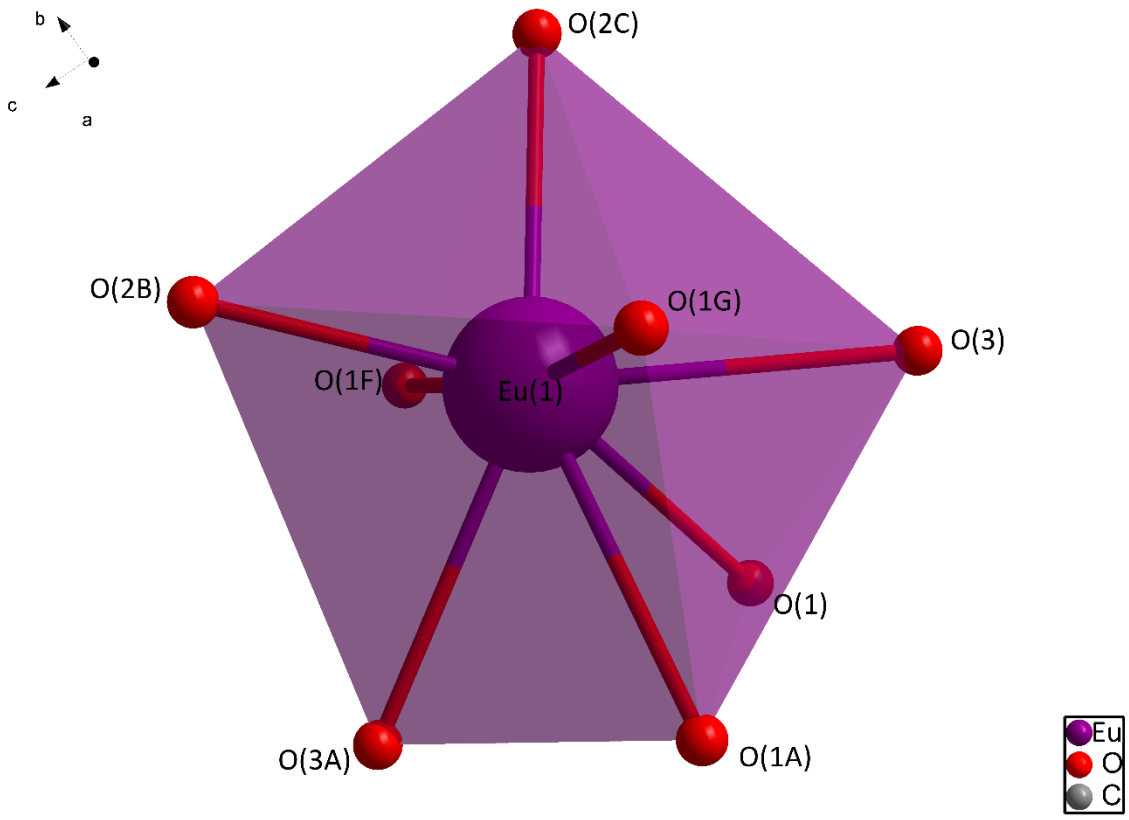


Figura 1. 13 - Poliedro de coordenação do íon Eu^{3+} na MOF [Eu(BTC)] elaborado a partir do arquivo CIF da MOF isoestrutural MIL-78.

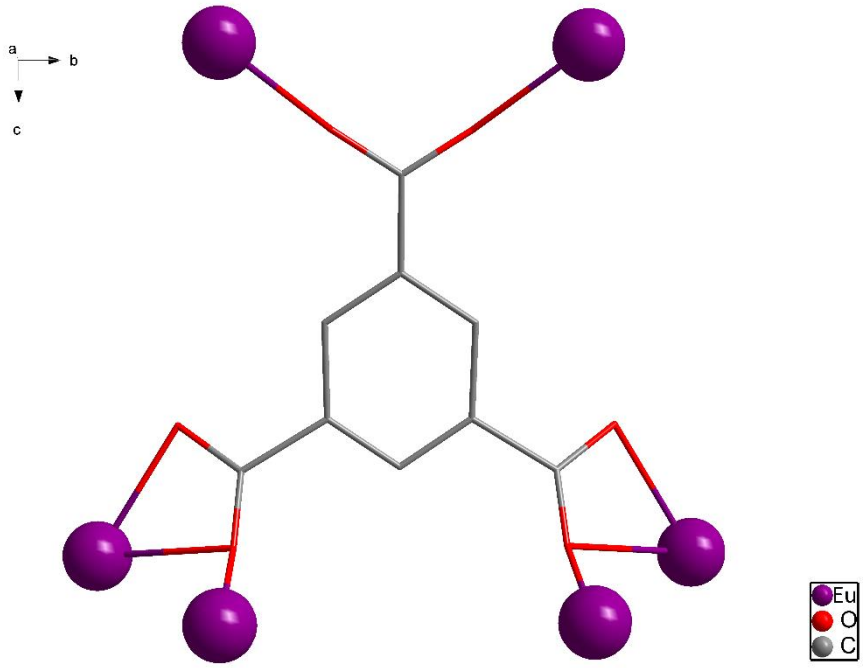


Figura 1. 14 - Imagem mostrando os dois modos de coordenação do BTC (bidentado em ponte syn,syn e tridentado ponte-quelato) da MOF [Eu(BTC)], elaborada a partir do arquivo CIF da MOF isoestrutural MIL-78.

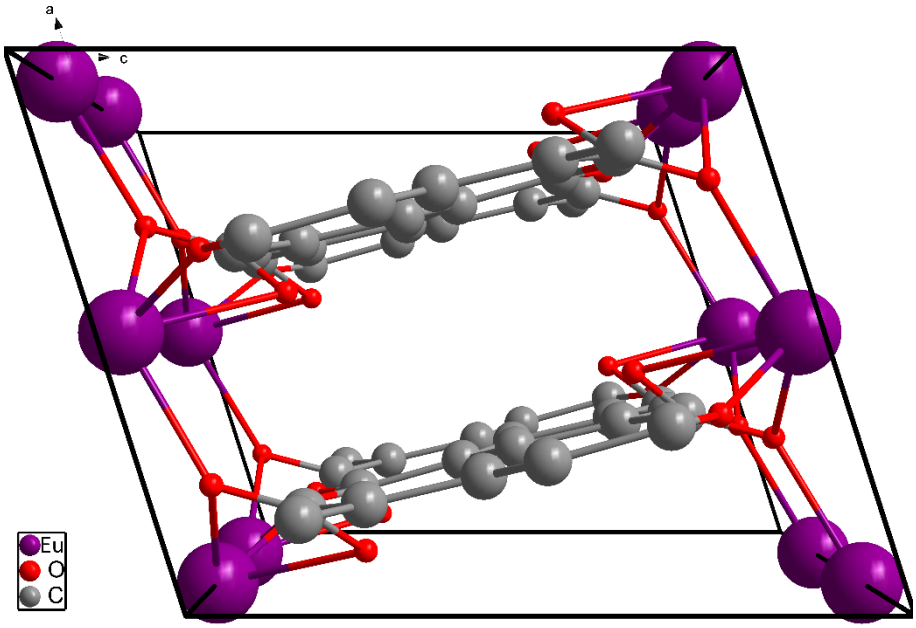


Figura 1. 15 – Celula unitária da MOF [Eu(BTC)] elaborada a partir do arquivo CIF da MOF isoestrutural MIL-78.

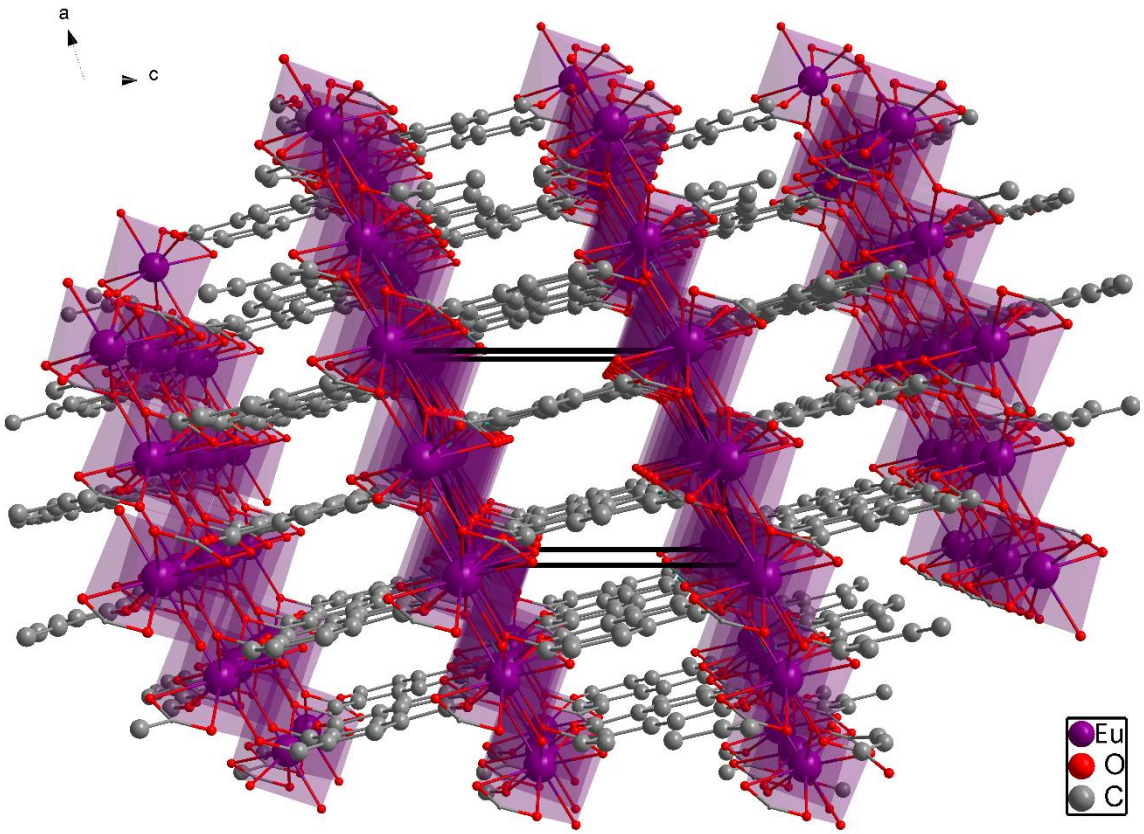


Figura 1. 16 – Vista, ao longo do eixo b, da MOF [Eu(BTC)] estendida, elaborada a partir do arquivo CIF da MOF isoestrutural MIL-78.

1.4.2 Análise Termogravimétrica

Para realização das análises termogravimétricas (figura 1.17), foram selecionadas apenas as amostras M01 a M07, uma vez que estas apresentaram maior pureza de fase e propriedades luminescentes superiores (as quais serão discutidas posteriormente). A análise termogravimétrica mostrou que, dependendo da proporção metal:ligante utilizada na síntese, as amostras apresentaram dois comportamentos térmicos distintos.

Para as amostras com proporção 1:1, exceto por um pequeno evento próximo de 100 °C presente nas amostras M04 e M07, foi observada uma elevada estabilidade térmica, com as redes se mantendo estáveis até 430 °C. Só a partir dessa temperatura as redes começam a se degradar, perdendo aproximadamente metade de suas massas através de um único evento exotérmico, que é finalizado por volta de 600 ^{o}C. É importante ressaltar que os eventos próximos de 100 °C podem ser atribuídos a água adsorvida nas cavidades ou superfície do material, uma vez que quando as moléculas de água fazem parte da estrutura, uma maior energia normalmente é necessária para a sua liberação.

Já para as amostras com proporções superiores a 1:1, a degradação da parte orgânica apresentou dois estágios claramente distintos. O primeiro, entre 300 e 440 °C, pode ser atribuído a degradação do ligante na sua forma livre. De acordo com Rezende,[66] o BTC se decompõe totalmente na região entre 300 °C e 450 °C através de 3 eventos endotérmico consecutivos. Desta forma, as perdas observadas nessa região podem ser atribuídas ao ligante livre ligado apenas fisicamente à rede, como consequência de seu excesso nas sínteses. O segundo evento, entre 440 e 600 °C, pode ser associado a degradação da rede propriamente dita e eliminação do ligante estrutural, em acordo com o observado para as sínteses realizadas com a proporção 1:1.

Além disso, foi observado que a quantidade de ligante livre nas amostras foi proporcional a quantidade de ligante utilizada nas sínteses e inversamente proporcional ao tempo de síntese, como mostra a figura 1.17. Tais resultados estão de acordo com as informações obtidas na difração de raios X.

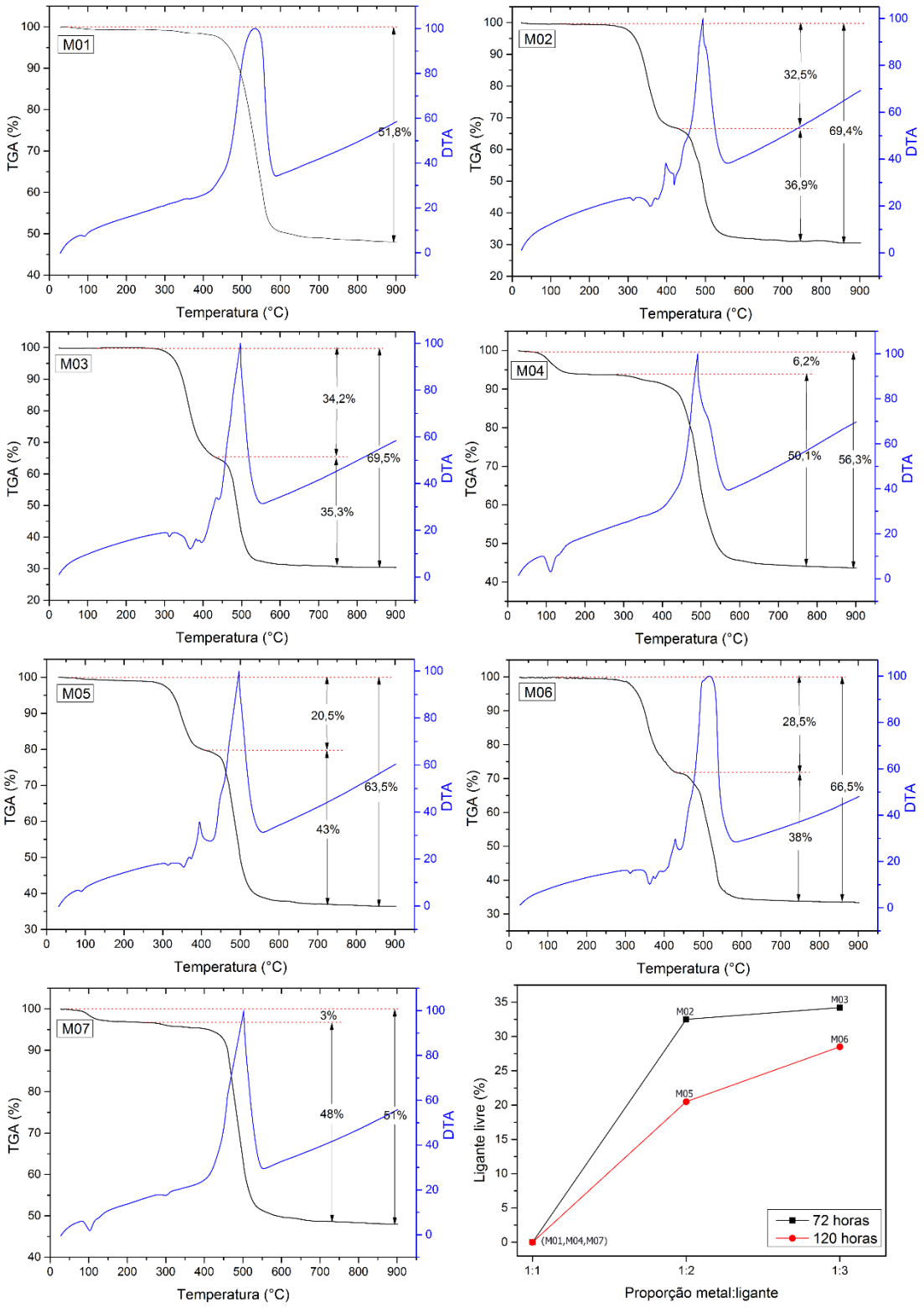


Figura 1. 17 – Curvas de TGA e DTA e proporção de ligante livre nas amostras M01 a M07.

Para avaliar se a quantidade de BTC estrutural na rede estava de acordo com o valor teórico para a MOF [Eu(BTC)], assumiu-se que após a liberação da água ou a degradação do ligante livre, apenas a MOF estaria presente. Assim, a quantidade de BTC estrutural nas amostras M01-M07 foi estimada (Tabela 1.II) e mostrou boa concordância com o valor calculado para a degradação do BTC nesta MOF (de 51%). Resultados semelhantes foram reportados por Serre *et al.*[77] e Singh *et al.*[39]

Tabela 1. II - Proporção de água, do BTC na sua forma livre e da MOF [Eu(BTC)] nas amostras M01-M07. E quantidade estimada do BTC na MOFs [Eu(BTC)] em cada amostra.

Amostra	H_2O (%)	BTC_{livre} (%)	[Eu(BTC)] na amostra* (%)	BTC na MOF** (%)
M01	0	0	100	51,8
M02	0	32,5	67,5	54,7
M03	0	34,2	65,8	53,6
M04	6,2	0	93,8	53,4
M05	0	20,5	79,5	54,1
M06	0	28,5	71,5	53,1
M07	3	0	97	49,5

* % da MOF [Eu(BTC)] estimada em cada amostra = 100% - $\%H_2O$ - $\%BTC_{livre}$
**%BTC na MOF = ($BTC_{estrutural}$x100)/[Eu(BTC)]

1.4.3 Análise da Fotoluminescência

Os espectros de excitação e emissão e o tempo de vida das amostras sintetizadas via hidrotermal convencional (M01 a M06) e assistidas por micro-ondas (M07 a M09) foram obtidos a temperatura ambiente. Os espectros de excitação foram obtidos na região entre 240 e 500 nm, enquanto que a emissão

do európio em 617 nm era monitorada (figura 1.18). Nestes espectros pode-se verificar a presença de uma banda larga centrada em 303 nm associada a transição eletrônica π-π* do ligante,[19] além de bandas mais estreitas referentes as transições internas do Eu^{3+} (f-f). Estas transições, centradas em 361, 380 e 393 nm correspondem respectivamente as transições $^7F_0$-$^5D_4$, $^7F_0$-$^5G_6$, $^7F_0$-$^5L_6$.[71,80,81]

A partir dos espectros de excitação é possível afirmar que a absorção de energia através do ligante, ou seja via efeito antena, é o principal mecanismo de excitação das amostras M01-M07, uma vez que a intensidade relativa da transição π-π* é superior as demais. Entretanto, nas amostras M08 e M09 é possível observar uma mudança de comportamento, provavelmente devido à grande quantidade de impurezas presentes, onde o principal mecanismo passa a ser a excitação direta do Eu^{3+}. Como os íons lantanídeos possuem absortividade molar baixa, este mecanismo é menos eficiente do que o efeito antena apresentado pelas amostras M01-M07.

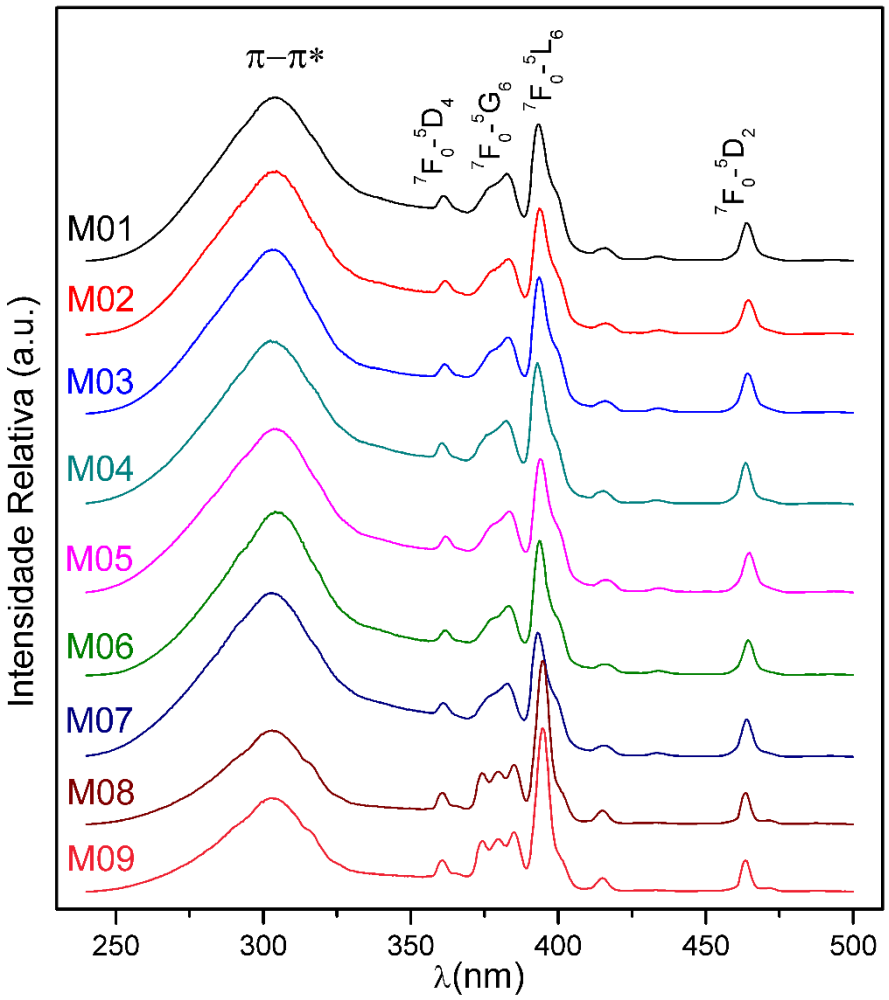


Figura 1. 18 – Espectros de excitação das amostras sintetizadas via hidrotermal convencional (M01-M06) e hidrotermal assistida por micro-ondas (M07-M09), monitorando o comprimento de onda de emissão em 617 nm.

Os espectros de emissão das amostras M01-M09 foram obtidos na região entre 525 e 720 nm, utilizando o comprimento de excitação máxima destas amostras, ou seja, 303 nm para as amostras M01-M07 e 393 nm para as amostras M08 e M09 (figura 1.19). Estes espectros apresentaram as transições $^5D_0$-^7F_J (J = 0 - 4) características do Eu^{3+},[9,71,81] com as transições $^5D_0$-$^7F_1$ e $^5D_0$-$^7F_2$ apresentando intensidades relativas muito próximas, o que indica que o Eu^{3+} se encontra em um ambiente de alta simetria. Este comportamento muda para as amostras M08 e M09, onde a intensidade das transições $^5D_0$-$^7F_2$ é superior.

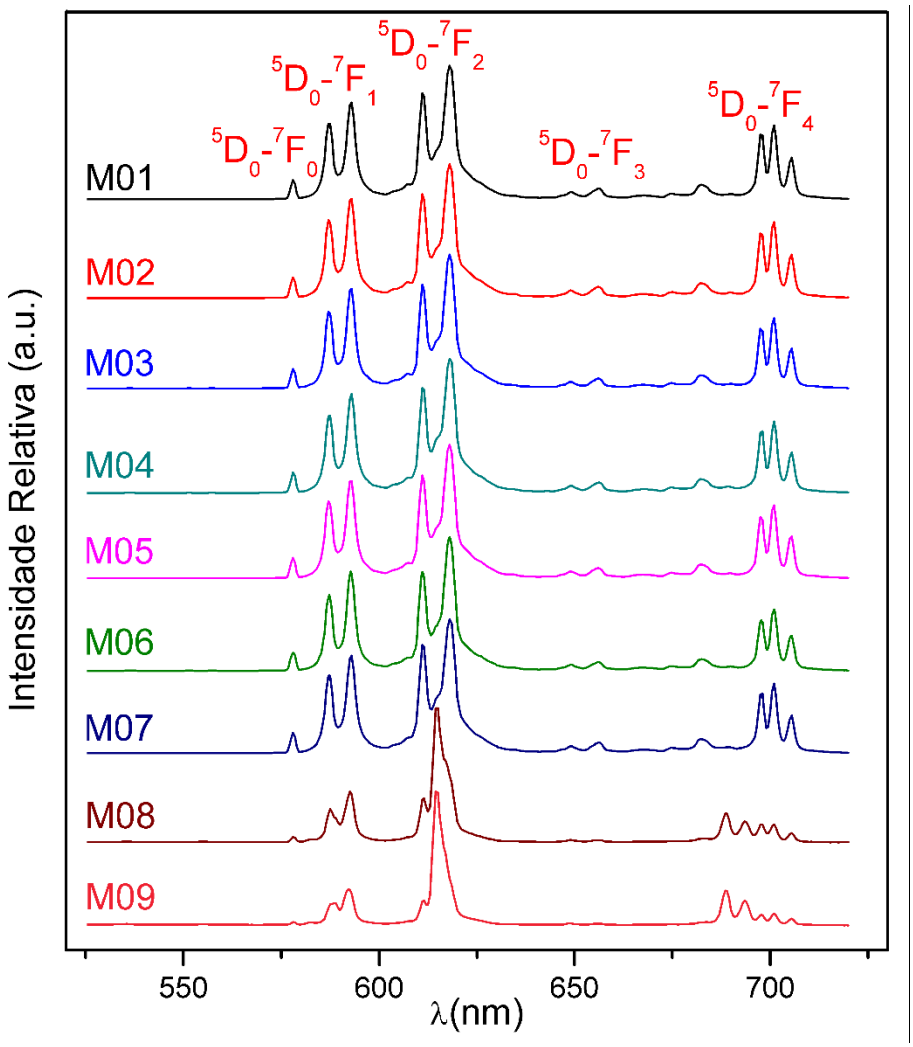


Figura 1. 19 – Espectro de emissão das amostras sintetizadas via hidrotermal convencional (M01-M06) e hidrotermal assistida por micro-ondas (M07-M09), com excitação em 303 nm (amostras M01-M07) e 393 nm (amostras M08 e M09).

Ao olho nu, as amostras M01-M07 apresentaram uma luminescência intensa e muito semelhante quando expostas à radiação ultravioleta, emitindo uma cor vermelha alaranjada como a apresentada na figura 1.20. Enquanto isso, as amostras M08 e M09 apresentaram luminescência menos intensa.

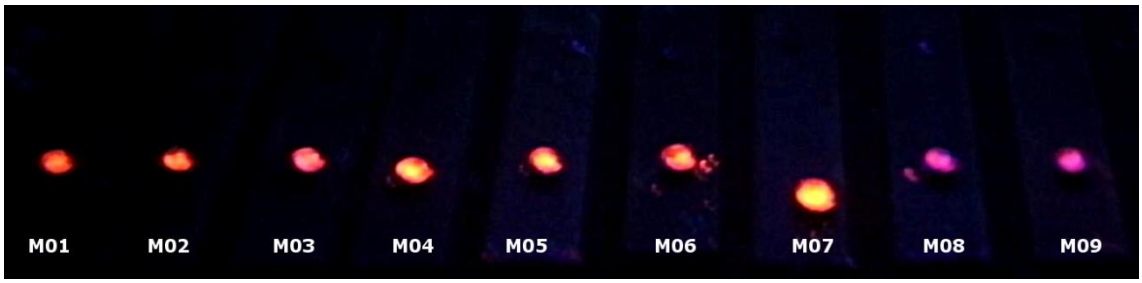


Figura 1. 20 – Imagem das amostras M01-M09 sob radiação UV (λ = 254 nm).

As medidas de tempo de vida foram realizadas utilizando os máximos de excitação e de emissão de cada amostra. Como resultado, o decaimento do estado excitado $^5D_0$ para o estado $^7F_2$ do Eu^{3+} foi descrito como um decaimento exponencial simples ($y=A_1e^{(-x/t1)}+y_0$), indicando que, em cada amostra, todos os íons Eu^{3+} se encontram em ambientes com a mesma simetria (figura 1.21). Além disso, foram obtidos tempos de vida longos, na ordem de milissegundos.[70,82] Para as amostras M01-M07 o tempo de vida variou entre 0,92 ms e 1,29 ms, sem apresentar correlação com os parâmetros de síntese utilizados. Já nas amostras M08 e M09, os tempos de vida foram consideravelmente inferiores (0,23 ms e 0,18 ms, respectivamente). A redução no tempo de vida destas amostras pode estar relacionada a maior quantidade de canais supressores nestas amostras, que desfavorecem os decaimentos radiativos.

Até o momento, não foi reportado medidas de tempo de vida para a MOF MIL-78. Entretanto, outras MOFs sintetizadas com o mesmo ligante, como a $[Eu(BTC)(H_2O)_6]$[55] e $[Eu(BTC)(H_2O)]$[70] apresentaram tempos de vida de 0,23 e 0,84 ms, respectivamente. Essas diferenças frequentemente estão associadas a canais supressores de luminescência, em que decaimentos não-radiativos são favorecidos.[9]

Um dos canais supressores mais efetivos é a presença de moléculas de água coordenadas.[9,49] Prova disto é o tempo de vida de 0,23 ms para a rede [Eu(BTC)(H_2O)$_6$].[55] Entretanto, outros canais supressores podem existir, como transferência de energia entre íons da mesma espécie (auto supressão ou quenching por concentração),[63,83] ou de espécies diferentes (relaxação cruzada),[49] transferência de energia do metal para o ligante (retro transferência),[3,9] presença de osciladores no ligante,[3] entre outros.

É importante ressaltar que não foram observadas alterações nos espectros de excitação e emissão, assim como no de tempo de vida das amostras M01-M07.

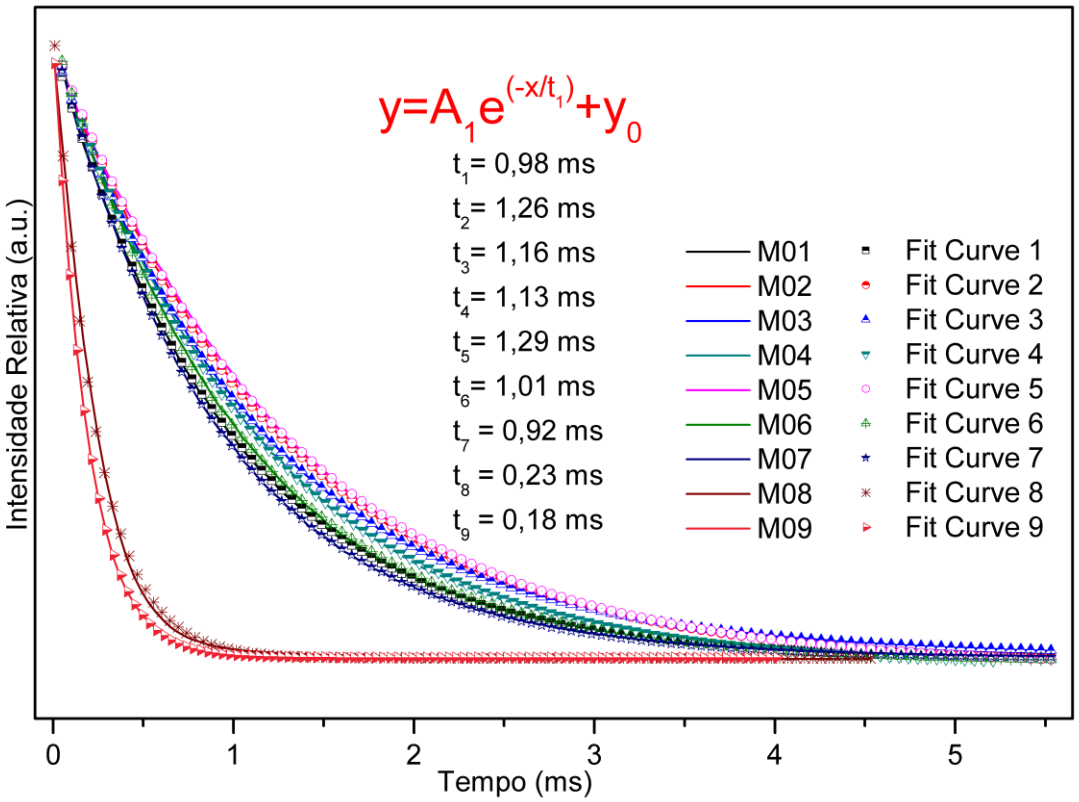


Figura 1. 21 – Curvas de decaimento do estado excitado $^5D_0$ do Eu^{3+} e tempo de vida nas amostras M01-M09, mostrando um decaimento exponencial de primeira ordem.

Sabe-se que o íon Eu^{3+} é utilizado como sonda espectroscópica para se estudar a simetria local.[9,84] Isto porque, enquanto a transição de dipolo magnético (DM) $^5D_0$-$^7F_1$ é amplamente independente do ambiente, as transições de dipolo elétrico forçado (DEF) são fortemente afetadas por ele, principalmente a hipersensitiva $^5D_0$-$^7F_2$ (quanto mais baixa a simetria, mais favorecida é esta transição). Portanto, a transição DM é utilizada como parâmetro interno da emissão do Eu^{3+}.[85] Neste contexto, informações estruturais podem ser obtidas calculando a razão de assimetria (R), os parâmetros de intensidade de Judd-Ofelt Ω_2 e Ω_4, as taxas de decaimentos radiativos (A_{rad}) e não radiativos (A_{nrad}) e a eficiência quântica (η). Estes parâmetros são apresentados na tabela 1.III.

Tabela 1. III – Razão de assimetria (R), parâmetros de intensidade Ω_2 e Ω_4, taxas de decaimentos radiativos (A_{rad}) e não radiativos (A_{nrad}), e eficiência quântica (η) das amostras M01-M09.

	R	**Ω_2 ($10^{-20}cm^2$)**	**Ω_4 ($10^{-20}cm^2$)**	**A_{rad} (s^{-1})**	**A_{nrad} (s^{-1})**	**η (%)**
M01	1,83	3,22	3,59	206	810	20,3
M02	1,81	3,15	4,13	212	583	26,7
M03	1,79	3,12	3,47	201	664	23,2
M04	1,85	3,20	3,89	209	676	23,7
M05	1,77	3,19	3,88	209	566	27,0
M06	1,79	3,13	3,34	199	789	20,2
M07	1,84	3,29	3,73	210	870	19,5
M08	3,15	5,59	4,92	298	4061	6,8
M09	3,97	6,99	5,52	349	5086	6,4

A razão de assimetria (R), que é a razão entre as intensidades das transições $^5D_0$-$^7F_2$ e $^5D_0$-$^7F_1$, pode ser obtida através da área sob a curva das mesmas. A título de comparação, foram reportados na literatura valores de R

variando entre 2,8 e 6,3 para MOFs com baixa simetria.[9,81,86,87] Assim, os valores apresentados pelas redes M01-M07 podem ser considerados baixos (1,77 e 1,85), o que sugere um ambiente de elevada simetria ao redor do íon Eu^{3+}. Além disso, estas amostras apresentarem valores de R muito próximos. Já as amostras M08 e M09 apresentaram valores de R superiores, indicando uma simetria mais baixa para estas redes.[9,84]

Enquanto isso, os parâmetros de intensidade Ω_2 e Ω_4 estão relacionados, respectivamente, as transições de dipolo elétrico forçado $^5D_0$-$^7F_2$ e $^5D_0$-$^7F_4$, e utilizam como referência a transição de dipolo magnético $^5D_0$-$^7F_1$. Enquanto que o parâmetro Ω_2 fornece informações pontuais relacionadas às variações no ambiente químico do metal, o parâmetro Ω_4 está relacionado a efeitos a longa distância, como a rigidez da rede.[9,88] Para o cálculo dos parâmetros, foram utilizadas as equações 1.1 a 1.8 descritas abaixo[4,9,55,88]:

- Cálculo da probabilidade da transição $^5D_0$-$^7F_1$:

$$A_{01} = 0{,}31 \times 10^{-11} \times n^3(\sigma_1)^3 \qquad \text{(Eq. 1.1)}$$

- Cálculo da probabilidade das demais transições:

$$\frac{A_{0J} \times \sigma_J}{A_{01} \times \sigma_1} = \frac{S_{0J}}{S_{01}} \qquad \text{(Eq. 1.2)}$$

- Cálculo dos parâmetros de intensidade Ω_2 e Ω_4:

$$A_{02} = 2{,}33 \times 10^8 \times (\sigma_2)^3 \times \frac{n(n^2+2)^2}{9} \times \mathbf{\Omega_2} \qquad \text{(Eq. 1.3)}$$

(Eq. 1.4)

$$A_{04} = 2{,}4 \times 10^8 \times (\sigma_4)^3 \times \frac{n(n^2+2)^2}{9} \times \mathbf{\Omega_4}$$

- Cálculo das taxas de decaimentos radiativos (A_{rad}) e não-radiativos (A_{nrad}):

$$A_{rad} = \sum_{J=0}^{4} A_{0J} \quad \text{(Eq. 1.5)}$$

$$A_{totol} = \tau^{-1} \quad \text{(Eq. 1.6)}$$

$$A_{nrad} = A_{total} - A_{rad} \quad \text{(Eq. 1.7)}$$

- Cálculo da eficiência quântica (η):

$$\eta = \frac{A_{rad}}{A_{total}} \times 100\% \quad \text{(Eq. 1.8)}$$

Para tal:

A_{0J} = probabilidade das transições $^5D_0$-^7F_J (J = 0 - 4);

n = Índice de refração do composto (n = 1,5);

σ_J = Energia associada ao baricentro das transições $^5D_0$-^7F_J (J = 0 - 4) (em cm^{-1});

S_{0J} = Áreas sob a curva das transições $^5D_0$-^7F_J (J = 0 - 4);

τ = tempo de vida (em ms).

Os valores de Ω_2 para as amostras M01-M07 apresentaram pequena variação (3,12 - 3,29), mostrando que mesmo o excesso do ligante ou a presença de uma pequena quantidade de água adsorvida a superfície do material não

alterou o ambiente químico em que o Eu^{3+} está inserido. O mesmo comportamento foi observado para o parâmetro Ω_4, relacionado a rigidez da rede. Este comportamento muda, entretanto, para as amostras M08 e M09, enfatizando uma mudança na simetria e na rigidez destes sistemas.

A título de comparação, Rodrigues *et al.*[4] reportaram valores de Ω_2 e Ω_4 iguais a $4{,}32 \cdot 10^{-20}$ e $1{,}51 \cdot 10^{-20}$ cm^2 para a MOF $[Eu(DPA)(HDPA)(H_2O)_2 \cdot 4H_2O]$, ambos considerados baixos, enquanto que valores elevados foram reportados por Rezende et al.[55] para a MOF $[Eu(BTC)(H_2O)_6]$, sendo eles $10{,}8 \cdot 10^{-20}$ e $10{,}4 \cdot 10^{-20}$ cm^2, respectivamente. Deste modo, os parâmetros de intensidade apresentado pelas MOFs [Eu(BTC)] sintetizadas neste trabalho podem ser considerados baixos, indicando um ambiente de coordenação em torno do Eu^{3+} pouco polarizável (Ω_2 baixo) e a formação de arranjo estrutural rígido (Ω_4 baixo).[4,9,55,88]

As taxas de decaimentos não-radiativos das amostras M01-M07 apresentaram valores aproximados (566 a 870 s^{-1}), não apresentando correlação com os parâmetros de síntese. O mesmo foi observado para a eficiência quântica (cerca de 20%). Entretanto, as amostras M08 e M09 apresentaram elevadas taxas de decaimentos não-radiativos (4061 e 5086 s^{-1}) e baixa eficiência quântica (inferiores a 7%).

Comparando com a literatura, as taxas de decaimentos não-radiativos apresentadas pelas MOFs $[Eu(DPA)(HDPA)(H_2O)_2 \cdot 4H_2O]$[4] e $[Eu(BTC)(H_2O)_6]$[55] (de 1454,8 e 3820 s^{-1}, respectivamente) foram consideravelmente superiores às apresentadas pelas amostras M01-M07, sugerindo que estas possuem uma menor quantidade de canais supressores de energia, como por exemplo a ausência de água de coordenação. Além disso, a eficiência quântica das

amostras M01-M07 se mostraram superior as duas MOFs reportadas acima (12,7 e 12%, respectivamente).[4,55]

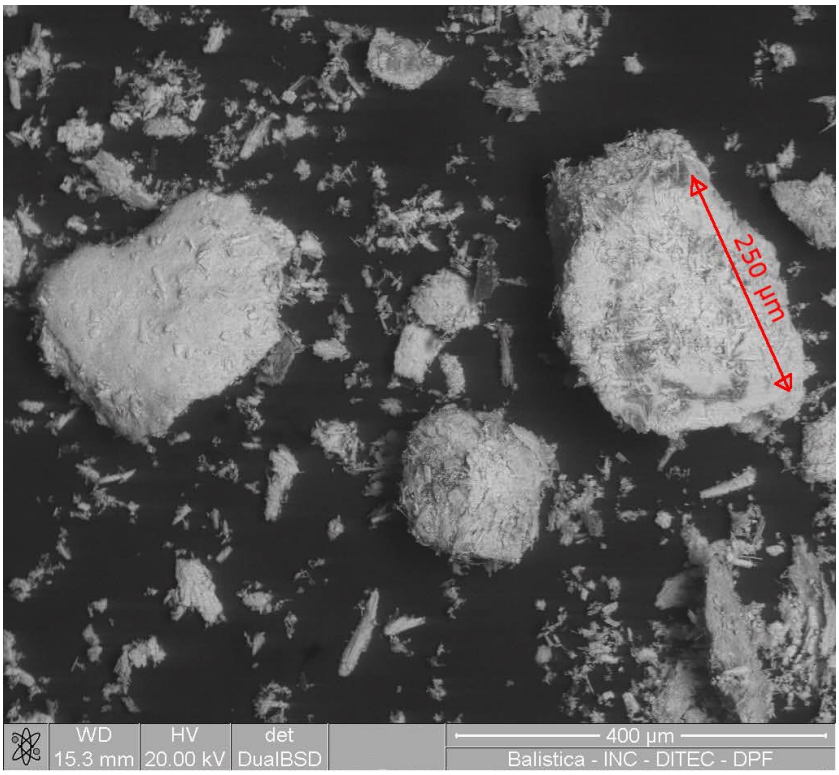
É importante destacar que, como mencionado anteriormente, os testes realizados por nosso grupo com a MOF [Eu(DPA)(HDPA)(H_2O)$_2$·4H_2O][4] mostraram que esta rede atua como excelente marcador luminescente para detecção de GSR.[10,56] Tais resultados tornam as MOFs [Eu(BTC)], sintetizadas nas condições das amostras M01-M07, promissoras candidatas para o sistema de marcação e codificação de munição.

1.4.4 Análise Microestrutural

Para análise por MEV, uma amostra de cada método foi selecionada. Nas micrografias da amostra sintetizada pelo método hidrotermal convencional (amostra M06) é possível observar a coexistência de partículas relativamente pequenas com agregados maiores que formam blocos de até 250 µm (figura 1.22). Uma tendência a formação de estruturas tipo agulha pode ser observada, (figura 1.22.c). Enquanto isso, na micrografia da amostra sintetizada por micro-ondas (amostra M07) é possível observar que, apesar da presença de aglomerados com morfologia similar aos da síntese convencional, estes possuem um tamanho consideravelmente inferior (figura 1.23). Essas diferenças são consequência dos métodos e dos tempos de síntese utilizados.

Sabe-se que na síntese por micro-ondas, uma elevada taxa de nucleação é favorecida devido ao aquecimento rápido e uniforme do sistema, e a cinética

mais rápida observada nestas reações não favorece o crescimento dos cristais. Assim, a síntese assistida por micro-ondas tem a característica de formar cristais menores e mais uniformes.


250 µm
WD
15.3 mm
HV
20.00 kV
det
DualBSD
400 µm
Balistica - INC - DITEC - DPF

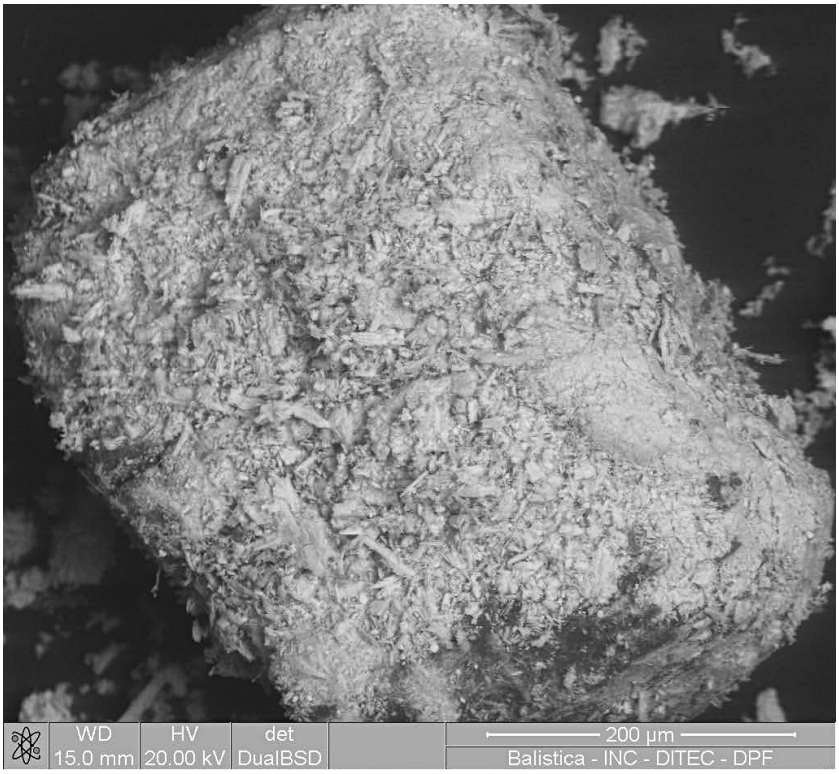
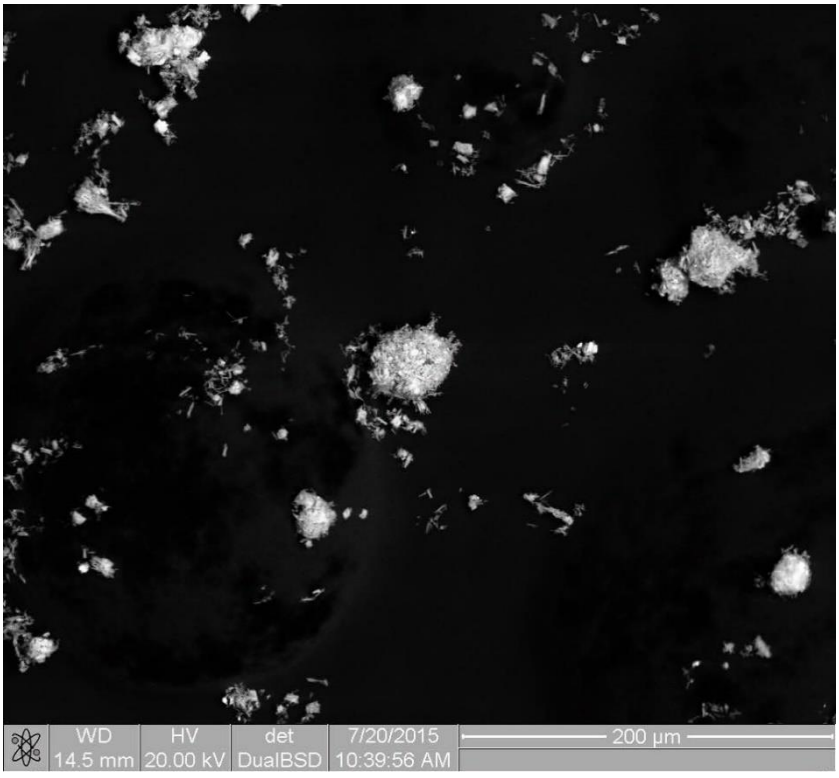

WD
15.0 mm
HV
20.00 kV
det
DualBSD
200 µm
Balistica - INC - DITEC - DPF

Figura 1. 22 – Micrografias obtidas por detecção simultânea de elétrons secundários e retroespalhados da amostra M06.



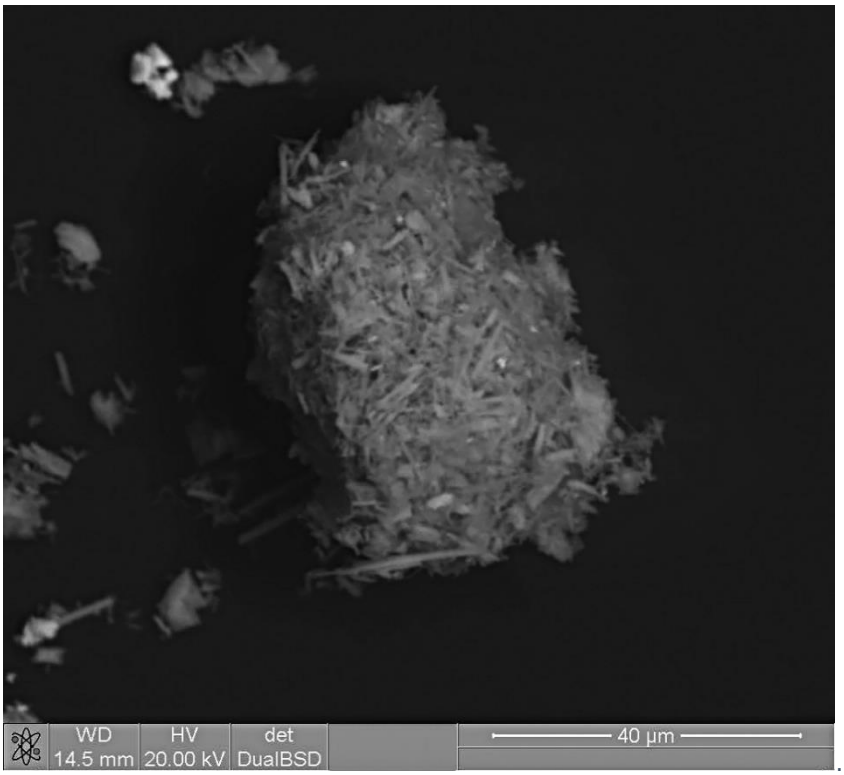


Figura 1. 23 – Micrografias obtidas por detecção simultânea de elétrons secundários e retroespalhados da amostra M07.

1.5 Conclusões

Este trabalho consistiu em estudar a influência dos parâmetros de síntese (método, tempo e proporção metal:ligante) na estrutura da MOF [Eu(BTC)]. De acordo com a difração de raios X, os parâmetros adotados, tanto na síntese hidrotermal convencional como na síntese assistida por micro-ondas, possibilitaram a obtenção da MOF [Eu(BTC)], isoestrutural à MIL-78, com elevada cristalinidade como fase majoritária. As redes sintetizadas apresentaram simetria monoclínica pertencente ao grupo espacial *C2/m*, com tendência a formação de estruturas tipo agulha que podem se aglomerar e formar blocos relativamente grandes.

Dentre as amostras sintetizadas, a M01 foi a que apresentou maior pureza de fase. Entretanto, as amostras M01-M07 apresentaram resultados muito semelhantes no tocante a formação de fases (excetuando-se a presença minoritária de impurezas), cristalinidade e luminescência. Neste caso, as condições de síntese da amostra M07 (assistida por micro-ondas, 20 min) ganharam destaque pela rapidez. Já as amostras M08 e M09 mostraram desempenho inferior (maior quantidade de impurezas, menor luminescência, etc.) em todos os critérios avaliados.

A análise termogravimétrica das amostras M01-M07 mostrou que estas redes não apresentam moléculas de água coordenadas, e que a decomposição final da parte orgânica da MOF só ocorre por volta de 600 °C, evidenciando a elevada estabilidade térmica das redes. A análise da fotoluminescência mostrou que as amostras M01 à M07 apresentaram preferencialmente o processo indireto de excitação, via excitação do ligante. A avaliação dos espectros de

emissão sugere que o ambiente químico do íon apresenta elevada simetria e uma estrutura rígida (o que pode favorecer a estabilidade das redes). Além disso foram observados elevado tempo de vida (cerca de 1 ms) e eficiência quântica (tipicamente de 20%).

A análise crítica dos parâmetros de síntese mostrou que, na faixa de tempo estudada, o parâmetro “tempo de síntese” não demonstrou causar alterações nas propriedades dos materiais. Portanto, as sínteses mais curtas foram consideradas melhores. Por outro lado, o parâmetro “proporção metal:ligante” influenciou um pouco as propriedades estruturais, luminescentes e térmicas das redes. Esta influência pôde ser melhor percebida nas amostras obtidas na síntese assistida por micro-ondas, em que o excesso de ligante não só contribuiu para a formação de uma quantidade maior de impureza, mas também nas propriedades luminescentes destas redes.

1.6 Referências

(1) Janiak, C.; Vieth, J. K. *New J. Chem.* **2010**, *34*, 2366.

(2) Fernandes, A.; Jaud, J.; Dexpert-Ghys, J.; Brouca-Cabarrecq, C. *Polyhedron* **2001**, *20*, 2385–2391.

(3) Rodrigues, M. O.; Brito-Silva, A. M.; Alves Junior, S. *Quim. Nova* **2009**, *32*, 286–291.

(4) Rodrigues, M. O.; Júnior, N. B. C.; Simone, C. A.; Araújo, A. S. A.; Brito-Silva, A. M.; Paz, F. A.; Mesquita, M. E.; Alves Júnior, S.; Freire, R. O. *J. Phys. Chem. B* **2008**, *112*, 4204–4212.

(5) Cui, Y.; Chen, B.; Qian, G. *Coord. Chem. Rev.* **2013**, 1–11.

(6) Tranchemontagne, D. J.; Mendoza-Cortés, J. L.; O'Keeffe, M.; Yaghi, O. M. *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 1257–1283.

(7) Férey, G. In *Studies in Surface Science and Catalysis; From Zeolites to Porous MOF Materials - The 40th Anniversary of International Zeolite Conference, Proceedings of the 15th International Zeolite Conference*; Xu, R.; Gao, Z.; Chen, J.; Yan, W., Eds.; Elsevier: Amsterdam, 2007; Vol. 170, pp. 2054–2059.

(8) de Lill, D. T.; Gunning, N. S.; Cahill, C. L. *Inorg. Chem.* **2005**, *44*, 258–266.

(9) Rodrigues, M. O. Síntese, Caracterização e Estudos Espectroscópicos de Redes Híbridas de Coordenação Contendo Lantanídeos, Universidade Federal de Sergipe, 2007.

(10) Melo, A. J. G. Desenvolvimento de Marcadores Luminescentes para Detecção de Resíduos de Tiros, Universidade Federal de Pernambuco, 2009.

(11) Burnett, B. J.; Choe, W. *Dalton Trans.* **2012**, *41*, 3889–3894.

(12) Eddaoudi, M.; Moler, D. B.; Li, H.; Chen, B.; Reineke, T. M.; O'Keeffe, M.; Yaghi, O. M. *Acc. Chem. Res.* **2001**, *34*, 319–330.

(13) Cavka, J. H.; Jakobsen, S.; Olsbye, U.; Guillou, N.; Lamberti, C.; Bordiga, S.; Lillerud, K. P. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 13850–13851.

(14) Lee, Y.-R.; Kim, J.; Ahn, W.-S. *Korean J. Chem. Eng.* **2013**, *30*, 1667–1680.

(15) Stock, N.; Biswas, S. *Chem. Rev.* **2012**, *112*, 933–969.

(16) Gustafsson, M.; Bartoszewicz, A.; Martín-Matute, B.; Sun, J.; Grins, J.; Zhao, T.; Li, Z.; Zhu, G.; Zou, X. *Chem. Mater.* **2010**, *22*, 3316–3322.

(17) Li, Z.; Zhu, G.; Guo, X.; Zhao, X.; Jin, Z.; Qiu, S. *Inorg. Chem.* **2007**, *46*, 5174–5178.

(18) Liu, K.; Jia, G.; Zheng, Y.; Song, Y.; Yang, M.; Huang, Y.; Zhang, L.; You, H. *Inorg. Chem. Commun.* **2009**, *12*, 1246–1249.

(19) Liu, K.; You, H.; Zheng, Y.; Jia, G.; Zhang, L.; Huang, Y.; Yang, M.; Song, Y.; Zhang,

H. *CrystEngComm* **2009**, *11*, 2622.

(20) Brouca-Cabarrecq, C.; Fernandes, A.; Jaud, J.; Costes, J. P. *Inorganica Chim. Acta* **2002**, *332*, 54–60.

(21) Brouca-Cabarrecq, C.; Trombe, J. C. *J. Chem. Crystallogr.* **2009**, *39*, 786–798.

(22) Riou, D.; Sérre, C.; Provost, J.; Férey, G. *J. Solid State Chem.* **2000**, *155*, 238–242.

(23) Surblé, S.; Serre, C.; Millange, F.; Pelle, F.; Férey, G. *Solid State Sci.* **2005**, *7*, 1074–1082.

(24) Devic, T.; Wagner, V.; Guillou, N.; Vimont, A.; Haouas, M.; Pascolini, M.; Serre, C.; Marrot, J.; Daturi, M.; Taulelle, F.; Férey, G. *Microporous Mesoporous Mater.* **2011**, *140*, 25–33.

(25) Liu, L.; Wei, H.; Zhang, L.; Li, J.; Dong, J. *Stud. Surf. Sci. Catal.* **2008**, *174*, 459–462.

(26) Xu, L.; Choi, E.-Y.; Kwon, Y.-U. *Inorg. Chem. Commun.* **2008**, *11*, 1190–1193.

(27) Wang, L.; Shi, Z.; Li, G.; Fan, Y.; Fu, W.; Feng, S. *Solid State Sci.* **2004**, *6*, 85–90.

(28) Łyszczek, R. *Thermochim. Acta* **2010**, *509*, 120–127.

(29) Lu, G.; Cui, C.; Zhang, W.; Liu, Y.; Huo, F. *Chem. Asian J.* **2013**, *8*, 69–72.

(30) Barreto, A. S.; Silva, R. L.; Silva, S. C. G. dos S.; Rodrigues, M. O.; Simone, C. A.; Sá, G. F.; Alves Júnior, S.; Navickiene, S.; Mesquita, M. E. *J. Sep. Sci.* **2010**, *33*, 3811–3816.

(31) Caskey, B. S. R.; Matzger, A. J. *Mater. Matters* **2009**, *4*, 1–8.

(32) Mourão, H. A. J. L.; Mendonça, V. R.; Malagutti, A. R.; Ribeiro, C. *Quim. Nova* **2009**, *32*, 2181–2190.

(33) Cortina, F. V. Modelagem Matemática da Polimerizaçãp em miniemulsão utilizando iniciador hidrossolúvel e organosolúvel, UFSC, 2007.

(34) Khan, N. A.; Lee, J. S.; Jeon, J.; Jun, C.-H.; Jhung, S. H. *Microporous Mesoporous Mater.* **2012**, *152*, 235–239.

(35) Cho, H.-Y.; Yang, D.-A.; Kim, J.; Jeong, S.-Y.; Ahn, W.-S. *Catal. Today* **2012**, *185*, 35–40.

(36) Kuppler, R. J.; Timmons, D. J.; Fang, Q.-R.; Li, J.-R.; Makal, T. a.; Young, M. D.; Yuan, D.; Zhao, D.; Zhuang, W.; Zhou, H.-C. *Coord. Chem. Rev.* **2009**, *253*, 3042–3066.

(37) Khan, N. A.; Jhung, S. H. *Coord. Chem. Rev.* **2015**, *285*, 11–23.

(38) Senthil Kumar, R.; Senthil Kumar, S.; Anbu Kulandainathan, M. *Microporous Mesoporous Mater.* **2013**, *168*, 57–64.

(39) Singh, N. K.; Hardi, M.; Balema, V. P. *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 972–974.

(40) Alavi, M. A.; Morsali, A. *Ultrason. Sonochem.* **2014**, *21*, 674–680.

(41) Yang, J.; Grzech, A.; Mulder, F. M.; Dingemans, T. J. *Microporous Mesoporous*

Mater. **2013**, *171*, 65–71.

(42) Yang, S. J.; Jung, H.; Kim, T.; Im, J. H.; Park, C. R. *Int. J. Hydrogen Energy* **2012**, *37*, 5777–5783.

(43) Eddaoudi, M.; Kim, J.; Rosi, N.; Vodak, D.; Wachter, J.; O'Keeffe, M.; Yaghi, O. M. *Science* **2002**, *295*, 469–472.

(44) Marx, S.; Kleist, W.; Baiker, A. *J. Catal.* **2011**, *281*, 76–87.

(45) Lee, D.-J.; Li, Q.; Kim, H.; Lee, K. *Microporous Mesoporous Mater.* **2012**, *163*, 169–177.

(46) Zhao, Z.; Ma, X.; Li, Z.; Lin, Y. S. *J. Memb. Sci.* **2011**, *382*, 82–90.

(47) Horcajada, P.; Chalati, T.; Serre, C.; Gillet, B.; Sebrie, C.; Baati, T.; Eubank, J. F.; Heurtaux, D.; Clayette, P.; Kreuz, C.; Chang, J.-S.; Hwang, Y. K.; Marsaud, V.; Bories, P.-N.; Cynober, L.; Gil, S.; Férey, G.; Couvreur, P.; Gref, R. *Nat. Mater.* **2010**, *9*, 172–178.

(48) McKinlay, A. C.; Morris, R. E.; Horcajada, P.; Férey, G.; Gref, R.; Couvreur, P.; Serre, C. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2010**, *49*, 6260–6266.

(49) Cui, Y.; Yue, Y.; Qian, G.; Chen, B. *Chem. Rev.* **2012**, *112*, 1126–1162.

(50) Guo, H.; Zhu, Y.; Qiu, S.; Lercher, J. A.; Zhang, H. *Adv. Mater.* **2010**, *22*, 4190–4192.

(51) Brouca-Cabarrecq, C.; Dexpert-Ghys, J.; Fernandes, A.; Jaud, J.; Trombe, J. C. *Inorganica Chim. Acta* **2008**, *361*, 2909–2917.

(52) Luz, L. L.; Viana, B. F. L.; Silva, G. C. O.; Gatto, C. C.; Fontes, A. M.; Malta, M.; Weber, I. T.; Rodrigues, M. O.; Alves Júnior, S. *CrystEngComm* **2014**, *16*, 6914–6918.

(53) Cadiau, A.; Brites, C. D. S.; Costa, P. M. F. J.; Ferreira, R. A. S.; Rocha, J.; Carlos, L. D. *ACS Nano* **2013**, *7*, 7213–7218.

(54) Rodrigues, M. O.; Paz, F. A. A.; Freire, R. O.; Sá, G. F.; Galembeck, A.; Montenegro, M. C. B. S. M.; Araújo, A. N.; Alves Júnior, S. *J. Phys. Chem. B* **2009**, *113*, 12181–12188.

(55) Rezende Souza, E.; Silva, I. G. N.; Teotonio, E. E. S.; Felinto, M. C. F. C.; Brito, H. F.; Souza, E. R.; Silva, I. G. N.; Teotonio, E. E. S.; Felinto, M. C. F. C.; Brito, H. F. *J. Lumin.* **2010**, *130*, 283–291.

(56) Weber, I. T.; Melo, A. J. G.; Lucena, M. A. M.; Rodrigues, M. O.; Alves Júnior, S. Processo de Obtenção de Munição Luminescente e Processo de Detecção de Resíduos de Tiro - BR Patent WO/2010/105326, 2010.

(57) Blasse, G.; Grabmaier, B. C. *Luminescent Materials*; 1st ed.; Springer-Verlag: Berlin, 1994.

(58) Martins, T. S.; Isolani, C. *Quim. Nova* **2005**, *28*, 111–117.

(59) Furman, J. D.; Warner, A. Y.; Teat, S. J.; Mikhailovsky, A. A.; Cheetham, A. K. *Chem.*

Mater. **2010**, *22*, 2255–2260.

(60) Ronda, C. *Luminescence: From Theory to Applications*; 1st ed.; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: Weinheim, 2008.

(61) Binnemans, K. *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 4283–4374.

(62) Huang, C. *Rare Earth Coordination Chemistry: Fundamentals and Applications*; 1st ed.; John Wiley & Sons (Asia) Pte Ltd: Singapore, 2010.

(63) Silva, A. A. Estudo das propriedades ópticas e estruturais de espinélios do tipo ZnAl2O4 contendo Eu3+ ou Tb3+., Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, 2008.

(64) Weber, I. T. Estudo Termoanalítico e espectroscópico de Vidros Borato de Lantânio dopados com íons lantanídeos opticamente ativos, Universidade Federal de Pernambuco, 1997.

(65) Bunzli, J.-C. G.; Piguet, C. *Chem. Soc. Rev.* **2005**, *34*, 1048–1077.

(66) Souza, E. R. Síntese de complexos benzenotricarboxilatos de terras raras e estudo de suas propriedades fotoluminescentes, Universidade de São Paulo, 2008.

(67) Gao, H.; Yi, L.; Zhao, B.; Zhao, X.; Cheng, P.; Liao, D.; Yan, S. *Inorg. Chem.* **2006**, *45*, 5980–5988.

(68) Bukamp, H.; Deacon, G. B.; Hilder, M.; Junk, P. C.; Kynast, U. H.; Lee, W. W.; Turner, D. R. *CrystEngComm* **2007**, *9*, 394.

(69) Sigma Aldrich. Trimesic Acid http://www.sigmaaldrich.com/catalog/substance/trimesicacid2101455495011?lang=en&region=US (accessed Feb 10, 2015).

(70) Yang, J.; Yue, Q.; Li, G.-D.; Cao, J.-J.; Li, G.-H.; Chen, J.-S. *Inorg. Chem.* **2006**, *45*, 2857–2865.

(71) Liu, K.; You, H.; Jia, G.; Zheng, Y.; Song, Y.; Yang, M.; Huang, Y.; Zhang, H. *Cryst. Growth Des.* **2009**, *9*, 3519–3524.

(72) Liu, K.; Zheng, Y.; Jia, G.; Yang, M.; Song, Y.; Guo, N.; You, H. *J. Solid State Chem.* **2010**, *183*, 2309–2316.

(73) Liu, K.; You, H.; Zheng, Y.; Jia, G.; Huang, Y.; Yang, M.; Song, Y.; Zhang, L.; Zhang, H. *Cryst. Growth Des.* **2010**, *10*, 16–19.

(74) Liu, K.; You, H.; Jia, G.; Zheng, Y.; Huang, Y.; Song, Y.; Yang, M.; Zhang, L.; Zhang, H. *Cryst. Growth Des.* **2010**, *10*, 790–797.

(75) Yi-Hang, W.; Jian-Kai, C.; Yun-Long, F.; Jian, Z.; Zhao-Ji, L.; Yuan-Gen, Y. *Chinese J. Struct. Chem.* **2005**, *24*, 1440–1444.

(76) Daiguebonne, C.; Gérault, Y.; Le Dret, F.; Guillou, O.; Boubekeur, K. *J. Alloys Compd.* **2002**, *344*, 179–185.

(77) Serre, C.; Millange, F.; Thouvenot, C.; Gardant, N.; Pellé, F.; Férey, G. *J. Mater.*

Chem. **2004**, *14*, 1540.

(78) Shannon, R. D. *Acta Crystallogr. Sect. A* **1976**, *32*, 751–767.

(79) Ouchi, A.; Suzuki, Y.; Ohki, Y.; Koizumi, Y. *Coord. Chem. Rev.* **1988**, *92*, 29–43.

(80) Pellé, F.; Aschehoug, P.; Surblé, S.; Millange, F.; Serre, C.; Férey, G. *J. Solid State Chem.* **2010**, *183*, 795–802.

(81) Marques, L. F.; Cantaruti Júnior, A. A. B.; Ribeiro, S. J. L.; Scaldini, F. M.; Machado, F. C. *Opt. Mater. (Amst).* **2013**, *35*, 2357–2365.

(82) Ma, R.; Chu, H.; Zhao, Y.; Wuren, Q.; Shan, M. *Spectrochim. acta. Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2010**, *77*, 419–423.

(83) Barros, B. S. Síntese por reação de combustão, caracterização e propriedades luminescentes do aluminato de zinco (ZnAl2O4) dopado com os íons terras raras Eu3+ e Tb3+, Universidade Federal de Campina Grande, 2005.

(84) Tanaka, M. T. S. Estudo das Propriedades Fotofísicas de Molibdatos de Estrôncio Dopados com Európio (III), Universidade Federal de São Carlos, 2011.

(85) Binnemans, K. *Coord. Chem. Rev.* **2015**, *295*, 1–45.

(86) Shi, F.-N.; Ananias, D.; Yang, T.-H.; Rocha, J. *J. Solid State Chem.* **2013**, *204*, 321–328.

(87) Shi, F.-N.; Pinto, M. L.; Ananias, D.; Rocha, J. *Microporous Mesoporous Mater.* **2014**, *188*, 172–181.

(88) Rodrigues, M. O. Estudo espectroscópico de materiais metal-orgânicos baseados em íons lantanídeos, Universidade Federal de Pernambuco, 2010.

1.7 Informações Complementares

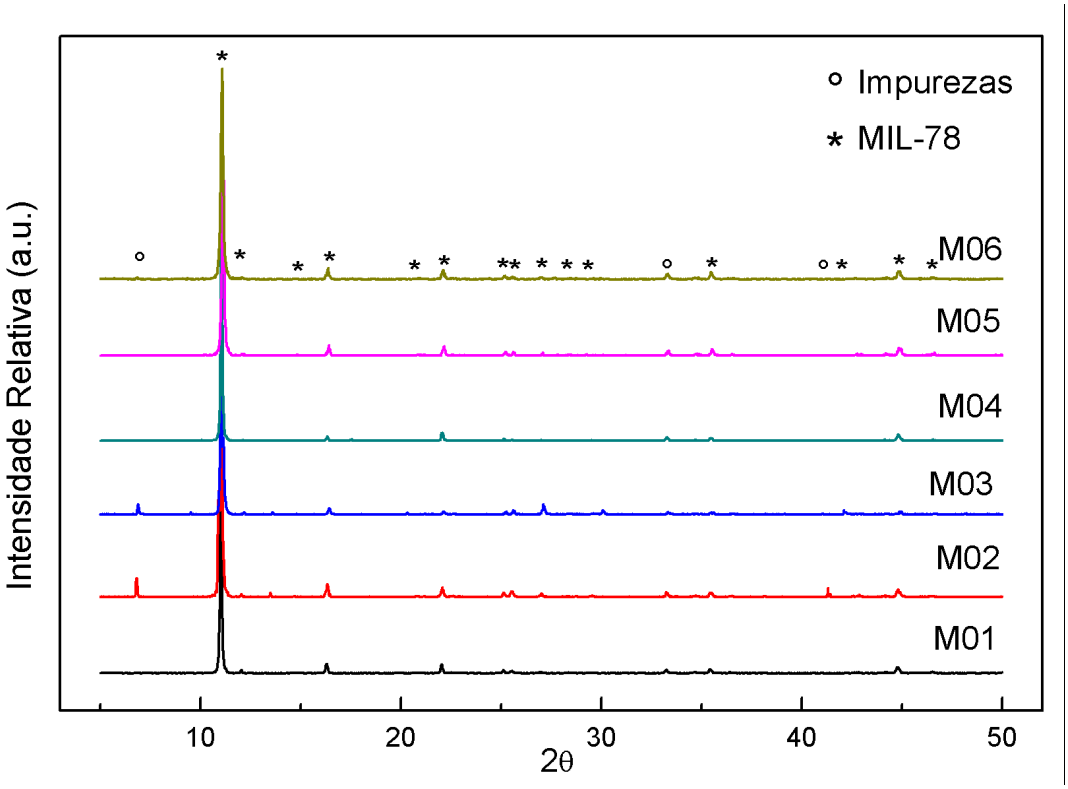


Figura S.1. 1 – Difratograma de Raios-X das amostras sintetizadas via hidrotermal convencional *M01 – M06.*

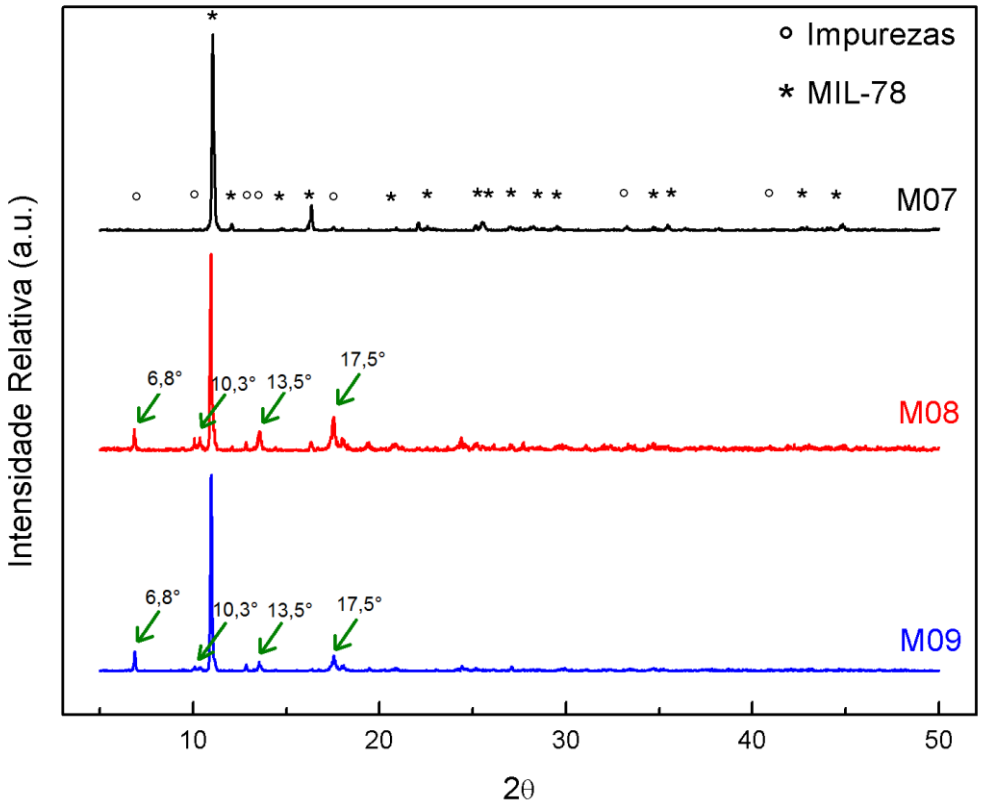


Figura S.1. 2– Difratograma de Raios-X das amostras sintetizadas via hidrotermal assistida por micro-ondas M07 – M09 (as setas indicam picos relativamente intensos em 6,8°, 10,3°, 13,5° e 17,5° referentes a fases secundárias nas amostras M08 e M09).

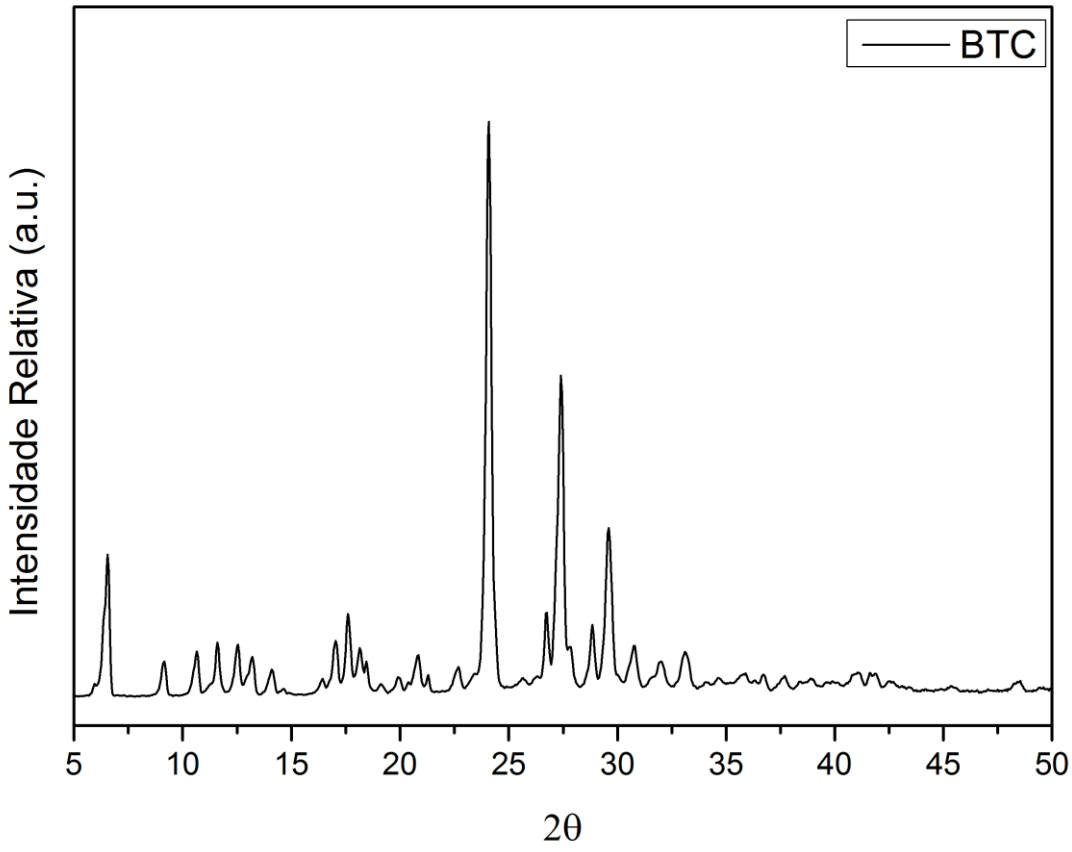


Figura S.1. 3 – DRX do ligante BTC.

CAPÍTULO II

Avaliação da MOF [Eu(BTC)] como Marcador Luminescente para Detecção de Resíduos de Tiro

2.1 Introdução

Quando uma arma de fogo é disparada, os produtos de detonação da carga iniciadora (*primer*), da combustão da pólvora, além de outros elementos metálicos provenientes do cartucho e da própria arma, formam o que são chamados de GSR.[1–5] Apesar da complexa composição, estes resíduos são divididos em duas classes, os orgânicos (OGSR) e os inorgânicos (IGSR, ou apenas GSR). Enquanto que a composição dos resíduos orgânicos depende do tipo de pólvora e aditivos utilizados,[6–14] o inorgânico terá em sua composição elementos metálicos provenientes do cano da arma, do estojo e principalmente de sua carga iniciadora.[1–5]

A carga iniciadora de munições convencionais é composta por sais de Sb, Ba e Pb (geralmente trissulfeto de antimônio, nitrato de bário e estifinato de chumbo). Após o disparo, são produzidos resíduos que apresentam morfologia esferoide e que contém os metais Sb, Ba e Pb.[1–5,15] São essas duas particularidades, morfologia e composição, que permitem que o GSR seja diferenciado de outras partículas de origem ambiental ou ocupacional.

Diversas técnicas de análise elementar em massa podem ser utilizadas para a caracterização do GSR, como Espectrometria de Absorção Atômica (AAS),[16] Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-OES),[17] Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-MS),[18,19] pois permitem a identificação desses elementos em escala de nanogramas. Entretanto, tais técnicas podem apenas sugerir a presença de GSR, uma vez que não descartam a possibilidade de que cada um dos elementos seja oriundo de uma fonte distinta.

Para confirmação do GSR, a análise morfológica e composicional se torna necessária. Assim, a ASTM (*American Society for Testing and Materials*) preconiza o uso da Microscopia Eletrônica de Varredura Acoplada à Microanálise (MEV/EDS) para sua caracterização,[15] uma vez que essa técnica é capaz de garantir que os elementos característicos estejam presentes na mesma partícula, e que essa possua morfologia esferoide.[20–24]

Embora fontes ambientais ou ocupacionais gerem partículas com composição semelhante ao GSR convencional (como fogos de artifício e pastilha de freio),[25,26] um exame cuidadoso por MEV/EDS permite a sua diferenciação, uma vez que fontes ambientais ou ocupacionais geram também elementos adicionais inconsistentes com o GSR.[26] Entretanto, este cenário com protocolos bem estabelecidos para a caracterização do GSR mudou quando as munições livres de chumbo (também conhecidas como munições ambientais ou *non-toxic ammunition* (NTA)), foram introduzidas no mercado, e as técnicas convencionais se mostraram ineficientes para a sua caracterização.[27]

O desenvolvimento da munição ambiental se tornou necessário quando um estudo realizado pelo NIOSH (*National Institute Occupational Safety and Health*) mostrou que o nível de chumbo no sangue de atiradores frequentes (policiais, instrutores de tiro, etc.) estava próximo do limite máximo aceitável, que é de 60 µg de Pb/100 g de sangue.[28] Apesar dos benefícios desse novo tipo de munição, a ausência dos elementos característicos do GSR (Sb, Ba e Pb) deixou uma lacuna para a sua caracterização.[27]

Como forma de suprir essa carência, outras formas de se identificar os resíduos de tiro vêm sendo propostas. Dentre elas, destacam-se a análise da fração orgânica dos resíduos de tiro (que será estudada no capítulo V) e a

introdução de marcadores às munições. No tocante a utilização de marcadores, tem-se as possibilidades de usar marcadores químicos ou luminescentes. Os marcadores químicos são conhecidos há bastante tempo. Já em 1973, Livesey propôs a adição de uma série de elementos químicos em proporções determinadas que permitisse identificar os resíduos e rastrear a origem das munições.[29] Recentemente foi reportado o uso do gadolínio, que é um elemento do grupo dos lantanídeos e é incomum no ambiente, como marcador químico no *primer* das munições NTA fornecidas à polícia alemã.[30] Enquanto que os marcadores luminescentes foram inicialmente propostos por nosso grupo[31] e vêm sendo difundidos na última década.

O grande diferencial dos marcadores luminescentes é que estes permitem a visualização de resíduos luminescentes (LGSR) diretamente no local, utilizando apenas uma lâmpada ultravioleta. Esta característica facilita a análise da cena do crime, a coleta dos resíduos e sua caracterização em laboratório por técnicas não destrutivas.[32–35] Recentemente foi reportada a eficiência desses marcadores em circunstâncias que simulavam situações reais, como tiros efetuados de dentro (ou contra) veículos; disparos em vítimas simuladas efetuados a diferentes distâncias; a transferência do LGSR para objetos manipulados pelo atirador; a coleta em locais não convencionais (como narina); assim como a persistência a lavagem das mãos. Em todos os casos, os marcadores luminescentes forneceram informações importantes que podem ajudar imensamente na investigação de uma cena de crime.[36]

Com a simplicidade e eficiência da metodologia proposta, os marcadores luminescentes têm despertado cada vez mais interesse, e novos materiais vêm sendo desenvolvidos visando uma marcação mais eficiente e a codificação de

munição.[32–35,37,38] Entretanto, para que um material atue eficientemente como marcador, dois requisitos devem ser atendidos: elevada luminescência e estabilidade térmica.

Neste contexto, a MOF [Eu(BTC)] sintetizada no capítulo I apresentou os requisitos básicos para a marcação de munição, apresentando estabilidade térmica e propriedades luminescentes superiores a outras MOFs Eu-BTC reportadas na literatura (como as redes [Eu(BTC)(H_2O)][39,40] e [Eu(BTC)(H_2O)$_6$][41,42]). Assim, para realização do teste como marcador foi escolhida a MOF [Eu(BTC)] sintetizada pelo método hidrotermal assistido por micro-ondas (amostra M07) devido ao rápido tempo de síntese.

2.2 Objetivo

Esse trabalho teve por objetivo avaliar a eficiência da MOF [Eu(BTC)] como marcador luminescente de resíduos de tiro, visando a ampliação do processo de codificação de munição. Para tal, pretende-se:

- Avaliar se a rede permanece luminescente após elevadas condições de temperatura e pressão do momento do disparo;
- Avaliar se os resíduos luminescentes são eficientemente coletados das mãos do atirador e da arma;
- Caracterizar os resíduos coletados por espectroscopia de emissão (com o *Video Spectral Comparator* – VSC) e por MEV/EDS para constatar a presença do LGSR.

2.3 Procedimentos Experimentais

Para realização do teste como marcador luminescente para identificação de resíduos de tiro, a MOF [Eu(BTC)], sintetizada pelo método hidrotermal assistido por micro-ondas (amostra M07 sintetizada no capítulo I), foi adicionada à pólvora de munições 9mm NTA. Para tal, 4 munições foram abertas com um martelo de inércia e 32 mg de marcador foi adicionado à pólvora de cada munição (10% da massa da pólvora). Em seguida, as munições foram fechadas utilizando uma prensa de recarga em um processo conhecido como *crimpagem*, como ilustra a figura 2.1.

Figura 2. 1 – Incorporação do marcador a munições, com o uso de martelo de inércia e prensa de recarga.

Uma vez obtidas as munições marcadas, partiu-se para os testes de disparos com arma de fogo. Os ensaios foram realizados no *stand* de Tiro fechado do Instituto Nacional de Criminalística da Polícia Federal (INC-DPF – Brasília), utilizando uma pistola Glock G17. Após uma sequência de quatro disparos, as mãos do atirador e a arma foram observados sob radiação ultravioleta (254 nm) a procura por GSR luminescente (LGSR).

O LGSR foi coletado utilizando *stubs* para microscopia eletrônica de varredura revestidos com fita condutora adesiva de carbono. O procedimento consistiu em pressionar repetidas vezes o *stub* contra a superfície em que se desejava realizar a coleta. Uma vez coletado, o LGSR foi analisado por técnicas como espectroscopia de emissão e MEV/EDS. Foram utilizados os seguintes equipamentos:

- *Video Spectral Comparator* (VSC 6000/HS e VSC40/HS), da Foster & Freeman, com obtenção de imagem e espectros de emissão utilizando radiação UV em 254 nm;
- Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV, FEI Quanta 200 FEG) com detector de Raios-X de Dispersão de Energia (EDS) acoplado, operando com fonte de emissão eletrostática (FEG, Field Emission Gun), em baixo vácuo, voltagem de 20 keV, distância de trabalho de aproximadamente 15 mm e detector de elétrons retroespalhados.

2.4 Resultados e Discussão

Quando uma arma de fogo é disparada, o GSR se dispersa em toda região próximo ao local do disparo, sendo possível se depositar sobre o corpo e pertences do atirador. Entretanto, uma das grandes dificuldades para a análise do GSR está relacionada ao tamanho micrométrico (ou até submicrométrico) das partículas geradas,[5] o qual torna difícil a sua visualização. Mesmo quando munição convencional, contendo Sb-Ba-Pb, é empregada, uma 'coleta cega' precisa ser realizada. Assim, não há garantias de que o GSR seja coletado, ainda que esteja presente na superfície da amostragem. Entretanto, quando marcadores luminescentes são utilizados, partículas luminescentes podem ser visualizadas diretamente na superfície, utilizando apenas uma fonte de radiação ultravioleta, como mostra a figura 2.2.

Nestas imagens, obtidas por VSC (254 nm), resíduos luminescentes na coloração vermelha são facilmente visualizados na mão do atirador e na arma, após disparo com munições marcadas com a MOF [Eu(BTC)]. Resíduos luminescentes também foram visualizados no local do disparo, como já havia sido reportado para outros marcadores.[36]

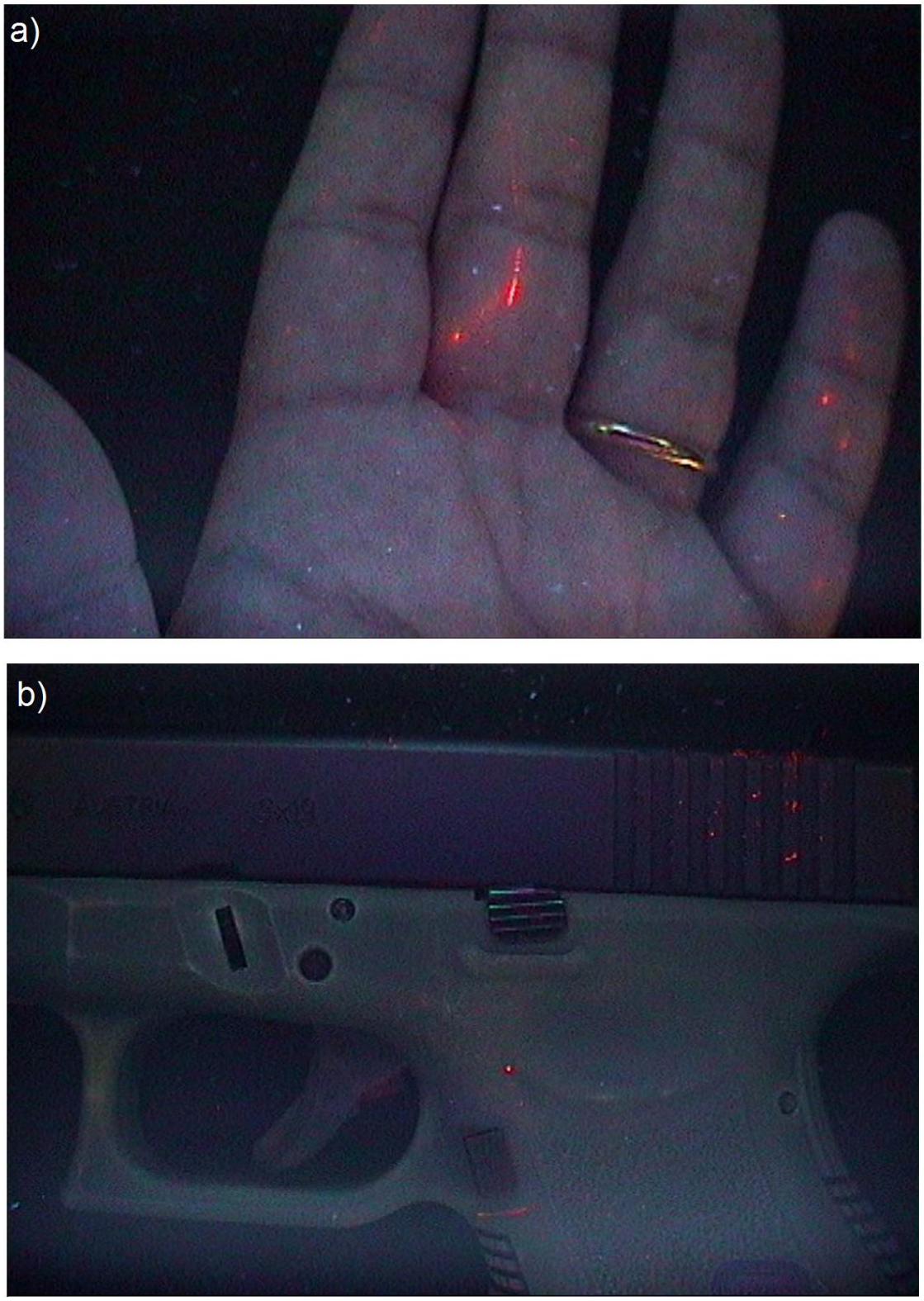


Figura 2. 2 – Imagens obtidas por VSC (sob radiação UV em 254 nm) mostrando o LGSR na coloração vermelha na mão do atirador (a) e na arma (b) após disparos com munições contendo o marcador [Eu(BTC)]

Como partículas luminescentes não são comuns no ambiente, a visualização de pontos luminescentes nas mãos de um suspeito, por si só, já é um forte indicio da presença de LGSR. Com a visualização dos resíduos, além da coleta ser realizada diretamente onde se vê os pontos luminescentes (coleta direcionada), a eficiência da coleta pode ser acompanhada em tempo real. Para tal, basta iluminar o *stub* com radiação UV e verificar se o resíduo está sendo eficientemente transferido da superfície em que estava aderido (no caso as mãos ou a arma) para o *stub*. Nas imagens da figura 2.3 é possível observar a grande quantidade de LGSR transferido para os *stubs* através da coleta direcionada. Este procedimento, além de garantir a coleta do LGSR, facilita a posterior análise dos resíduos em laboratório, uma vez que uma maior quantidade de LGSR é coletada.

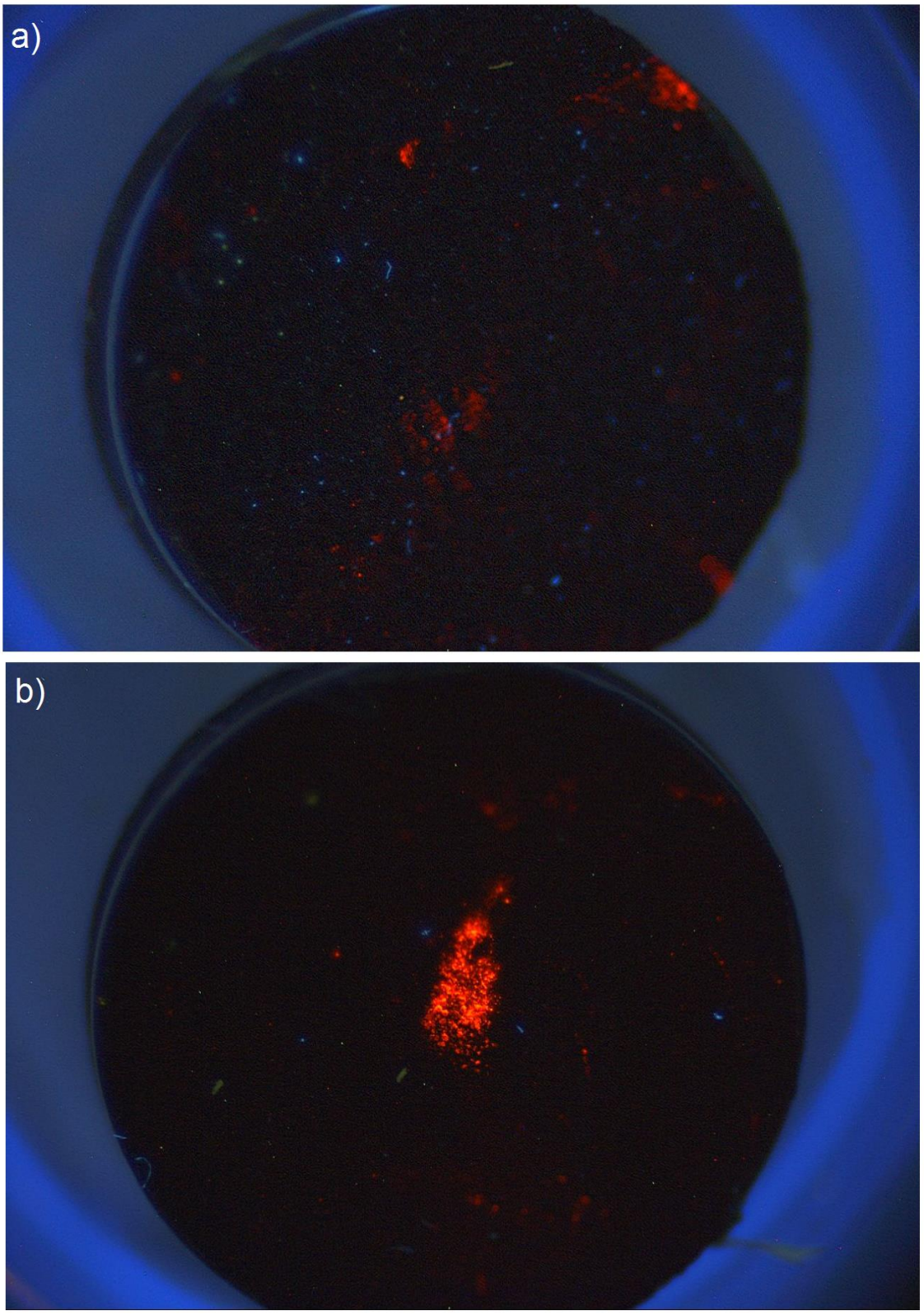


Figura 2. 3 – Imagens obtidas por VSC (254 nm) mostrando o LGSR coletado das mãos do atirador (a) e da arma (b) quando utilizadas munições marcadas com a MOF [Eu(BTC)].

Uma vez coletados, os resíduos foram analisados por VSC para a aquisição de espectros de emissão e por MEV/EDS para avaliar o perfil químico do LGSR. Outra grande vantagem da metodologia utilizada é que as duas técnicas propostas para caracterização do LGSR já são utilizadas em unidades de perícia. O VSC, por exemplo, é um equipamento tipicamente usado na área de documentoscopia. Apesar de ter pouca ou quase nenhuma aplicação em outras áreas, é um equipamento altamente difundido entre as unidades de perícia. Por exemplo, a maioria das unidades de perícia da Polícia Federal dispõe de um VSC, assim como as principais unidades de perícia da Polícia Civil, tornando bastante adequado às análises de LGSR em situações reais. Enquanto isso, o MEV/EDS já é o equipamento recomendado pela ASTM para a caracterização do GSR convencional e é utilizado nas principais unidades.[15]

No caso do VSC, este equipamento além de possuir um moderno sistema de obtenção de imagens, com câmera de alta resolução e diferentes tipos de iluminação (como a UV), ele conta também com um micro-espectrômetro capaz de obter espectros de emissão em tempo real. Apesar de fornecer espectros com menor resolução do que espectrômetros específicos, estas características tornam o VSC bastante adequado à caracterização do LGSR.

Os espectros de emissão obtidos por VSC (λ = 254 nm) do LGSR coletado das mãos do atirador e da arma são apresentados na figura 2.4. Nestes espectros pelo menos duas transições $^5D_0$-^7F_J (J=1-2) do Eu^{3+} são observadas. Tais resultados confirmam que o íon Eu^{3+} é o responsável pela coloração vermelha visualizada nos resíduos e garantem que a emissão observada não é oriunda de outra partícula ambiental, como óxidos de metais ou material orgânico. Assim, como partículas contendo íons Eu^{3+} raramente são encontradas

como contaminação ambiental (poeira, etc.) ou ocupacional (como é o caso da pastilha de freio, que geram partículas semelhantes ao GSR de munições convencionais),[26] os espectros de emissão podem ser considerados um forte indicativo de que se trata de LGSR. A baixa resolução do espectro, assim como a ausência de algumas transições menos intensas não são limitantes para a caracterização do LGSR.

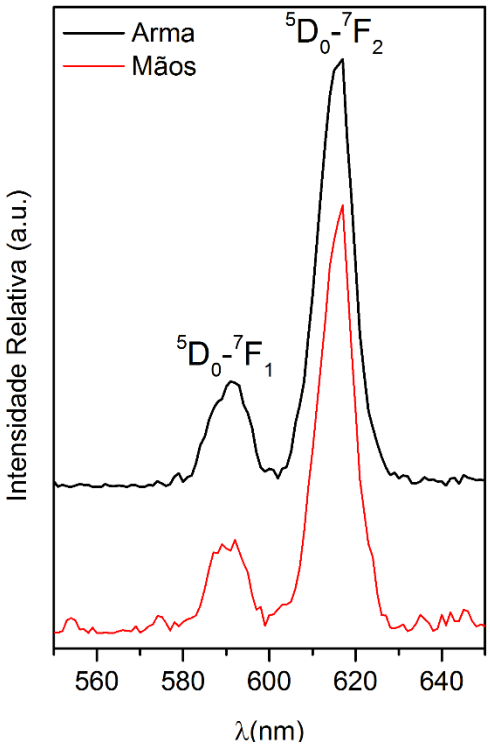


Figura 2. 4 – Espectros de emissão obtidos por VSC (λ=254nm) do LGSR produzido por munições contendo a MOF [Eu(BTC)].

Na análise por MEV/EDS dos resíduos coletados nas mãos do atirador e na arma, partículas com morfologia semelhante à do marcador puro foram encontradas, tornando a varredura mais fácil. A microanálise dessas partículas mostrou que, além de elementos comuns do GSR de munições ambientais

(como Al, Si, K e Ca)[27] detectou-se também o elemento Eu (figura 2.5). Desta forma, o perfil químico dos marcadores soma-se às suas propriedades fotofísicas como ferramenta para caracterizar as partículas de GSR.

A possibilidade de usar a metodologia atualmente recomendada pela ASTM[15] para as munições convencionas é um fator muito positivo, pois permite que unidades de perícia que utilizam a microscopia eletrônica de varredura acoplada a microanálise possam continuar usando-a, assim como permite que se tenha um teste de contraprova para a identificação feita com base na luminescência (visual e espectroscópica). Resultados semelhantes já haviam sido reportados por nosso grupo para outros marcadores desenvolvidos.[32–35]

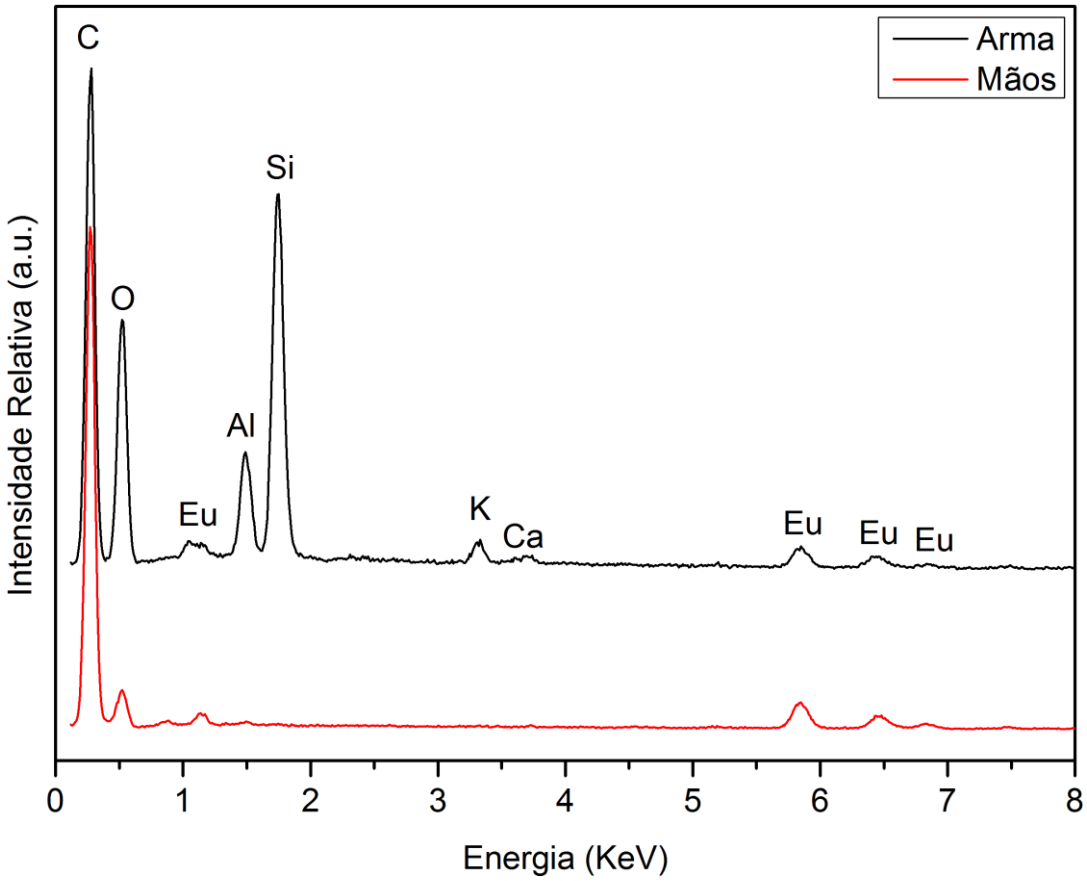


Figura 2. 5 – EDS do LGSR coletado nas mãos do atirador e na arma após disparos realizados com munições NTA marcadas com a MOF [Eu(BTC)].

Por fim, é importante destacar que a rede [Eu(BTC)] se mostrou estável o suficiente para resistir a elevada temperatura do momento do disparo e permanecer luminescentes, marcando eficientemente as munições NTA, significando um passo importante no desenvolvimento do processo de codificação de munição.

2.5 Conclusões

Neste trabalho foi avaliado a eficiência da MOF [Eu(BTC)], sintetizada através do método hidrotermal assistido por micro-ondas, como marcador luminescente de resíduos de tiro. Após disparos com munições NTA contendo esse marcador, uma grande quantidade de resíduos luminescentes foi visualizada diretamente nas mãos do atirador, na arma e no local do disparo utilizando apenas uma lâmpada ultravioleta. Com isso, a eficiência da coleta foi verificada em tempo real, sem a necessidade de qualquer análise instrumental. Além disso, com os resíduos sendo visualizados, o local do disparo pôde ser rapidamente inspecionado (visualização da posição do atirador, distância aproximada do disparo, trajetória do projétil, etc.), como já havia sido reportado para outros marcadores.[36]

Desta forma, os benefícios apresentados por este marcador representam uma ferramenta extremamente útil para a investigação de crimes envolvendo o uso de arma de fogo. Com as metodologias atuais, em que os resíduos de tiro dificilmente são visualizados, a coleta e caracterização do GSR, mesmo que de munição convencional, é muito mais difícil. Além disso, como partículas luminescentes não são comuns no ambiente, a visualização dessas partículas, por exemplo, nas mãos de um suspeito, já é um forte indício da presença do LGSR.

Além da análise visual, equipamentos como VSC e MEV/EDS foram utilizados para caracterizar o LGSR em laboratório. Os espectros de emissão do LGSR obtidos por VSC mostraram as transições características do Eu^{3+}, enquanto que a análise por MEV/EDS confirmou a presença desse elemento nos

resíduos. Como os íons lantanídeos não são comuns no ambiente, o Eu^{3+} atua não apenas como marcador luminescente, mas também como marcador químico. É importante ressaltar que a metodologia apresentada é bastante precisa, confiável e compatível com as análises de rotina de identificação de GSR já estabelecidas e técnicas espectroscópicas disponíveis em serviços de perícia.

Por fim, considerando a elevada demanda de investigação de casos que envolvem o uso de arma de fogo e a quantidade de crimes que não são elucidados (principalmente no Brasil), a utilização de mecanismos que facilitem a investigação da cena de um crime se mostra indispensável nos dias atuais. Além disso, a carência de metodologia para caracterização inequívoca do GSR proveniente de munição ambiental requer que novas metodologias sejam desenvolvidas e implementadas. Neste contexto, os marcadores luminescentes se apresentam como uma alternativa muito promissora para a identificação de resíduos de tiro, e o desenvolvimento de um novo marcador eficiente representa mais um avanço para o processo de codificação de munição.

2.6 Referências

(1) Melo, A. J. G. Desenvolvimento de Marcadores Luminescentes para Detecção de Resíduos de Tiros, Universidade Federal de Pernambuco, 2009.

(2) Rijnders, M. R.; Stamouli, A.; Bolck, A. *J. Forensic Sci.* **2010**, *55*, 616–623.

(3) Schwoeble, A. J.; Exline, D. L. *Current Methods in Forensic Gunshot Residue Analysis*; CRC Press LLC: Boca Raton, FL, 2000.

(4) Romolo, F. S.; Margot, P.; Saverio, F. *Forensic Sci. Int.* **2001**, *119*, 195–211.

(5) Dalby, O.; Butler, D.; Birkett, J. W. *J. Forensic Sci.* **2010**, *55*, 924–943.

(6) Burleson, G. L.; Gonzalez, B.; Simons, K.; Yu, J. C. C. *J. Chromatogr. A* **2009**, *1216*, 4679–4683.

(7) Sharma, S. P.; Lahiri, S. C. *Sci. Justice* **2009**, *49*, 197–204.

(8) MacCrehan, W. a; Reardon, M. R.; Duewer, D. L. *J. Forensic Sci.* **2002**, *47*, 260–266.

(9) López-López, M.; Ferrando, J. L.; García-Ruiz, C. *Anal. Chim. Acta* **2012**, *717*, 92–99.

(10) López-López, M.; de la Ossa, M. Á. F.; García-Ruiz, C. *Appl. Spectrosc.* **2015**, *69*, 889–893.

(11) Bueno, J.; Sikirzhytski, V.; Lednev, I. K. *Anal. Chem.* **2012**, *84*, 4334–4339.

(12) Benito, S.; Abrego, Z.; Sánchez, A.; Unceta, N.; Goicolea, M. A.; Barrio, R. J. *Forensic Sci. Int.* **2015**, *246*, 79–85.

(13) Vuki, M.; Shiu, K.-K.; Galik, M.; O'Mahony, A. M.; Wang, J. *Analyst* **2012**, *137*, 3265.

(14) Morelato, M.; Beavis, A.; Ogle, A.; Doble, P.; Kirkbride, P.; Roux, C. *Forensic Sci. Int.* **2012**, *217*, 101–106.

(15) ASTM (American Society for Testing and Materials). *Standard Guide for Gunshot Residue Analysis by Scanning Electron Microscopy/ Energy Dispersive X-ray Spectrometry (ASTM E 1588-08)*; ASTM, 2008; Vol. I.

(16) Koons, R. D.; Havekost, D. G.; Peters, C. A. *J. Forensic Sci.* **1987**, 846–865.

(17) Koons, R. D.; Havekost, D. G.; Peters, C. A. *J. Forensic Sci.* **1988**, 35–41.

(18) Koons, R. *J. Forensic Sci.* **1998**, *43*, 748–754.

(19) Reis, E. L. T.; Sarkis, J. E. S.; Rodrigues, C.; Negrini Neto, O.; Viebig, S. *Rev. Anal.* **2005**, 42–46.

(20) Brozek-Mucha, Z. *Forensic Sci. Int.* **2009**, *183*, 33–44.

(21) Steffen, S.; Otto, M.; Niewoehner, L.; Barth, M.; Bro¿żek-Mucha, Z.; Biegstraaten,

J.; Horváth, R. *Spectrochim. Acta Part B At. Spectrosc.* **2007**, *62*, 1028–1036.

(22) Brożek-Mucha, Z. *X-Ray Spectrom.* **2007**, *36*, 398–407.

(23) Brożek-Mucha, Z. *Forensic Sci. Int.* **2011**, *210*, 31–41.

(24) Brożek-Mucha, Z. *Microsc. Microanal.* **2011**, *17*, 972–982.

(25) Garofano, L.; Capra, M.; Ferrari, F.; Bizzaro, G. P.; Tullio, D. Di; Dell'Olio, M.; Ghitti, A.; Olio, M. D. *Forensic Sci. Int.* **1999**, *103*, 1–21.

(26) Trimpe, M. FBI - The Current Status of GSR Examinations http://www.fbi.gov/stats-services/publications/law-enforcement-bulletin/may_2011/The Current Status of GSR Examinations (accessed May 10, 2012).

(27) Martiny, A.; Campos, A. P. C.; Sader, M. S.; Pinto, A. L.; Pinto, M. A. L. *Forensic Sci. Int.* **2008**, *177*, e9–e17.

(28) National Institute Occupational Safety and Health (NIOSH); U.S. Department of Health and Human Services (DHHS). *Reducing Exposure to Lead and Noise at Indoor Firing Ranges*; 2010; Vol. 113.

(29) Livesay, R. G. Method of Tagging Units of Production of a Substance - GB1441419 (A). GB1441419 (A), 1976.

(30) Polovková, J.; Šimonič, M.; Szegényi, I. *Egypt. J. Forensic Sci.* **2014**.

(31) Weber, I. T.; Melo, A. J. G.; Lucena, M. A. M.; Rodrigues, M. O.; Alves Júnior, S. Processo de Obtenção de Munição Luminescente e Processo de Detecção de Resíduos de Tiro - BR Patent WO/2010/105326, 2010.

(32) Weber, I. T.; Melo, A. J. G.; Lucena, M. A. M.; Rodrigues, M. O.; Alves Junior, S. *Anal. Chem.* **2011**, *83*, 4720–4723.

(33) Weber, I. T.; Terra, I. A. A.; Melo, A. J. G.; Lucena, M. A. M.; Wanderley, K. A.; Paiva-Santos, C. O.; Antônio, S. G.; Nunes, L. A. O.; Paz, F. A. A.; de Sá, G. F.; Alves Júnior, S.; Rodrigues, M. O. *RSC Adv.* **2012**, *2*, 3083.

(34) Lucena, M. A. M.; de Sá, G. F.; Rodrigues, M. O.; Alves Júnior, S.; Talhavini, M.; Weber, I. T. *Anal. Methods* **2013**, *5*, 705.

(35) Melo Lucena, M. a; Rodrigues, M. O.; Gatto, C. C.; Talhavini, M.; Maldaner, A. O.; Alves Jr, S.; Weber, I. T. *J. Lumin.* **2015**.

(36) Weber, I. T.; Melo, A. J. G.; Lucena, M. A. M.; Consoli, E. F.; Rodrigues, M. O.; de Sá, G. F.; Maldaner, A. O.; Talhavini, M.; Alves, S. *Forensic Sci. Int.* **2014**, *244*, 276–284.

(37) Destefani, C. A.; Motta, L. C.; Vanini, G.; Souza, L. M.; Filho, J. F. A.; Macrino, C. J.; Silva, E. M.; Greco, S. J.; Endringer, D. C.; Romão, W. *Microchem. J.* **2014**.

(38) Destefani, C. A.; Motta, L. C.; Costa, R. A.; Macrino, C. J.; Bassane, J. F. P.; Filho, J. F. A.; Silva, E. M.; Greco, S. J.; Carneiro, M. T. W. D.; Endringer, D. C.; Romão, W. *Microchem. J.* **2016**, *124*, 195–200.

(39) Gustafsson, M.; Bartoszewicz, A.; Martín-Matute, B.; Sun, J.; Grins, J.; Zhao, T.; Li, Z.; Zhu, G.; Zou, X. *Chem. Mater.* **2010**, *22*, 3316–3322.

(40) Yang, J.; Yue, Q.; Li, G.-D.; Cao, J.-J.; Li, G.-H.; Chen, J.-S. *Inorg. Chem.* **2006**, *45*, 2857–2865.

(41) Liu, K.; Jia, G.; Zheng, Y.; Song, Y.; Yang, M.; Huang, Y.; Zhang, L.; You, H. *Inorg. Chem. Commun.* **2009**, *12*, 1246–1249.

(42) Rezende Souza, E.; Silva, I. G. N.; Teotonio, E. E. S.; Felinto, M. C. F. C.; Brito, H. F.; Souza, E. R.; Silva, I. G. N.; Teotonio, E. E. S.; Felinto, M. C. F. C.; Brito, H. F. *J. Lumin.* **2010**, *130*, 283–291.

CAPÍTULO III

Avaliação da Toxicidade Oral da MOF [Eu(BTC)] em Ratos

3.1 Introdução

3.1.1 Toxicidade

Toxicidade é a capacidade de um agente tóxico provocar efeitos nocivos a um organismo, e é uma característica intrínseca de todas as substâncias.[1] O efeito tóxico pode ser influenciado por um conjunto de fatores, como processos de biotransformação, processos fisiológicos e de defesa do indivíduo exposto ao agente tóxico, assim como a participação concomitante de outros compostos químicos.[1] Toda substância pode ser nociva ao organismo, entretanto, é a dosagem que irá diferenciar, por exemplo, um remédio de um veneno.[1] Desta forma, o potencial toxicológico de cada substância pode ser estimado a partir da menor dosagem necessária para provocar um efeito nocivo ao organismo. Quanto menor for essa dosagem, maior será seu potencial toxicológico.

A toxicidade pode ser estudada de diferentes formas. A toxicidade aguda é decorrente da exposição do organismo a uma única dosagem, ou múltiplas exposições em um período de 24 horas. A toxicidade crônica ou subcrônica é decorrente do contato recorrente com o agente tóxico. A citotoxicidade é o efeito causado nas estruturas e no funcionamento de células (*in vitro*). Entretanto, todas elas têm como objetivo estabelecer o grau de segurança de uso da substância analisada.

Uma das formas mais utilizadas para estabelecer se uma substância é nociva, é estimando a Dose Letal média (DL_{50} – ou dose letal 50%), ou seja, calculando estatisticamente a dose com que provavelmente 50% dos indivíduos utilizados para experimentação serão levados a óbito.[1] Estes valores,

tradicionalmente, são usados para classificar as substâncias quanto ao seu caráter toxicológico, entretanto, devem ser analisados com cautela, uma vez que substâncias que apresentem baixa toxicidade aguda (elevada DL_{50}) podem provocar intoxicação quando absorvidas cronicamente. A figura 3.1 ilustra a intoxicação aguda, decorrente de um contato único de uma dosagem crítica, e a intoxicação crônica, onde a absorção recorrente, mesmo de pequenas dosagens, pode provocar a morte.

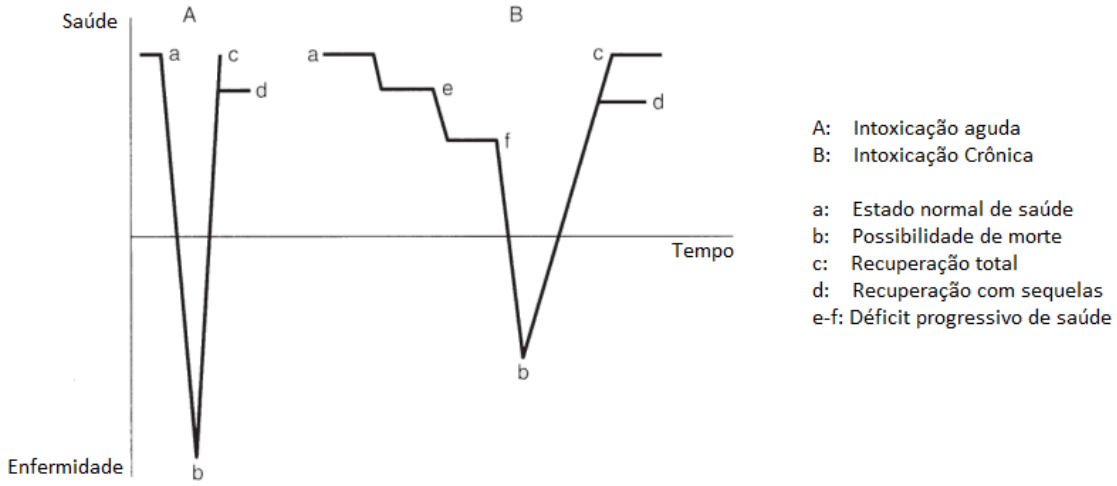


Figura 3. 1 – Ilustração da intoxicação aguda e crônica em função do tempo.[1]

Em geral, estudos de toxicidade são feitos em mamíferos, principalmente roedores, com destaque para o rato e o camundongo.[2] Estes animais são escolhidos por apresentarem similaridades fisiológicas com o ser humano. Além disso, por serem animais de pequeno porte, ocupam pouco espaço e necessitam da administração de pequenas doses, apresentam metabolismo acelerado (resultados rápidos) e podem ser adquiridos a custos relativamente baixos.

O estudo da toxicidade de substâncias, entretanto, deve seguir protocolos rigorosos e internacionalmente aceitos, tanto no que diz respeito ao bem-estar animal, quanto à padronização dos resultados. A seguir, serão apresentados alguns dos principais métodos utilizados para o estudo da citotoxicidade e da toxicidade aguda de substâncias.

3.1.2 Métodos recomendados pela ISO para avaliação *in vitro* da citotoxicidade

A *International Standard Organization* (ISO), através da norma ISO 10993-5 de 2009,[3] recomenda diferentes métodos para a avaliação da citotoxicidade *in vitro*. Estes métodos têm como objetivo determinar a resposta biológica provocada por um agente em células de mamíferos, através do estudo de parâmetros biológicos apropriados. Dentre os mais utilizados, destacam-se os métodos colorimétricos baseados na redução do sal de tetrazólio a um corante formazan, realizada por células metabolicamente ativas. São estes os métodos MTT e XTT.

No geral, os procedimentos para a realização desses testes envolvem a escolha da linhagem celular apropriada ao objetivo do estudo e do meio de cultura adequado ao seu crescimento, a incubação dessas células com a substância teste em ambiente controlado e finalmente a incubação com o sal de tetrazólio. Enquanto o método MTT envolve a redução do sal de tetrazólio de coloração amarela em um corante formazan violeta insolúvel, o método XTT envolve a redução do sal de tetrazólio incolor (ou levemente amarelo) em um corante formazan laranja solúvel (figura 3.2). Esta característica faz com que o XTT necessite de uma etapa a menos durante o ensaio.[3,4]

Estes métodos têm a capacidade de avaliar o estado metabólico das células, uma vez que apenas células metabolicamente ativas tem a capacidade de reduzir o sal de tetrazólio a formazan.[3,5,6] Apesar da alteração visual da cor, a viabilidade celular é quantificada através de medidas de absorbância em espectrofotômetro de placa (em 570 nm para o método MTT e em 450 nm para o método XTT). Uma redução em mais de 30% na viabilidade celular é considerada como efeito tóxico.[3,4]

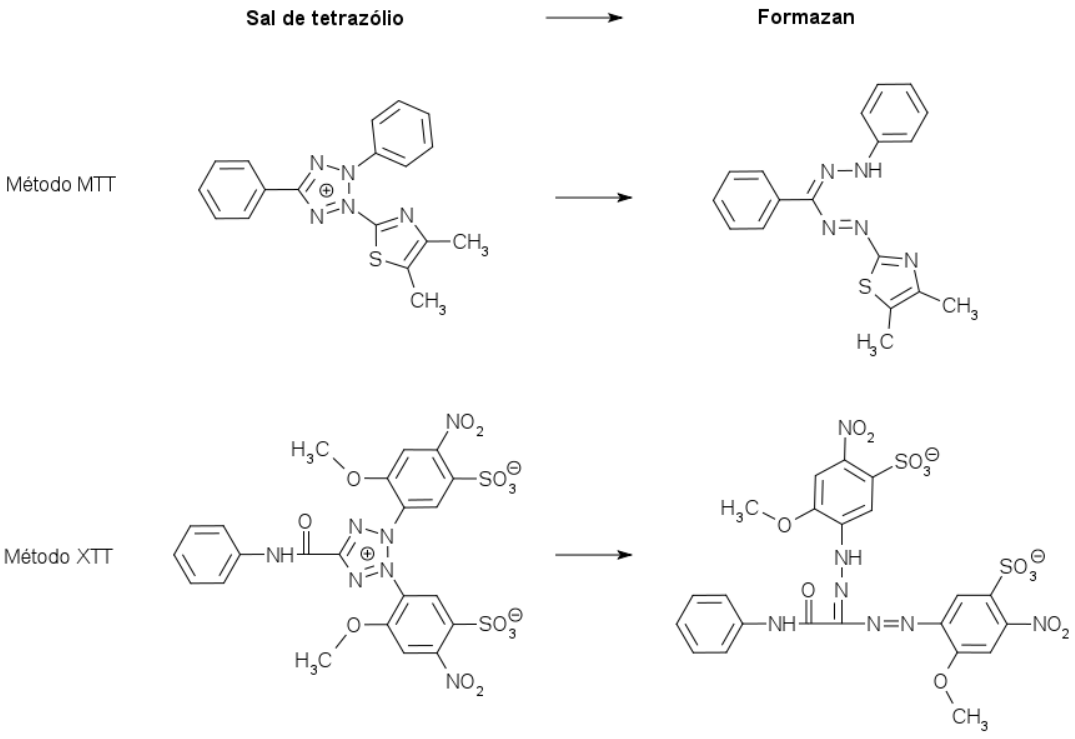


Figura 3. 2 – Estrutura dos sais de tetrazólio e do formazan MTT e XTT.

3.1.3 Métodos recomendados pela *Organisation for Economic Co-operation and Development* (OECD) para avaliação *in vivo* da toxicidade aguda

Os testes que avaliam a toxicidade aguda têm como objetivo classificar e rotular substâncias em função do seu potencial toxicológico, estabelecendo assim limites de segurança para sua utilização. A OECD incorporou o teste da DL_{50} (Dose letal média) em 1981 (OECD 401). Naquela época, os testes utilizavam uma grande quantidade de animais, nos quais para cada substância testada, 3 grupos de 10 animais (5 de cada sexo) eram utilizados. Só em 1987 esse teste foi revisado, passando a utilizar animais de apenas um sexo, com a necessidade de se confirmar que não haviam alteração nos resultados de toxicidade para o outro sexo (através da administração de apenas uma dosagem). Entretanto, por usarem ainda uma grande quantidade de animais e utilizarem o critério morte como o objetivo final, esse teste foi banido pela OECD em 2002, e novos métodos passaram a ser recomendados e adotados.[7]

Atualmente, a OECD adota três diferentes metodologias para o estudo da toxicidade aguda oral em roedores, são eles: OECD 420: Teste de Dose Fixa (TDF);[8] OECD 423: Teste de Toxicidade Aguda de Classe (TAC);[9] e OECD 425: Teste “Up and Down” (TUD).[10] Estes protocolos adotam os mesmos procedimentos no que diz respeito a escolha do modelo animal, armazenamento, tempo de exposição a droga, jejum, pesagem, tempo de observação, assim como a recomendação de necropsia para observação de alterações patológicas e exame microscópico dos órgãos atingidos, além de apresentarem resultados muito semelhantes. Entretanto, diferem principalmente em função do critério do ponto de parada.

Enquanto que o objetivo dos testes 423 e 425 é estimar a menor dose que causa mortalidade. O teste 420 tem como principal ponto de parada a observação de sinais evidentes de toxicidade. Entretanto, os três métodos permitem classificar as substâncias de acordo com o *Globally Harmonized System* (GHS) e estimar valores para a DL_{50}.

Os protocolos da OECD envolvem uma série de passos pré-definidos, onde a próxima dose irá depender dos sinais de toxicidade observados na dose anterior. Assim, se forem observados sinais de toxicidade evidente (para o teste 420) ou letalidade (para os demais), a próxima dose será reduzida. Já se nenhum sinal de toxicidade evidente ou letalidade for observado, a próxima dose será aumentada. O fluxograma da figura 3.3, proveniente do protocolo 423 da OECD, exemplifica este procedimento para a seleção da próxima dose. Neste caso, foi estabelecido como dose inicial 300 mg/kg, que é a dose recomendada quando não se tem informação da droga utilizada. Entretanto, qualquer um dos 4 valores pode ser definido como dose inicial.

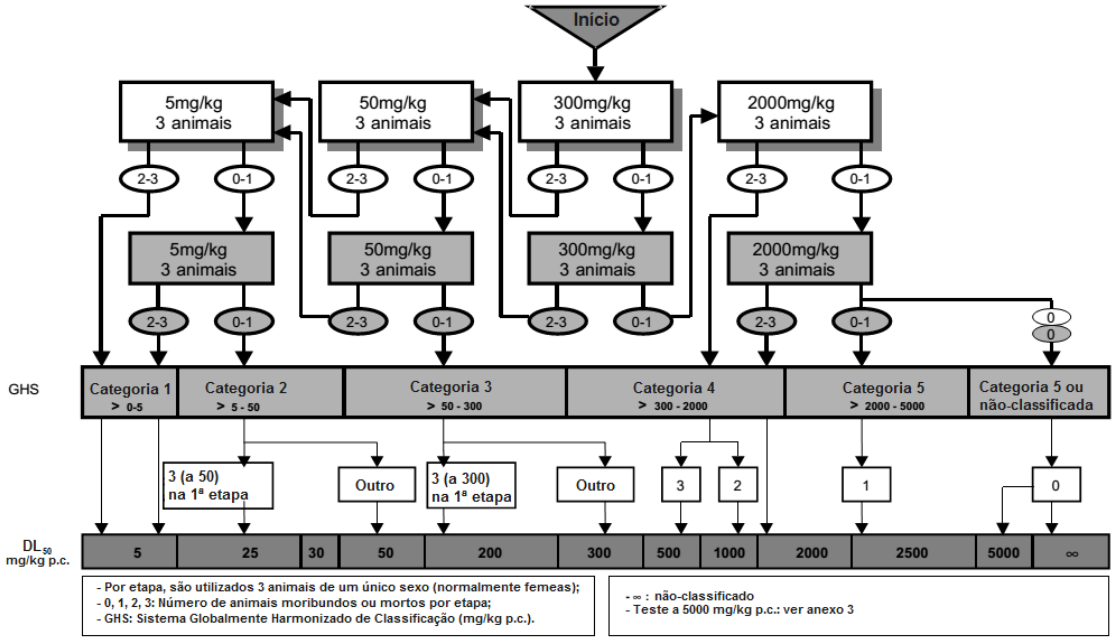


Figura 3. 3 – Procedimentos para seleção de dose no teste de toxicidade aguda adotado pela OECD 423, utilizando como dose inicial 300 mg/kg.[9]

Estudos mostram que no teste 423 geralmente são necessários de 2 a 4 passos para avaliar a toxicidade aguda de uma substância, o que significa a utilização de 6 a 12 animais.[9] No teste 420, geralmente 1 a 2 etapas do estudo de observação e 1 etapa do estudo principal são suficientes, significando em média a utilização de 5 a 7 animais.[8] Estes números são consideravelmente inferiores aos testes da “era da DL_{50}”. Além disso, vários modelos de paradas são estabelecidos visando o bem-estar animal.

Animais moribundos, por exemplo, ou apresentando sinais graves de dor ou sofrimento contínuo, devem ser humanamente sacrificados e considerados nos resultados. Doses que se sabe causar dor ou sofrimento não devem ser administradas. Assim como um intervalo de 3 a 4 dias entre as doses deve ser respeitado para garantir que nenhum animal apresente sinais de toxicidade

retardada.[8–11] A preocupação com o bem-estar animal denota um grande avanço no que diz respeito à avaliação da toxicidade em animais.

3.1.4 Estabilidade, citotoxicidade e toxicidade de MOFs

Diversos trabalhos envolvendo a avaliação da toxicidade de MOFs vêm sendo desenvolvidos pelo grupo de Horcajada e colaboradores, no Instituto Lavoisier (França).[12–18] Com o objetivo de avaliar a aplicação de uma série de nanoMOFs baseadas em ferro e ligantes carboxilatos como carreadores de fármacos antitumorais e retrovirais, os autores estudaram a toxicidade *in vitro* e *in vivo* e a estabilidade destas redes em condições que simularam o meio fisiológico.[16]

A citotoxicidade destas MOFs foi avaliada utilizando o método MTT. Para a nanoMOF MIL-88A (formada pelo ácido fumárico), foi utilizada a linhagem celular J774.A1 (macrófagos de camundongos),[16] já para a MIL-100 (formada pelo ácido trimésico), foram utilizadas as linhagens celulares CCRF-CEM (leucemia humana), RPMI-8226 (mieloma múltiplo humano) e J774 (macrófagos de ratos).[19] A primeira rede apresentou IC_{50} (concentração em que ocorre inibição do crescimento de 50% das células) igual a 57 ± 11 μg/mL (moderadamente citotóxica) e a segunda não se mostrou citotóxica até 50 μg/mL (viabilidade celular > 80%). Neste caso, a citotoxicidade moderada da rede MIL-88A pode estar relacionada a sua maior degradabilidade em meio fisiológico nas primeiras 24 horas de experimentação, quando comparada a MIL-100.

Horcajada et al.[16] também estudaram a toxicidade aguda destas redes em ratos Wistar fêmeas através da administração intravenosa. Diferentemente dos ensaios tradicionais de toxicidade da OECD, em que os animais são expostos a diferentes dosagens da substância, neste trabalho 4 grupos de 8 animais foram expostos a uma única dosagem de 220 mg/kg das MOFs. Esses grupos foram sacrificados em um período entre 1 dia e 3 meses após a administração, permitindo assim avaliar a reversibilidade dos possíveis efeitos tóxicos. Além disso, parâmetros comportamentais, evolução do peso dos animais e dos órgãos, atividade enzimática, além de testes sorológicos para avaliação da função hepática e reações inflamatórias foram monitorados.

Como resultado, não foram observadas alterações significativas entre os grupos administrados com as nanoMOFs e o grupo controle, exceto por um pequeno aumento no peso dos rins e do fígado, sendo este revertido entre 1 e 3 semanas. A quantificação da interleucina 6 (IL-6) mostrou que não houve reações imunes ou inflamatórias. A avaliação da atividade do citocromo P450 (ou Cyp-450), envolvido na biotransformação de compostos endógenos e exógenos, mostrou que as MOFs estudadas não são metabolizadas por esta enzima, sugerindo que os ligantes orgânicos podem ser diretamente excretados do organismo sem biotransformação. Essa hipótese foi fortalecida quando, em outro estudo, foi determinada a concentração do ligante BTC no fígado (1,24 mg/g), no baço (2,10 mg/g) e na urina (0,03 mg/mL) de ratos 1 dia após a administração de 220 mg/kg da nanoMOF MIL-100.[14]

A toxicidade subaguda da MOF MIL-88A foi estudada através da administração de 25 ou 150mg/kg por quatro dias consecutivos.[16] Cada dose foi administrada em dois grupos de 4 animais, sendo estes sacrificados 5 ou 10 dias

após administração. Apesar de observada uma diminuição no ganho de peso proporcional ao aumento da dose, não foram observadas diferenças significativas nos pesos dos órgãos, na IL-6 e na função hepática.

Da Cunha,[20] com o intuito de avaliar a aplicação da MOF [Zn(BDC)(H_2O)$_2$] como carreador de fármaco, estudou a toxicidade aguda desta rede em camundongos suíços albinos, utilizando o protocolo 423 da OECD.[20] O uso deste protocolo permitiu classificar a MOF [Zn(BDC)(H_2O)$_2$] como pertencente a categoria 5, que é a categoria menos tóxica do sistema de classificação GHS, sendo a DL_{50} estimada em 2500 mg/kg. Entretanto, apesar da não ocorrência de alterações comportamentais extremas para a dosagem mais elevada, a análise histopatológica dos órgãos revelou uma elevada toxicidade sobre o tecido renal, hepático, pulmonar e cardíaco.[20] Não foi avaliada a reversibilidade destas lesões.

Também com o intuito de avaliar o potencial de aplicação da *Zeolite Imidazolate Framework-8* (ou ZIF-8, formada por zinco e o ligante imidazolato) nanométrica (diâmetro médio de 200 nm) como carreador de fármaco antitumoral, Alves e colaboradores[5,21] estudaram a citotoxicidade desta rede frente à três linhagens de células tumorais humanas (NCI-H292: carcinoma mucoepidermóide de pulmão; HT-29: adenocarcinoma de cólon; HL-60: leucemia promielocítica). Utilizando o método MTT, foi observado que a ZIF-8 não apresentou efeito citotóxico frente as três linhagens celulares até a dosagem testada, que foi de 25 µg/mL.[5,21]

Zhuang *et al.*[22] avaliou a influência do tamanho das partículas na citotoxicidade da ZIF-8 frente às células de câncer de mama MCF-7, também utilizando o método MTT. Nesse caso, enquanto que a ZIF micrométrica (com

diâmetro médio de 1 µm) não se apresentou citotóxica até a concentração de 100 µg/mL (a viabilidade celular continuou próximo de 100% para essa concentração), a IC_{50} de nanoesferas de diâmetro médio aproximado de 70 nm foi de aproximadamente 50 µg/mL (citotoxicidade moderada). No geral, partículas nanométricas são mais tóxicas porque conseguem penetrar mais facilmente as células. Entretanto, estudos sugerem que as nanopartículas de zinco são ainda mais tóxicas por induzirem estresse oxidativo.[23]

Ruyra e colaboradores[24] estudaram a citotoxicidade *in vitro* e a toxicidade *in vivo* de 16 nanoMOFs.[4] Para a avaliação da citotoxicidade foram utilizadas as linhagens celulares tumorais humanas do fígado (HepG2) e da mama (MCF7) e o método XTT. A citotoxicidade dos ligantes e dos metais que compõem cada rede também foi avaliada frente a células HepG2. Como resultado, nenhum dos ligantes apresentou citotoxicidade significativa, mesmo nas dosagens mais elevadas. Entretanto, tanto os sais de Cu e Mn, quanto as MOFs compostas por estes metais, apresentaram elevada citotoxicidade (Cu-MOF-74, HKUST-1, NOTT-100 e Mn-MOF-74). Foi observado também que, apesar do sal de Zn não ter se apresentado citotóxico, as nanoMOFs com este metal apresentaram elevada citotoxicidade (MOF-5, Zn-MOF-74 e ZIF-8), provavelmente por induzirem estresse oxidativo.[23] A ZIF-7 apresentou-se como moderadamente tóxica apenas para a linhagem celular MCF7.

---

[4]As MOFs avaliadas foram as redes: **MIL-100** [$Fe_3O(H_2O)_2Cl(btc)_2$], **MIL-101** [$Fe_3Cl(H_2O)_2O(NH_2\text{-}bdc)_3$], **MOF-5** [$Zn_4O(bdc)_3$], **M-MOF-74** [$M_2(dhbdc)$] (também conhecida como fámilia M-CPO-27, onde M = Zn, Cu, Ni, Co, Mn e Mg), **ZIF-7** [$Zn(Ph\text{-}im)_2$], **ZIF-8** [$Zn(Me\text{-}im)_2$], **UiO-66** [$Zr_6O_4(OH)_4(bdc)_6$], **UiO-66-NH$_2$** [$Zr_6O_4(OH)_4(NH_2\text{-}bdc)_6$], **UiO-67** [$Zr_6O_4(OH)_4(bpdc)_6$], **HKUST-1** [$Cu_3(btc)_2$] e **NOTT-100** (ou MOF-505) [$Cu_2(bptc)$]., Os ligantes são: **btc** = ácido 1,3,5-benzenotricarboxilico; **NH$_2$-bdc** = ácido 2-aminobenzeno-1,4-dicarboxílico; **bdc** = ácido 1,4-benzenodicarboxílico; **dhbdc** = ácido 2,5-di-hidroxi-1,4-benzenodicarboxílico; **Ph-im** = benzilimidazol; **Me-im** = 2-metilimidazol; **bpdc** = ácido bifenil-4,4'-dicarboxílico; **bptc** = ácido 3,3',5,5'-bifenil-tetracarboxílico;

A grande variação na citotoxicidade destas redes mostra a importância do estudo de cada MOF, independente da similaridade que venham a apresentar com outros materiais. Mesmo redes isoestruturais, como a família M-MOF-74, apresentaram grande variação no potencial citotóxico dependendo do metal utilizado. Estes resultados sugerem que a citotoxicidade das MOFs está fortemente relacionada ao grau de solubilização destas redes no meio, e por consequência, a liberação de íons metálicos moderada ou altamente citotóxicos. MOFs que apresentam elevada degradação e que possuem em sua composição metais tóxicos, possuem tendência a serem altamente citotóxicas.

Das 14 nano-MOFs apresentadas acima, 9 delas foram selecionadas para a avaliação da toxicidade em embriões de peixe-zebra.[5] O peixe zebra possui genoma muito similar ao do ser humano[25] e é aceito pelo *National Institutes of Health* (NIH, USA) como um modelo alternativo para explorar doenças humanas, além de ser reconhecido por institutos internacionais de saúde ambiental como um excelente modelo para se estudar a toxicidade ambiental.[24] Para as nanoMOFs avaliadas, os resultados mostraram que existe uma forte correlação entre o grau de citotoxicidade *in vitro* e o grau de toxicidade *in vivo* nos embriões. Entretanto, exceções foram observadas, como a MOF MIL-101 que foi mais tóxica em embriões do que em cultura de células. Diferenças entre os testes *in vitro* e *in vivo* também foram observados por Alves.[5] Tais resultados sugerem que o estudo *in vitro* pode fornecer informações preliminares importantes a respeito de uma substância, mas não substitui o teste *in vivo*. A principal diferença dos testes *in vivo* é que neles diferentes sistemas trabalham

[5] Foram selecionadas redes que apresentaram diferentes graus de citotoxicidade no teste in vitro, como as MOFs ZIF-8 e HKUST-1 (elevada citotoxicidade), ZIF-7, MIL-100 e MIL-101 (moderada citotoxicidade) e UiO-66, UiO67, Co-MOF-74 e Mg-MOF-74 (pouca ou nenhuma citotoxicidade).

simultaneamente desde a absorção, distribuição, biotransformação até a eliminação da substância. Apesar disto, a maior parte dos trabalhos que envolvem a avaliação da toxicidade de MOFs reportados envolvem apenas o estudo da citotoxicidade *in vitro.*

Neste trabalho, buscou-se desenvolver MOFs para aplicação como marcadores para identificação de GSR. Apesar de nesta aplicação não haver a introdução intencional da MOF em seres vivos, como ocorre com os carreadores de fármacos, é importante para a saúde ocupacional de atiradores frequentes (policiais, militares, etc.) que estes marcadores apresentem baixa toxicidade, uma vez que parte dos marcadores expelidos em um disparo será absorvida através das vias orais, dérmicas e aéreas do atirador.[26] Além disso, seu uso em munições NTA só é justificável caso apresentem toxicidade consideravelmente inferior ao marcador intrínseco utilizado nas munições convencionais (Sb, Ba e Pb). É importante salientar que muito pouco é conhecido a respeito da toxicidade de marcadores luminescentes para resíduos de tiro. Dos poucos trabalhos reportados na literatura,[27–32] apenas um avaliou a sua toxicidade.[33]

Como esperado, não há protocolo estabelecido para a avaliação de toxicidade de GSR, portanto, neste trabalho a avaliação do marcador foi feita por meio de um protocolo de avaliação da toxicidade oral aguda (protocolo 423 da OECD). É importante ressaltar que, até onde temos conhecimento, esse é o primeiro trabalho envolvendo a avaliação da toxicidade aguda em ratos de uma MOF luminescente.

3.2 Objetivos

Este trabalho teve por objetivo avaliar a toxicidade oral aguda (utilizando o protocolo 423 da OECD) e subaguda (por sete dias consecutivos) da MOF [Eu(BTC)] em ratos, visando sua aplicação como marcador luminescente de GSR.

Com isso, pretendeu-se:

- Estimar a DL_{50} e classificar a MOF [Eu(BTC)] de acordo com o GHS (através do estudo de toxicidade aguda);
- Estabelecer uma margem de segurança para a utilização dessa rede como marcador luminescente de resíduos de tiro através da exposição aguda e subaguda;
- Avaliar alterações clínicas ou comportamentais, no consumo de água e ração, no peso corporal, na temperatura corporal, no peso e morfologia dos órgãos, alterações teciduais, e alterações em marcadores bioquímicos relacionados a função hepática e renal dos animais, devido a exposição aguda e subaguda da MOF [Eu(BTC)].

3.3 Procedimentos Experimentais

Ratos Wistar (fêmeas, com 8 semanas de idade, pesando entre 170 e 190 gramas, do biotério da Universidade de São Paulo) foram alojados em grupos de três animais por gaiola, com ração padrão de ratos e água *ad libitum*. As gaiolas foram abrigadas em sala com temperatura controlada (22 ± 3 °C) e com um ciclo de claro e escuro de 12 horas (luzes ligadas às 07:00 horas). Todos os animais foram aclimatados por uma semana antes do início dos procedimentos. A utilização e o cuidado dos animais foram realizados em total conformidade com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). Este estudo foi previamente aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade de Brasília (UnB), protocolo número 131598/2015.

A toxicidade aguda oral da MOF [Eu(BTC)] foi avaliada em ratos, através da administração de uma única dose, seguindo o protocolo 423 da OECD.[9] Este protocolo é um procedimento passo a passo que utiliza 3 animais de um único sexo por passo, em que a próxima dose é definida baseada na mortalidade e/ou estado moribundo apresentados pelos animais na dose anterior. Com o objetivo de monitorar a temperatura corporal, transmissores operados à bateria (*Subcue dataloggers*, Calgary, Canadá) foram implantados na cavidade abdominal dos ratos, sob anestesia com uma mistura de cetamina e xilazina (60 e 10 mg/kg, intraperitoneal – i.p.). Uma semana de recuperação foi fornecida aos animais antes da experimentação com o marcador.

Para administração oral, os animais foram submetidos a jejum na noite anterior ao experimento (apenas ração) e 4 horas após a administração (água e

ração). A MOF foi suspensa em uma solução salina (30 ou 100 mg/mL) com a ajuda de banho ultrassônico e agitador de tubo vortex. Em seguida, a suspensão contendo o marcador foi administrada em uma única dose por gavagem, utilizando uma cânula de polietileno (PE-50, com 4 cm de comprimento) conectada a uma agulha e uma seringa de plástico de 5 mL. O volume administrado variou entre 1,7 e 4,0 mL, dependendo do peso do animal e da dose. A dose inicial foi de 300 mg/kg, como recomenda o protocolo quando não se possui informações a respeito da toxicidade da substância, e o grupo controle recebeu apenas solução salina.

Após administração, os ratos foram periodicamente observados durante as primeiras 24 horas (com especial atenção às primeiras 6 horas) e diariamente pelos 14 dias seguintes. Todas as observações foram registradas, incluindo o peso corpóreo e o consumo de água e ração. Ao fim do experimento, os animais foram anestesiados (cetamina 120 mg/kg e xilazina 20 mg/kg) para a coleta de sangue da veia cava inferior (utilizando heparina como anticoagulante) e foram eutanasiados por decapitação. Todos os animais foram sujeitos a autópsia geral. O peso do coração, baço, fígado e rins de cada animal foi registrado. De acordo com o protocolo, a análise histopatológica é recomendada apenas em órgãos mostrando sinais evidentes de patologia.[9]

O sangue coletado foi centrifugado a 5000 g por 5 minutos e o soro foi coletado e armazenado a -18 °C até a realização das análises. Parâmetros bioquímicos relacionados à função hepática (alamina aminotransferase – ALT) e renal (ureia) foram realizados por métodos espectrofotométricos (Espectrofotômetro UV/Vis LAMBDA™ 35 Series, PerkinElmer®) utilizando kits comerciais (LABTEST, Diagnostica S.A.).

A análise estatística dos parâmetros bioquímicos foi realizada utilizando o software GraphPad. Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e foram expressos como média ± erro padrão da média. Valores de *p* inferiores a 0,05 foram considerados significantes.

Para avaliar a toxicidade subaguda desta rede, um grupo de 4 animais (nomeado G5) foi administrado com 300 mg/kg de marcador por 7 dias consecutivos. Com exceção da realização de repetições (diferentes etapas), os demais procedimentos seguiram as recomendações do protocolo 423 da OECD descritos acima.

3.4 Resultados e Discussão

3.4.1 Testes de toxicidade aguda oral em roedores (OECD 423)

A toxicidade aguda oral da MOF [Eu(BTC)] foi acessada em ratos Wistar fêmeas, através de uma única dose, de acordo com o protocolo 423 da OECD.[9] Seguindo os passos do protocolo, foram utilizados quatro grupos de três animais, nomeados grupos G1, G2, G3 e G4, os quais receberam 300, 300 (repetição), 2000 e 2000 (repetição) mg/kg de marcador respectivamente, além do grupo controle (CG), como mostra a figura 3.4. Para todas as doses avaliadas, nenhum animal mostrou qualquer sinal de toxicidade, comportamento anormal ou foi a óbito. Também não foram registradas mudanças no peso corporal e no peso dos órgãos (coração, baço, fígado e rins) nem no consumo de água e ração quando comparado ao grupo controle (figura 3.5). Assim, os resultados indicam que a DL_{50} estimada para a MOF [Eu(BTC)] é de 5000 mg/kg, sendo classificada na categoria 5 da GHS, o que sugere nenhuma toxicidade deste composto.

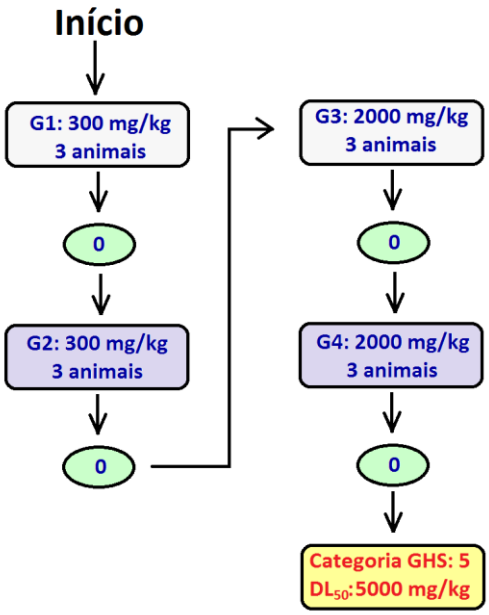


Figura 3. 4 - Procedimento passo a passo seguido do protocolo 423 da OECD para determinação da DL_{50} e classificação de acordo com o sistema de classificação da GHS. Os números nos círculos verdes indicam o número de animais mortos ou moribundos em cada passo.

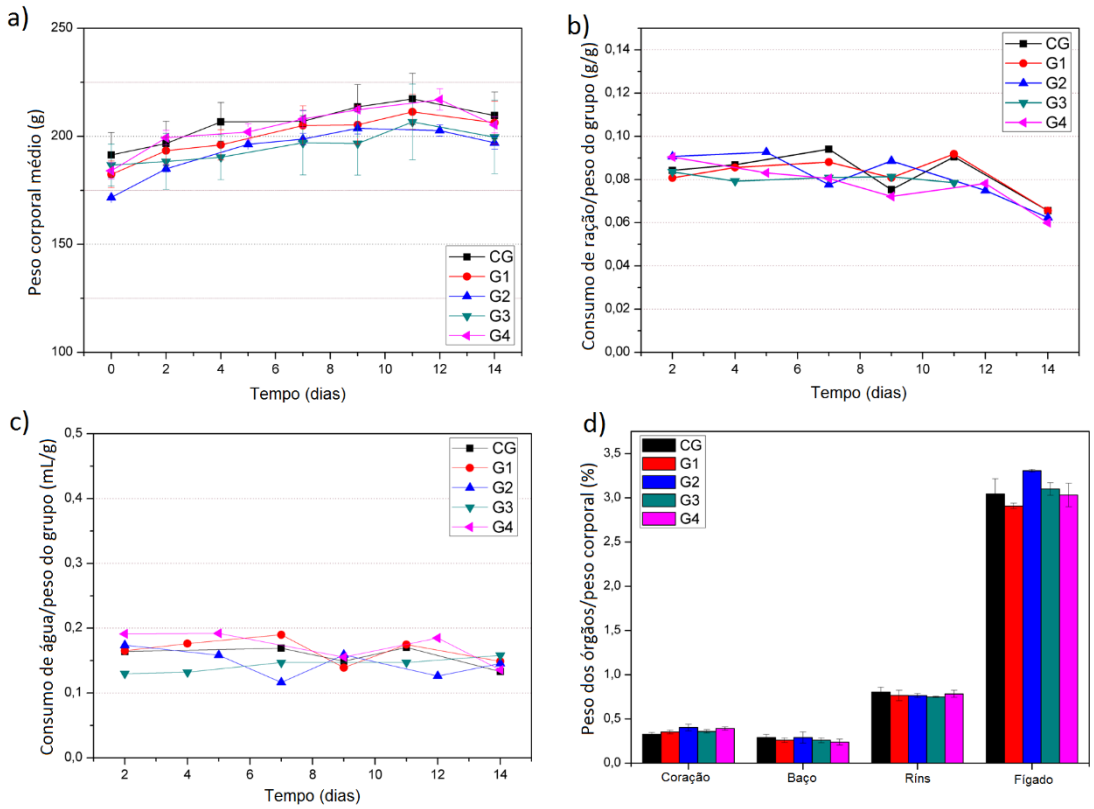
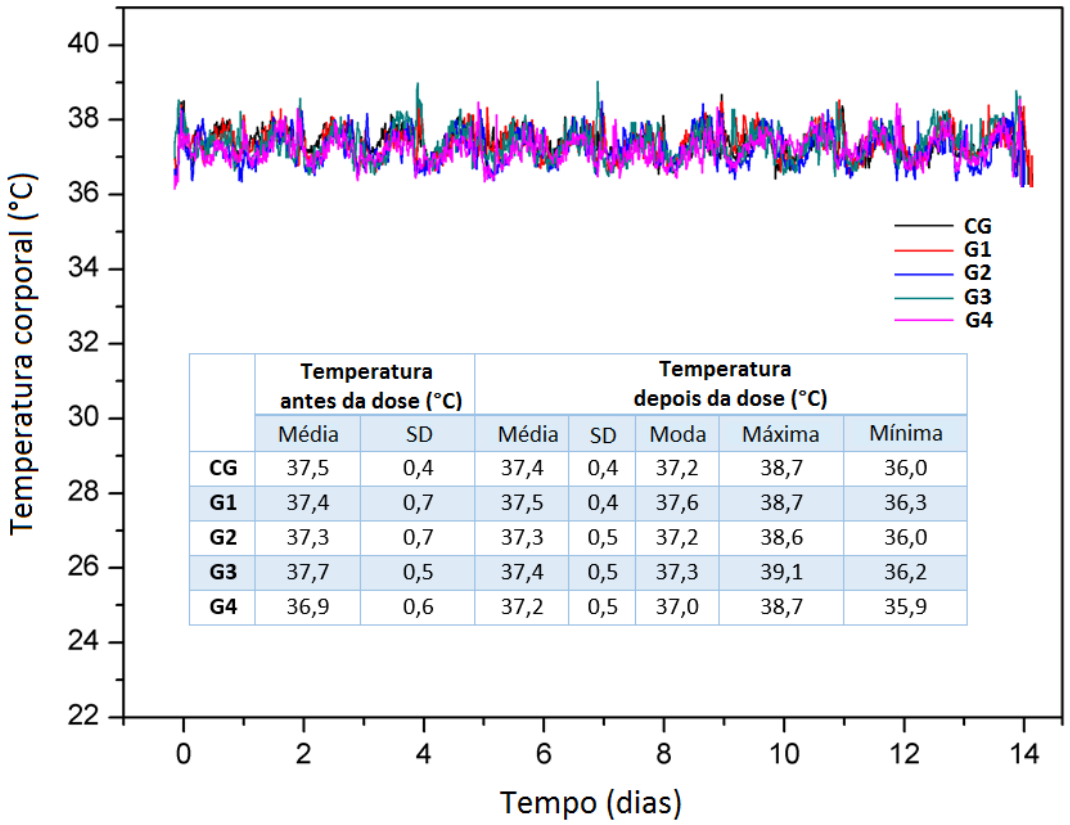


Figura 3. 5 - a) Evolução do peso corporal dos grupos (média ± desvio padrão); consumo de b) ração e c) água em função do peso do grupo; e d) peso dos órgãos em função do peso corporal em cada grupo (média ± desvio padrão).

Sabe-se que alterações na temperatura corporal pode servir como indicador da condição clínica do animal. Quando a temperatura corporal humana cai abaixo de 27 °C durante uma hipotermia severa, por exemplo, as alterações neuromusculares, cardiovasculares, hematológicas e respiratórias podem ser fatais.[34] Da mesma forma, quando a temperatura corporal humana sobe acima de 42 °C, uma desnaturação proteica pode resultar em insuficiência dos órgãos e até mesmo a morte.[35] Por estas razões, a temperatura corporal dos ratos foi monitorada desde 4 horas antes da administração, até o fim do experimento, através dos transmissores implantados.

O padrão de variação de temperatura ao longo dos dias pôde ser aproximado como uma função senoidal, em que os valores de temperatura máximas ocorrem durante a noite e as mínimas durante o dia devido ao hábito noturno dos roedores (figura 3.6). Neste caso, alguns picos fora da curva foram observados em todos os grupos (incluindo o grupo controle) e foram atribuídos a Hipertermia Induzida pelo Estresse (SIH),[36] causado pela manipulação dos animais (seja para administração da dose, pesagem, troca de água e ração, assim como limpeza das gaiolas). Assim, a ausência de alterações nos padrões de temperatura corporal entre os grupos administrados com o marcador e o grupo controle ressalta a ausência de condições clínicas deteriorantes devido à administração desta MOF. Além disso, não foram observadas quaisquer alterações patológicas nos órgãos durante a autópsia.



	Temperatura antes da dose (°C)		Temperatura depois da dose (°C)				
	Média	SD	Média	SD	Moda	Máxima	Mínima
CG	37,5	0,4	37,4	0,4	37,2	38,7	36,0
G1	37,4	0,7	37,5	0,4	37,6	38,7	36,3
G2	37,3	0,7	37,3	0,5	37,2	38,6	36,0
G3	37,7	0,5	37,4	0,5	37,3	39,1	36,2
G4	36,9	0,6	37,2	0,5	37,0	38,7	35,9

Figura 3. 6 - Evolução temporal da temperatura corpórea média dos grupos G1, G2, G3, G4 e CG. A tabela mostra a temperatura média (com desvio padrão – SD) dos grupos nas 4 horas anteriores a administração e nos 14 dias seguintes. A tabela apresenta ainda os valores de temperatura máxima, mínima e a moda após a administração.

Quando uma substância tóxica está presente em um organismo é comum a ocorrência de lesões nos órgãos responsáveis por sua absorção, biotransformação e excreção. Por isso, é bastante usual que em ensaios de toxicidade sejam analisados os parâmetros bioquímicos relacionados a função hepática e renal.[37] Alterações nos parâmetros bioquímicos relacionados ao fígado, por exemplo, pode ser consequência de uma série de fatores, como o vazamento de enzimas através da membrana plasmática dos hepatócitos (células do fígado), o aumento na produção de enzimas, assim como uma deficiência da função hepática (capacidade de síntese e capacidade de

absorção, transformação e excreção).[37] Uma das enzimas que escapam quando o fígado sofre uma lesão é a alamino transferase (ALT), sendo muito utilizada para avaliar a função hepática. Outras enzimas que também podem fornecer informações importantes são a aspartato aminotransferase (AST), gama glutamiltransferase (GGT), fosfatase alcalina (FAL), assim como a proteína albumina. Entretanto, além de possuir tempo de vida longo, a ALT é relativamente específica para os ratos, dada a sua elevada atividade no citoplasma hepatocelular dessa espécie.[37]

Para a avaliação da função renal, parâmetros como ureia e creatinina costumam ser avaliados. Essas substâncias, após produção respectivamente no fígado e no músculo, são transportadas até os rins, onde são filtradas e excretadas através da urina. Entretanto, quando os rins sofrem uma lesão, a taxa de filtração do sangue pode ser reduzida e o nível dessas substâncias no sangue se tornar elevado, indicando assim uma insuficiência renal.[38]

O resultado da análise bioquímica do soro dos animais é apresentado na figura 3.7. A análise estatística mostrou que não foram observadas alterações significativas entre a concentração de ureia e ALT entre o grupo controle e os grupos tratados com as MOFs. Esses resultados mostram que, mesmo para a dosagem mais elevada de 2000 mg/kg, não foram observados sinais de dano hepático ou renal em todos os animais, 14 dias após a administração, reforçando a ausência de toxicidade e a classificação dessa MOF na categoria 5 da GHS.

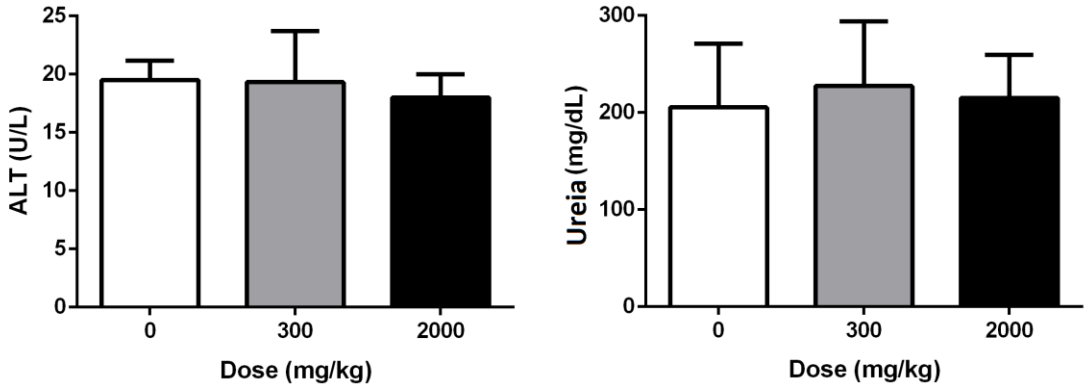


Figura 3. 7 - Análise bioquímica dos ratos 14 dias após a administração com a MOF [Eu(BTC)]. Os valores foram expressos como média ± erro padrão da média. Nas figuras, dose = 0 mg/kg representa o grupo controle.

Comparando a toxicidade do marcador [Eu(BTC)] com a chumbo, um marcador intrínseco das munições convencionais, essa MOF aparece como uma alternativa eficiente e não tóxica para a identificação de resíduos de tiro. Por exemplo, de acordo com o National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH), a dose letal mais baixa (LD_{LO}) do $Pb(CN)_2$ em ratos é de 100 mg/kg (intraperitoneal) e a dose letal oral humana é de 714 mg/kg de acetato de chumbo (aproximadamente 450 mg/kg de chumbo).[39] De acordo com o International Program of Chemical Safety (IPCS),[40] a DL50 oral em ratos para o tetraetil e tetrametil de chumbo são 1,2 e 105 mg/kg, respectivamente, mostrando a elevada toxicidade para compostos de chumbo e a elevada margem de segurança para a MOF [Eu(BTC)] para esta aplicação.

A dose de 5000 mg/kg para uma pessoa de 70 kg, por exemplo, é equivalente a 350 gramas de marcador, que é suficiente para marcar mais de 10 mil munições. Estes resultados mostram que a MOF [Eu(BTC)] apresenta larga margem de segurança para aplicação como marcador de GSR.

3.4.2 Testes de toxicidade oral em doses repetidas por 7 dias

Diferentemente dos resultados obtidos com o teste de toxicidade aguda, no teste por doses repetidas alguns animais apresentaram sinais graves de toxicidade. A partir do quarto dia de administração os animais não apenas deixaram de ganhar peso, como um dos ratos (rato R1) apresentou acentuada perda de massa (observada entre o 4º e o 7º dia), como pode ser observado na figura 3.8. Esse mesmo animal apresentou ainda alterações clínicas como piloereção, hiperventilação e hipotermia severa (figura 3.9), sendo o principal responsável pela redução do peso médio do grupo e do consumo reduzido de água e ração apresentados na figura 3.10. Apesar dos sinais clínicos graves, esse animal sobreviveu aos 14 dias de experimento.

Além disso, um rato faleceu após a terceira administração de marcador (rato R3). Quando realizada a autópsia, observou-se uma hemorragia no intestino delgado e um aumento no peso do fígado (em função do peso corpóreo) quando comparado ao grupo controle. Entretanto, a análise dos dados mostrou que não existe diferença estatística significativa entre a média dos órgãos do grupo G5 e CG. De uma forma geral, dos quatro animais experimentados, 3 sobreviveram e 1 faleceu. Dos três sobreviventes, apenas 1 apresentou alterações clínicas graves.

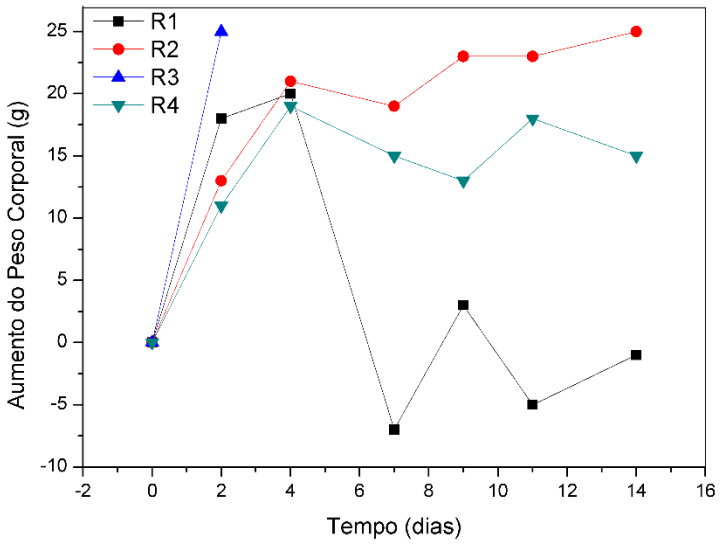
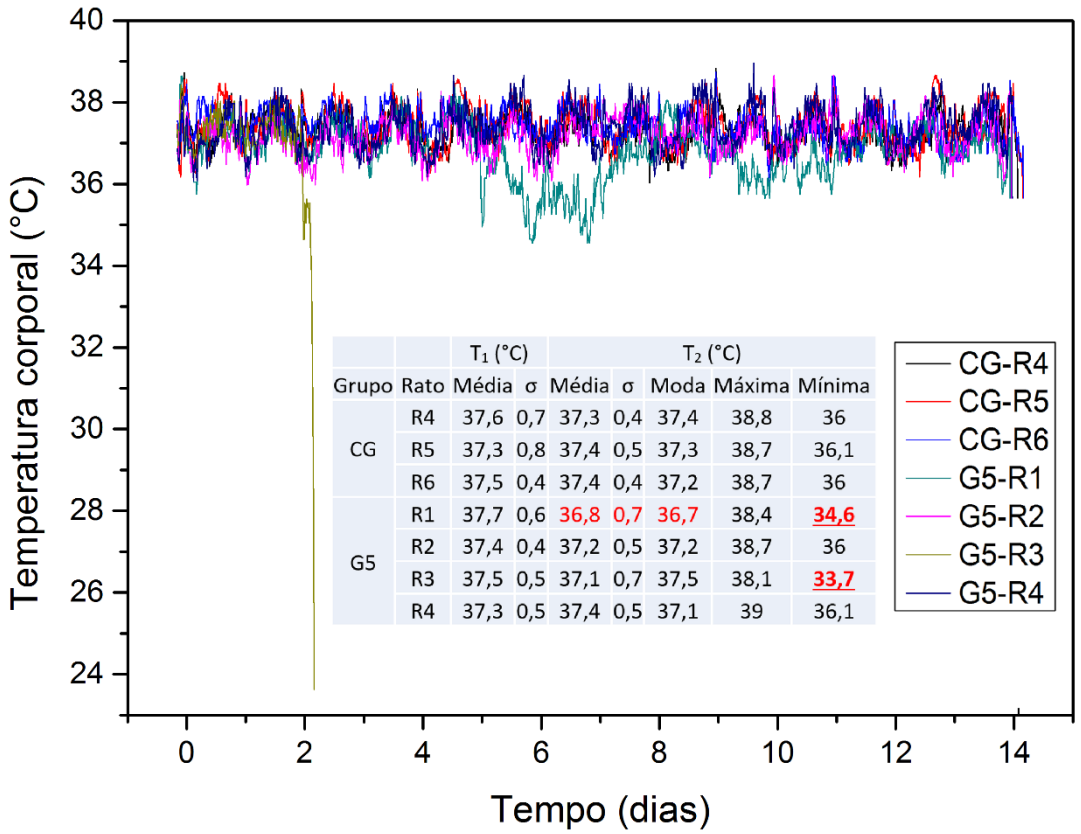


Figura 3. 8 – Alteração do peso corporal dos quatro ratos do grupo G5 durante os 14 dias de experimento.



		T_1 (°C)		T_2 (°C)				
Grupo	Rato	Média	σ	Média	σ	Moda	Máxima	Mínima
CG	R4	37,6	0,7	37,3	0,4	37,4	38,8	36
	R5	37,3	0,8	37,4	0,5	37,3	38,7	36,1
	R6	37,5	0,4	37,4	0,4	37,2	38,7	36
G5	R1	37,7	0,6	36,8	0,7	36,7	38,4	**34,6**
	R2	37,4	0,4	37,2	0,5	37,2	38,7	36
	R3	37,5	0,5	37,1	0,7	37,5	38,1	**33,7**
	R4	37,3	0,5	37,4	0,5	37,1	39	36,1

Figura 3. 9 – Evolução da temperatura dos ratos do grupo controle (CG) e do grupo G5.

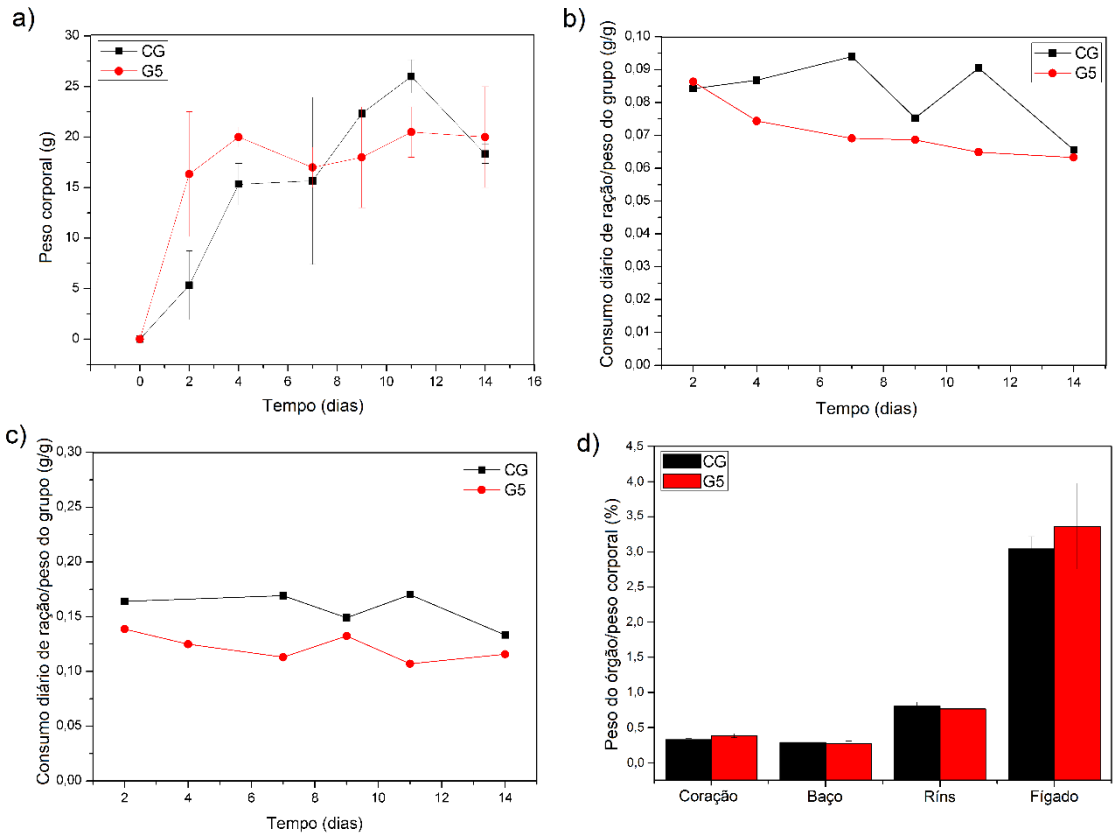


Figura 3. 10 - a) Evolução do peso corporal dos grupos CG e G5 (média ± desvio padrão); consumo de b) ração e c) água em função do peso do grupo; e d) peso dos órgãos em função do peso corporal em cada grupo (média ± desvio padrão).

Os parâmetros bioquímicos do grupo G5 em comparação com os demais grupos são apresentados na figura 3.11. Neste caso, além do grupo controle, foram utilizados os dados dos grupos G1, G2, G3 e G4 para aumentar a população (nº de amostras) e melhorar o nível de confiança da análise. Apesar do maior nível de ureia no sangue do grupo 5, o que poderia indicar uma insuficiência renal, a análise estatística mostrou que não existe variação significativa entre este grupo e os demais, tanto para o nível de ureia ($p = 0,5049$) como de ALT ($p = 0,9741$).

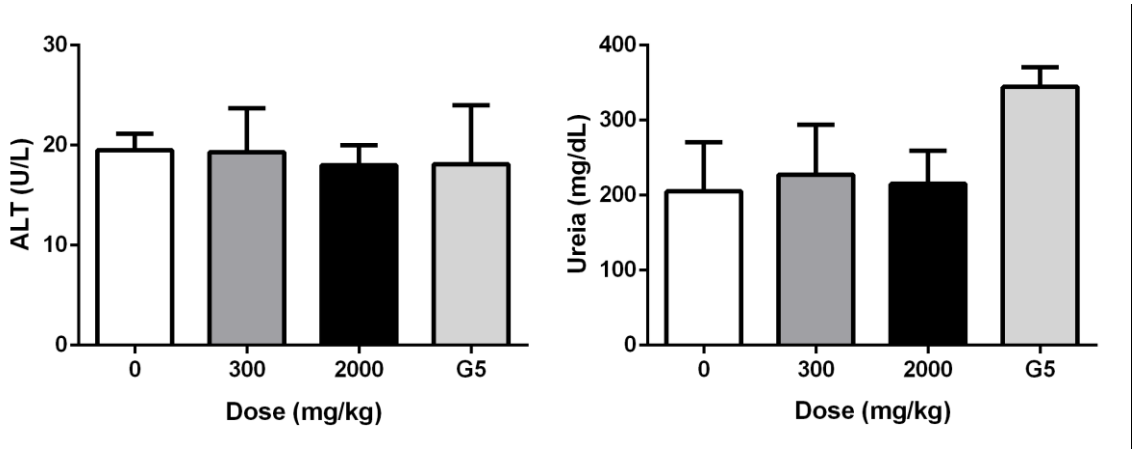


Figura 3. 11 – Nível de ALT e ureia sérica do grupo G5 comparado ao grupo controle (dose = 0) e aos ratos administrados com 300 e 2000 mg/kg de marcador.

Durante a necropsia dos animais sobreviventes, foram observadas alterações macroscópicas nos pulmões (figura 3.12). Assim, os mesmos foram examinados microscopicamente para a observação de alterações teciduais. Para tal, os pulmões foram fixados em parafina, cortados em um micrótomo em camadas finas, corados e coletados em lâminas para observação em microscópio.

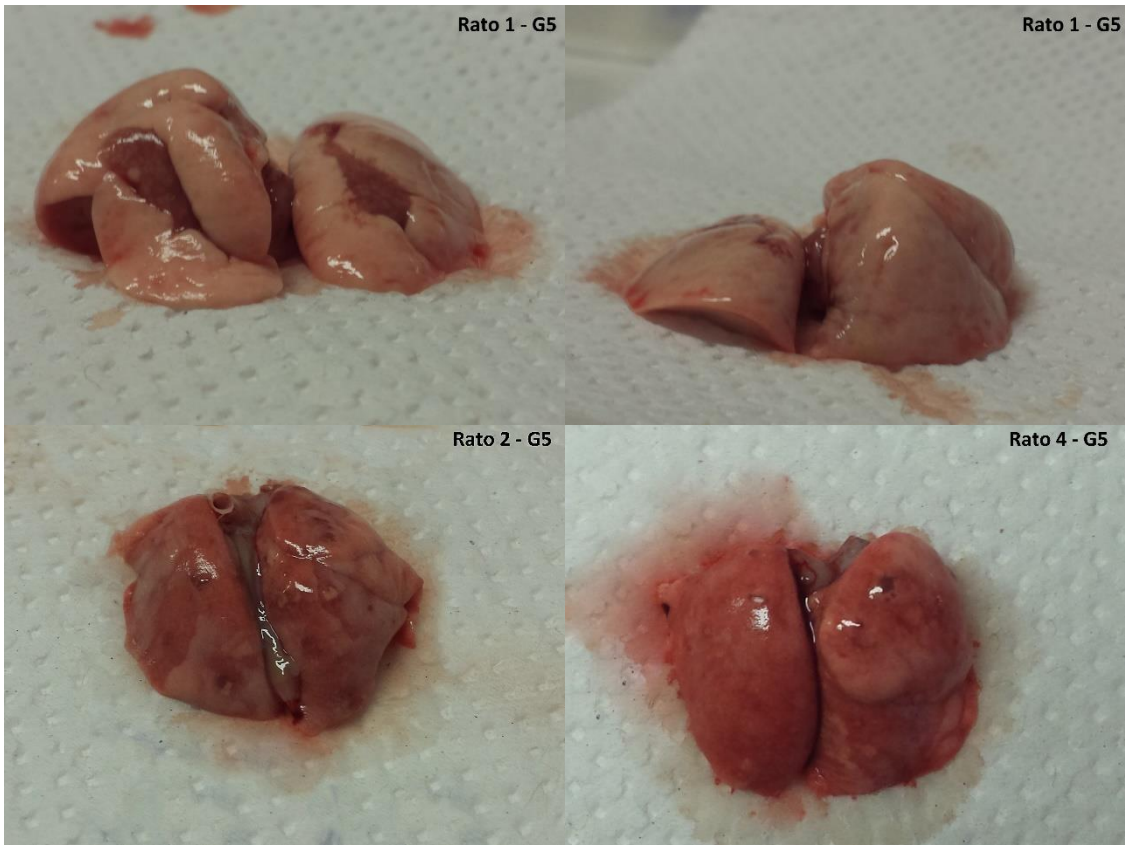


Figura 3. 12 – Fotografia dos pulmões do rato R1, R2 e R4 do grupo G5.

A figura 3.13 ilustra a presença de nódulos linfoides encontrados no tecido pulmonar de ratos do grupo controle. Embora os linfócitos sejam células do sistema imunológico e estejam normalmente relacionados a processos inflamatórios,[41] sua presença no grupo controle fez com que fosse considerado como característica padrão para os ratos analisados. O mesmo padrão foi observado para os ratos R2 e R4 do grupo G5. Entretanto, neste último observou-se também a presença de corpos estranhos (provavelmente o marcador) e a formação inicial de granulomas (figura 3.14).

Um granuloma nada mais é do que um agregado de macrófagos (células fagocitárias do sistema imunitário) morfologicamente alterados.[42] Quando um corpo estranho é detectado pelo organismo, um processo imunitário é iniciado

para isolar e destruir o agente exógeno, justificando a presença de linfócitos, macrófagos, assim como a formação de nódulos linfoides e granulomas.

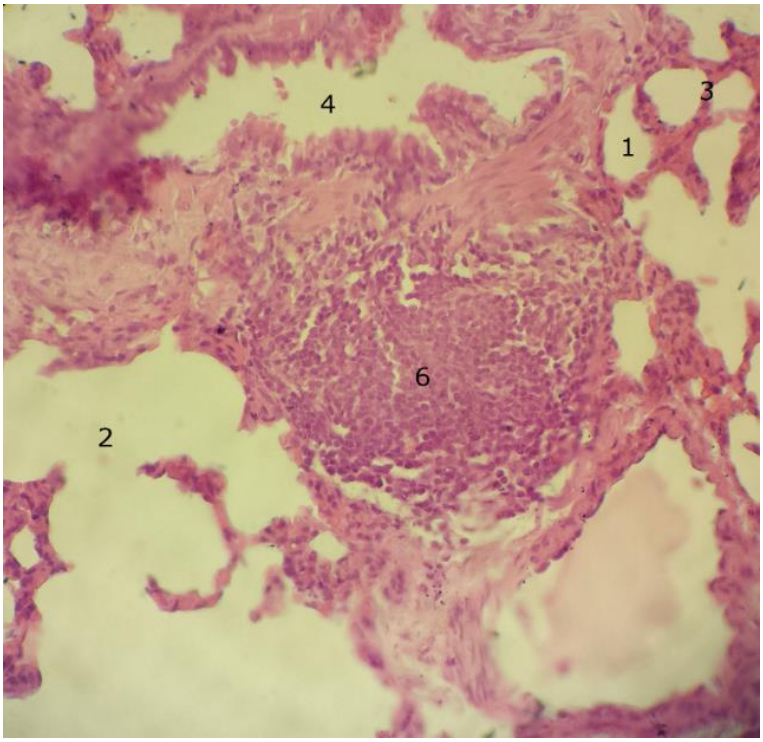


Figura 3. 13 – Microfotografia do tecido pulmonar de rato pertencente ao grupo controle mostrando a presença de alvéolos (1), canais alveolares (2), septo alveolar (3), bronquíolos (4) e nódulos linfoides (6).

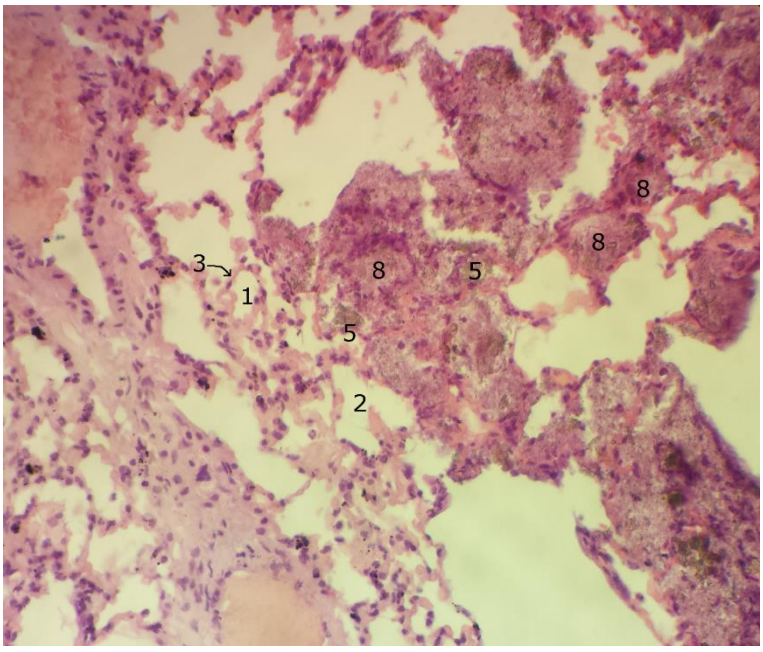


Figura 3. 14 – Microfotografia do tecido pulmonar de rato R4 do grupo G5 mostrando a presença de alvéolos (1), canais alveolares (2), septo alveolar (3), corpo estranho (5) e formação inicial de granulomas (8).

Enquanto isso, no tecido pulmonar do rato que apresentou sinais clínicos graves (rato R1), uma maior quantidade de corpos estranhos e de granulomas foi observada (figura 3.15). Neste caso, a quantidade de granulomas foi tão elevada que dificultou as trocas gasosas e provocou uma insuficiência respiratória no animal. Por sua vez, a baixa concentração de oxigênio (hipóxia) reduziu a temperatura corpórea e provocou uma severa hipotermia,[43] justificando todos os sinais clínicos observados. Este animal foi diagnosticado com pneumonite granulomatosa.

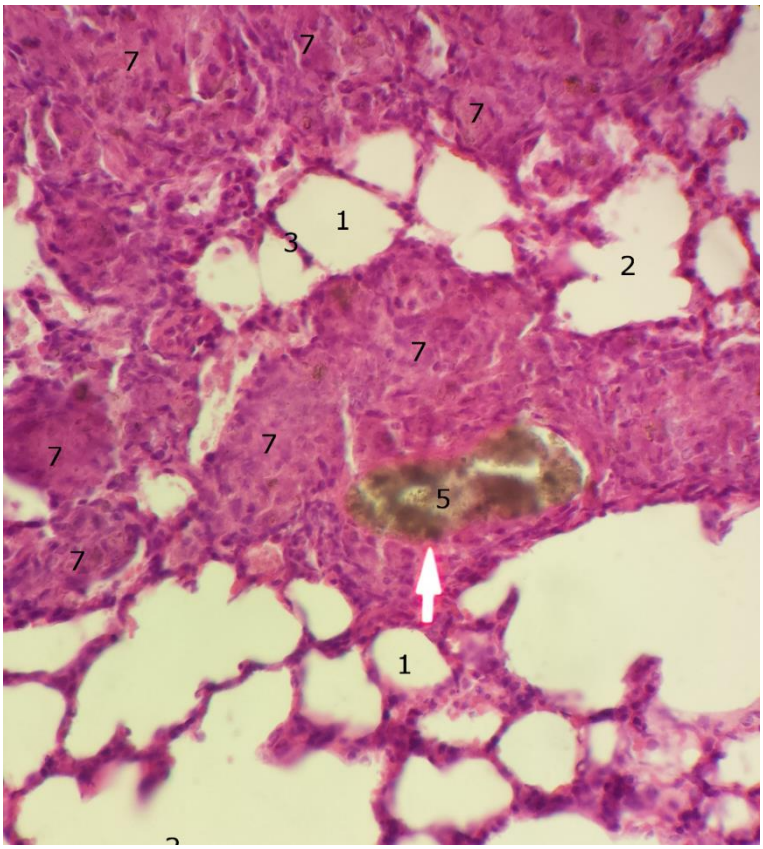


Figura 3. 15 – Microfotografias do tecido pulmonar de rato administrado com o marcador (G5 – R1) mostrando a presença de alvéolos (1), canais alveolares (2), septo alveolar (3), corpo estranho (5) e granulomas (7).

Durante a experimentação com os animais foi observado que, quando o rato é administrado repetidas vezes por gavagem, o mesmo passa a apresentar um comportamento mais agressivo no momento da administração, chegando inclusive a mastigar a cânula e/ou regurgitar o material administrado. Durante esse processo de regurgitamento é possível e bastante provável que parte do marcador seja aspirado para o pulmão. Desta forma, a presença de uma grande quantidade de corpos estranhos e granulomas nos pulmões de metade dos animais sugere que a toxicidade observada não pode ser atribuída ao marcador, mas sim a aspiração do material particulado para o pulmão. Este problema pode ser evitado alterando a forma de administração. Assim, a adição da substância teste à água ou à ração dos animais pode ser uma alternativa eficiente para se

avaliar a toxicidade por doses repetidas. Além disso, a dose de 300 mg/kg para uma pessoa de 70 kg, por exemplo, é o equivalente a 21 gramas de marcador, o qual é suficiente para marcar aproximadamente 600 munições por dia.

3.5 Conclusões

Com o protocolo 423 da OECD foi possível determinar a DL_{50} da MOF [Eu(BTC)] utilizando um número reduzido de animais (15 animais), em um processo de apenas 4 etapas. Para avaliação da toxicidade, diversos parâmetros foram avaliados, como comportamento animal, evolução do peso, consumo de água e ração, parâmetros bioquímicos relacionados a função renal e hepática, avaliação macroscópica geral dos órgãos e peso do coração, fígado, baço e rins. Para todos os parâmetros avaliados, nenhuma alteração ou efeito tóxico foi observado, mesmo para uma dosagem tão elevada quanto 2000 mg/kg. Assim, de acordo com o protocolo, a DL_{50} foi estimada em 5000 mg/kg e a substância foi classificada na categoria menos tóxica da GHS (categoria 5), conferindo uma elevada margem de segurança para a aplicação dessa rede. Desta forma, a MOF [Eu(BTC)] mostrou ser uma alternativa não tóxica e segura para a detecção de resíduos de tiro, principalmente quando comparado aos marcadores intrínsecos das munições convencionais.

No teste de toxicidade por doses repetidas, metade dos animais testados apresentaram sinais clínicos graves, como hiperventilação, piloereção, hipotermia ou até mesmo a morte, além de alterações macroscópicas nos pulmões. Quando realizado o exame histopatológico, verificou-se a presença de uma grande quantidade de corpos estranhos e a formação de granulomas. Entretanto, estas alterações não puderam ser atribuídas ao marcador, mas sim à aspiração do material particulado para o pulmão dos animais no momento da administração. Desta forma, conclui-se que a gavagem não é um procedimento adequado para administrações repetidas. Neste caso, sugere-se a introdução do

material à ração dos animais. É importante salientar que este é o primeiro estudo de que temos conhecimento da avaliação da toxicidade aguda e subaguda de uma MOF luminescente.

3.6 Referências

(1) Jiménez, M. R.; Kuhn, G. R. *Toxicologia Fundamental*; 4th ed.; Ediciones Díaz de Santos: Buenos Aires, 2009.

(2) Fagundes, D. J.; Taha, M. O. *Acta Cir. Bras.* **2004**, *19*, 59–65.

(3) International Standard (ISO). *Biological evaluation of medical devices — Part 5: Tests for in vitrocytotoxicity*; 2009; Vol. 2009.

(4) Scudiero, D. a; Shoemaker, R. H.; Paull, K. D.; Scudiere, D. a; Paul, K. D.; Monks, A.; Tierney, S.; Nofziger, T. H.; Currens, M. J.; Seniff, D.; Boyd, M. R. *Am. Assoc. Cancer Res. Journals* **1988**, *48*, 4827–4833.

(5) Alves, I. B. V. Metal-Organic Frameworks (MOFs): alternativa inteligente para carregamento de fármacos anti-inflamatório e antineoplásico, Universidade Federal de Pernambuco, 2013.

(6) Valadares, M. C.; Castro, N. C. De; Cunha, L. C. Da. *Rev. Bras. Ciências Farm.* **2007**, *43*.

(7) Valadares, M. C. *Rev. Eletrônica Farmácia Vol* **2006**, *3*, 93–98.

(8) OECD. *OECD 420 - GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS: Acute Oral Toxicity – Fixed Dose Procedure*; 2001.

(9) OECD. *OECD 423 - GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS: Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method*; 2004; Vol. 2004.

(10) OECD. *OECD 425 - GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS: Acute Oral Toxicity – Up-and-Down-Procedure (UDP)*; 2008.

(11) OECD. *Guidance Document on Acute Oral Toxicity Testing - OECD series on testing and assessment N.24*; 2001.

(12) Baati, T.; Njim, L.; Neffati, F.; Kerkeni, A.; Bouttemi, M.; Gref, R.; Najjar, M. F.; Zakhama, A.; Couvreur, P.; Serre, C.; Horcajada, P. *Chem. Sci.* **2013**, *4*, 1597.

(13) Horcajada, P.; Serre, C.; Vallet-Regí, M.; Sebban, M.; Taulelle, F.; Férey, G. *Angew. Chemie* **2006**, *118*, 6120–6124.

(14) Baati, T.; Horcajada, P.; Gref, R.; Couvreur, P.; Serre, C. *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* **2011**, *879*, 2311–2314.

(15) McKinlay, A. C.; Morris, R. E.; Horcajada, P.; Férey, G.; Gref, R.; Couvreur, P.; Serre, C. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2010**, *49*, 6260–6266.

(16) Horcajada, P.; Chalati, T.; Serre, C.; Gillet, B.; Sebrie, C.; Baati, T.; Eubank, J. F.; Heurtaux, D.; Clayette, P.; Kreuz, C.; Chang, J.-S.; Hwang, Y. K.; Marsaud, V.; Bories, P.-N.; Cynober, L.; Gil, S.; Férey, G.; Couvreur, P.; Gref, R. *Nat. Mater.* **2010**, *9*, 172–178.

(17) Tamames-Tabar, C.; Cunha, D.; Imbuluzqueta, E.; Ragon, F.; Serre, C.; Blanco-

Prieto, M. J.; Horcajada, P. *J. Mater. Chem. B* **2014**, *2*, 262.

(18) Giménez-Marqués, M.; Hidalgo, T.; Serre, C.; Horcajada, P. *Coord. Chem. Rev.* **2016**, *307*, 342–360.

(19) Chalati, T.; Horcajada, P.; Couvreur, P.; Serre, C.; Ben Yahia, M.; Maurin, G.; Gref, R. *Nanomedicine* **2011**, *6*, 1683–1695.

(20) Cunha, D. P. da. REDES DE COORDENAÇÃO: NOVOS SISTEMAS CARREADORES DE FÁRMACOS, Universidade Federal de Pernambuco, 2009.

(21) Vasconcelos, I. B.; Silva, T. G. Da; Militão, G. C. G.; Soares, T. a.; Rodrigues, N. M.; Rodrigues, M. O.; Costa, N. B. Da; Freire, R. O.; Alves Jr, S. *RSC Adv.* **2012**, *2*, 9437.

(22) Zhuang, J.; Kuo, C. H.; Chou, L. Y.; Liu, D. Y.; Weerapana, E.; Tsung, C. K. *ACS Nano* **2014**, *8*, 2812–2819.

(23) Ates, M.; Daniels, J.; Arslan, Z.; Farah, I. O.; Rivera, H. F. *Environ. Sci. Process. Impacts* **2013**, *15*, 225–233.

(24) Ruyra, À.; Yazdi, A.; Espín, J.; Carné-Sánchez, A.; Roher, N.; Lorenzo, J.; Imaz, I.; Maspoch, D. *Chem. - A Eur. J.* **2015**, *21*, 2508–2518.

(25) Howe, K.; Clark, M. D.; Torroja, C. F.; Torrance, J.; Berthelot, C.; Muffato, M.; Collins, J. E.; Humphray, S.; McLaren, K.; Matthews, L.; McLaren, S.; Sealy, I.; Caccamo, M.; Churcher, C.; Scott, C.; Barrett, J. C.; Koch, R.; Rauch, G.-J.; White, S.; Chow, W.; Kilian, B.; Quintais, L. T.; Guerra-Assunção, J. a; Zhou, Y.; Gu, Y.; Yen, J.; Vogel, J.-H.; Eyre, T.; Redmond, S.; Banerjee, R.; Chi, J.; Fu, B.; Langley, E.; Maguire, S. F.; Laird, G. K.; Lloyd, D.; Kenyon, E.; Donaldson, S.; Sehra, H.; Almeida-King, J.; Loveland, J.; Trevanion, S.; Jones, M.; Quail, M.; Willey, D.; Hunt, A.; Burton, J.; Sims, S.; McLay, K.; Plumb, B.; Davis, J.; Clee, C.; Oliver, K.; Clark, R.; Riddle, C.; Elliot, D.; Eliott, D.; Threadgold, G.; Harden, G.; Ware, D.; Begum, S.; Mortimore, B.; Mortimer, B.; Kerry, G.; Heath, P.; Phillimore, B.; Tracey, A.; Corby, N.; Dunn, M.; Johnson, C.; Wood, J.; Clark, S.; Pelan, S.; Griffiths, G.; Smith, M.; Glithero, R.; Howden, P.; Barker, N.; Lloyd, C.; Stevens, C.; Harley, J.; Holt, K.; Panagiotidis, G.; Lovell, J.; Beasley, H.; Henderson, C.; Gordon, D.; Auger, K.; Wright, D.; Collins, J.; Raisen, C.; Dyer, L.; Leung, K.; Robertson, L.; Ambridge, K.; Leongamornlert, D.; McGuire, S.; Gilderthorp, R.; Griffiths, C.; Manthravadi, D.; Nichol, S.; Barker, G.; Whitehead, S.; Kay, M.; Brown, J.; Murnane, C.; Gray, E.; Humphries, M.; Sycamore, N.; Barker, D.; Saunders, D.; Wallis, J.; Babbage, A.; Hammond, S.; Mashreghi-Mohammadi, M.; Barr, L.; Martin, S.; Wray, P.; Ellington, A.; Matthews, N.; Ellwood, M.; Woodmansey, R.; Clark, G.; Cooper, J. D.; Cooper, J.; Tromans, A.; Grafham, D.; Skuce, C.; Pandian, R.; Andrews, R.; Harrison, E.; Kimberley, A.; Garnett, J.; Fosker, N.; Hall, R.; Garner, P.; Kelly, D.; Bird, C.; Palmer, S.; Gehring, I.; Berger, A.; Dooley, C. M.; Ersan-Ürün, Z.; Eser, C.; Geiger, H.; Geisler, M.; Karotki, L.; Kirn, A.; Konantz, J.; Konantz, M.; Oberländer, M.; Rudolph-Geiger, S.; Teucke, M.; Lanz, C.; Raddatz, G.; Osoegawa, K.; Zhu, B.; Rapp, A.; Widaa, S.; Langford, C.; Yang, F.; Schuster, S. C.; Carter, N. P.; Harrow, J.; Ning, Z.; Herrero, J.; Searle, S. M. J.; Enright, A.; Geisler, R.; Plasterk, R. H. a; Lee, C.; Westerfield, M.; de Jong, P. J.; Zon, L. I.; Postlethwait, J. H.; Nüsslein-Volhard, C.; Hubbard, T. J. P.; Roest Crollius, H.; Rogers, J.; Stemple, D. L. *Nature* **2013**, *496*,

498–503.

(26) National Institute Occupational Safety and Health (NIOSH); U.S. Department of Health and Human Services (DHHS). *Reducing Exposure to Lead and Noise at Indoor Firing Ranges*; 2010; Vol. 113.

(27) Weber, I. T.; Melo, A. J. G.; Lucena, M. A. M.; Rodrigues, M. O.; Alves Junior, S. *Anal. Chem.* **2011**, *83*, 4720–4723.

(28) Weber, I. T.; Terra, I. A. A.; Melo, A. J. G.; Lucena, M. A. M.; Wanderley, K. A.; Paiva-Santos, C. O.; Antônio, S. G.; Nunes, L. A. O.; Paz, F. A. A.; de Sá, G. F.; Alves Júnior, S.; Rodrigues, M. O. *RSC Adv.* **2012**, *2*, 3083.

(29) Lucena, M. A. M.; de Sá, G. F.; Rodrigues, M. O.; Alves Júnior, S.; Talhavini, M.; Weber, I. T. *Anal. Methods* **2013**, *5*, 705.

(30) Weber, I. T.; Melo, A. J. G.; Lucena, M. A. M.; Consoli, E. F.; Rodrigues, M. O.; de Sá, G. F.; Maldaner, A. O.; Talhavini, M.; Alves Jr, S. *Forensic Sci. Int.* **2014**, *244*, 276–284.

(31) Lucena, M. A. M.; Rodrigues, M. O.; Gatto, C. C.; Talhavini, M.; Maldaner, A. O.; Alves Júnior, S.; Weber, I. T. *J. Lumin.* **2016**, *170*, 697–700.

(32) Destefani, C. A.; Motta, L. C.; Vanini, G.; Souza, L. M.; Filho, J. F. A.; Macrino, C. J.; Silva, E. M.; Greco, S. J.; Endringer, D. C.; Romão, W. *Microchem. J.* **2014**, *116*, 216–224.

(33) Destefani, C. A.; Motta, L. C.; Costa, R. A.; Macrino, C. J.; Bassane, J. F. P.; Filho, J. F. A.; Silva, E. M.; Greco, S. J.; Carneiro, M. T. W. D.; Endringer, D. C.; Romão, W. *Microchem. J.* **2016**, *124*, 195–200.

(34) Tansey, E. A.; Johnson, C. D. *Adv. Physiol. Educ.* **2015**, *39*, 139–148.

(35) Lepock, J. R. *Int. J. Hyperth.* **2003**, *19*, 252–266.

(36) Watanabe, S. *Brain Res.* **2015**, *1624*, 134–139.

(37) Ramaiah, S. K. *Food Chem. Toxicol.* **2007**, *45*, 1551–1557.

(38) Destefani, C. A. Síntese, Aplicação e Avaliação da Toxicidade Aguda do Complexo Orgânico à Base de Európio Proposto como Marcador Fotoluminescente para a Identificação de Resíduos de Tiro, Universidade Federal do Espírito Santo, 2014.

(39) NIOSH. *Documentation for Immediately Dangerous To Life or Health Concentrations (IDLHs)*; 1994.

(40) International Program of Chemical Safety (IPCS). Lead, Organic.

(41) Abbas, A. K.; Lichtman, A. H. H.; Pillai, S. *Cellular and molecular immunology*; 8th ed.; Elsevier Health Sciences: Boston, MA., 2014.

(42) Paul, W. E. *Fundamental Immunology*; 7th ed.; Wolters Kluwer Health, 2012.

(43) Cadena, V.; Tattersall, G. J. *J. Therm. Biol.* **2014**, *46*, 56–64.

CAPÍTULO IV

Processo de Codificação de Munições através do uso de marcadores co-dopados

4.1 Introdução

Quando se trata de crimes envolvendo armas de fogo, determinar a origem da munição e estabelecer correlações entre os resíduos encontrados em diferentes locais é fundamental para a reconstrução da cena do crime, especialmente quando múltiplas armas e munições estão envolvidas.[1] A possibilidade de associar, por exemplo, os resíduos encontrados nas mãos de um suspeito com os resíduos encontrados na vítima pode ser decisivo para elucidação de um caso. Permitindo, na pior das hipóteses, a exclusão de suspeitos. Entretanto, fazer essas associações com base na análise do GSR nem sempre é fácil, uma vez que os resíduos inorgânicos das munições convencionais apresentam basicamente a mesma composição (Sb, Ba e Pb).[1–3]

Neste contexto, o uso de diferentes marcadores luminescentes pode ajudar a rastrear a origem da munição, seja pelo uso de diferentes ligantes ou de diferentes lantanídeos nestes materiais.[4–8] Uma quantidade muito grande de códigos pode ser criada através da síntese de marcadores co-dopados com composições químicas bem definidas, criando uma espécie de codificação para as munições. Estes códigos podem ser utilizados, por exemplo, para diferenciar a origem da munição (uso civil, policial, militar, esportiva, segurança, etc.), o fabricante, calibre ou um lote exclusivo (desenvolvido para um grupo, evento ou operação específica), assim como identificar desvio ou contrabando de munições. Entretanto, é importante que a luminescência e a estabilidade desses marcadores não sejam reduzidas devido à introdução dos novos elementos à rede.

A síntese de materiais luminescentes que apresentem elevada eficiência quântica nem sempre é uma tarefa fácil.[9] Estes materiais, além de absorver

radiação eficientemente e preferencialmente através do ligante (efeito antena), devem apresentar baixas taxas de decaimentos não radiativos. Portanto, canais supressores de energia devem ser evitados.

Diversos canais supressores podem estar presentes em um material luminescente, como a presença de água na esfera de coordenação do íon lantanídeo;[10,11] a transferência de energia entre íons da mesma espécie (auto supressão ou quenching por concentração)[12,13] ou de espécies diferentes (relaxação cruzada);[11] transferência de energia do metal para o ligante (retro transferência);[10,14] a presença de osciladores no ligante;[14] entre outros.

Sabe-se que na rede metal-orgânica (MOF) [Eu(BTC)], o íon lantanídeo está ligado a oito átomos de oxigênio do ligante BTC e não apresenta moléculas de água em sua esfera de coordenação. Sabe-se também que o processo de retrotransferência pode ser considerado insignificante, uma vez que o nível tripleto do BTC está localizado muito acima do nível emissor do Eu^{3+} (assim como de todos os íons Ln^{3+} utilizados neste trabalho).[15] Entretanto, a elevada concentração do íon Ln^{3+} nesta rede pode favorecer o processo de auto-supressão. Neste caso, a síntese de marcadores dopados (co-dopados) com pequenas quantidades de íons lantanídeos não apenas poderá aumentar a possibilidade de codificação de munição, como também poderá reduzir a auto-supressão, produzindo marcadores mais eficientes.

A MOF [Ln(BTC)] é uma isoestrutura da MOF MIL-78 sintetizada por Serre *et. al.*[16], que é originalmente composta pelos íons Y^{3+} e Eu^{3+}. Nessa rede, o metal em maior proporção é o Y^{3+}, que pertence ao grupo dos terras raras e possui raio iônico semelhante aos Ln^{3+} (devido à contração lantanídica). Além disso, o Y^{3+} tem propriedades químicas muito semelhantes aos lantanídeos e permite uma

maior substituição na rede com pouca tendência a distorção estrutural.[17,18] Por fim, o ítrio possui um custo significativamente inferior aos lantanídeos como térbio e európio, o que representa uma considerável redução no preço final do material. Por isso, optou-se pela síntese de marcadores luminescentes baseados na rede $[Y_{1-x}Ln_x(BTC)]$ utilizando o ítrio como metal em maior proporção, e variando a concentração de íons lantanídeos como o Eu, Sm, Tb e Yb.

4.2 Objetivos

Esta etapa do trabalho teve por objetivo o desenvolvimento de um método de codificação de munição baseado no uso de marcadores luminescentes co-dopados. Para tal, pretende-se:

- Sintetizar uma série de MOFs dopadas (co-dopadas) $[Y_{1-x}Ln_x(BTC)]$ através do método hidrotermal assistido por micro-ondas (devido a sua rapidez), utilizando proporções dos íons lantanídeos Eu^{3+}, Tb^{3+}, Sm^{3+} e Yb^{3+} variando entre 5 e 10% (o que significa a introdução total de até 20% destes íons Ln^{3+} nas redes co-dopadas);
- Estudar as propriedades luminescentes das redes co-dopadas, incluindo processos de transferência de energia, auto-supressão e eficiência quântica;
- Avaliar a eficiência dessas redes como marcadores luminescentes para a identificação de resíduos de tiro;
- Avaliar a capacidade de se identificar a munição de origem dos resíduos em função da composição dos marcadores co-dopados, utilizando MEV/EDS (processo de codificação);
- Avaliar se os resíduos coletados em diferentes locais podem ser correlacionados em função de sua composição (e.g.: resíduos coletados no atirador tem a mesma composição dos resíduos coletados em uma determinada arma e em um local de disparo específico).

4.3 Procedimentos Experimentais

4.3.1 Síntese e caracterização da MOF [$Y_{1-x}Ln_x(BTC)$]

Um conjunto de 8 MOFs [$Y_{1-x}Ln_x(BTC)$] (em que Ln = Eu^{3+}, Sm^{3+}, Tb^{3+} e/ou Yb^{3+}, BTC = ácido trimésico e X = 0,05 – 0,2), isoestrutural a MIL-78,[16] foi sintetizado utilizando o método hidrotermal assistido por micro-ondas. Para tal, os óxidos Y_2O_3 (Alfa Aesar, 99,99%), Eu_2O_3 (Sigma Aldrich, 99,5%), Sm_2O_3 (Sigma Aldrich, 99,9%) e Yb_2O_3 (Sigma Aldrich, 99,99%) foram utilizados para preparar seus respectivos nitratos, seguindo protocolo descrito na literatura.[10] Enquanto isso, o $TbCl_3 \cdot (H_2O)_6$ (Alfa Aesar, 99,9%) e o ligante BTC (Sigma Aldrich, 95%) foram utilizados da forma como adquiridos.

Para a síntese, 0,35 mmol de metal (soma de todos os metais) e 0,35 mmol do ligante foram adicionados a um reator de quartzo de 10 mL contendo 5 mL de água deionizada. A reação foi realizada em um micro-ondas CEM Corporation (Discover Proteomics®) com potência máxima de 100W, 20 minutos, 150 °C e pressão autogerada. O pó obtido foi lavado com água deionizada e acetona e seco a 75 °C. As redes foram nomeadas segundo a tabela 4.I.

Tabela 4. I – Quantidade teórica dos íons lantanídeos nas redes $[Y_{1-x}Ln_x(BTC)]$.

MOF	(%) teórica de Ln^{3+}
M1	5% Eu
M2	10% Eu
M3	5% Eu + 5% Sm
M4	10% Eu + 10% Sm
M5	5% Tb
M6	10% Tb
M7	10% Yb + 5% Tb
M8	10% Yb + 5% Tb + 5% Eu

As MOFs foram caracterizadas por:

- Difração de raios X (Bruker D8 Advanced) para verificar as fases cristalinas formadas;
- Espectroscopia de fotoluminescência (Espectrofluorímetro Fluorolog Horiba Jobin Yvon FL3-22) para avaliar as propriedades espectroscópicas das redes com diferentes lantanídeos;
- MEV/EDS (FEI Quanta 200 FEG) para avaliação morfológica e principalmente composicional das redes. Neste caso, o teor médio dos metais presentes nas MOFs foi obtido através da análise de 5 partículas em cada amostra.

4.3.2 Teste das MOFs [$Y_{1-X}Ln_X(BTC)$] como marcadores luminescentes de GSR

Para realização dos testes como marcador luminescente de resíduos de tiro, os 8 marcadores sintetizados foram adicionados individualmente à pólvora (5% em peso) de munições 9 mm NTA, seguindo metodologia descrita no capítulo II (item 2.3). Foram preparadas 3 munições para cada marcador. Uma vez obtidas as munições marcadas, partiu-se para os testes de disparos com armas de fogo. Diferentes atiradores participaram do ensaio e o piso do *stand* de tiro foi revestido com papel pardo (o qual foi substituído após cada teste para evitar contaminação).

Todos os disparos foram realizados no *stand* de tiro fechado do Instituto Nacional de Criminalística do Departamento da Polícia Federal (INC/DPF – Brasília/Brasil). Para cada marcador foi utilizada uma pistola diferente, totalizando 8 pistolas (modelos Glock G17, Glock G26, Jericho, Taurus e Norinco). Após uma sequência de três disparos para cada marcador, o local do disparo, as mãos do atirador e a arma foram observadas sob radiação ultravioleta (254 nm) para avaliar a eficiência dos marcadores.

4.3.3 Testes de codificação de munições (teste cego)

Para realização do teste de codificação foram utilizados 8 conjuntos de 3 munições NTA 9mm, cada uma contendo 5% de marcador (3 munições para cada marcador). Para que nem os atiradores e nem o analista soubessem a composição das munições, cada conjunto de munições recebeu um código

escolhido por um voluntário e essa informação foi mantida em um envelope selado até o fim dos experimentos.

Em seguida, um atirador foi instruído a entrar sozinho no *stand* de tiro, escolher um conjunto de munições, indicar seu código em um formulário e efetuar os disparos. Este formulário também foi mantido em um envelope selado até o fim dos experimentos. Após os disparos, foi permitido ao analista entrar no campo de tiro com uma lâmpada UV (254 nm) e coletar o LGSR no piso, nas mãos do atirador e na arma utilizando *stubs* recobertos com fita adesiva condutora de carbono. Os *stubs* foram identificados com o número do disparo e o local de coleta (*e.g.,* disparo 1 - atirador, arma ou piso). O mesmo procedimento foi realizado por 8 diferentes atiradores e pelo analista.

Todos os disparos foram realizados no campo de tiro fechado do Instituto Nacional de Criminalística do Departamento da Polícia Federal (INC/DPF – Brasília/Brasil). Antes de cada disparo, o piso do *stand* de tiro foi revestido com papel pardo (o qual foi substituído a cada novo teste para evitar contaminação). Para cada disparo foi utilizada uma pistola diferente, totalizando 8 pistolas (modelos Glock G17, Glock G26, Jericho, Taurus e Norinco).

Os *stubs* contendo os resíduos coletados foram analisados por VSC (Foster & Freeman® VSC 6000/HS) para a aquisição de espectros de emissão (254 nm) e por MEV/EDS (FEI Quanta 200 FEG) para análise morfológica e composicional. Para determinação do teor de metais, foram analisados, em média, 5 partículas por *stub*. A varredura foi realizada de forma manual, em que partículas com morfologia semelhante à dos marcadores puros foram procuradas e analisadas. Em função da proporção metálica obtida por MEV/EDS o analista procurou identificar o marcador usado. As conclusões relativas à composição do marcador

foram anotadas pelo analista e guardadas em envelopes selados até o fim do experimento. Terminada a caracterização, todos os 17 envelopes foram abertos (na presença de 5 pessoas) para confrontar a escolha do atirador, a conclusão do analista e o sistema de codificação do voluntário.

4.4 Resultados e Discussão

4.4.1 Caracterização dos marcadores

Os padrões de raios X apresentados na figura 4.1 mostram que, utilizando o método hidrotermal assistido por micro-ondas e diferentes lantanídeos, 8 MOFs cristalinas e isoestruturais a MIL-78 foram obtidas. Apesar da presença de uma pequena quantidade de impurezas, não foi observada nenhuma relação entre essas impurezas e o tipo ou a quantidade do dopante utilizado. É importante mencionar que, nestas redes, cada íon metálico é coordenado a oito átomos de oxigênio de 6 ligantes BTC, não apresentando moléculas de água em sua esfera de coordenação, e que os modos de coordenação adotados pelo ligante permitem o crescimento em 3D dessas redes.

Neste caso, sabe-se que a ausência de moléculas de água na esfera de coordenação dos íons lantanídeos favorece as propriedades luminescentes e a estabilidade térmica das redes, como apresentado no capítulo I. E que estas duas características são pré-requisitos para a aplicação de qualquer material como marcador luminescente de GSR.

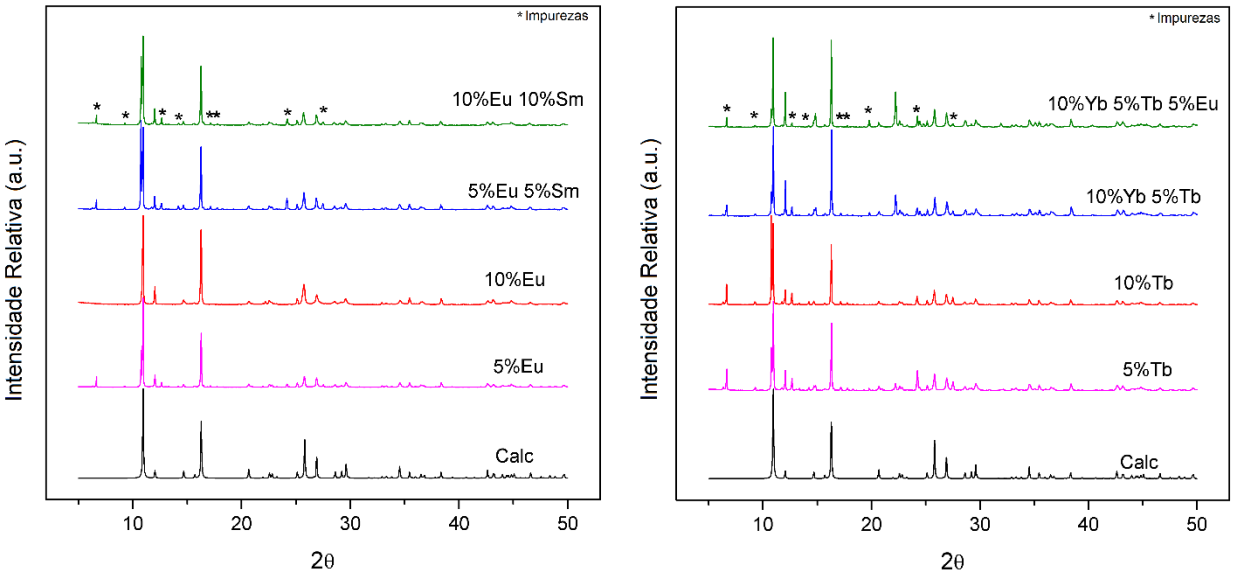


Figura 4. 1 – DRX das MOFs $[Y_{1-x}Ln_x(BTC)]$ e padrão calculado para a MIL-78 utilizando o CIF fornecido por Serre et al.[16]

Os espectros de excitação e emissão (figura 4.2 e 4.3) e os tempos de vida das 8 amostras foram obtidos a temperatura ambiente. Para excitação (linhas pontilhadas), as transições $^5D_0$-$^7F_2$ (618 nm) ou $^5D_4$-$^7F_5$ (545 nm) foram monitoradas para as amostras dopadas/co-dopadas com Eu^{3+} e Tb^{3+}, respectivamente. Em todos os casos, uma banda larga e intensa centrada em 302 nm foi observada, mostrando que assim como na MOF [Eu(BTC)], discutida no capítulo I, a excitação dos íons lantanídeos se dá preferencialmente via mecanismo indireto (efeito antena). Também foram observados picos de baixa intensidade referentes as transições f-f dos íons Eu^{3+}, Sm^{3+} e Tb^{3+}, os quais experimentaram um pequeno aumento na intensidade relativa quando a concentração desses íons na rede foi aumentada.

Os espectros de emissão (linhas sólidas) foram obtidos excitando as amostras em 302 nm. Para aquelas dopadas com Eu^{3+} (figura 4.2.a), as

transições $^5D_0$-^7F_J (J = 0 - 4) deste íon foram observadas, enquanto que para amostras co-dopadas com Sm^{3+} (figura 4.2.b), além das transições do Eu^{3+}, foram observadas ainda as transições de baixa intensidade $^4G_{5/6}$ – $^6H_{5/2}$ e $^4G_{5/6}$ – $^6H_{9/2}$ do Sm^{3+}. Em todos os casos, as transições do Eu^{3+} foram favorecidas. Para as amostras dopadas com Tb^{3+} ou co-dopadas com Tb^{3+} e Yb^{3+} (figura 4.3.a), as transições $^5D_4$ – ^7F_J (J = 6 – 2) do Tb^{3+} foram observadas. Para a amostra co-dopada com Tb^{3+}, Yb^{3+} e Eu^{3+} (figura 4.3.b), foram observadas tanto as transições do Tb^{3+} quanto as do Eu^{3+}, e as transições referentes ao Eu^{3+} foram favorecidas.

As transições do Eu^{3+} são favorecidas porque o nível emissor deste íon é mais baixo do que o do Sm^{3+} e do Tb^{3+}, favorecendo transferência de energia para o Eu^{3+} (figura 4.4). Esse fenômeno pode ser melhor observado quando se excita diretamente os íons Sm^{3+} (403 nm) ou Tb^{3+} (336 nm) (figura 4.5). Nesses casos, as transições do Eu^{3+} nos espectros de emissão aparecem com intensidade relativa similar ou até mesmo superior àquelas dos íons Sm^{3+} e Tb^{3+}, evidenciando a transferência de energia entre os lantanídeos.

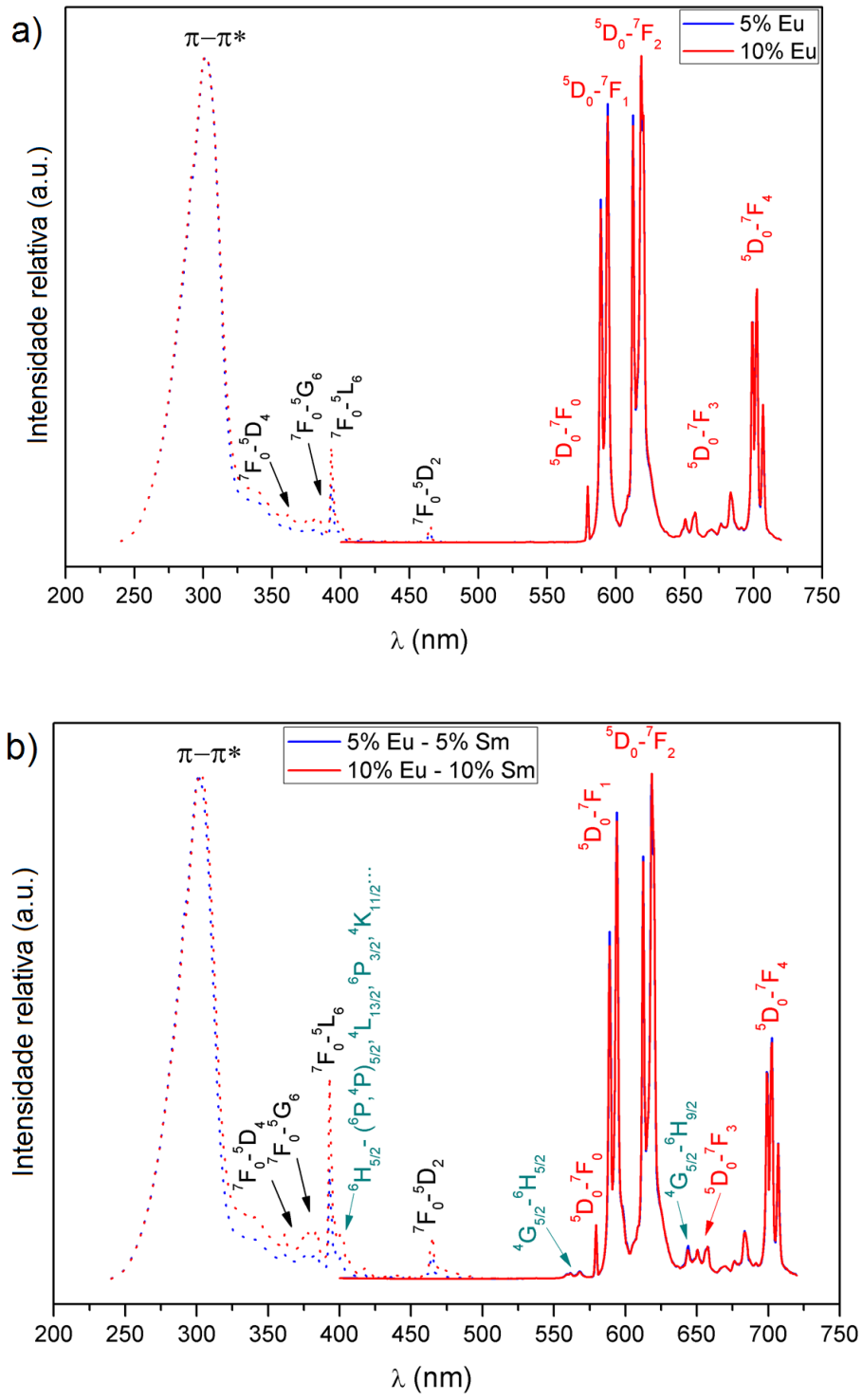


Figura 4. 2 – Espectros de excitação (linhas pontilhadas) e emissão (linhas sólidas) das MOFs dopadas com Eu^{3+} (a) e co-dopadas com Eu^{3+} e Sm^{3+} (b). Espectros de excitação obtidos monitorando a emissão do Eu^{3+} em 618 nm e espectros de emissão obtidos excitando em 302 nm.

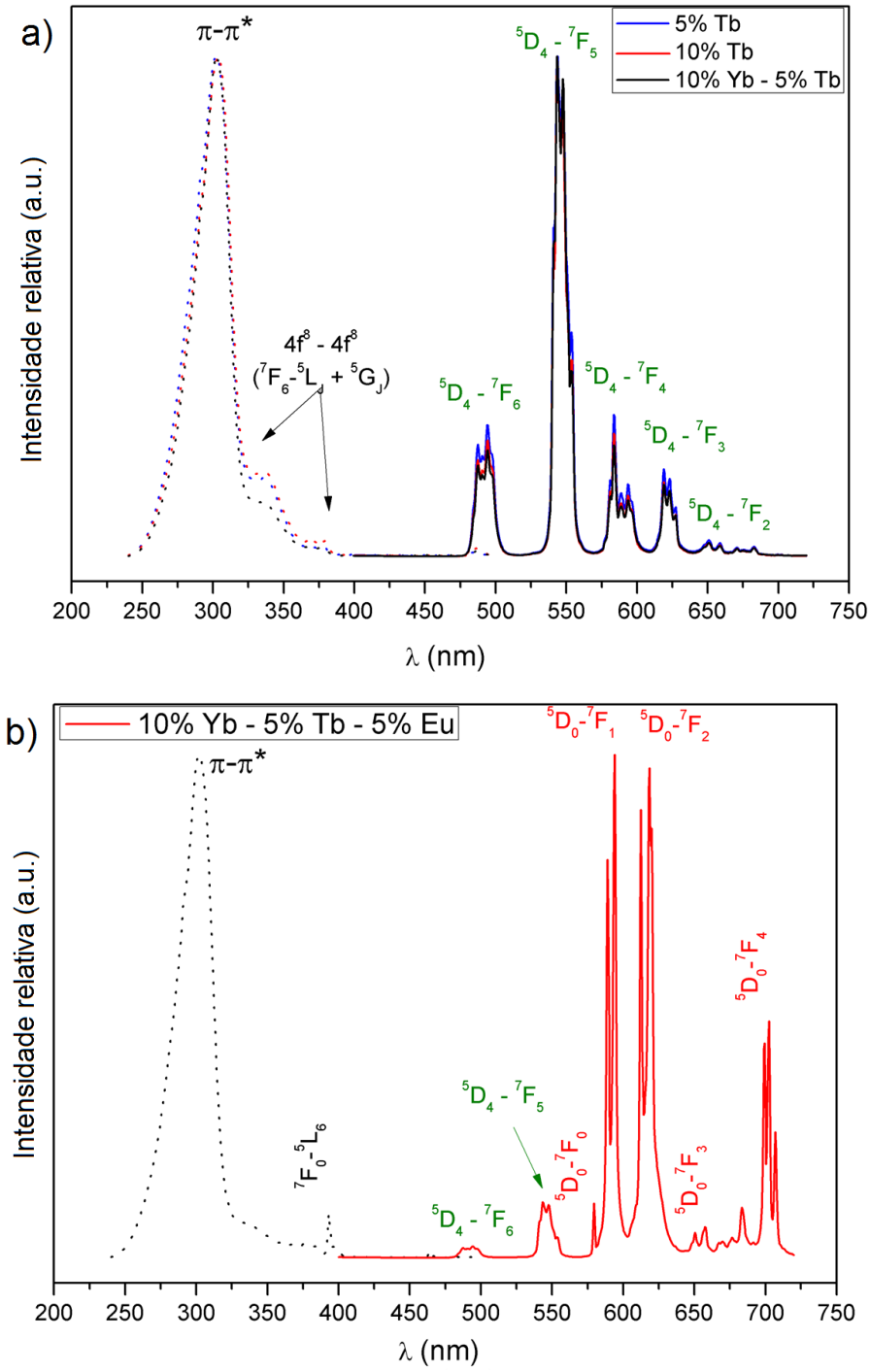


Figura 4. 3 – Espectros de excitação (linhas pontilhadas) e emissão (linhas sólidas) das MOFs dopadas com Tb^{3+} ou co-dopadas com Tb^{3+} e Yb^{3+} (a) e co-dopadas com Tb^{3+}, Yb^{3+} e Eu^{3+} (b). Espectros de excitação obtidos monitorando a emissão do Tb^{3+} em 543 nm (a) e do Eu^{3+} em 618 nm (b). Espectros de emissão obtidos excitando em 302 nm.

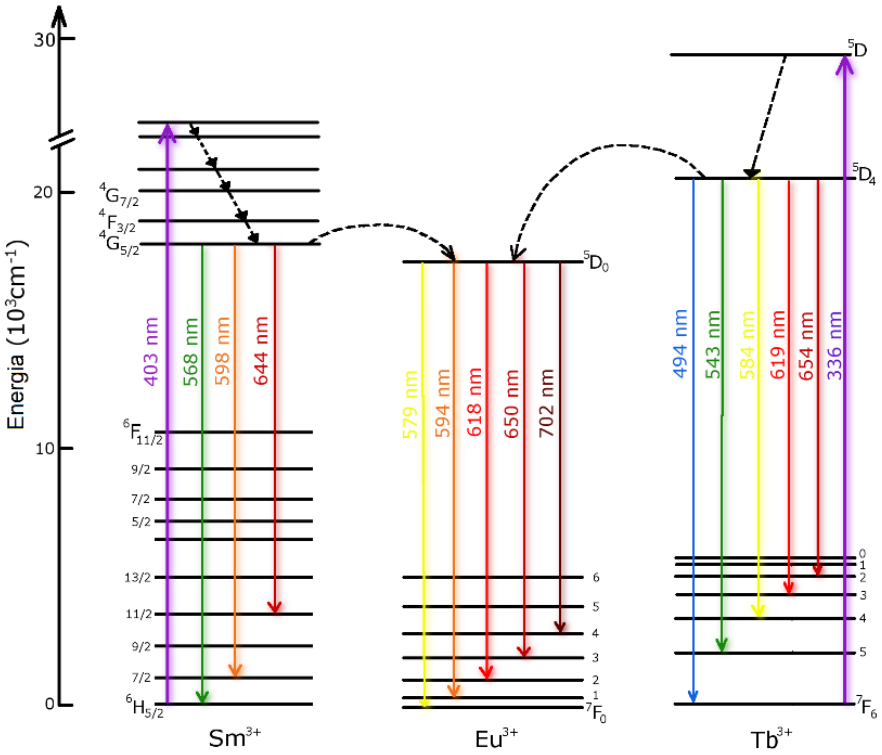


Figura 4. 4 – Diagrama de transferência de energia proposto para os íons Sm^{3+}, Eu^{3+} e Tb^{3+} nas MOFs $[Y_{1-x}Ln_x(BTC)]$.

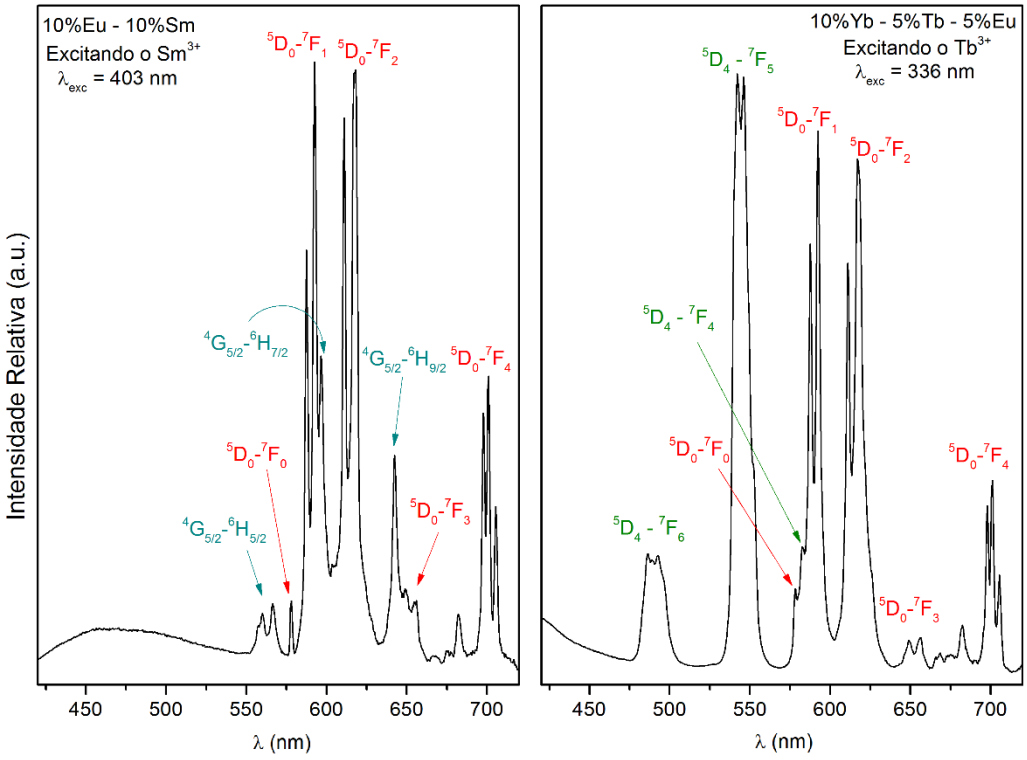


Figura 4. 5 – Espectros de emissão das amostras co-dopadas com 10% de Eu e 10% de Sm (esquerda) e 10% de Yb, 5% de Tb e 5% de Eu (direita), quando excitados, respectivamente, os íons Sm^{3+} ou Tb^{3+}.

Em todas as redes, os íons Eu^{3+} e Tb^{3+} apresentaram tempos de vida longos (figura 4.6), mesmo quando comparados aos de outras MOFs Ln-BTC (como as redes $[Eu(BTC)(H_2O)_6]$ (0,23 ms)[15] e $[Eu(BTC)(H_2O)]$ (0,84 ms)[19]) ou até mesmo ao tempo de vida de sua isoestrutura [Eu(BTC)] (0,92 ms) apresentada no capítulo I. Já o Sm^{3+} apresentou tempo de vida curto, provavelmente por apresentar nível emissor ressonante ao nível $^5D_0$ do Eu^{3+} e ser rapidamente desativado através da transferência de energia Sm^{3+}-Eu^{3+}.

Para todos as redes, foi observada uma leve redução no tempo de vida com o aumento da concentração dos lantanídeos, provavelmente devido a auto-supressão. Essa redução é mais acentuada quando se compara as amostras com 5 e 20% de Ln^{3+}. Além disso, o decaimento do estado excitado foi descrito como monoexponencial, indicando que, em cada amostra, todos os íons Eu^{3+}, Sm^{3+} ou Tb^{3+} encontram-se em sítios com a mesma simetria.

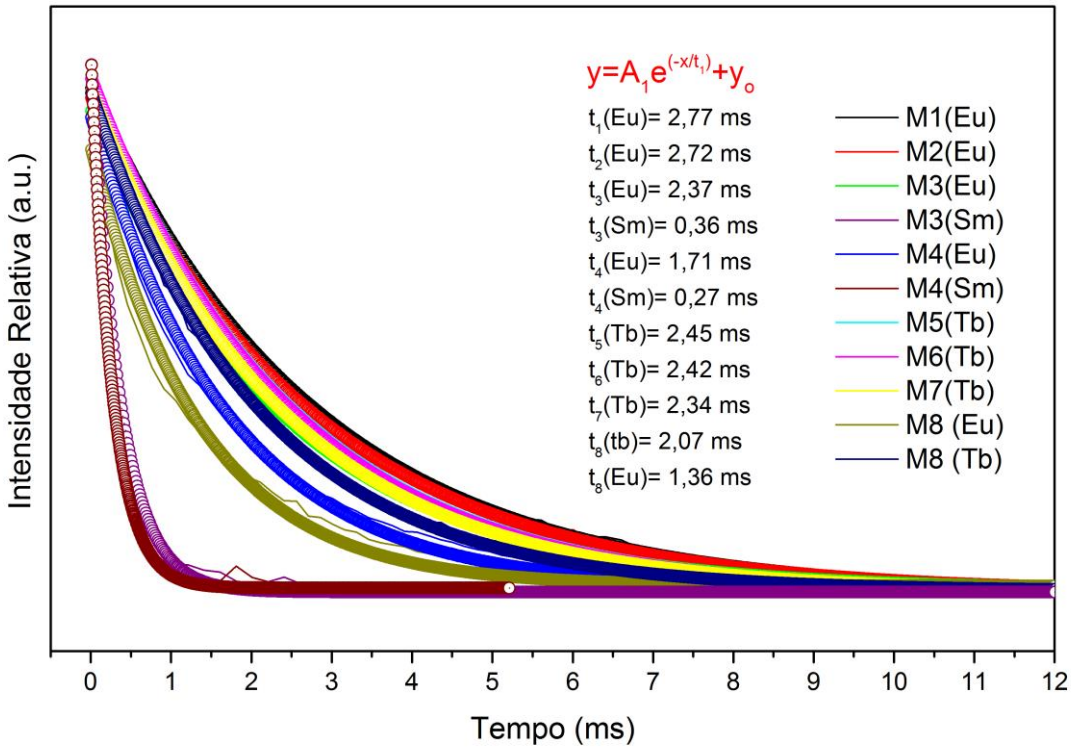


Figura 4. 6 – Curvas de decaimento dos estados excitados do íons Eu^{3+}, Tb^{3+} e Sm^{3+} nas MOFs $[Y_{1-x}Ln_x(BTC)]$ e os respectivos tempos de vida. Na figura, o íon em que foi monitorado o decaimento encontra-se entre parênteses.

A razão de assimetria (R), os parâmetros de intensidade de Judd-Ofelt Ω_2 e Ω_4, as taxas de decaimentos radiativos (A_{rad}) e não radiativos (A_{nrad}) e a eficiência quântica (η) foram calculados[9,10,15,20] para as redes dopadas com Eu^{3+} e são apresentados na tabela 4.II. Infelizmente, os mesmos procedimentos não podem ser aplicados para o íon Tb^{3+}, uma vez que esse não possui transição hipersensitiva e transição puramente de dipolo magnético (DM) que possa ser utilizada como parâmetro.[10]

Tabela 4. II – Razão de assimetria (R), parâmetros de intensidade de Judd-Ofelt Ω_2 e Ω_4, taxas de decaimentos radiativos (A_{rad}) e não radiativos (A_{nrad}) e eficiência quântica (η) das MOFs [$Y_{1-x}Ln_x$(BTC)].

Amostra	R	Ω_2 (10^{-20} CM^2)	Ω_4 (10^{-20} CM^2)	A_{RAD} (S^{-1})	A_{NRAD} (S^{-1})	η (%)
M07*	1,87	3,29	3,73	210	870	19
M1	1,69	2,99	3,34	194	166	54
M2	1,73	3,06	3,49	199	169	54
M3	1,55	2,73	3,19	183	237	44
M4	1,60	2,83	3,18	186	372	33
M8	1,53	2,71	2,91	179	479	27

** MOF[Eu(BTC)] (amostra M07) apresentada no capítulo I desta tese.*

Assim como as MOFs [Eu(BTC)] apresentadas no capítulo I, as redes co-dopadas apresentaram valores de R, Ω_2 e Ω_4 baixos, o que indica um ambiente ao redor do Eu^{3+} de elevada simetria, pouco polarizável e um arranjo estrutural rígido.[9,10,15,20–23] Entretanto, menores taxas de decaimentos não-radiativos foram observadas para menores concentrações de lantanídeos.

Sabe-se que uma elevada concentração de íons lantanídeos pode provocar auto-supressão (ou quenching por concentração).[12,13] Esse fenômeno ocorre quando íons da mesma espécie estão próximos o suficiente para transferir energia entre si (*e.g.*, de um Eu^{3+} excitado para um não excitado), e costuma ocorrer quando a distância entre eles é inferior a 5Å.[9,10] No caso da MIL-78, a distância mais curta calculada entre os íons Ln^{3+} é de 3,96 Å, o que permite a transferência de energia entre os íons. Assim, o *quenching* por concentração explica os altos valores de decaimentos não-radiativos observados nas amostras com teor de Ln^{3+} maior ou igual a 20%. Desta forma, ao se reduzir a concentração do Eu^{3+} de 100 para 5%, além de reduzir o custo da MOF, foi obtida uma rede com eficiência quântica quase 3 vezes superior.

Uma leve alteração nas cores de emissão foi observada. Neste caso, a adição do Sm^{3+} ou do Tb^{3+} à rede com Eu^{3+} fez com que estas apresentassem uma coloração mais alaranjada. Entretanto, todas as redes apresentaram elevada luminescência visual quando expostas a luz UV, tornando-as promissoras no processo de codificação de munição. As imagens obtidas por VSC sob radiação UV (254 nm) e o diagrama de cromaticidade das amostras são apresentados na figura 4.7.

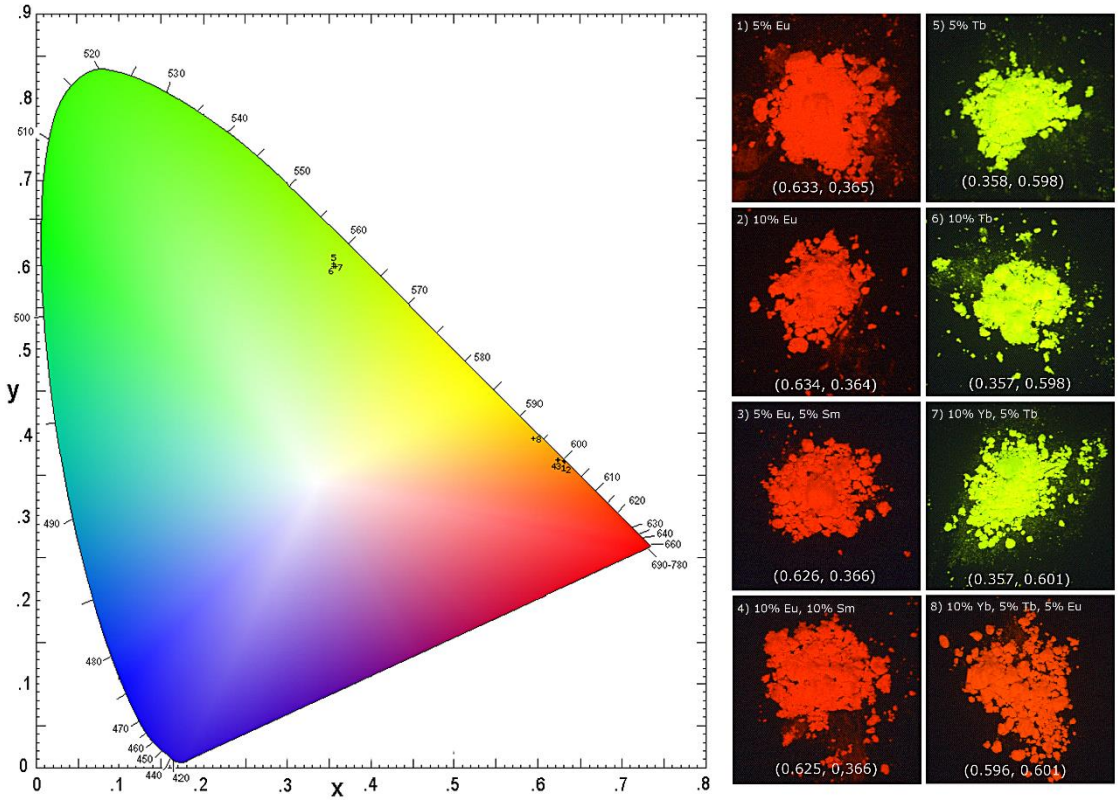


Figura 4. 7 – Imagem sob radiação UV (254 nm) e diagrama de cromaticidade CIE 1931 das MOFs $[Y_{1-x}Ln_x(BTC)]$, obtidas por VSC.

A análise por MEV mostrou a presença de estruturas na forma de agulha, presentes tanto de forma isolada como em aglomerados. No geral, as amostras

apresentaram morfologia bastante similar, independentemente do tipo de lantanídeo utilizado (figura 4.8).

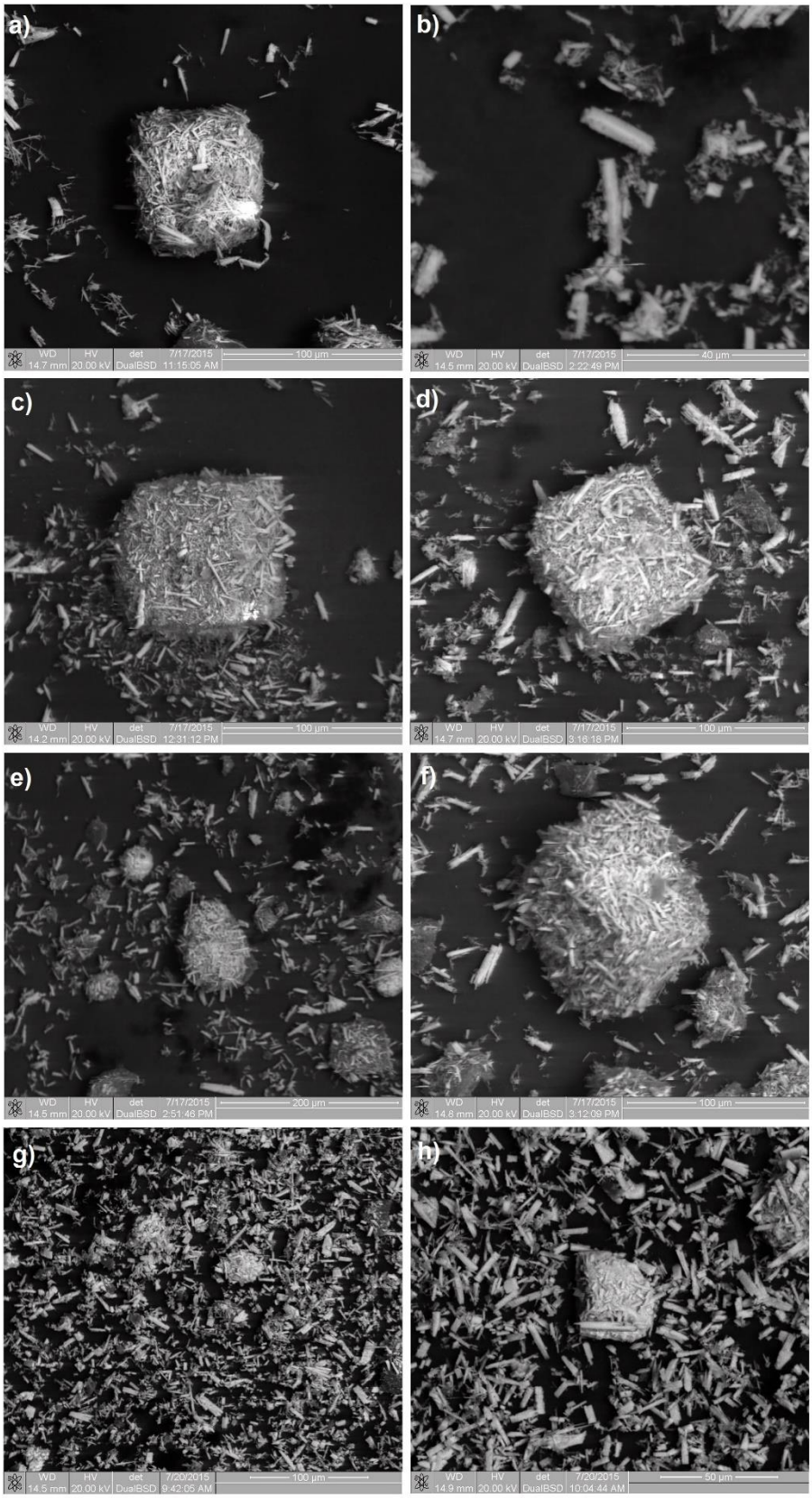


Figura 4. 8 – Micrografias das MOFs [$Y_{1-x}Ln_x(BTC)$] com a) 5% Eu, b) 10% Eu, c) 5% Eu + 5% Sm, d) 10% Eu + 10% Sm, e) 5% Tb, f) 10% Tb, g) 10% Yb + 5% Tb, h) 10% Yb + 5% Tb + 5% Eu.

A quantidade relativa dos metais presentes nas redes foi determinada por EDS (tabela 4.III). Neste, foi observado que a proporção dos íons Eu, Sm e Tb foi um pouco inferior aos 5 ou 10% esperados para estas redes (dada a quantidade de reagentes utilizados durante a síntese), o que pode ser atribuído a elevada higroscopicidade dos sais utilizados. Assim, para o processo de codificação e rastreamento de munições, devem ser utilizados os teores metálicos dos marcadores puros apresentados na tabela 4.III.

Tabela 4. III – Proporção média ± SD dos íons terras-raras presentes nas MOFs $[Y_{1-x}Ln_x(BTC)]$ obtidas por MEV/EDS.

Amostra	Y (%)	Eu (%)	Sm (%)	Tb (%)	Yb (%)
M1	96,6 ± 0,2	3,4 ± 0,2	-	-	-
M2	91,7 ± 0,2	8,3 ± 0,2	-	-	-
M3	93,0 ± 0,6	3,6 ± 0,3	3,4 ± 0,3	-	-
M4	84,6 ± 0,9	7,9 ± 0,5	7,5 ± 0,5	-	-
M5	96,7 ± 0,5	-	-	3,3 ± 0,5	-
M6	92,4 ± 0,8	-	-	7,6 ± 0,8	-
M7	86,0 ± 0,7	-	-	3,6 ± 0,2	10,4 ± 0,6
M8	81,8 ± 2,5	3,3 ± 0,8	-	3,9 ± 0,7	11,0 ± 1,2

4.4.2 Teste como marcador de GSR

O bom desempenho da MOF [Eu(BTC)] como marcador de munições já havia sido demonstrado no capítulo II. Estes resultados apontavam que desempenhos semelhantes deveriam ser obtidos com as redes co-dopadas $[Y_{1-x}Ln_x(BTC)]$. Entretanto, comparando as MOF [Eu(BTC)] e $[Y_{1-x}Ln_x(BTC)]$, a substituição do Eu^{3+} por Y^{3+} como principal metal na rede e a introdução de

novos íons lantanídeos poderia provocar alterações estruturais que afetassem a estabilidade térmica e a eficiência dessas redes na marcação de munições. Assim, após caracterizadas, as MOF co-dopadas foram incorporadas em munições NTA e os testes como marcadores luminescentes foram realizados.

Após os disparos com as munições marcadas, resíduos luminescentes foram visualizados nas mãos dos atiradores, armas e no piso (figura 4.9), para todos os 8 marcadores utilizados, utilizando apenas uma lâmpada ultravioleta (254 nm). Este resultado demonstra que os marcadores co-dopados apresentam estabilidade térmica tão elevada quanto a MOF [Eu(BTC)] apresentada no capítulo II.

Neste caso é importante destacar que os testes com a MOF [Eu(BTC)] foram realizados utilizando 10% (em relação ao peso da pólvora) de marcador, enquanto que para as redes co-dopadas, apenas 5% de marcador foi utilizado. Isto acentua a eficiência dos marcadores co-dopados na marcação de munições. Estes resultados sugerem que a maior eficiência quântica e as propriedades espectroscópicas superiores das redes co-dopadas devem favorecer seu desempenho como marcadores, quando comparadas a MOF [Eu(BTC)].

Ainda assim, performance distintas foram observadas para os 8 marcadores co-dopados, ou seja, uma quantidade maior ou menor de resíduos luminescentes foi visualizada nas mãos ou na arma após disparos com determinados marcadores. Entretanto, este comportamento foi atribuído aos diferentes modelos de armas utilizadas (posição dos orifícios de escape de gás, tamanho do cano da arma, etc.) que faz com que os resíduos se dispersem de formas distintas, ou até mesmo ao processo de crimpagem das munições.

A medida que o cano da arma aumenta, por exemplo, a pluma de gás formada no focinho da arma se distancia do atirador. Com isso, é provável que uma menor quantidade de resíduos se deposite sobre ele. Adicionalmente, como as munições precisam ser abertas para a introdução do marcador, é possível que o processo de crimpagem produza fechamentos diferentes para as munições, alterando parâmetros internos como a pressão e consequentemente a dispersão dos resíduos. Nos disparos em que uma menor quantidade de LGSR foi observada nas mãos, por exemplo, uma grande quantidade de resíduos foi observada no interior do cano da arma. Isto sugere que o aparente desempenho inferior está mais associado a dispersão dos resíduos do que a uma possível supressão da luminescência (perda de eficiência como marcador).

Nestes resultados, destaca-se ainda a visualização de duas cores distintas para os resíduos (vermelha e verde). As diferentes cores dos marcadores podem ser utilizadas para diferenciar, por exemplo, munições de uso civil e policial, o que pode ser especialmente importante em casos que envolve trocas de tiro com a polícia. Isto porque a visualização dos resíduos luminescentes em uma cena de crime ou em um suspeito, além de facilitar a coleta, facilita a reconstrução da cena do crime, ajudando a determinar a posição do atirador e a trajetória do projétil, ou até mesmo a origem dos resíduos encontrados em uma vítima.

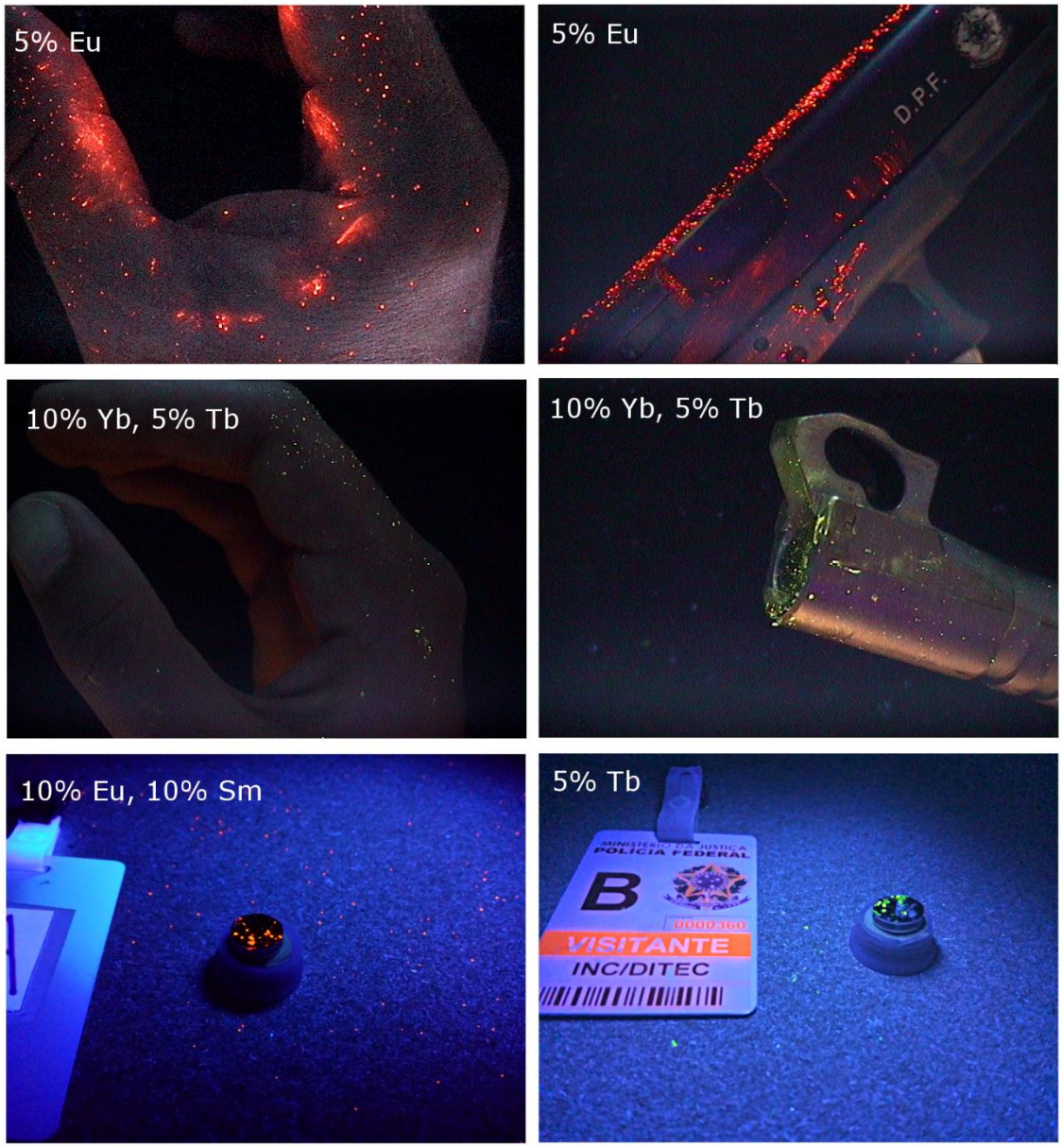


Figura 4. 9 – Imagens de resíduos luminescentes sob radiação UV (254 nm) nas mãos dos atiradores, nas armas e no piso do campo de tiro quando utilizadas munições 9mm marcadas com as MOFs [$Y_{1-x}Ln_x(BTC)$].

Por fim, como o preço do óxido de ítrio é consideravelmente inferior ao de lantanídeos como Tb^{3+} e Eu^{3+}, a síntese das MOFs co-dopadas representa uma redução de até 82% no custo da grama do marcador. Com base no preço de reagentes analíticos (Sigma-Aldrich), por exemplo, 1 g do marcador [Eu(BTC)] custa 7,65 dólares, enquanto que 1g do marcador [$Y_{0,95}Eu_{0,05}(BTC)$] custa 1,36

dólares. Essa quantidade é suficiente para marcar 31 munições (com 10% de marcador) ou 62 munições (com 5% de marcador). Uma caixa de munição Sellier & Bellot® 9mm 124 Grain FMJ contendo 50 unidades é vendida ao consumidor por aproximadamente 14 dólares.[24] Com base nestes valores, a tabela 4.IV apresenta o custo de marcador por munição (utilizando 5 ou 10% dos marcadores [Eu(BTC)] ou [$Y_{0,95}Eu_{0,05}$(BTC)]) e o quanto isso representa no preço final da munição. Observa-se, portanto, que os marcadores co-dopados representam uma alternativa economicamente mais viável para a marcação de munições. É importante salientar que estes valores são baseados no uso de reagentes com padrão analítico e em escala laboratorial. Claramente, a produção dos marcadores em escala industrial apresentaria um custo significativamente reduzido.[6]

Tabela 4. IV – Custo de marcador por munição (em $) utilizando 5 ou 10% dos marcadores [Eu(BTC)] ou [$Y_{0,95}Eu_{0,05}$(BTC)] e o correspondente aumento no preço da munição

Marcador	10% de marcador	5% de marcador
[Eu(BTC)]	**0,24$ (↑86%)**	0,12$ (↑43%)
[$Y_{0,95}Eu_{0,05}$(BTC)]	0,04$ (↑14%)	**0,02$ (↑7%)**

[6] 25 g de Eu_2O_3 (99,5%, Sigma Aldrich) = 329 dólares[25]
Preço médio por quilo de Eu_2O_3 (99,99%) para compras de barris (de 25 a 50 kg) = 72,50 dólares[26]

4.4.3 Teste cego

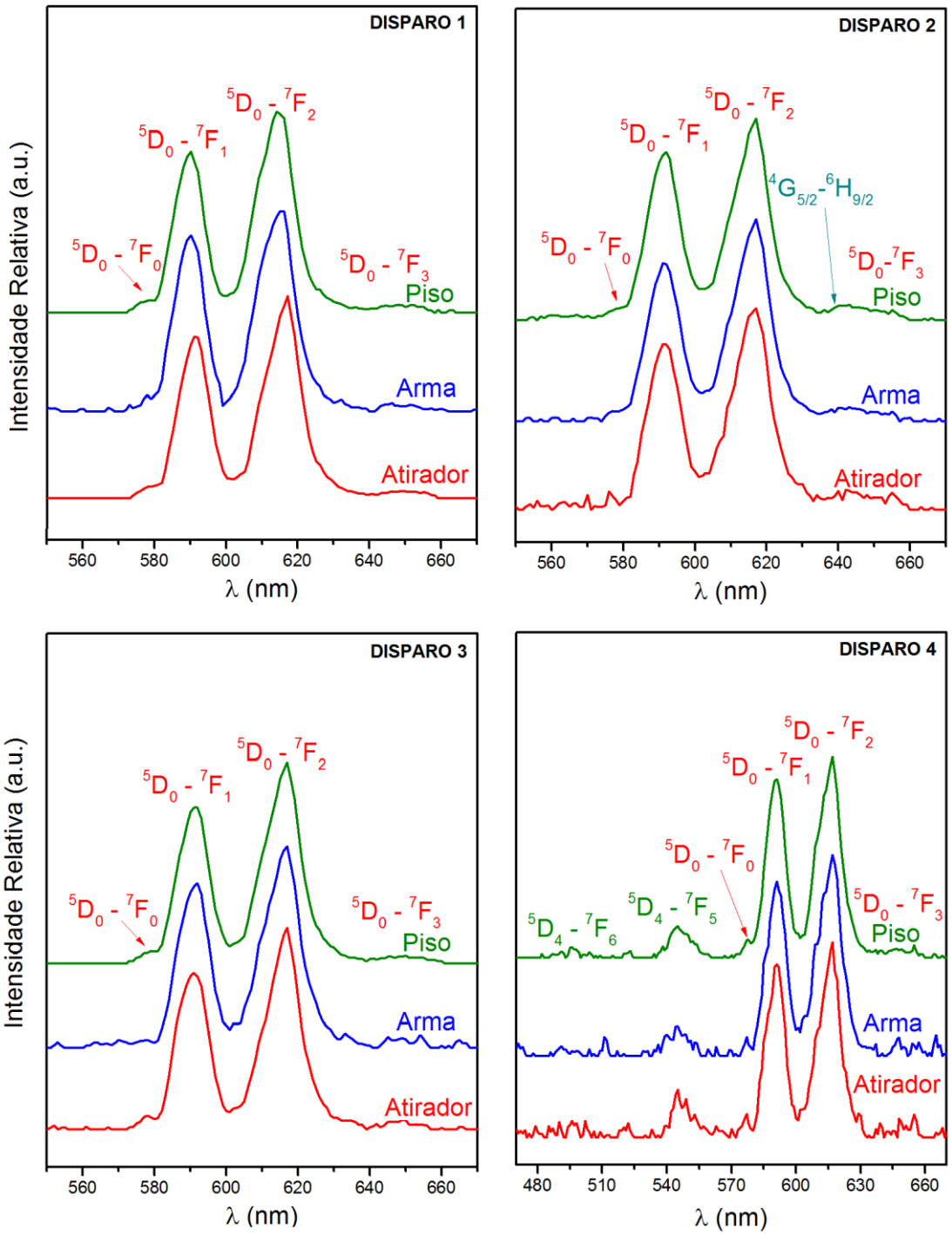
Após os disparos com munições em que os marcadores utilizados eram desconhecidos pelos atiradores, e após a coleta dos resíduos (das mãos dos atiradores, da arma e do piso), os *stubs* de coleta (identificados de acordo com a sequência do disparo e o local da coleta) foram analisados por VSC e por MEV/EDS, sem que o analista soubesse a qual marcador pertencia cada grupo de resíduos.

Nos espectros de emissão (figura 4.10) obtidos por VSC (254 nm), foram observadas as principais transições dos íons Eu^{3+} ($^5D_0$-^7F_J, em que J=0-3), Tb^{3+} ($^5D_4$-^7F_J, em que J=6-3) e Sm^{3+} ($^4G_{5/2}$-$^6H_{9/2}$) presentes nos marcadores puros. Desta forma, apenas com a análise por VSC, foi possível classificar os resíduos em 4 diferentes grupos, os que possuíam I) apenas Eu^{3+} (disparos 1 e 3), II) Eu^{3+} e Sm^{3+} (disparos 2 e 5), III) apenas Tb^{3+} (ou Tb^{3+} e Yb^{3+}) (disparos 6, 7 e 8) ou IV) Eu^{3+}, Tb^{3+} e Yb^{3+} (disparo 4). As transições do Sm^{3+}, apesar de apresentarem baixa intensidade, podem ser visualizadas quando os espectros de emissão dos resíduos contendo esse íon são sobrepostos aqueles contendo apenas o Eu^{3+}, como mostra a figura 4.11.

Este resultado é ainda mais interessante porque o VSC já é um equipamento utilizado nos institutos de criminalística da polícia federal, tornando viável a sua utilização em casos reais. Além disso, as medidas são fáceis de serem realizadas, uma vez que o equipamento conta com uma câmara de alta resolução que permite diferentes magnificações; possui diferentes comprimentos

de onda de excitação ultravioleta; e conta com um micro espectrômetro capaz de fornecer medidas simultaneamente (*i.e.*, ao mesmo tempo em que as amostras são focalizadas no equipamento). Assim, as partículas sob radiação UV podem ser visualizadas através da câmara, focalizadas e as medidas adquiridas em poucos minutos, o que é interessante devido à elevada demanda de análises de GSR.

Além disso, é uma técnica não destrutiva (importante para análise de amostras forenses) e que não necessita de preparação de amostra (as medidas são realizadas diretamente nos *stubs* de microscopia). Apesar da menor resolução dos espectros (quando comparados aos espectros obtidos por espectrofotômetros específicos), resíduos com quantidades tão pequenas de lantanídeos e perfis tão semelhantes (como os resíduos que possuíam apenas Eu^{3+} ou Eu^{3+} e Sm^{3+}) puderam ser diferenciados em 4 grupos, ajudando a determinar a origem da munição.


DISPARO 1
DISPARO 2
DISPARO 3
DISPARO 4
Intensidade Relativa (a.u.)
λ (nm)
$^5D_0$ - $^7F_0$
$^5D_0$ - $^7F_1$
$^5D_0$ - $^7F_2$
$^5D_0$ - $^7F_3$
$^4G_{5/2}$-$^6H_{9/2}$
$^5D_4$ - $^7F_5$
$^5D_4$ - $^7F_6$
Piso
Arma
Atirador

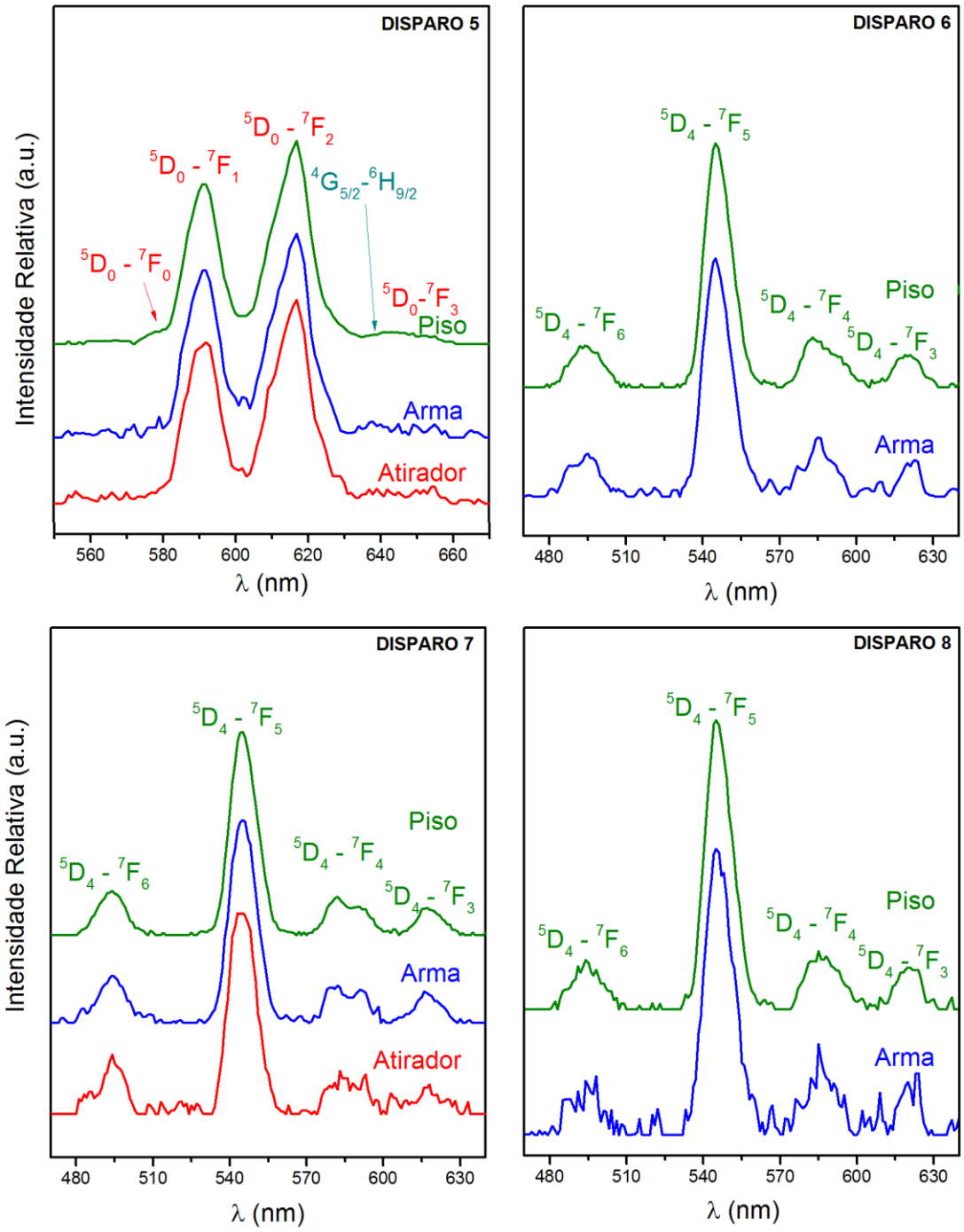


Figura 4. 10 – Espectros de emissão obtidos por VSC (254 nm) dos resíduos luminescentes coletados em diferentes locais após cada sequência de disparo.

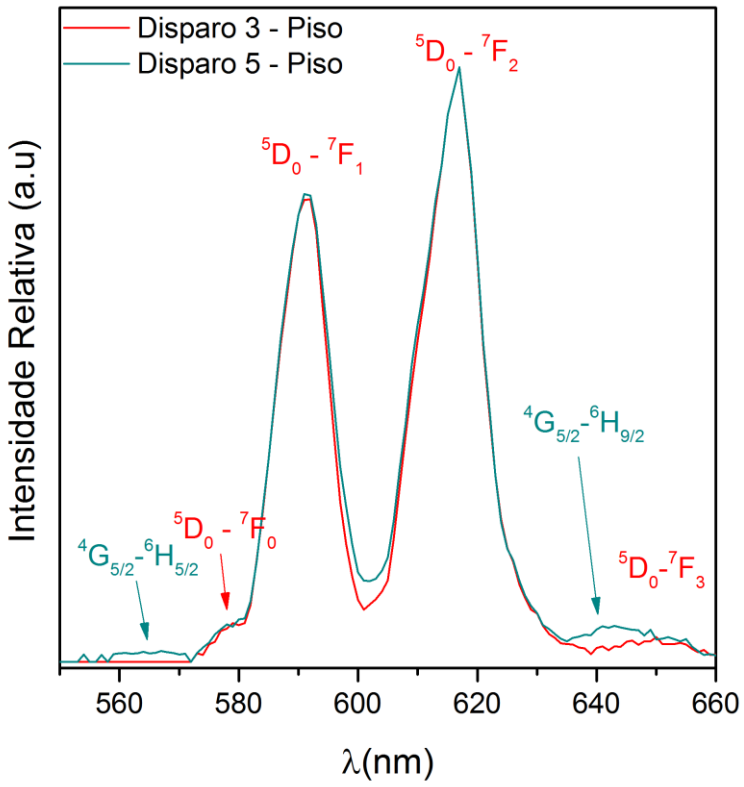
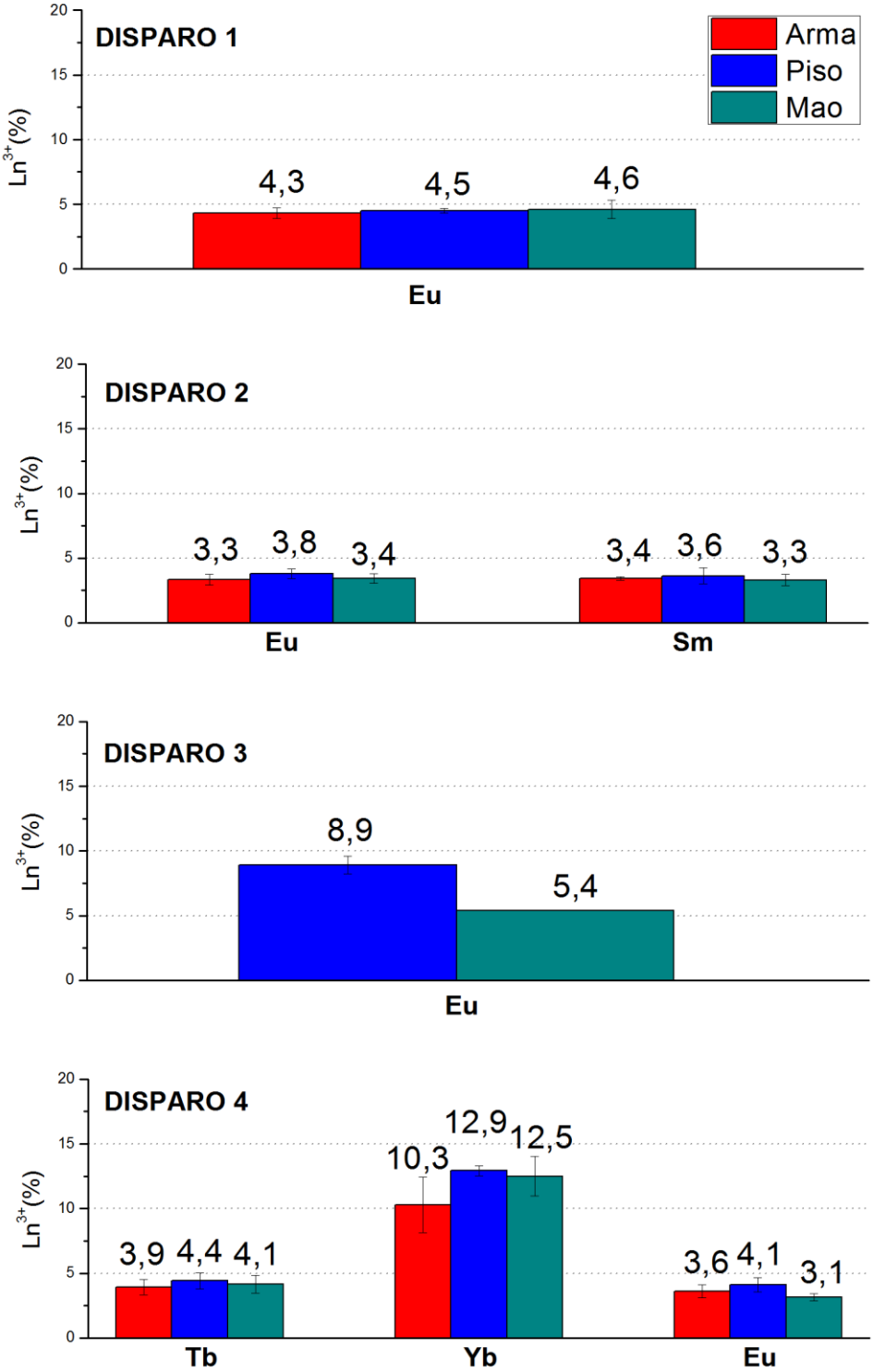


Figura 4. 11 – Sobreposição dos espectros de emissão dos resíduos contendo apenas Eu^{3+} (disparo 3) e dos resíduos contendo Eu^{3+} e Sm^{3+} (disparo 5), mostrando que as transições do Sm^{3+} podem ser observadas nos resíduos, inclusive nas análises por VSC (254 nm).

Nas análises por MEV/EDS foram analisadas apenas partículas com morfologia semelhante à dos marcadores puros, e foram adquiridos espectros apenas daquelas que apresentassem, ao menos, um dos elementos presentes nos marcadores.[7] É importante mencionar que nenhum outro elemento do grupo dos terras raras (além dos utilizados nos marcadores) foi detectado nos resíduos, mostrando como o risco de contaminação ambiental ou ocupacional é baixo quando terras raras são utilizados como marcadores.

[7] Durante a aquisição do espectro de EDS de uma partícula, caso fosse observado a ausência de terras raras, a aquisição era interrompida, reduzindo o tempo de análise.

Do total das 112 partículas em que foram adquiridos espectros de EDS, 5 apresentaram em sua composição apenas Y ou Yb, 2 apresentaram a composição Y-Yb, e outras 7 partículas foram claramente provenientes de contaminação de outros disparos. Estas 14 partículas não foram utilizadas pelo analista para construção dos gráficos da figura 4.12, que apresentam o teor médio dos lantanídeos nos resíduos e os desvios padrões.


DISPARO 1
Arma
Piso
Mao
Ln3+(%)
4,3
4,5
4,6
Eu
DISPARO 2
3,3
3,8
3,4
3,4
3,6
3,3
Eu
Sm
DISPARO 3
8,9
5,4
Eu
DISPARO 4
3,9
4,4
4,1
10,3
12,9
12,5
3,6
4,1
3,1
Tb
Yb
Eu

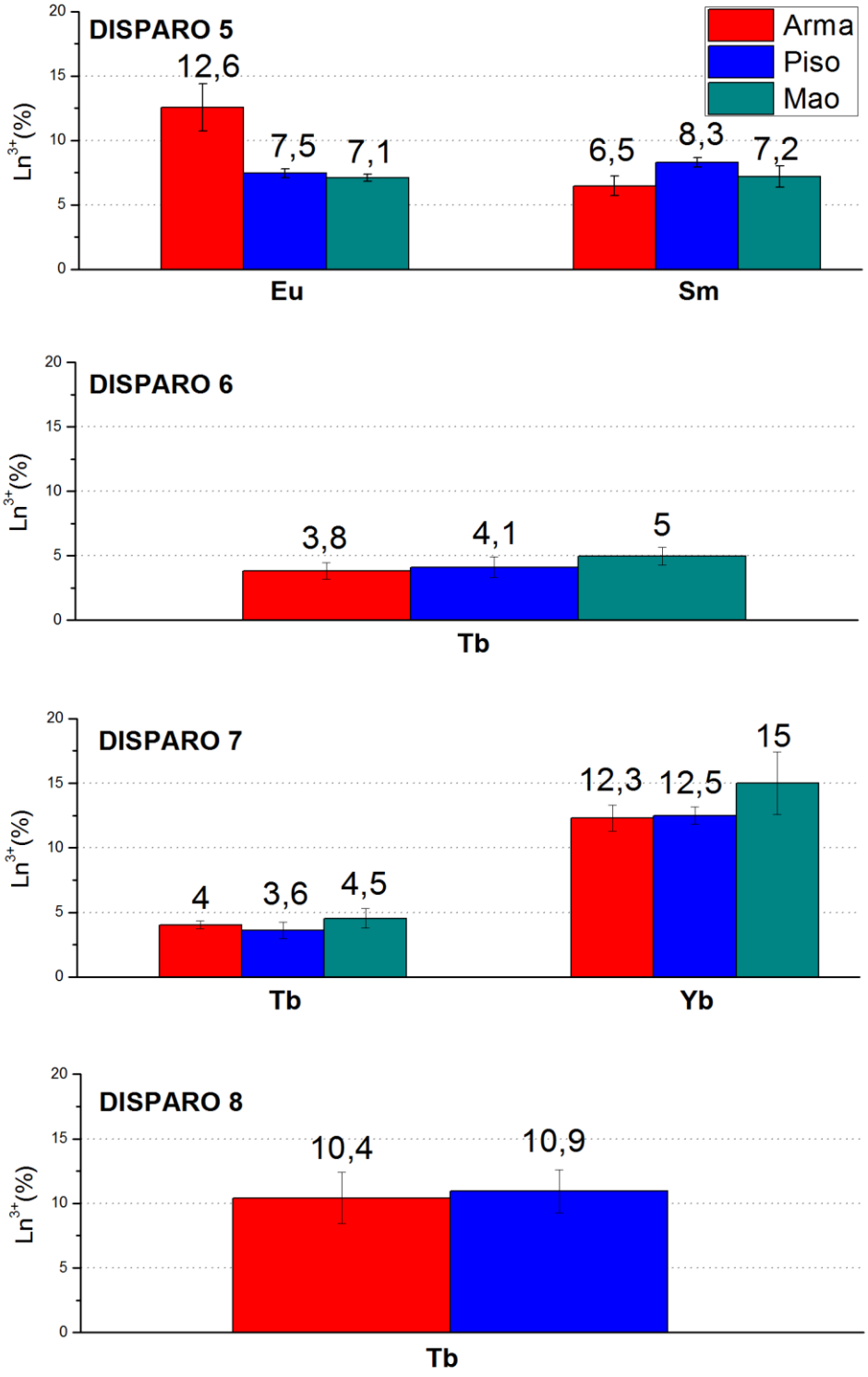


Figura 4. 12 – Teor médio dos íons lantanídeos presentes nos resíduos coletados em diferentes locais, quando utilizados os marcadores [$Y_{1-x}Ln_x(BTC)$].

Com base no teor dos lantanídeos presentes nos marcadores puros (apresentados na tabela 4.III) e no teor dos lantanídeos encontrados nos resíduos (figura 4.12), o analista tentou identificar qual marcador estava presente em cada um dos 24 *stubs*. Os resultados são apresentados na tabela 4.V. Como pode ser observado, apenas 3 *stubs* não puderam ter seus marcadores identificados (disparo 3: arma e mãos; e disparo 8: mãos), uma vez que as partículas analisadas apresentaram em sua composição apenas Y, Yb ou Y-Yb (ou foram visivelmente provenientes de contaminação de outros disparos). Assim, a identificação do marcador utilizado no disparo 3 foi realizado com base na análise apenas dos resíduos coletados no piso. A identificação do marcador utilizado no disparo 8 foi realizada com base na análise dos resíduos coletados na arma e no piso. Com isso, o analista conseguiu apontar os marcadores utilizados em cada disparo.

Tabela 4. V – Identificação realizada pelo analista dos marcadores presentes em cada *stub* e identificação da origem da munição com base no conjunto de resultados de cada disparo.

	Stub (local de coleta)			Marcador identificado
Disparo	Arma	Piso	Mãos	
1	M1	M1	M1	M1
2	M3	M3	M3	M3
3	-	M2	-	M2
4	M8	M8	M8	M8
5	M4	M4	M4	M4
6	M5	M5	M5	M5
7	M7	M7	M7	M7
8	M6	M6	-	M6

Quando confrontados os resultados apresentados pelo analista com os formulários contendo as escolhas dos atiradores e o sistema de codificação do voluntário (abertura dos 17 envelopes na presença de 5 pessoas), observou-se que o analista identificou corretamente o marcador utilizado em 100% dos disparos.

É importante destacar que, além de determinar a origem da munição (identificação do marcador utilizado), com o uso dos marcadores co-dopados o analista conseguiu estabelecer correlações entre os resíduos coletados em diferentes locais através de suas composições, em 87% dos *stubs* analisados. Ou seja, foi possível determinar qual arma foi utilizada por qual atirador e em qual local de disparo, 87% das vezes. Este resultado é muito importante no tocante ao rastreamento de munições. A possibilidade de se estabelecer uma conexão entre um atirador, uma arma, e os resíduos encontrados em uma vítima, por exemplo, pode ser fundamental para a elucidação de um crime com disparo de arma de fogo, principalmente os que envolvem o uso de múltiplas armas.

Por fim, pode-se afirmar que a morfologia característica dos marcadores puros ajudou a localizar os resíduos luminescentes durante a análise por MEV/EDS. Assim, a análise de cada *stub* foi realizada em aproximadamente 20 minutos, o que é um grande avanço na análise de resíduos de tiro por MEV/EDS. A possibilidade de se caracterizar os resíduos e rastrear a origem da munição de forma rápida é extremamente importante quando existe uma elevada demanda por esse tipo de análise, como no Brasil. Além disso, a técnica recomendada pela ASTM para a identificação do GSR (MEV/EDS) continua válida com os resíduos luminescentes.

4.5 Conclusões

Neste trabalho, foi proposta a criação de códigos químicos para auxiliar no processo de rastreamento de munições, baseado na utilização de MOFs luminescentes dopadas (ou co-dopadas) com diferentes íons lantanídeos. Assim, as redes [$Y_{1-x}Ln_x$(BTC)] com os íons Eu^{3+}, Sm^{3+}, Tb^{3+} e Yb^{3+} foram sintetizadas pelo método hidrotérmico assistido por micro-ondas. Essas redes, além de apresentarem composição química diferenciada, mostraram também propriedades luminescentes bastante interessantes. Comparada as redes com 100% de Eu apresentadas no capítulo I, por exemplo, uma eficiência quântica quase três vezes superior foi obtida quando reduzida a concentração de Eu^{3+} para 5%, devido à redução da auto-supressão. Além disso, foi possível observar emissões dos diferentes íons (Eu^{3+}, Tb^{3+} e Sm^{3+}), o que resultou em espectros de emissão bem distintos que podem ser usados para diferenciar entre grupos de marcadores.

Após realização de disparos com munições contendo estes marcadores, resíduos luminescentes na coloração verde ou vermelha foram visualizados em locais como as mãos dos atiradores, armas e no piso, utilizando apenas uma lâmpada ultravioleta. A visualização dos resíduos luminescentes mostra que, mesmo com a introdução de diferentes elementos a rede, as MOFs co-dopadas continuaram estáveis termicamente. Além disso, a introdução desses novos elementos representou uma redução no custo do marcador de 24 para 2 centavos de dólar por munição ao se reduzir a proporção de Eu^{3+} na rede de 100 para 5%.

Quando realizado o teste cego para a identificação dos marcadores, essas redes permitiram identificar a qual munição pertencia cada grupo de resíduos. Através dos espectros de emissão, os resíduos foram classificados em 4 grupos distintos utilizando o VSC, como resíduos contendo: 1) Eu^{3+}, 2) Eu^{3+} + Sm^{3+}, 3) Tb^{3+} e 4) Yb^{3+} + Tb^{3+} + Eu^{3+}. Já a análise por MEV/EDS permitiu identificar individualmente cada marcador utilizado, obtendo-se 100% de acerto. Correlações entre os locais de coleta também se mostraram possíveis (*e.g.*, atirador *A* utilizou a arma *B*, que apresentou a mesma origem dos resíduos encontrados no local *C*) em 89% dos casos. Assim, o sistema de codificação proposto apresentou grande eficiência, identificando a munição de origem e correlacionando os resíduos em função da composição dos marcadores, mostrando ser uma ferramenta poderosa para a elucidação de crimes envolvendo armas de fogo.

4.6 Referências

(1) Rijnders, M. R.; Stamouli, A.; Bolck, A. *J. Forensic Sci.* **2010**, *55*, 616–623.

(2) Schwoeble, A. J.; Exline, D. L. *Current Methods in Forensic Gunshot Residue Analysis*; CRC Press LLC: Boca Raton, FL, 2000.

(3) Romolo, F. S.; Margot, P.; Saverio, F. *Forensic Sci. Int.* **2001**, *119*, 195–211.

(4) Lucena, M. A. M.; de Sá, G. F.; Rodrigues, M. O.; Alves Júnior, S.; Talhavini, M.; Weber, I. T. *Anal. Methods* **2013**, *5*, 705.

(5) Weber, I. T.; Terra, I. A. A.; Melo, A. J. G.; Lucena, M. A. M.; Wanderley, K. A.; Paiva-Santos, C. O.; Antônio, S. G.; Nunes, L. A. O.; Paz, F. A. A.; de Sá, G. F.; Alves Júnior, S.; Rodrigues, M. O. *RSC Adv.* **2012**, *2*, 3083.

(6) Carvalho, M. A. de. Utilização de MOFs como marcadores de resíduos de tiro e sua identificação através da análise de imagem hiperespectral no infravermelho próximo, UFPE, 2015.

(7) Câmara, S. S. PROPRIEDADES LUMINESCENTES UPCONVERSION DO YVO4:Er,Yb APLICADAS AO ESTUDO FORENSE DE RESÍDUO DE TIRO, Universidade de Brasília, 2014.

(8) Lucena, M. A. M.; Rodrigues, M. O.; Gatto, C. C.; Talhavini, M.; Maldaner, A. O.; Alves Júnior, S.; Weber, I. T. *J. Lumin.* **2016**, *170*, 697–700.

(9) Rodrigues, M. O. Estudo espectroscópico de materiais metal-orgânicos baseados em íons lantanídeos, Universidade Federal de Pernambuco, 2010.

(10) Rodrigues, M. O. Síntese, Caracterização e Estudos Espectroscópicos de Redes Híbridas de Coordenação Contendo Lantanídeos, Universidade Federal de Sergipe, 2007.

(11) Cui, Y.; Yue, Y.; Qian, G.; Chen, B. *Chem. Rev.* **2012**, *112*, 1126–1162.

(12) Barros, B. S. Síntese por reação de combustão, caracterização e propriedades luminescentes do aluminato de zinco (ZnAl2O4) dopado com os íons terras raras Eu3+ e Tb3+, Universidade Federal de Campina Grande, 2005.

(13) Silva, A. A. Estudo das propriedades ópticas e estruturais de espinélios do tipo ZnAl2O4 contendo Eu3+ ou Tb3+., Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, 2008.

(14) Rodrigues, M. O.; Brito-Silva, A. M.; Alves Junior, S. *Quim. Nova* **2009**, *32*, 286–291.

(15) Rezende Souza, E.; Silva, I. G. N.; Teotonio, E. E. S.; Felinto, M. C. F. C.; Brito, H. F.; Souza, E. R.; Silva, I. G. N.; Teotonio, E. E. S.; Felinto, M. C. F. C.; Brito, H. F. *J. Lumin.* **2010**, *130*, 283–291.

(16) Serre, C.; Millange, F.; Thouvenot, C.; Gardant, N.; Pellé, F.; Férey, G. *J. Mater. Chem.* **2004**, *14*, 1540.

(17) Huang, C. *Rare Earth Coordination Chemistry: Fundamentals and Applications*; 1st ed.; John Wiley & Sons (Asia) Pte Ltd: Singapore, 2010.

(18) Zepf, V. Springer Theses; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 2013; pp. 11–39.

(19) Yang, J.; Yue, Q.; Li, G.-D.; Cao, J.-J.; Li, G.-H.; Chen, J.-S. *Inorg. Chem.* **2006**, *45*, 2857–2865.

(20) Rodrigues, M. O.; Júnior, N. B. C.; Simone, C. A.; Araújo, A. S. A.; Brito-Silva, A. M.; Paz, F. A.; Mesquita, M. E.; Alves Júnior, S.; Freire, R. O. *J. Phys. Chem. B* **2008**, *112*, 4204–4212.

(21) Shi, F.-N.; Ananias, D.; Yang, T.-H.; Rocha, J. *J. Solid State Chem.* **2013**, *204*, 321–328.

(22) Marques, L. F.; Cantaruti Júnior, A. A. B.; Ribeiro, S. J. L.; Scaldini, F. M.; Machado, F. C. *Opt. Mater. (Amst).* **2013**, *35*, 2357–2365.

(23) Shi, F.-N.; Pinto, M. L.; Ananias, D.; Rocha, J. *Microporous Mesoporous Mater.* **2014**, *188*, 172–181.

(24) Lucky Gunner. 9mm - 124 Grain FMJ - Sellier & Bellot - 50 Rounds Price http://www.luckygunner.com/9mm-124-gr-fmj-sellier-and-bellot-50-rounds (accessed Jun 25, 2016).

(25) Sigma Aldrich. Preço Eu2O3 Sigma Aldrich http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/634298?lang=en&region=US (accessed Jun 25, 2016).

(26) KITCO. Cotação Terras Raras http://www.kitco.com/strategic-metals/ (accessed Jun 25, 2016).

CAPÍTULO V

Uso da Espectroscopia Raman para Caracterização Simultânea dos Resíduos de Tiro Orgânicos (OGSR) e Luminescentes (LGSR)

5.1 Introdução

Como já mencionado anteriormente, quando uma arma de fogo é disparada, os produtos de detonação do primer e da combustão da pólvora, assim como partículas metálicas provenientes do cano da arma, do cartucho e do projétil, formam o que são chamados de resíduos de tiro (GSR). – os quais podem ser usados para correlacionar uma pessoa a um evento que envolva o uso de arma de fogo.[1–6] Também já foi mencionado que quando se trata de munições livres de chumbo (NTA – Non-Toxic Ammunition), existe uma carência de metodologia para a caracterização inequívoca de GSR e, portanto, há uma grande movimentação da comunidade cientifica na tentativa de suprir essa carência.[7]

Duas principais tendências podem ser observadas para a caracterização de GSR oriundo de munição NTA: a utilização de marcadores e a análise da fração orgânica dos resíduos de tiro (OGSR). Os marcadores luminescentes, desenvolvidos por nosso grupo ao longo da última década, já foram descritos com relativo detalhamento ao longo deste trabalho. No que diz respeito a análise de OGSR, diversos trabalhos foram publicados nos últimos anos e todos correlacionam a composição do OGSR com a composição da pólvora utilizada.[8–16]

As pólvoras usadas nos armamentos modernos, conhecidas como pólvoras sem fumaça (*smokless gunpowder*), possuem nitrocelulose (NC) como componente principal. Entretanto, sua composição pode variar bastante de acordo com a finalidade desejada. Propelentes como nitroglicerina (NG) e nitroguanidina (NQ), além de estabilizantes (*e.g.*, etil centralite (EC), metil

centralite (MC) e difenilamina (DPA)), plastificantes, supressores de chama, entre outros aditivos, podem ser adicionados a NC com a função de alterar as características da pólvora. Mas apesar das diferentes classificações possíveis, as pólvoras são comumente classificadas em função dos propelentes utilizados, como base simples (composta por NC); base dupla (composta por NC e NG); ou base tripla (composta por NC, NG e NQ).[4,11,16–18]

Em um recente artigo de revisão, Goudsmith *et. al.*[19] listaram 136 componentes que podem ser associados ao OGSR. Embora a maioria seja não-exclusivo de resíduos de tiro, a presença simultânea de alguns deles torna o resíduo bastante consistentes com OGSR.[17] Como exemplo, o estabilizante DPA pode ser utilizado na indústria de alimentos e por isso não pode ser considerado como evidência de OGSR. Entretanto, durante o processo de estabilização na munição, uma série de nitratos derivados do DPA são formados, como 2-nitroDPA, 4-nitroDPA e 2,4-nitroDPA. Estes, associados ao DPA, podem ser indícios da presença de pólvora sem fumaça ou de OGSR.[20] Por sua vez, o uso de EC e MC é considerado restrito de munições e sua detecção em um suspeito ou objeto, o torna uma evidencia fiável de OGSR.[16,17]

Para caracterização do OGSR, diferentes técnicas como cromatografia líquida (CL) ou gasosa (CG), espectrometria de massa (MS), eletroforese capilar e análises eletroquímicas têm sido propostas.[8,10,15,16] Entretanto, apesar de resultados positivos, algumas delas requerem procedimentos de preparação de amostra morosos, necessitam de padrões internos ou são destrutivas.

Mais recentemente, técnicas espectroscópicas vibracionais como espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) e espectroscopia Raman foram propostas para a identificação tanto da pólvora

como dos resíduos orgânicos.[4,11,13,14,21,22] López-López *et. al.*[4] mostraram que o espectro Raman do OGSR é muito similar ao espectro da pólvora original, e pode ser utilizado para rastrear a origem da munição em função do tipo de estabilizante utilizado. Além disso, o efeito de memória[8] da arma sobre partículas macroscópicas de OGSR mostrou ser insignificante quando a espectroscopia Raman é utilizada, reduzindo o risco de contaminação por disparos anteriores.[22] Estudos semelhantes envolvendo a análise de OGSR e espectroscopia Raman também foram realizados por Bueno *et. al.*[13] e Abrego *et.* al.[14,21] utilizando munições NTA ou dispositivos de coleta modificados e também mostraram resultados promissores.

Quando comparada a outras técnicas, a espectroscopia Raman apresenta vantagens como a não necessidade de preparação de amostra (as medidas podem ser realizadas diretamente nos *stubs* usados para a coleta do GSR), ser uma técnica não destrutiva (importante para analisar evidências forenses) e fornecer espectros que podem ser comparados com o perfil de uma amostra conhecida de uma maneira rápida. Adicionalmente, o mapeamento da partícula pode ser realizado com o uso de um equipamento Raman de imagem.[12]

A espectroscopia Raman se baseia no espalhamento de uma fração da luz que ocorre quando um feixe monocromático incide em uma amostra, resultando em um feixe de luz espalhado com comprimento de onda diferente do feixe incidente.[23,24] Estes deslocamentos nos comprimentos de onda dependem das espécies responsáveis pelo espalhamento. Assim como na espectroscopia

[8] O efeito de memória de uma arma ocorre quando os resíduos de um disparo são contaminados por resíduos presentes na arma (provenientes de disparos anteriores, com diferentes munições). Isto faz com que o resíduo coletado apresente composição diferente da munição utilizada.

na região do infravermelho, o espalhamento Raman envolve alterações vibracionais, entretanto, através de mecanismos distintos.[23] Para que uma vibração seja ativa no infravermelho, uma variação no momento de dipolo da molécula deve ocorrer durante a vibração, enquanto que no Raman, uma variação na polarizabilidade da molécula deve estar associada a esta vibração.[23,24] Dessa forma, existem grupos ativos no Raman que não são ativos no infravermelho, e vice-versa, tornando essas técnicas complementares.[23]

No caso da espectroscopia Raman, uma espécie no estado fundamental pode absorver energia e passar para um nível virtual, e em seguida emitir um fóton de energia igual ou inferior ao fóton incidente. Quando a energia do fóton emitido é igual, tem-se o que é chamado de espalhamento Rayleigh, que devido a sua maior probabilidade de ocorrência, é mais intenso. Quando o fóton emitido tem energia menor do que o fóton incidente, temos o que é chamado de espalhamento Stokes.[23,24] Entretanto, também é possível que espécies em estados vibracionais excitados absorvam um fóton. Neste caso, a energia do fóton emitido pode ser igual (espalhamento Rayleigh) ou superior ao incidente. Neste último caso, temos o espalhamento Anti-Stokes.[23,24] Como a probabilidade de se encontrar moléculas em estados vibracionais excitados a temperatura ambiente é menor, o espalhamento Anti-Stokes é o menos intenso dos três. Por esse motivo, os equipamentos normalmente são desenvolvidos para operar na região do Stokes.[23]

Apesar de bem estabelecido o uso da espectroscopia Raman para a análise de OGSR, assim como do MEV/EDS para a análise do GSR inorgânico de munições convencionais, a caracterização inequívoca dos resíduos de tiro, independente da técnica utilizada, depende primeiramente que uma coleta

eficiente seja realizada. Entretanto, o tamanho micrométrico (ou mesmo submicrométrico) dos resíduos gerados pode ser um fator limitante para a sua visualização. E por isso, a coleta muitas vezes é realizada sem que os resíduos sejam localizados. Além disso, quanto mais afastado do local do disparo, mais difícil é sua detecção, seja na vítima ou na cena do crime.

Não existe consenso sobre a distância máxima que os resíduos de tiro podem viajar, uma vez que uma série de fatores, como tipo de arma, tamanho do cano, tipo de munição, carga de propelente, condições do local de disparo, entre outros, podem influenciar em sua dispersão.[25] Entretanto, a maioria dos estudos envolvendo a determinação de distância trabalham em um intervalo entre 0 e 120 cm.[9,25–28] Isto porque, após esta distância, considera-se que os resíduos são constituídos apenas de alguns traços de partículas, tornando impraticável estimar a distância. Por outro lado, um estudo realizado por Weber et. al.[29] mostrou que, quando utilizadas munições marcadas, os resíduos luminescentes podem viajar distâncias superiores a 9 metros e ainda serem facilmente detectados.

Como a coleta do LGSR é feita de forma direcionada (é coletado onde se vê o ponto luminescente), caso os marcadores luminescentes interajam com os demais resíduos durante o disparo, é possível que os resíduos tradicionais (GSR e OGSR) sejam detectados de forma mais fácil e em distâncias que são impraticáveis com as metodologias atuais. Para isso, é importante saber, por exemplo, se os resíduos luminescentes se juntam aos demais resíduos para formar partículas com uma única composição, se são formados agregados, ou se os resíduos formam partículas distintas que podem se dispersar de maneira

similar ou diferente, e como ocorre essa dispersão. Entretanto, até o momento, a interação entre esses resíduos não havia sido explorada.

Desta forma, este trabalho propõe a unificação da metodologia já estabelecida para a caracterização do OGSR por meio da espectroscopia Raman, para caracterizar simultaneamente os resíduos luminescentes após disparos com munições marcadas, e avaliar se ocorre a interação física LGSR-OGSR. A identificação do OGSR e do LGSR através de uma única medida pode trazer informações adicionais importantes para a investigação de crimes envolvendo o uso de armas de fogo. Além disso, este trabalho representa a unificação das duas maiores tendências para a identificação de GSR, especialmente os provenientes de munições NTA.

5.2 Objetivos

Este trabalho teve por objetivo avaliar a possibilidade de unificação da metodologia já utilizada para a identificação do OGSR, para identificar simultaneamente os resíduos orgânicos e luminescentes de disparo de arma de fogo. Para tal, pretende-se:

- Caracterizar os marcadores luminescentes por espectroscopia Raman utilizando a faixa de espalhamento Stokes (avaliar interferência da fluorescência).
- Otimizar os parâmetros operacionais para que o LGSR possa ser identificado simultaneamente ao OGSR, após disparos com munições marcadas.
- Avaliar como os resíduos interagem e se dispersam.
- Avaliar se os marcadores podem ser utilizados como sondas luminescentes para detecção do OGSR quando distâncias de tiro as quais são inacessíveis com as metodologias atuais.

5.3 Procedimentos Experimentais

As MOFs [$Y_{0,95}Eu_{0,05}$(BTC)] e [$Y_{0,95}Tb_{0,05}$(BTC)], preparadas como descritas no capítulo IV (item 4.3.1), foram analisados por espectroscopia Raman, utilizado um espectrômetro Raman (Thermo Scientific) com microscópio acoplado. Foram utilizados dois comprimentos de onda de excitação (532 ou 780 nm) e abertura confocal de 50 µm. A lente objetiva do microscópio foi ajustada para magnificação de 10x. A potência do *laser* (em mW) e o tempo de exposição (em segundos) para cada amostra foi otimizado para melhorar a razão sinal-ruído, reduzir a fluorescência e evitar a saturação do sinal. Os parâmetros utilizados são apresentados na tabela 5.I. Para cada marcador, foram adquiridos 10 espectros com correção de fluorescência.

Tabela 5. I - Potência do *laser* (mW) e tempo de exposição (s) utilizados para cada marcador, com os *laser*s de 532 e 780 nm.

Marcador	*Laser* 532 nm	*Laser* 780 nm
[$Y_{0,95}Eu_{0,05}$(BTC)]	2 mW / 0,5 s	8 mW / 10 s
[$Y_{0,95}Tb_{0,05}$(BTC)]	10 mW / 10 s	8 mW / 5 s

Uma vez caracterizados por espectroscopia Raman, os marcadores foram adicionados à pólvora de munições convencionais Sellier & Bellot® (5% em peso) seguindo protocolo descrito no capítulo II (item 2.3). Foi preparada uma munição para cada marcador. Para realização dos disparos, uma faixa de papel preto de 10 metros de comprimento foi disposta sobre o piso do *stand* de tiro (figura 5.1)

e um disparo foi realizado com munição contendo o marcador [$Y_{0,95}Eu_{0,05}$(BTC)]. Após o disparo, o papel foi analisado com uma lâmpada ultravioleta (254 nm) e resíduos foram coletados a aproximadamente 10 cm, 30 cm, 1,20 m, 2 m e 8 m de distância da posição do atirador (onde se via os pontos luminescentes), utilizando *stubs* de microscopia revestidos com fita condutora adesiva de carbono. Em seguida, o papel foi substituído e o mesmo procedimento foi realizado com o marcador [$Y_{0,95}Tb_{0,05}$(BTC)]. Os disparos foram realizados por dois atiradores diferentes (um para cada marcador), no *stand* de tiro fechado do *Cuerpo Nacional de Policía* (Madri - Espanha), utilizando pistolas Glock G17 (uma pistola para cada marcador).

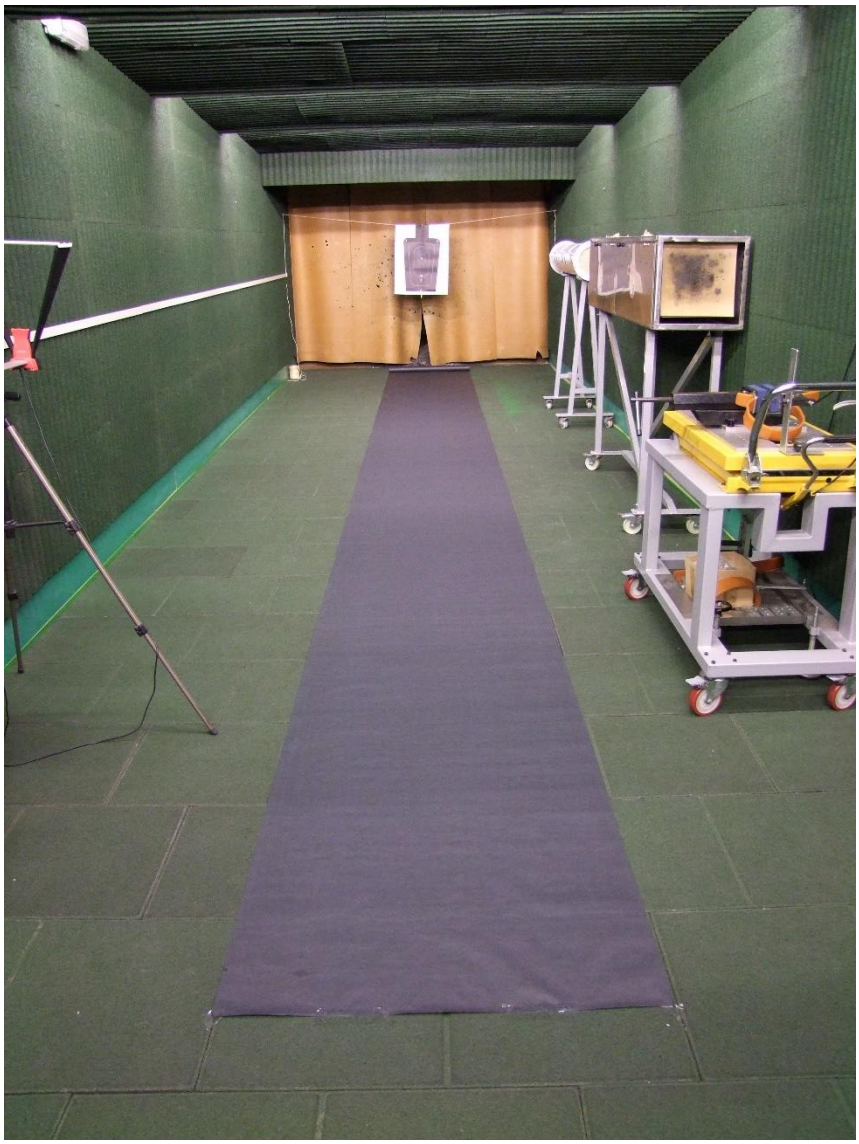


Figura 5. 1 – Disposição do stand de tiro para a realização de disparos com munições marcadas.

Os resíduos coletados foram analisados por espectroscopia Raman sem nenhum procedimento de preparação de amostra. As medidas foram adquiridas com correção de fluorescência, utilizando o *laser* de 532 nm, abertura confocal de 50 µm e potência variando entre 1 e 10 mW. A lente objetiva do microscópio foi ajustada para magnificação de 50x. Foram adquiridos, ao menos, 10 espectros com diferentes tempos de exposição para cada partícula, dependendo do comportamento apresentado (fluorescência, saturação de sinal, razão sinal-

ruído, assim como fotodegradação – que pode ser observado para o OGSR dependendo dos parâmetros).

5.4 Resultados e Discussão

5.4.1 Caracterização dos marcadores puros e avaliação do efeito Raman Ressonante

Sabe-se que na espectroscopia Raman, a região do deslocamento Stokes é frequentemente utilizada por fornecer linhas mais intensas do que aquelas obtidas na região Anti-Stokes (devido à maior probabilidade do espalhamento Stokes).[23] Sabe-se também que a fluorescência pode interferir seriamente na observação dos deslocamentos Stokes, e por isso amostras fluorescentes são muitas vezes analisadas na região Anti-Stokes.[23] Entretanto, neste trabalho optou-se por caracterizar os marcadores luminescentes na mesma região que já é utilizada para caracterização do OGSR (Stokes).[4] Além disso, a maioria dos equipamentos são desenvolvidos para operar nesta região,[23] tornando viável a caracterização do LGSR-OGSR em outros laboratórios.

Adicionalmente, optou-se por utilizar o *laser* de 532 nm para caracterização dos marcadores uma vez que esse *laser* já é utilizado para a caracterização do OGSR.[4] Os espectros dos marcadores puros são apresentados na figura 5.2.

Como é possível observar, os espectros foram adquiridos na região do deslocamento Stokes sem a interferência de fluorescência. Para tal, além da correção de fluorescência disponível no software, o ajuste dos parâmetros operacionais se mostrou fundamental para aquisição de espectros com boa qualidade. Isto porque diversos efeitos podem ser observados no espectro Raman com a alteração dos parâmetros operacionais. Para redução da

influência da fluorescência no espectro Raman, por exemplo, a potência do *laser* pode ser reduzida ou o tempo de aquisição aumentado. Para evitar a saturação do sinal, a potência do *laser* e o tempo de aquisição devem ser reduzidos. Para melhorar a razão sinal-ruído, o número e o tempo de aquisições pode ser aumentado. Enquanto que para evitar fotodegradação,[9] a potência do *laser* deve ser reduzida ou utilizada uma menor magnificação.

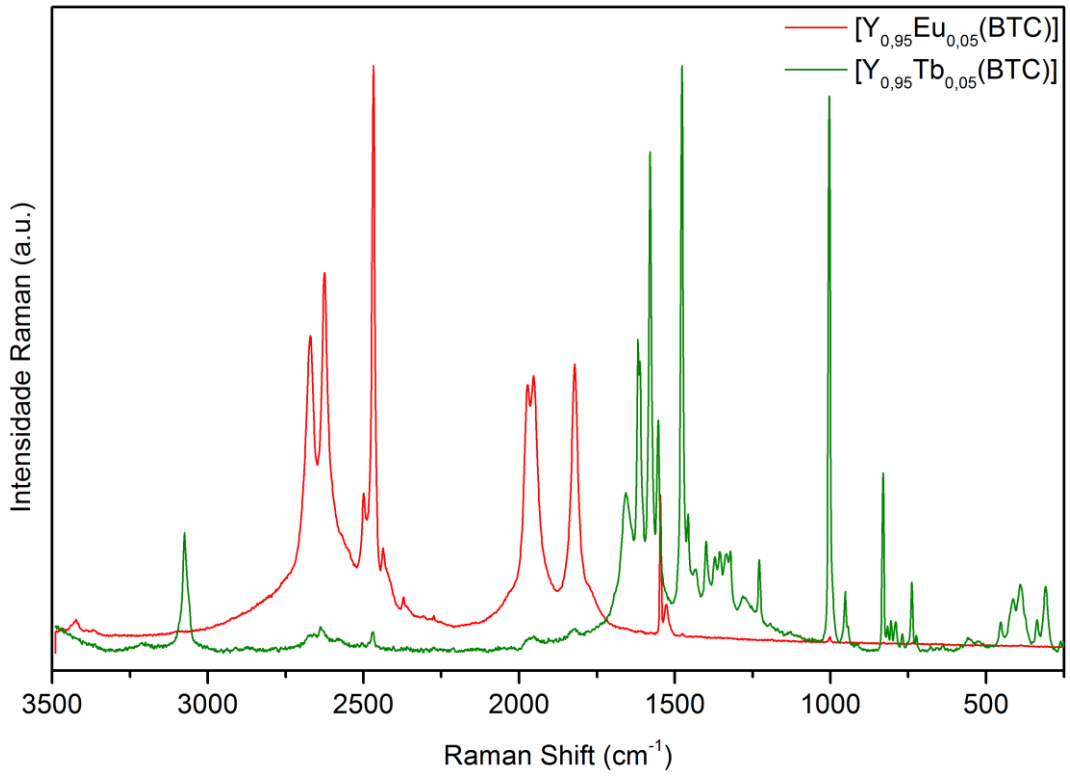


Figura 5. 2 – Espectro Raman dos marcadores $[Y_{0,95}Eu_{0,05}(BTC)]$ e $[Y_{0,95}Tb_{0,05}(BTC)]$ quando utilizado o *laser* de 532 nm como fonte de excitação.

[9] Não foi observada fotodegradação do marcador ou do LGSR, mas apenas do OGSR dependendo das condições testadas (as quais foram evitadas).

Como as redes [$Y_{0,95}Eu_{0,05}$(BTC)] e [$Y_{0,95}Tb_{0,05}$(BTC)] são isoestruturais, era esperado que os dois marcadores apresentassem os mesmos deslocamentos Raman. Entretanto, estes apresentaram linhas em regiões totalmente distintas do espectro. Na espectroscopia Raman, a excitação costuma ser realizada por um *laser* com comprimento de onda distante de qualquer banda de absorção do analito. Por isso é dito que a excitação envolve um estado virtual de nível de energia não quantizado.[23] Entretanto, como pode ser observado na figura 5.3, o nível emissor $^5D_0$ do Eu^{3+} possui energia muito próximo do *laser* utilizado. Quando isto acontece, tem-se o fenômeno conhecido como espalhamento Raman ressonante (RR).[23,30,31]

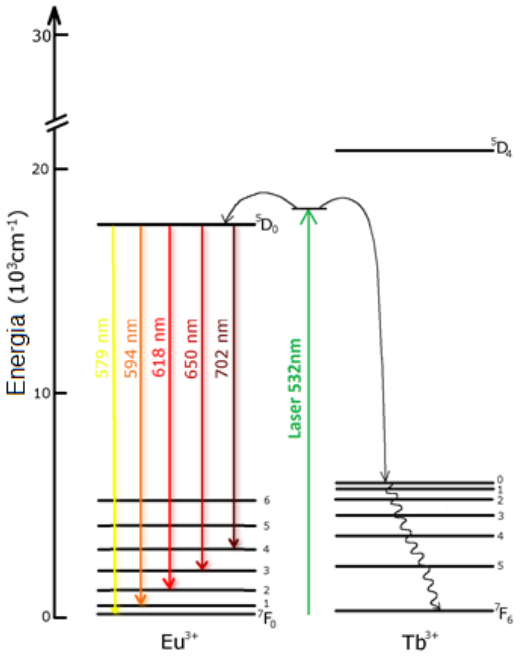


Figura 5. 3 – Níveis emissores dos íons Tb^{3+} e Eu^{3+}, e as transições eletrônicas deste último após excitação com um *laser* com comprimento de onda de 532 nm.

Neste caso, uma vez populado um estado eletrônico excitado, a remissão do fóton passa a envolver processos de decaimentos radiativos que apresentam grande probabilidade de ocorrência.[31] Por isso, o espalhamento RR tem a característica de intensificar significativamente o sinal e permitir que menores concentrações do analito sejam detectadas (*e.g.*, limites de detecção de 0,1 $mol \cdot L^{-1}$ para o Raman normal e 10^{-8} $mol \cdot L^{-1}$ para o Raman ressonante).[23]

Apesar da semelhança com a fluorescência, o espalhamento Raman ressonante apresenta significativa diferença, uma vez que o elétron excitado retorna imediatamente para um nível vibracional excitado do estado eletrônico fundamental, enquanto que na fluorescência, a emissão é precedida por relaxamentos não-radiativos, como mostra a figura 5.4.[23] Assim, os decaimentos no espalhamento Raman ressonante ocorrem na ordem de femtossegundos (10^{-15} s) e geram linhas espectrais bastante estreitas,[23,30] enquanto que o decaimento radiativo dos íons Tb^{3+} e Eu^{3+} nestes marcadores ocorrem na ordem de milissegundos (capítulo IV – item 4.4.1).

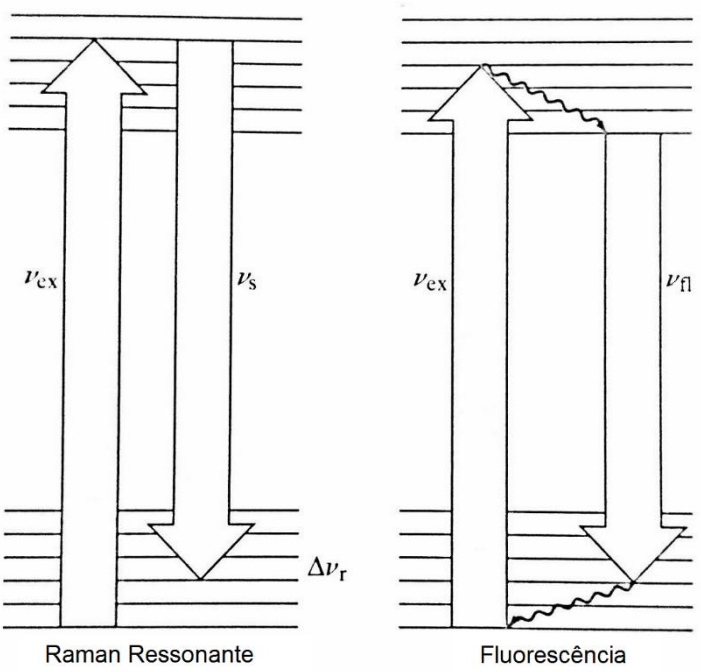


Figura 5. 4 – Diagrama de energia para o espalhamento Raman ressonante e para a fluorescência. As setas onduladas representam os relaxamentos não-radiativos.[23]

Para verificar a presença das transições eletrônicas do Eu^{3+}, o espectro Raman deste marcador foi comparado com o espectro de emissão obtido no espectrofluorímetro (capítulo IV – item 4.4.1). Entretanto, como no espalhamento Raman o número de onda é relativo ao comprimento de onda do *laser* (*i.e.*, o comprimento de onda do *laser* é considerado o zero do espalhamento), o *laser* deve ser considerado para calcular o comprimento de onda absoluto referente ao espalhamento, conforme mostra a equação 4.1. Esta foi utilizada para construção do espectro da figura 5.5.

$$\lambda_{abs} = \frac{1}{\frac{1}{\lambda_l} - \nu_{rel}} \qquad \text{(Eq. 4.1)}$$

Em que,

λ_l = comprimento de onda do *laser*;

v_{rel} = número de onda relativo obtido no Raman.

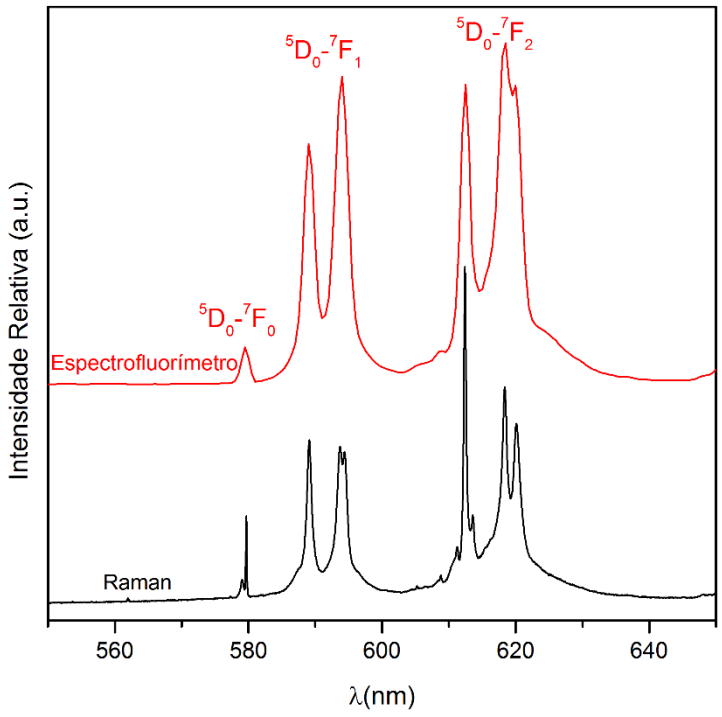


Figura 5. 5 – Espectro de emissão obtido no espectrofluorímetro e espectro Raman (em comprimento de onda absoluto) do marcador [$Y_{0,95}Eu_{0,05}$(BTC)].

Como previsto, as transições $^5D_0$-^7F_J características do Eu^{3+} são observadas neste espectro.[32–34] O mesmo fenômeno não foi observado para o Tb^{3+} porque seu nível emissor está muito acima do comprimento de onda do *laser*. Entretanto, para confirmar a hipótese do espalhamento Raman Ressonante, foram adquiridos espectros Raman dos marcadores puros utilizando um *laser* menos energético (780 nm) como fonte de excitação (figura 5.6). Neste caso, os dois marcadores passaram a apresentar o mesmo perfil

espectral, confirmando que o perfil diferenciado obtido para o marcador [$Y_{0,95}Eu_{0,05}$(BTC)] é, de fato, oriundo de um processo Raman Ressonante.

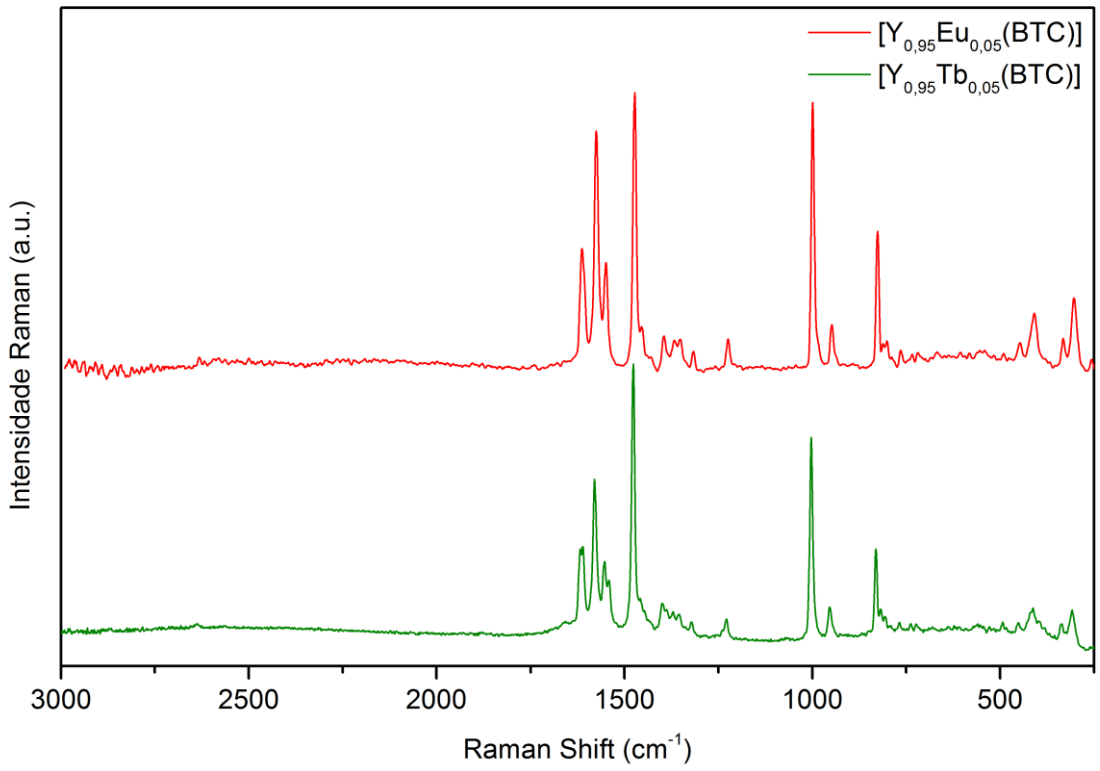


Figura 5. 6 – Espectro Raman dos marcadores [$Y_{0,95}Eu_{0,05}$(BTC)] e [$Y_{0,95}Tb_{0,05}$(BTC)] quando utilizado o *laser* de 780 nm como fonte de excitação.

É importante destacar que no espalhamento Raman ressonante, as transições envolvidas são de natureza vibrônica, ou seja, envolvem simultaneamente transições eletrônicas e vibracionais.[30] Assim, no espectro do marcador [$Y_{0,95}Eu_{0,05}$(BTC)] adquirido com o *laser* de 532 nm, além das transições eletrônicas do Eu^{3+} podem ser observadas linhas de intensidade muito reduzida referentes as transições vibracionais em 1004 e 1474 cm^{-1} (marcadas com as setas azuis na figura 5.7).

Curiosamente, no espectro do marcador [$Y_{0,95}Tb_{0,05}$(BTC)] adquirido com o *laser* de 532 nm, as linhas atribuídas as transições eletrônicas do Eu^{3+} também estão presentes com baixa intensidade em 2639, 2469, 1953, 1821 cm^{-1} (marcadas com os retângulos azuis na figura 5.7). Sabe-se que os óxidos de terras raras possuem traços de outros elementos do mesmo grupo, uma vez que a purificação do mineral que os origina é bastante complicada. Assim, a ocorrência dessas transições eletrônicas sugere a presença de traços de európio na amostra com térbio, os quais são detectados devido à elevada sensibilidade do efeito RR.

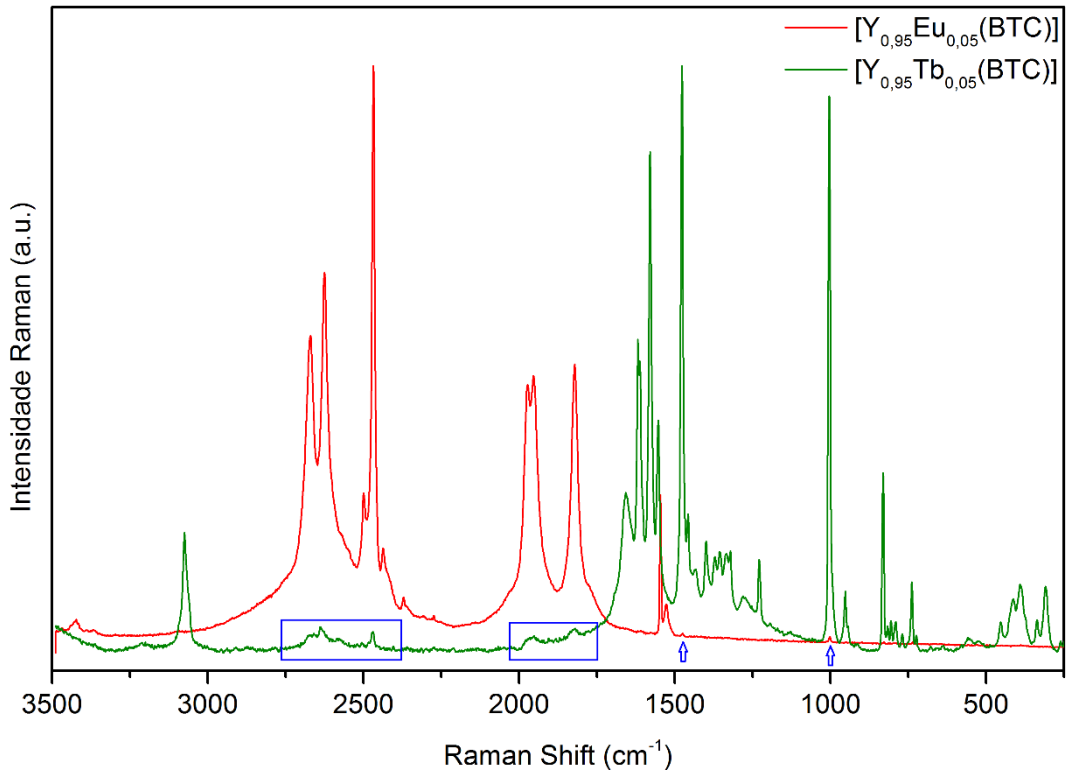


Figura 5. 7 – Espectro Raman dos marcadores [$Y_{0,95}Eu_{0,05}$(BTC)] e [$Y_{0,95}Tb_{0,05}$(BTC)] quando utilizado o *laser* de 532 nm como fonte de excitação. Na figura, as setas azuis indicam transições vibracionais observadas no marcador com Eu^{3+}, e os retângulos indicam as transições eletrônicas do Eu^{3+} observadas no marcador com Tb^{3+}. (Os espectros da figura 5.2 foram repetidos nesta figura para facilitar a discussão dos resultados).

Por fim, outro fato curioso e que também aponta para a elevada sensibilidade do efeito RR foi observado no espectro Raman do marcador [$Y_{0,95}Eu_{0,05}$(BTC)] adquirido com o *laser* de 532 nm, da figura 5.5. Nesta figura é possível observar que o espectro obtido por Raman apresentou multiplicidade maior do que o obtido no espectrofluorímetro. Neste caso, chama a atenção principalmente a transição $^5D_0$-$^7F_0$, que devido a degenerescência dos níveis de energia em até 2J+1 subníveis, deveria apresentar multiplicidade máxima igual a 1.[35] A presença de mais de uma banda nesta transição normalmente é associada a presença de íons Eu^{3+} em sítios com simetrias diferentes. Entretanto, este resultado é incompatível com os dados obtidos através das medidas de tempo de vida, que mostrou um decaimento radiativo mono-exponencial. Assim, é provável que a elevada sensibilidade do espalhamento RR tenha permitido a detecção de diferentes espécies de Eu^{3+} em concentrações inferiores as conseguidas com o espectrofluorímetro, o que pode resultar em diversas aplicações com íons lantanídeos.

5.4.2 Caracterização simultânea do OGSR e do LGSR

Uma vez caracterizado os marcadores puros, os resíduos de tiro provenientes de munições marcadas foram analisados por espectroscopia Raman. Foi utilizado como excitação o *laser* de 532 nm, que é mais adequado do que o *laser* de 780 nm para a caracterização do OGSR (melhor relação sinal-ruído).

Os espectros Raman das amostras coletadas a diferentes distâncias mostraram ser, basicamente, uma combinação dos espectros do marcador e do OGSR (figura 5.8 e 5.9). Na fração do espectro que corresponde ao OGSR, além da NC, que está presente em toda pólvora moderna utilizada em armamento (pólvora sem fumaça), observa-se a presença do composto 2-nitroDPA em 1343 cm^{-1}, o que significa que o estabilizante utilizado nesta pólvora foi o DPA.[4] Esta é a primeira vez que aspectos tão distintos do GSR são avaliados em conjunto e fornecem informações desta natureza aos resíduos analisados. Através de uma única medida, foi possível classificar os resíduos como provenientes de disparo de arma de fogo, de munições marcadas com as MOFs $[Y_{0,95}Eu_{0,05}(BTC)]$ e $[Y_{0,95}Tb_{0,05}(BTC)]$, e que utilizavam DPA como estabilizante.

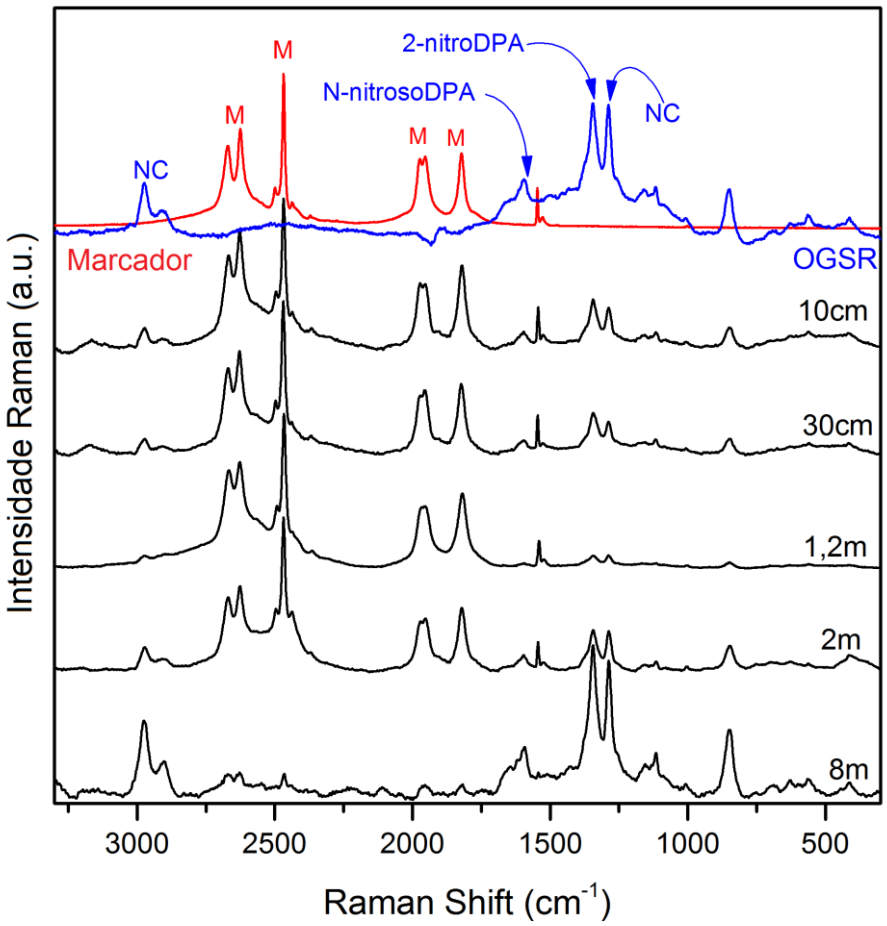


Figura 5. 8 – Espectros Raman do marcador [$Y_{0,95}Eu_{0,05}$(BTC)] puro (linha vermelha), do OGSR de munição convencional sem o marcador (linha azul) e dos resíduos coletados a diferentes distâncias após disparos com munições marcadas (M = marcador, NC = nitrocelulose, DPA = difenilamina).

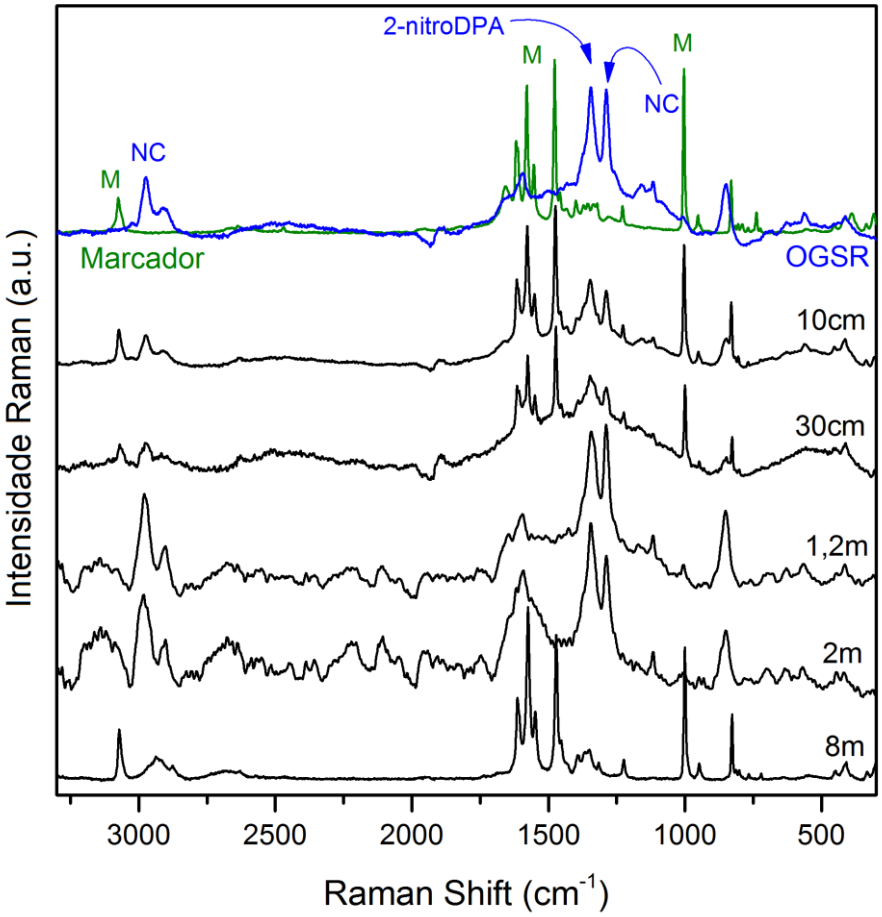


Figura 5. 9 – Espectros Raman do marcador [$Y_{0,95}Tb_{0,05}$(BTC)] puro (linha verde), do OGSR de munição convencional sem o marcador (linha azul) e dos resíduos coletados a diferentes distâncias após disparos com munições marcadas (M = marcador, NC = nitrocelulose, DPA = difenilamina).

Já a interação física entre o OGSR e o LGSR foi avaliada através da observação dos resíduos no microscópio acoplado ao Raman, em conjunto com a aquisição de medidas em diferentes pontos de uma mesma partícula. Com isto foram observados aspectos morfológicos distintos para o OGSR e o LGSR que facilitaram a sua identificação durante as análises. As partículas do OGSR normalmente são maiores (até vários micrometros), esferoides e apresentam tons acinzentados (tons esverdeados ou acobreados também são possíveis).

Enquanto as partículas do LGSR são menores, irregulares e com coloração mais clara.

Com base nestas informações, observou-se que parte dos resíduos se agregaram, formando aglomerados OGSR-LGSR (normalmente uma partícula do OGSR com partícula(s) menores do LGSR aderidas à sua superfície). Devido a esta tendência à aglomeração, uma coleta eficiente de OGSR é assegurada coletando o LGSR. A outra fração dos resíduos orgânicos e luminescentes se manteve isolada, mas parte deles percorreram trajetórias semelhantes e se depositarem em locais próximos. Neste caso, como a coleta foi realizada onde se visualizava os pontos luminescentes, é possível o LGSR tenha aumentado as chances de coletar o OGSR (atuando como sonda luminescente).

Quando o marcador [$Y_{0,95}Eu_{0,05}$(BTC)] foi utilizado, foram encontrados tanto aglomerados como partículas isoladas para todas as distâncias. Neste caso, é importante mencionar que a 8 metros, apenas duas pequenas partículas luminescentes foram visualizadas. Uma identificada como LGSR, e a outra como um aglomerado OGSR-LGSR. Como mencionado anteriormente, não existe consenso sobre a distância máxima que um resíduo de tiro (orgânico ou inorgânico) possa viajar. Entretanto, com base nos trabalhos envolvendo determinação da distância do disparo, não era esperado encontrar partículas de OGSR em uma distância tão longa quanto 8 metros. Desta forma, os marcadores luminescentes podem representar uma grande mudança no modo como os resíduos de disparo são coletados. Entretanto, como apenas uma partícula com essa característica foi localizada, experimentos adicionais são necessários para eliminar qualquer risco de contaminação.

Em relação ao marcador [$Y_{0,95}Tb_{0,05}$(BTC)], como suas linhas aparecem na mesma região do OGSR, sua identificação foi mais difícil. A figura 5.9 mostra que o LGSR e o OGSR foram detectados no mesmo *stub* apenas para resíduos coletados a 10 cm e 30 cm do atirador. Para resíduos coletados a 1,2 e 2 metros, embora partículas luminescentes tenham sido visualizadas sobre os *stubs* quando irradiados com luz UV e focalizadas no microscópio, apenas o OGSR foi detectado.

Neste caso, foi levantada a hipótese de que, como o tamanho das partículas de LGSR observados no microscópio eram consideravelmente inferiores às de OGSR, e ambos possuem linhas na mesma região do espectro, o sinal do OGSR se sobrepôs ao do LGSR. O mesmo não foi observado com o marcador [$Y_{0,95}Eu_{0,05}$(BTC)] devido ao efeito Raman Ressonante, que intensifica o sinal do európio. De toda forma, o marcador [$Y_{0,95}Tb_{0,05}$(BTC)] notavelmente ajudou a localizar partículas de OGSR até 2 metros, o que já é superior à distância estudada na literatura, que normalmente é de até 1,2 metros. Já a 8 metros, apenas uma partícula luminescente com composição do marcador foi detectada.

5.5 Conclusões

Através da espectroscopia Raman, os marcadores luminescentes [$Y_{0,95}Eu_{0,05}$(BTC)] e [$Y_{0,95}Tb_{0,05}$(BTC)] foram caracterizados na região do deslocamento Stokes, sem que a fluorescência das amostras interferisse na detecção do sinal. Adicionalmente, foi observado que dependendo do *laser* utilizado, o efeito Raman Ressonante é favorecido e faz com que transições vibrônicas sejam observadas no espectro Raman. Este efeito foi observado quando se utilizou o *laser* de 532 nm com o marcador [$Y_{0,95}Eu_{0,05}$(BTC)]. Como o efeito RR tem a característica de intensificar o sinal e permitir a detecção de quantidades muito reduzidas do analito, e como as linhas referentes as transições eletrônicas do Eu^{3+} foram observadas em regiões espectrais diferentes daquelas do OGSR, a análise dos resíduos de disparo contendo o marcador [$Y_{0,95}Eu_{0,05}$(BTC)] se mostrou mais fácil.

Com o uso de munições marcadas, tanto os resíduos luminescentes como o OGSR foram identificados simultaneamente através da espectroscopia Raman. Esta foi a primeira vez que informações a respeito do marcador utilizado e do tipo de pólvora presente na munição foram adquiridos através de uma única medida, permitindo não só a caracterização inequívoca dos resíduos como provenientes de disparo de arma de fogo. Além disso, por se tratar de uma técnica não destrutiva, que não necessita do preparo de amostra e que fornece resultados rápidos e que podem ser facilmente comparados aos de uma amostra conhecida, a espectroscopia Raman se apresentou como uma ferramenta poderosa para caracterizar resíduos de disparo de munições marcadas (o que pode ser ainda mais importante para munições NTA).

A análise dos resíduos coletados a diferentes distâncias mostrou que, tanto partículas isoladas do OGSR e do LGSR são encontradas, como estes resíduos formam aglomerados que podem ser facilmente detectados até 2 metros do local do disparo. Entretanto, indícios apontam que estes aglomerados possam ser encontrados a distância tão grandes quanto 8 metros. Com isso, além de adicionar um novo elemento de segurança as munições, os marcadores atuam como sondas luminescentes que ajudam a detectar partículas de OGSR a distâncias que são impraticáveis com as metodologias atuais.

5.6 Referências Bibliográfica

(1) Dalby, O.; Butler, D.; Birkett, J. W. *J. Forensic Sci.* **2010**, *55*, 924–943.

(2) Garofano, L.; Capra, M.; Ferrari, F.; Bizzaro, G. P.; Tullio, D. Di; Dell'Olio, M.; Ghitti, A. *Forensic Sci. Int.* **1999**, *103*, 1–21.

(3) Romolo, F. S.; Margot, P.; Saverio, F. *Forensic Sci. Int.* **2001**, *119*, 195–211.

(4) López-López, M.; Delgado, J. J.; García-Ruiz, C. *Anal. Chem.* **2012**, *84*, 3581–3585.

(5) Schwoeble, A. J.; Exline, D. L. *Current Methods in Forensic Gunshot Residue Analysis*; CRC Press LLC: Boca Raton, FL, 2000.

(6) Melo, A. J. G. Desenvolvimento de Marcadores Luminescentes para Detecção de Resíduos de Tiros, Universidade Federal de Pernambuco, 2009.

(7) Martiny, A.; Campos, A. P. C.; Sader, M. S.; Pinto, A. L.; Pinto, M. A. L. *Forensic Sci. Int.* **2008**, *177*, e9–e17.

(8) Burleson, G. L.; Gonzalez, B.; Simons, K.; Yu, J. C. C. *J. Chromatogr. A* **2009**, *1216*, 4679–4683.

(9) Sharma, S. P.; Lahiri, S. C. *Sci. Justice* **2009**, *49*, 197–204.

(10) MacCrehan, W. a; Reardon, M. R.; Duewer, D. L. *J. Forensic Sci.* **2002**, *47*, 260–266.

(11) López-López, M.; Ferrando, J. L.; García-Ruiz, C. *Anal. Chim. Acta* **2012**, *717*, 92–99.

(12) López-López, M.; de la Ossa, M. Á. F.; García-Ruiz, C. *Appl. Spectrosc.* **2015**, *69*, 889–893.

(13) Bueno, J.; Sikirzhytski, V.; Lednev, I. K. *Anal. Chem.* **2012**, *84*, 4334–4339.

(14) Benito, S.; Abrego, Z.; Sánchez, A.; Unceta, N.; Goicolea, M. A.; Barrio, R. J. *Forensic Sci. Int.* **2015**, *246*, 79–85.

(15) Vuki, M.; Shiu, K.-K.; Galik, M.; O'Mahony, A. M.; Wang, J. *Analyst* **2012**, *137*, 3265.

(16) Morelato, M.; Beavis, A.; Ogle, A.; Doble, P.; Kirkbride, P.; Roux, C. *Forensic Sci. Int.* **2012**, *217*, 101–106.

(17) Zhao, M.; Zhang, S.; Yang, C.; Xu, Y.; Wen, Y.; Sun, L.; Zhang, X. *J. Forensic Sci.* **2008**, *53*, 807–811.

(18) Meng, H.; Caddy, B. *J. Forensic Sci.* **1997**, *42*, 553–570.

(19) Goudsmits, E.; Sharples, G. P.; Birkett, J. W. *TrAC Trends Anal. Chem.* **2015**, *74*, 46–57.

(20) Tong, Y.; Wu, Z.; Yang, C.; Yu, J.; Zhang, X.; Yang, S.; Deng, X.; Xu, Y.; Wen, Y. *Analyst* **2001**, *126*, 480–484.

(21) Abrego, Z.; Grijalba, N.; Unceta, N.; Maguregui, M.; Sanchez, A.; Fernández-Isla, A.; Goicolea, M. A.; Barrio, R. J. *Analyst* **2014**, *139*, 6232–6241.

(22) López-López, M.; Delgado, J. J.; García-Ruiz, C. *Forensic Sci. Int.* **2013**, *231*, 1–5.

(23) Holler, F. J.; Skoog, D. A.; Crouch, S. R. *Princípios de Análise Instrumental*; 6ª Ed.; Bookman, 2009.

(24) Bumbrah, G. S.; Sharma, R. M. *Egypt. J. Forensic Sci.* **2015**.

(25) Brozek-Mucha, Z. *Forensic Sci. Int.* **2009**, *183*, 33–44.

(26) Gagliano-Candela, R.; Colucci, A. P.; Napoli, S. *J. Forensic Sci.* **2008**, *53*, 321–324.

(27) Glattstein, B.; Vinokurov, A.; Levin, N.; Zeichner, A.; B, R. G.; Vinokurov, A.; Levin, N.; Zeichner, A. *J. Forensic Sci.* **2000**, *45*, 801–806.

(28) Cecchetto, G.; Giraudo, C.; Amagliani, A.; Viel, G.; Fais, P.; Cavarzeran, F.; Feltrin, G.; Davide Ferrara, S.; Montisci, M. *Int. J. Legal Med.* **2011**, *125*, 245–251.

(29) Weber, I. T.; Melo, A. J. G.; Lucena, M. A. M.; Consoli, E. F.; Rodrigues, M. O.; de Sá, G. F.; Maldaner, A. O.; Talhavini, M.; Alves Jr, S. *Forensic Sci. Int.* **2014**, *244*, 276–284.

(30) Ando, R. A. Espectroscopia Vibracional, Raman Ressonante e Eletrônica de Nitroderivados em Sistemas Conjugados, Universidade de São Paulo: São Paulo, 2005.

(31) Rodrigues, A. D. G.; Galzerani, J. C. *Rev. Bras. Ensino Física* **2012**, *34*, 4309–9.

(32) Rodrigues, M. O. Síntese, Caracterização e Estudos Espectroscópicos de Redes Híbridas de Coordenação Contendo Lantanídeos, Universidade Federal de Sergipe, 2007.

(33) Liu, K.; You, H.; Jia, G.; Zheng, Y.; Song, Y.; Yang, M.; Huang, Y.; Zhang, H. *Cryst. Growth Des.* **2009**, *9*, 3519–3524.

(34) Marques, L. F.; Cantaruti Júnior, A. A. B.; Ribeiro, S. J. L.; Scaldini, F. M.; Machado, F. C. *Opt. Mater. (Amst).* **2013**, *35*, 2357–2365.

(35) Binnemans, K. *Coord. Chem. Rev.* **2015**, *295*, 1–45.

Conclusões gerais

Neste trabalho, o método e as condições de síntese foram otimizados para a obtenção da MOF [Eu(BTC)] com relativa pureza de fase, cristalinidade, elevada luminescência e estabilidade térmica. Neste caso, a síntese hidrotermal assistida por micro-ondas se mostrou bastante promissora devido ao rápido tempo de síntese quando comparado aos métodos tradicionais (como o hidrotermal convencional). Quando adicionada a munições ambientais, esta rede apresentou excelente desempenho como marcador luminescente, permitindo a visualização dos resíduos diretamente no local com uma lâmpada ultravioleta. Apesar da identificação visual já ser um indicativo da presença do LGSR, técnicas espectroscópicas como MEV/EDS e espectroscopia de emissão confirmaram a presença do LGSR nos resíduos. Além disso, esta rede foi classificada na categoria menos tóxica do GHS, com uma DL_{50} de 5000 mg/kg (através da administração oral), o que confere uma elevada margem de segurança para sua aplicação como marcador de GSR. Quando sintetizadas MOFs co-dopadas $[Y_{1-x}Ln_x(BTC)]$ com os íons Eu^{3+}, Sm^{3+}, Tb^{3+} e/ou Yb^{3+}, além da redução de até 86% no custo do marcador (0,02$/munição para o marcador $[Y_{0,95}Eu_{0,05}(BTC)]$, em condições laboratoriais) e melhoria das propriedades luminescentes, estas redes forneceram códigos químicos capazes de diferenciar os resíduos e identificar a origem da munição em 100% dos casos, permitindo ainda associações entre o atirador, a arma utilizada e os resíduos encontrados no local do disparo. Este resultado é muito interessante do ponto de vista forense, principalmente em crimes envolvendo múltiplas armas. E até onde

temos conhecimento, é a primeira vez que é reportado um método de codificação tão eficiente. Além disso, com os marcadores [$Y_{0,95}Eu_{0,05}$(BTC)] e [$Y_{0,95}Tb_{0,05}$(BTC)] e o uso da espectroscopia Raman, os resíduos orgânicos e luminescentes foram caracterizados através de em uma única medida, permitindo identificar o tipo de marcador e de pólvora utilizados, e classificando inequivocamente os resíduos como provenientes de arma de fogo. Estes marcadores atuaram ainda como sonda luminescente para a detecção do OGSR em distâncias superiores as que são reportadas na literatura. Por fim, as técnicas espectroscópicas utilizadas neste trabalho já são utilizadas para a caracterização dos resíduos de tiro de munições convencionais (MEV/EDS e Raman), e juntamente com o VSC, estão disponíveis nas principais unidades de perícia, tornando viável a utilização dos marcadores luminescentes na caracterização do GSR.

Perspectivas Futuras

- Estudar o “efeito de memória das armas” sobre o processo de codificação e rastreamento da origem da munição, após disparos utilizando uma mesma arma e munições contendo diferentes marcadores. Para tal:
    - Analisar por MEV/EDS o perfil químico dos resíduos gerados e a possível ocorrência de contaminação por disparos anteriores.
    - Caso o efeito de memória seja significativo, avaliar se técnicas estatísticas avançadas podem diferenciar os resíduos, identificar a origem da munição, e estabelecer correlações entre o atirador, a arma utilizada e os resíduos coletados no local do disparo.
- Estudar a interação entre os resíduos inorgânicos de munições convencionais (Pb-Sb-Ba) e os resíduos luminescentes de munições co-dopadas, através da microscopia eletrônica de varredura acoplada a microanálise. Avaliando se o LGSR atua como sonda luminescente para detecção do IGSR:
    - Em locais não convencionais (como diferentes partes do corpo, vestimentas e pertence do atirador, vítimas simuladas, superfícies que não podem ser analisadas em laboratório, etc.);
    - Em distâncias superiores aquelas abordadas na literatura (da mesma forma como foi realizado com a espectroscopia Raman para o par LGSR-OGSR).